

96/1 25
H3178
TERESA WIERZBA-BOBROWICZ

W PŁY W H I P O G L I K E M I I
N A R O Z W Ó J Z M I A N S T R U K T U R A L N Y C H
W M Ó Z G U C Z Ł O W I E K A I Z W I E R Z ą T D O Ś W I A D C Z A L N Y C H

Praca na stopień doktora medycyny

Promotor:

Prof. dr hab. med. Mirosław J. Mossakowski

Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

W a r s z a w a 1984

SPIS TREŚCI

	Str.
WSTĘP	1
CEL BADAŃ	33
MATERIAŁ I METODY	35
1. Materiał ludzki	35
1.1. Ogólna charakterystyka materiału	35
1.2. Metody badań	37
2. Materiał zwierzęcy	41
2.1. Ogólna charakterystyka materiału	41
2.2. Metody badań	43
2.2.1. Oznaczanie zawartości glukozy we krwi	43
2.2.2. Badanie histopatologiczne ośrodkowego układu nerwowego	46
2.2.3. Badanie histochemiczne ośrodkowego układu nerwowego	46
2.2.4. Ocena stanu mikrokrążenia w ośrodkowym układzie nerwowym	49
2.2.5. Badanie mikroskopowo-elektronowe	50
WYNIKI	52
1. Materiał ludzki	52
1.1. Obraz makroskopowy	52
1.2. Badanie mikroskopowe	54
2. Materiał zwierzęcy	61
2.1. Grupa doświadczalna I	61
2.1.1. Obraz kliniczny	61
2.1.2. Zawartość glukozy we krwi	62

2.1.3.	Obraz makroskopowy ośrodkowego układu nerwowego	64
2.1.4.	Obraz mikroskopowy ośrodkowego układu nerwowego	65
2.1.5.	Obraz histochemiczny ośrodkowego układu nerwowego	68
	a/ Odkładanie się glikogenu w ośrodkowym układzie nerwowym	68
	b/ Aktywność fosfatazy kwaśnej	70
	c/ Aktywność adenozyntrójfosfatazy	72
2.1.6.	Obraz ultrastrukturalny ośrodkowego układu nerwowego	73
	a/ Ocena skrawków półcienkich	73
	b/ Obraz mikroskopowo-elektronowy	75
2.1.7.	Ocena sieci naczyniowej ośrodkowego układu nerwowego	83
2.2.	Grupa doświadczalna II	87
2.2.1.	Obraz kliniczny	87
2.2.2.	Zawartość glukozy we krwi	89
2.2.3.	Obraz makroskopowy ośrodkowego układu nerwowego	91
2.2.4.	Obraz mikroskopowy ośrodkowego układu nerwowego	91
OMÓWIENIE	96
WNIOSKI	137
PIŚMIENNICTWO	141

W S T Ę P

Obserwacje kliniczne oraz wyniki badań doświadczalnych wskazują, iż hipoglikemia o odpowiednim nasileniu i czasie trwania prowadzi do głębokich zaburzeń czynności ośrodkowego układu nerwowego. W większości przypadków ulegają one wyrównaniu wraz z normalizacją zawartości glukozy we krwi, występującą samoistnie bądź też uzyskiwaną przez podanie egzogennej glukozy. W części przypadków hipoglikemia jest przyczyną trwałych zespołów neurologicznych, rozwijających się na podłożu strukturalnych uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego /oun/, określanych mianem encefalopatii hipoglikemicznej /Wohlwill, 1928; Baker, 1938; Tom, Richardson, 1951; Höpker, 1954; Courville, 1957; Pentschew, 1958; Bidiński, 1959; Gruk i wsp., 1970; Brzecki i wsp., 1972; Wilkinson, Prockop, 1976; Czyżyk, 1977; Tatoń, 1979 a, b; Olsson i wsp., 1982/.

W obrazie klinicznym hipoglikemii występują dwie zasadnicze grupy objawów /Czyżyk, 1977/, z których pierwsza jest wynikiem wtórnej adrenalinemii, a druga dominująca w zespole chorobowym, spowodowana jest niedostatecznym dopływem glukozy do mózgu, dla którego stanowi ona podstawowy substrat energetyczny. O wystąpieniu objawów drugiej grupy decyduje równowaga pomiędzy aktualnym zapotrzebowaniem i zużyciem glukozy w procesach metabolicznych ośrodkowego

układu nerwowego a jej dostępnością. Z tego też względu nie zawsze stwierdza się wyraźną korelację pomiędzy wartościami glukozy we krwi, a neurologicznym zespołem klinicznym /Kasperlik-Załuska, 1972; Ghajar i wsp., 1982/. W związku z tym Marks i Rose /1965/ zaproponowali zastąpienie pojęcia hipoglikemii, oznaczającego obniżenie stężenia glukozy we krwi poniżej wartości granicznej, pojęciem neuroglikopenii, dla określenia stanu, gdy podaż wykorzystywanych w metabolizmie oun węglowodanów jest niewystarczająca dla utrzymania normalnej funkcji komórek nerwowych.

U osób dorosłych za graniczną wartość poziomu glukozy we krwi, poniżej której pojawiają się kliniczne objawy neuroglikopenii przyjmuje się 40-50 mg% tj. 2.2 mmol/l i /Tatoń, 1979 a/. Charakter i nasilenie objawów neuroglikopenii zależą od rodzaju czynnika patogennego, dynamiki rozwoju hipoglikemii i czasu jej trwania, od wieku i osobniczej wrażliwości, od stanu układu nerwowego i krążenia oraz od współistniejących i przebytych schorzeń /Wilkinson, Prockop, 1976/. Niewątpliwa jest również zależność neuroglikopenii od stopnia dojrzałości ośrodkowego układu nerwowego, wyrażająca się występowaniem jej objawów u noworodków donoszonych przy spadku wartości glukozy we krwi poniżej 30 mg%, a u noworodków niedonoszonych poniżej 20 mg% /Wilkinson, Prockop, 1976/.

Przyczyny hipoglikemii są bardzo liczne i zróżnicowane. Dało to podstawę dla bardzo wielu prób klasyfikacji zespołów hipoglikemicznych, z których większość ma dziś wyłącznie

znaczenie historyczne. Czyżyk /1977/ uwzględnia 3 typy hipoglikemii: metaboliczne, hormonalne i toksyczne.

Hipoglikemie metaboliczne występują bądź w genetycznie uwarunkowanych zespołach chorobowych, w których zaburzenia przemiany węglowodanów prowadzą do zmniejszonego względnie spalonego wytwarzania glukozy lub jej nadmiernego zużycia przez tkanki pozamózgowe /glikogenozy, galaktozemia, dziedziczna nietolerancja fruktozy Froescha, dziedziczna nietolerancja l-leucyny i in./, bądź też w przebiegu nabytych chorób wątroby przebiegających z jej ciężkim i rozległym uszkodzeniem.

Hipoglikemie hormonalne powstają na skutek nadmiernego wytwarzania insuliny /wyspiaki trzustki/ lub zmniejszonej sekrecji hormonów działających antagonistycznie w stosunku do niej /niedoczynność kory nadnerczy, niedoczynność przedniego płata przysadki i in./ oraz po podaniu egzogennej insuliny.

Hipoglikemie toksyczne powstają na skutek podawania niektórych leków lub substancji chemicznych /doustne leki przeciwcukrzycowe, wysokie dawki salicylanów/ lub po spożyciu znacznej ilości etanolu.

Od czasu wprowadzenia w roku 1922 insuliny do leczenia cukrzycy, a następnie do lecznictwa psychiatrycznego, powikłania związane z jej stosowaniem stały się najczęstszą przyczyną hipoglikemii /Höpker, 1954/. Według Paz-Guevary i wsp. /1975/ insulinowa śpiączka hipoglikemiczna stanowi przyczynę zejścia śmiertelnego 3-4% ogółu chorych na cukrzycę.

Objawy kliniczne neuroglikopenii charakteryzują się znacznym zróżnicowaniem, uwarunkowanym w pierwszej kolejności jej przebiegiem, który może być ostry, podostry lub przewlekły /Wilkinson, Prockop, 1976/.

Wśród nich na czoło wysuwa się śpiączka neuroglikopeniczna, stanowiąca dominujący a niekiedy jedyny zespół hipoglikemii ostrej i pospolity w hipoglikemii o przebiegu podoстрыm. Towarzyszyć jej może bogaty zespół neurologicznych objawów ogniskowych, przede wszystkim ruchowych, opisanych najbardziej analitycznie przez Opalskiego /1938/ na materiale psychicznie chorych leczonych wstrząsami insulinowymi. Cechą charakterystyczną śpiączki neuroglikopenicznej jest fakt, iż niezależnie od charakteru czynnika przyczynowego niedocukrzenia, najczęściej ustępuje ona po normalizacji stężenia glukozy we krwi.

Drugim co do częstości zespołem neurologicznym są napady drgawkowe, znamienne również dla stanów niedocukrzenia ostrego a rzadziej podostryego /Bidziński, 1959; Gruk i wsp., 1970/. Mogą one towarzyszyć stanom śpiączkowym jak i występować niezależnie od nich.

Przewlekła postać neuroglikopenii charakteryzuje się również zaburzeniami świadomości, nie osiagającymi jednak zazwyczaj stanu śpiączkowego, oraz rozwijającymi się na ich tle zaburzeniami psychicznymi z wiodącymi cechami postępującego zespołu psychoorganicznego. Ogniskowe, ubytkowe objawy neurologiczne, stanowiące następstwo strukturalnych uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego występują częściej w przebiegu przewlekłych, nawracających stanów niedocukrzenia.

Mogą one być również następstwem neuroglikopenii ostrej lub podostrej. O ich wystąpieniu w tych przypadkach decyduje głębokość i czas trwania stanów niedocukrzenia, a przede wszystkim ich powtarzalność i częstotliwość /Wilkinson, Prockop, 1976/. Opisano również przypadki opóźnienia rozwoju umysłowego w następstwie stanów hipoglikemicznych przeżytych w okresie prenatalnym /Chase i wsp., 1973/.

Weryfikacje neuropatologiczne przypadków neuroglikopenii są niezbyt liczne. Zestawienie Höpfera z 1954 roku uwzględniające materiał opublikowany w okresie od roku 1928 tj. od pierwszej publikacji Wohlwilla, do roku 1952, obejmuje 119 przypadków. Wśród nich najlicniejszą grupę stanowiły zgony w przebiegu stosowania insuliny we wstrząsowej terapii chorób psychicznych /42%/ oraz w leczeniu cukrzycy /35,3%/, podczas gdy przypadki samoistnej hipoglikemii w przebiegu wysepkowych nowotworów trzustki i innych endogennych zaburzeń metabolicznych obejmowały grupę najmniej liczną, odpowiadającą zaledwie 17,6%. Opisy z lat późniejszych są jeszcze mniej liczne i mają w większości charakter doniesień kazuistycznych dotyczących przypadków o nietypowym przebiegu klinicznym lub obrazie patomorfologicznym.

Obraz patomorfologiczny mózgu w przypadkach hipoglikemii jest niecharakterystyczny i według podręcznikowych opisów /Meyer, 1963; Wilkinson, Prockop, 1976; Mossakowski, Renkawek, 1981/ zbliżony do hipoksyjnych uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego. Jest on zróżnicowany w zależności

od czasu trwania stanu hipoglikemicznego poprzedzającego zejście śmiertelne i okresu przeżycia po jego przebyciu. Istotny wpływ na jego ukształtowanie mają wcześniej występujące stany niedocukrzenia.

W zespole zmian strukturalnych w ośrodkowym układzie nerwowym wyróżnia się za Pentschewem /1958/ trzy grupy nieprawidłowości, a mianowicie: 1. zwyrodnienie komórek nerwowych i ich ubytki, o cechach zbliżonych do następstw niedotlenienia, 2. zmiany naczyniopochodne oraz 3. uszkodzenia spowodowane zaburzeniami mechanizmów barierowych krew-mózg, niezależne od pierwotnych uszkodzeń parenchymalnych.

Obraz makroskopowy mózgow ludzi zmarłych w krótkim okresie czasu po epizodzie hipoglikemicznym /do 1 tygodnia/ nie wykazuje na ogół istotnych nieprawidłowości. Szereg autorów podkreśla jednak jako stałe zjawisko wykładniki obrzęku mózgu, nierzadko z wgłobieniem migdałków mózdzku do otworu potylicznego wielkiego i haków pod namiot mózdzku /Moersch, Kernohan, 1938; Höpker, 1954; Courville, 1957; Pentschew, 1958/. Brierley /1965/ wypowiada wręcz przeciwny pogląd, uważając, że obrzęk mózgu w niedocukrzeniu stanowi raczej zjawisko sporadyczne. Potwierdzają to spostrzeżenia Lawrence'a i wsp. /1942/ oraz Vitala i wsp. /1967/. W części przypadków stwierdzano również wylewy podpajęczynówkowe, a rzadziej śródmózgowe /Ehrman, Jacoby, 1925; Höpker, 1954; Köbernyey, 1955/. Występują one również w przypadkach z dłuższym przeżyciem /Jansen, Waaler, 1940/. Ich obecność w niedocukrzeniu poinśulinowym wiązano zresztą bardziej

z toksycznym działaniem źle oczyszczonych preparatów hormonu niż z samym epizodem hipoglikemicznym. Odnoszono je również do zaburzeń krążenia żylnego, przede wszystkim w układzie zatok wewnątrzczaszkowych.

Bardziej wyraźne zmiany makroskopowe występują w przypadkach z dłuższym okresem przeżycia, sięgającym do kilku - kilkunastu tygodni, a sporadycznie kilku lat. Cechą dominującą w tych razach jest nieregularny zanik zakrętów półkul mózgu, rzadziej mózdzku z wtórnym poszerzeniem układu komorowego /Moersch, Kernohan, 1938; Lawrence i wsp., 1942; Höpker, 1954; Courville, 1957; Brierley, 1976/. Na uwagę zasługuje przypadek Brierleya /1976/, w którym po 16 latach od głębokiej poinśulinowej hipoglikemii masa mózgu zredukowana była do 700 g, a symetrycznie zanikłe zakręty skroniowe I-III miały grubość kartki papieru. W pojedynczych przypadkach opisywano ogniska rozmiękania lub jamy poudarowe /Baker, 1938, 1939; Höpker, 1954/.

Obraz mikroskopowy encefalopatii hipoglikemicznej wykazuje jeszcze bardziej wyraźną zależność od czasu przeżycia. W przypadkach o bardzo ostrym przebiegu i okresie przeżycia nie przekraczającym 24 godz. jedynymi nieprawidłowościami są zazwyczaj, wspomniane w opisie makroskopowym, wykładniki obrzęku mózgu, cechy przekrwienia oraz drobne krwinkotoki okołonaczyniowe /Moersch, Kernohan, 1938; Courville, 1957; Pentschew, 1958/. Szereg autorów stwierdzało już w tym okresie uogólnione nieprawidłowości komórkowe o typie schorzenia ischemicznego lub/i homogenizacyjnego /Wohlwill, 1928; Terplan, 1932; Bodechtel, 1933; Leppien, Peters, 1937;

Kobler, 1939; Lawrence i wsp., 1942; Bodechtel, Erbslöh, 1958/. Nieswoiste zwyrodnienia komórek nerwowych dominują w obrazie neuropatologicznym przypadków, z przeżyciem co najmniej kilkudniowym lub dłuższym. Dotyczą one przede wszystkim kory mózgu, głównie ciemieniowej i potylicznej, rzadko skroniowej, ze szczególnie częstym zajęciem rogu Amona /Terplan, 1932; Baker, 1938, 1939; Ferraro, 1942; Malamud, 1948/49; Meyer, 1963; Brierley, 1965; Brzecki i wsp., 1972/. Zwraca przy tym uwagę warstwowy układ uszkodzeń kory, dotyczących zazwyczaj jej części powierzchniowych. Szczególnie częste jest zajęcie neuronów warstwy III i V /Terplan, 1932; Kobler, 1939; Lawrence i wsp., 1942; Vital i wsp., 1967/. Przedstawiona powyżej lokalizacyjna predylekcyjność uszkodzeń komórkowych w korze kwestionowana jest przez Kalimo i Olssona /1980/ oraz Olssona i wsp. /1982/, którzy w oparciu o własne obserwacje stwierdzili przewagę zmian neuronalnych w korze skroniowej przy stosunkowo nieznacznym zajęciu zakrętu hipokampa oraz praktycznie niezmienionej okolicy czołowej i ciemieniowej. Analogiczną sytuację opisał Brierley /1976/ we wspomnianym uprzednio przypadku encefalopatii hipoglikemicznej z 16-letnim przeżyciem. W większości opisów neuropatologicznych w następnej kolejności zmiany patologiczne dotyczyły prążkowiec, z predylekcyjnym zajęciem małych neuronów oraz kory mózdzku z wybiórczym uszkodzeniem komórek Purkinjego /Jansen, Waaler, 1940; Grünthal, 1941; Lawrence i wsp., 1942; Malamud, 1948/49; Hempel, 1949; Köernyey, 1955; Courville, 1957; Pentschew, 1958; Brierley, 1965; Brzecki i wsp., 1972; Kalimo, Olsson,

1980/. W tym zakresie również spotyka się opisy budzące kontrowersje. Brierley /1976/ jest skłonny przypuszczać, iż zajęcie struktur prążkowania należy do zjawisk wyjątkowych. Opiera się w tym przeświadczeniu zarówno na spostrzeżeniach własnych z publikacji z roku 1965, jak i obserwacjach Lawrence'a i wsp. /1942/ oraz Vitala i wsp. /1967/. Kalimo i Olsson /1980/ z kolei uważają, że uszkodzenia prążkowania są stałym elementem obrazu neuropatologicznego encefalopatii hipoglikemicznej. Również kontrowersyjne są poglądy na temat zajęcia mózdzku. Według cytowanych powyżej Kalimo i Olssona /1980/ mózdzek jest strukturą zaoszczędzoną w procesie patologicznym związanym z niedocukrzeniem. Również Meyer /1963/ zwraca uwagę, że zmiany w mózdzku są stosunkowo nikłym komponentem morfologicznego zespołu encefalopatii hipoglikemicznej. Pozostaje to w oczywistej sprzeczności z przedstawionymi powyżej obserwacjami wcześniejszych autorów. Inne struktury podkorowe takie jak gałka biała, wzgórze oraz formacje pnia mózgu są rzadko zajęte. Do kazuistycznych rzadkości należy uszkodzenie ruchowych neuronów rogów przednich rdzenia, opisane przez Tom i Richardsona /1951/ w przypadku wyspiaka trzustki, w którego obrazie klinicznym dominował zespół rdzeniowych zaników mięśni. Na możliwość takiej lokalizacji patologicznych zmian komórkowych wskazują również i inne opisane przypadki zespołu amiotroficznego w następstwie przebytego niedocukrzenia /Moersch, Kernohan, 1938; Williams, 1955/.

Uszkodzenia komórkowe w encefalopatii hipoglikemicznej reprezentowane są przez wszystkie prawie typy nieswoistych

zwyrodnień neuronów - ostre obrzmienie komórki nerwowej, schorzenie ischemiczne, homogenizacyjne i ciężkie /Malamud, Grosh, 1938; Lawrence i wsp., 1942; Spencer, 1948; Höpker, 1954; Courville, 1957; Pentschew, 1958; Brzecki i wsp., 1972/. Nierzadko wymienia się mikrowakuolizację cytoplazmy komórek nerwowych /Bowen, Beck, 1933; Harris, 1934; Tendström, 1934; Moersch, Kernohan, 1938; Höpker, 1954; Courville, 1957; Pentschew, 1958; Brierley, 1976/. Dotyczy ona przede wszystkim małych komórek gwiaździstych kory i komórek Purkinjego.

W miarę przedłużania się czasu przeżycia po niedocukrzeniu zwiększa się nasilenie i rozległość uszkodzeń komórkowych oraz ujawniają się ubytki neuronów, bądź w postaci nieregularnych ognisk, zazwyczaj okołonaczyniowych, bądź też selektywnych martwic warstwowych, zaburzających architektonikę kory mózgu /Terplan, 1932; Cammermeyer, 1938; Ferraro, Jervis, 1939; Köbernyey, 1955; Meyer, 1955; Brzecki i wsp., 1972/.

W nielicznych opisanych przypadkach z przedłużonym przeżyciem po głębokim niedocukrzeniu obraz zmian strukturalnych w mózgu był bardziej zróżnicowany i bogaty. Oprócz nieswoistych zwyrodnień komórek nerwowych i ich ubytków prowadzących do obrazu ognisk selektywnej martwicy, ze zmiennie nasilonym glejowym odczynem reparacyjnym, ujawniały się typowe naczyniopochodne uszkodzenia tkankowe w postaci ognisk martwicy zupełnej, nierzadko ukrwotoczonych. Ogniska te zlokalizowane były zwykle w korze półkul mózgu bądź w obszarze korowo-podkorowym /Grünthal, 1941; Courville, 1957;

Brzecki i wsp., 1972/, rzadziej w strukturach podkorowych takich jak jądro ogoniaste, skorupa czy wzgórze /Baker, 1938; Lawrence i wsp., 1942; Höpker, 1954; Courville, 1957/.

Charakter i nasilenie odczynów reparacyjnych w tych ogniskach zależą od ich rozległości i czasu przeżycia po incydencie hipoglikemicznym. W przypadkach rozległych uszkodzeń kory mózgu i obszaru korowo-podkorowego i przy dostatecznie długim okresie przeżycia dochodzi do ogniskowych lub uogólnionych zaników korowych /Moersch, Kernohan, 1938; Malamud, Grosh, 1938; Lawrence i wsp., 1942; Courville, 1957; Brierley, 1976/. Niekiedy opisywano typowe obrazy ziarnistego zaniku kory mózgu, związane z mnogimi bliznowaciejącymi rozsianymi ogniskami martwicy selektywnej /Courville, 1957/.

Za wykładniki zaburzeń czynności układu bariery krew-mózg przyjmuje się w okresie wczesnym wspomniany uprzednio obrzęk mózgu oraz odczyn astrocytarny w postaci kłazmatodendrozy i występowania amebowatych postaci komórek gwiazdzistych /Courville, 1957; Pentschew, 1958/, a w okresie późniejszym zgąbczenie tkanek /Michaus i wsp., 1950/, uogólniony rozplam gleju /Lawrence i wsp., 1942/ oraz uszkodzenia mieliny, przyjmujące postać rozlanych bądź okołonaczyniowych przejaśnień osłonek rdzennych /Köbernyey, 1955/. Richardson i Russell /1952/ oraz Pentschew /1958/ opisali przypadki rozległej demielinizacji istoty białej półkul mózgu, towarzyszącej masywnym uszkodzeniom komórkowym w korze. W przypadku opublikowanym przez Hempel /1949/ z 20-dniową śpiączką hipoglikemiczną w półkulach mózgu występowały rozsiane ogniska demielinizacji przy stosunkowo niskim uszkodzeniu komórek

nerwowych. Odrębne miejsce w kazuistyce encefalopatii hipoglikemicznych zajmuje przypadek opisany przez Zelman /1972/, w którym w następstwie wzmożonego ciśnienia wewnątrzczaszkowego, przy długotrwałym obrzęku mózgu doszło do symetrycznej martwicy w potylicznym obszarze kory mózgu, na skutek uciśnięcia tylnych tętnic mózgu o krawędź namiotu mózdzku. Zmiany w strukturze naczyń mózgu, w postaci obrzmienia śródbłonek i zwłóknienia ścian, wiązane z przebytym niedocukrzeniem opisywane były bardzo rzadko /Baker, 1938; Döring, 1938/.

Większość przytoczonych powyżej opisów obrazu neuropatologicznego encefalopatii hipoglikemicznej opiera się o spostrzeżenia poczynione na materiale ludzi dorosłych i nie uwzględnia przypadków dziecięcych, a zwłaszcza niemowlęcych. Kazuistyka encefalopatii hipoglikemicznych z tego okresu życia jest bardzo uboga. Zwraca tu jednak uwagę opracowanie Andersona i wsp. /1967/, którzy w serii przypadków niemowlęcych opisali uogólnione uszkodzenia neuronów o innym charakterze niż w przypadkach dorosłych. Zmiany te o cechach tigrolizy i mikrowakuolizacji cytoplazmy neuronów z towarzyszącą fragmentacją chromatyny jądrowej nie wykazywały opisanej uprzednio predylekcji lokalizacyjnej. Co więcej w części przypadków, które przeżyły epizod hipoglikemiczny, a później zmarły z przyczyn pozamózgowych, zmiany te nie występowały, a obraz komórkowy większości szarych struktur mózgu był prawidłowy. Dało to podstawę do przypuszczenia o odwracalności strukturalnych uszkodzeń hipoglikemicznych mózgu. Koncepcji tej nie potwierdzają późniejsze spostrzeżenia

Bankera /1967/ i Rubinsteina /1967/, którzy spostrzegali mikrocefalię, uogólniony zanik kory mózgu i istoty białej pólkul z wtórnym poszerzeniem układu komorowego, jako następstwo niedocukrzenia przebytego we wczesnym okresie niemowlęcym i noworodkowym.

Poględy na patomechanizm uszkodzeń strukturalnych ośrodkowego układu nerwowego, spowodowanych hipoglikemią są wysoce zróżnicowane, a niekiedy kontrowersyjne. We wszystkich jednak wybijają się na czoło dwie grupy czynników patogenetycznych - metaboliczne i krążeniowe. Lawrence i wsp. /1942/, którzy pierwsi zwrócili uwagę na podobieństwo charakteru i topografii nieprawidłowości tkankowych w hipoglikemii i w zespołach hipoksyjno-ischemicznych, zakładali, iż niedobór glukozy jest metabolicznie równoznaczny z niedoborem tlenu i uważali neuroglikopenię za przyczynę uszkodzeń komórkowych jak również współtowarzyszących zaburzeń krążenia, poprzez bezpośredni wpływ na naczynioruchowe ośrodki pnia mózgu i zwoju szyjnego górnego. Peters /1951/, Kobernyey /1955/ i Courville /1957/ skłaniali się również do poglądu o anoksyjno-ischemicznym charakterze zmian patologicznych w hipoglikemii, analogicznym jak w innych postaciach niedotlenienia, przypisując zasadniczą rolę w ich patogenezie współtowarzyszącym niedocukrzeniu i spowodowanym przez nie zaburzeniom krążenia zarówno mózgowym jak i ogólnoustrojowym. Według Bodechtela i Erbslöha /1958/ uszkodzenia tkanki nerwowej w hipoglikemii mają przede wszystkim pochodzenie naczyniowe, związane z uogólnionym obkurczeniem naczyń włosowatych, stanowiącym następstwo działania samej insuliny,

towarzyszących niedocukrzeniu stanów drgawkowych oraz produktów zaburzonego metabolizmu tkanki. Konsekwencją upośledzonego na tej drodze utleniania tkankowego są zarówno zmiany patologiczne komórek nerwowych jak i zaburzenia w przepuszczalności naczyń, prowadzące do rozwoju obrzęku mózgu. Ten z kolei na zasadzie mechanizmu błędnego koła pogłębia stan niedostatku tlenowego. Zbliżone poglądy wypowiedzieli Erbelöh i Schröder /1963/ oraz Vital i wsp. /1967/, według których ograniczenie dopływu glukozy do mózgu wywołuje z jednej strony zaburzenia metabolizmu komórek nerwowych, szczególnie nasilone w ich populacjach wybiórczo wrażliwych na jej niedostatek, z drugiej zaś prowadzi do rozwoju obrzęku mózgu w następstwie zmian ciśnienia osmotycznego w przestrzeniach międzykomórkowych mózgu, związanych z obniżoną w nich zawartością cząsteczek glukozy. W przeciwieństwie do autorów przypisujących zaburzeniom w krążeniu zasadniczą rolę w kształtowaniu uszkodzeń tkankowych mózgu w hipoglikemii Opitz i Schneider /1950/ zakładają możliwość udziału tego czynnika jedynie w warunkach bardzo znacznej hipoksydozy. Höpker /1954/ na podstawie analizy zarówno własnego materiału jak i obszernych danych z piśmiennictwa stwierdził, że można wyłączyć patogenetyczną rolę czynnika naczyniowego w stosunku do większości zmian składających się na morfologiczny obraz encefalopatii hipoglikemicznej.

Do końca lat siedemdziesiątych powszechnie akceptowana była koncepcja identyfikująca mechanizm patogenetyczny uszkodzeń tkankowych ośrodkowego układu nerwowego w hipoglikemii z mechanizmem hipoksyjnym. Sprecyzowana po raz pierwszy

przez Lawrence'a i wsp. /1942/ znalazła swoje dalsze poparcie w poglądach Meyera /1963/, Van Liere'a i Stickneya /1963/, Lufta /1965/ i Brierleya /1972/. Brierley /1976/ traktował hipoglikemię jako jedną z odmian hipoksji, w której dostarczony do komórki tlen nie może być wykorzystany w jej procesach metabolicznych ze względu na niedobór glukozy /oxyochrestis/. U podłoża tego poglądu leżało podobieństwo charakteru i topografii uszkodzeń tkankowych woun w hipoglikemii i w innych stanach hipoksyjno-ischemicznych, stwierdzane zarówno w materiale ludzkim jak i doświadczalnym zwierzęcym. Koncepcja ta została zakwestionowana przez Kalimo i Olssona /1980/, Olssona i wsp. /1982/ oraz Siesjö i wsp. /1982/, którzy wykazali, że zarówno zmiany strukturalne u ludzi i zwierząt doświadczalnych, jak i zaburzenia metaboliczne tkanki nerwowej w hipoglikemii różnią się istotnie od stwierdzanych w zespołach hipoksyjno-ischemicznych.

W celu rozstrzygnięcia wątpliwości interpretacyjnych zarówno w odniesieniu do wpływu hipoglikemii na ośrodkowy układ nerwowy jak i jej stosunku do innych postaci niedotlenienia, oraz udziału czynnika naczyniowego i zaburzeń barierowych w kształtowaniu uszkodzeń mózgu podejmowano liczne badania doświadczalne, prowadzone na różnych gatunkach zwierząt, głównie przy zastosowaniu modelu hipoglikemii insulinowej.

W pierwszym etapie tych badań, zbieżnym czasowo z wprowadzeniem wstrząsowych dawek insuliny do leczenia psychiatrycznego i pojawieniem się pierwszych weryfikacji neuropatologicznych, miały one na celu wyjaśnienie przyczyny zgonów,

ustalenie tzw. bezpiecznych dawek insuliny oraz próbę odtworzenia w warunkach eksperymentalnych zmian jakie spostrzeżano w mózgach chorych zmarłych w śpiączce hipoglikemicznej. W tym celu stosowano jednorazowo wysokie dawki insuliny /Schereschewsky i wsp., 1929; Gozzano, 1929; Schmidt, 1936/ lub też w modelu przedłużonym podawano wielokrotnie insulinę w niższych dawkach w różnych odstępach czasu /Oberdisse, Schaltenbrandt, 1944; Töbel, 1948/. Podstawą dla oceny efektu hipoglikemizującego insuliny, oprócz zawartości glukozy we krwi, były objawy kliniczne, przede wszystkim wystąpienie i czas trwania śpiączki oraz obecność napadów drgawkowych. Wyniki doświadczeń były niejednoznaczne. Odtworzono wprawdzie w eksperymencie uszkodzenia tkankowe występujące u ludzi, zarysowały się jednakże rozbieżności co do topografii zmian w korze półkul mózgowych oraz predylekcji zajęcia przez proces patologiczny poszczególnych typów komórek nerwowych, a także w ocenie odczynów glejowych i ich stosunku do uszkodzeń tkanki nerwowej. Istotnym natomiast, zachowującym do dziś swoją wartość spostrzeżeniem było stwierdzenie, iż nasilenie zmian histologicznych jest skorelowane z całkowitą ilością podanej insuliny, wskazujące tym samym na możliwość sumowania się subhistologicznych uszkodzeń /Stief, Tokay, 1935; Finley, Brenner, 1941/.

Próbie rozstrzygnięcia niektórych rozbieżności podjął Höpker /1954/ w badaniach na szczurach z zastosowaniem insuliny o przedłużonym działaniu. Nie stwierdził on żadnych nieprawidłowości komórkowych w mózgach szczurów po jednorazowym podaniu insuliny zarówno w dawce 0.8-1.6 U przy

przeżyciu od 15 do 90 min jak i w dawce 0.5-0.6 U z przeżyciem 3-48 dni. Nie było również zmian w mózгах zwierząt przeżywających w stanie śpiączki od 90 min do 33 godz. po jednorazowym podaniu 0.5-4.0 U insuliny. Zmiany histopatologiczne występowały natomiast u zwierząt hipoglikemizowanych wielokrotnie insuliną podawaną co drugi dzień w ilości 0.6 U. Najwcześniejsze nieprawidłowości tkankowe, w postaci tigrólizy i aktywacji jąderka pojawiały się po trzecim wstrząsie hipoglikemicznym. Później obecne były zmiany o cechach schorzenia ischemicznego i ciężkiego, a rzadziej przewlekłego. Te ostatnie trudne były do odróżnienia od artefaktów histologicznych. Höpker /1954/ wykazał, iż duże komórki piramidowe kory mózgu wyróżniały się większą wrażliwością w porównaniu z małymi neuronami i komórkami gwiaździstymi. Stwierdził on również całkowity brak zmian w komórkach Purkinjego, uznanych na podstawie analizy materiału ludzkiego za predylekcyjnie wrażliwe na niedobór glukozy /Köbernyey, 1955/. W materiale barwionym według metody Pickwortha, pozwalającej na uwidocznienie sieci naczyniowej mózgu wykazał on obecność ognisk niedokrwienia w 3 i 5 godz. po podaniu insuliny, występujących niezależnie od napadów drgawkowych i śpiączki. W opinii Höpkeera /1954/ rozlane zmiany neuronalne stwierdzane zarówno w materiale ludzkim jak i doświadczalnym odnieść należy do samego zjawiska hipoglikemii. Oprócz nich występuje grupa uszkodzeń przyczynowo związanych z zaburzeniami w krążeniu, podobnie zresztą jak ma to miejsce w innych typach hipoksji. Potwierdził on ponadto poprzednie spostrzeżenia Finleya i Brennera /1941/ o możliwości sumowania się zmian subhistologicznych.

Dwie grupy badań doświadczalnych, mimo ich zasadniczo odmiennych wyników, przyniosły istotnie nowe obserwacje zarówno w sprawie patomorfologicznych następstw neuroglikopenii jak i ich prawdopodobnego mechanizmu patogenetycznego. Obserwacje materiału ludzkiego charakteryzujące obraz neuropatologiczny encefalopatii hipoglikemicznej, nie odpowiadały na zasadnicze pytanie, które ze stwierdzanych zmian związane były bezpośrednio z niedostatkami glukozy, a które można było odnieść do towarzyszących mu zaburzeń krążenia, oddychania, stanów drgawkowych czy wreszcie wzrostu ciśnienia wewnątrzczaszkowego. Nie rozstrzygały tego problemu przedstawione dotychczas badania doświadczalne prowadzone na wysoce zróżnicowanym materiale zwierzęcym, przy różnych dawkach i postaciach insuliny i nie uwzględniające zmiennych parametrów patofizjologicznych, związanych z niedocukrzeniem i towarzyszących mu mózgowych i pozamózgowych procesów patologicznych. Pierwszą próbą uwzględnienia lub wyeliminowania tych czynników były badania na tzw. modelu kontrolowanej hipoglikemii, zapoczątkowane przez Kahna i Meyersa /1971/. Doświadczenia prowadzono na małpach, którym po odpowiednim przygotowaniu podawano insulinę w dawce 10 U/kg, pod stałą kontrolą poziomu glukozy we krwi, zarówno w czasie hipoglikemii jak i po jej ustąpieniu, równowagi kwasowo-zasadowej i gazometrii krwi, stanu czynnościowego układu krążenia, w tym przede wszystkim układowego ciśnienia krwi. Prowadzono równocześnie stałą kontrolę neurologiczną zwierząt. W tak prowadzonym doświadczeniu uzyskiwano spadek zawartości glukozy we krwi do poziomu poniżej 20 mg%, a czas głębokiej

śpiączki hipoglikemicznej wynosił od 4 do 10 godzin. Oceniane w tym modelu późne zmiany pohipoglikemiczne wykazywały zróżnicowany charakter /Myers, Kahn, 1971/. Dotyczyły one w pierwszej kolejności prążkowiec, następnie kory nowej półkul mózgu i zakrętu hipokampa, przy niemal całkowitym zaoszczędzeniu kory mózdzku. Uchwytne one były już w badaniu makroskopowym i wyrażały się obecnością ognisk martwicy lub jam poudarowych w prążkowiec z ograniczonym zanikiem zakrętów kory mózgu, a niekiedy typowymi cechami zaniku ziarnistego. W obrazie mikroskopowym uszkodzenia prążkowiec miały charakter martwicy zupełnej znajdującej się w różnych fazach procesu rozbiórkowo-reparacyjnego. Podobny obraz znajdowano w zakręcie hipokampa u zwierząt z bardziej nasilonymi uszkodzeniami. W pozostałych zmiany ograniczały się do wybiórczych ubytków komórek piramidowych rogu Amona z wtórnym rozplemem gleju gwiaździstego. W korze mózgu, poza rozlanymi ubytkami neuronów oraz rozrostem mikrogleju zwracały uwagę dwa typy ogniskowej martwicy, z których pierwszy występujący w okolicy ciemieniowej i postcentralnej znamionował się rozlanym zniszczeniem jej warstw powierzchniowych. Zasługuje przy tym na uwagę fakt, iż ten sam typ uszkodzeń korowych Bogolepov i Pavlowskaya /1979/ obserwowali w stanach oligemicznych. Drugi rodzaj uszkodzeń, znamieny przede wszystkim dla okolicy potylicznej polegał na występowaniu ognisk martwicy, nieregularnie rozsianych we wszystkich warstwach kory mózgu. Wtórne ich bliznowacenie prowadziło do powstawania zmian o charakterze zaniku ziarnistego. Autorzy podkreślają przy tym niemal

całkowity brak uszkodzeń mózdzku. Godzi się odnotować, że nie stwierdzono korelacji między głębokością i czasem trwania śpiączki hipoglikemicznej oraz obecnością napadów drgawkowych w okresie pośpiączkowym, a stopniem strukturalnego uszkodzenia tkanki. Występowała natomiast korelacja między stanem neurologicznym w pierwszym okresie po niedocukrzeniu a nieprawidłowościami patomorfologicznymi. Zaskoczeniem dla autorów był natomiast fakt, iż u części zwierząt z ciężkim zespołem neurologicznym w okresie pośpiączkowym, po dłuższym okresie przeżycia nie stwierdzono uszkodzeń tkankowych. Dało to podstawę do przypuszczenia o częściowej przynajmniej odwracalności zmian. Obrzęk mózgu występujący u zwierząt z krótkim przeżyciem po hipoglikemii, dotyczył tylko tych przypadków, w których występowały zaburzenia krążeniowo-oddechowe. W podobnie kontrolowanym modelu doświadczalnej hipoglikemii u małą trwającej od 2 do 8 godz., po podaniu insuliny w łącznej dawce do 1880 U/zwierzę, analiza obrazu neuropatologicznego w okresie pośpiączkowym zamykającym się w granicach od 30 do 240 min pozwoliła na stwierdzenie, że u 7 z 15 zwierząt nie występowały żadne zaburzenia strukturalne /Brierley i wsp. 1971 a, b/. U pozostałych już po upływie 30 min stwierdzono uogólnione nieprawidłowości komórek nerwowych o charakterze mikrowakuolizacji, ewoluujące w dalszych przedziałach czasowych w kierunku typowego schorzenia ischemicznego. Najbardziej wyrażone zmiany patologiczne występowały w korze nowej, przede wszystkim w tylnych obszarach półkul mózgu, w zakręcie hipokampa, głównie w sektorze Sommera oraz w prążkowie,

gdzie dotyczyły wyłącznie małych neuronów. Stosunkowo rzadko zajęta była kora mózdzku. W korze nowej zwracało uwagę dominujące zajęcie warstw III, V i VI, głównie w głębi rowków mózgowych. W rogu Amona jedynym zaoszczędzonym elementem były neurony sektora H₂. Zwracało również uwagę zaakcentowanie zmian patologicznych w obszarach pogranicza unaczynienia dużych tętnic mózgowia, występujące u tych zwierząt, u których w okresie hipoglikemii dochodziło do znacznych spadków układowego tętniczego ciśnienia krwi. Stwierdzone zmiany były identyczne w swoim charakterze, dystrybucji i ewolucji procesu z opisanymi w warunkach hipoksyjno-ischemicznego modelu doświadczalnego u szczurów i głębokiej hipowolemii u małp /Brown, Brierley, 1968; Brierley i wsp., 1969/. Przez analogię do mikroskopowo-elektronowych obserwacji McGee-Russella i wsp. /1970/ oraz Browna i Brierleya /1971, 1972/ zmian patologicznych w hipoksyjnych uszkodzeniach tkankowych, Brierley i wsp. /1971 b/ uważają, że mikrowakuolizacja cytoplazmy neuronów w hipoglikemii odpowiada obrzmieniu mitochondriów i poszerzeniu zbiorników siateczki śródplazmatycznej. Obserwacje patomorfologiczne uzupełnione o ocenę ogólnoustrojowych parametrów fizjologicznych w tym samym modelu doświadczalnym /Meldrum i wsp. 1971/ stały się podstawą wspomnianego poprzednio identyfikowania patomechanizmu uszkodzeń hipoglikemicznych z hipoksyjnym /Brierley, 1976/.

Zasadniczo odmienne wyniki uzyskano w modelu kontrolowanej hipoglikemii u szczurów wprowadzonym przez Agardha i wsp. /1978/ oraz Agardha i Rosena /1979/. Głęboka, prze-

mijająca śpiączka hipoglikemiczna, prowadząca do ustania czynności bioelektrycznej mózgu na okres 30-60 min uzyskiwana była przez podanie insuliny w dawce 40 U/kg masy ciała. Zwierzęta utrzymywano na kontrolowanym oddechu oraz stosowano kurarynę dla uniknięcia napadów drgawkowych. Stała kontrola szeregu zmiennych fizjologicznych pozwalała na wyłączenie takich czynników jak niedotlenienie, kwasica lub alkaloz, spadek ciśnienia tętniczego, hiperkapnia oraz wzrost ciśnienia wewnątrzczaszkowego, które mogłyby zaburzyć "czystość" mechanizmów patogenetycznych. Badania biochemiczne tkanki dotyczące jej zasobów energetycznych i zawartości tlenu, pozwalały uznać występujące zmiany strukturalne za następstwo "czystej" neuroglikopenii.

W tak kontrolowanym modelu wczesne zmiany neuropatologiczne polegały na występowaniu uogólnionych uszkodzeń neuronów w korze mózgu, z ich znacznie mniejszym nasileniem w zakręcie hipokampa i niemal całkowitym brakiem w mózdzku /Agardh i wsp. 1980, 1981 a; Olsson i wsp., 1982/. W korze mózgu, przede wszystkim w okolicy czołowo-ciemieniowej zmiany patologiczne miały uogólniony charakter i nierównomierne rozmieszczenie, z wyraźną jednak przewagą małych komórek i względnym zaoszczędzeniem dużych neuronów piramidowych. W rogu Amona natomiast zajęte były komórki piramidowe. W mózdzku, dyskretne zmiany występowały jedynie w komórkach koszykowych przy niemal całkowitym ich braku w komórkach Purkinjego i ziarnistych /Agardh i wsp., 1981 a/. Nieprawidłowości neuronalne występowały bardzo wcześnie i już u zwierząt usypianych bezpośrednio po niedocukrzeniu

obejmowały około 20-40% populacji komórek nerwowych kory ciemieniowej. Wyróżniono dwa typy zmian neuronalnych. Typ I, pospolitszy i dotyczący przede wszystkim drobnych komórek gwiaździstych, w mikroskopie świetlnym charakteryzował się ich ogólnym obkurczeniem, zagęszczeniem cytoplazmy i jąder oraz ciemnymi wypustkami o falistym przebiegu. Nierzadko w ich bezpośrednim otoczeniu widoczne były drobne mikrowakuole /Agardh i wsp., 1980/. W obrazie mikroskopowo-elektronowym stwierdzano znaczne zagęszczenie struktur cytoplazmatycznych i jądrowych, kondensację części mitochondriów, przy niezmienionej większości spośród nich. Komórki nerwowe często otoczone były obrzmiałymi wypustkami astrocytów /Kalimo i wsp., 1980/. Typ II uszkodzeń neuronalnych, rzadszy i występujący głównie w neuronach głębszych warstw kory charakteryzował się w obrazie histologicznym zmianami tigrolitycznymi, współistniejącymi z obrzmieniem komórki i obecnością drobnych wodniczek na jej obwodzie pod błoną cytoplazmatyczną /Agardh i wsp., 1980/. W obrazie elektronowo-mikroskopowym zmianom tym odpowiadały przejaśnienie hialoplazmy, zubożenie szorstkiej siateczki śródplazmatycznej, szczególnie zaznaczone w obwodowych częściach cytoplazmy przy prawidłowo utrzymanej ultrastrukturze jąder /Kalimo i wsp., 1980/. Obserwacje prowadzone po upływie 3 godzin od śpiączki w warunkach znormalizowanego poziomu glukozy we krwi lecz utrzymującego się nadal obniżonego stężenia związków wysokoenergetycznych w mózgu wskazują, iż liczba komórek typu II ulega w tym czasie zasadniczemu zmniejszeniu, co sugeruje odwracalność tej grupy uszkodzeń

/Olsson i wsp., 1982/. Konkluzją tego cyklu badań było stwierdzenie, że ani typ uszkodzenia komórek nerwowych, ani ich rozkład topograficzny w ośrodkowym układzie nerwowym, potwierdzony później badaniami autoradiograficznymi Kiesslinga i wsp. /1982/, nie przypominają w niczym uszkodzeń hipoksyjno-ischemicznych i stanowią niezależny rodzaj nieprawidłowości strukturalnych ośrodkowego układu nerwowego, uwarunkowanych zaburzeniami metabolicznymi wywołanymi przez niedostatek glukozy odmiennymi niż w niedotlenieniu /Agardh i wsp., 1981 b; Siesjö i wsp., 1982/. W polemice z tym stanowiskiem Brierley i Brown /1981/ traktują zmiany komórkowe opisane przez Agardha i wsp. /1980/ i Kalimo i wsp. /1980/ jako histologiczne artefakty typu "dark neurons" i "hydropic cell changes".

Dla oceny charakteru uszkodzeń tkanki nerwowej, wywołanych wyłącznie przez niedobór glukozy; pozbawiony współudziału dodatkowych czynników patogenetycznych występujących w warunkach in vivo, podejmowano również badania na pozaustrojowej hodowli tkanki. Cechą wspólną dla spostrzeżeń mikroskopowo-elektronowych poczynionych zarówno w hodowli siatkówki /Webster, Ames, 1965 a, b/ jak i tkanek mózgu /Cohen, Hartman, 1964; Fujimoto, 1965; Patel i wsp., 1971/ było poszerzenie zbiorników aparatu Golgiego i kanałów szorstkiej siateczki śródplazmatycznej neuronów. W niektórych przypadkach stwierdzono ponadto bardzo znaczne obrzmienie wypustek gleju gwiaździstego, poszerzenie przestrzeni międzykomórkowych oraz zmiany w strukturze jąder komórek nerwowych.

Opisane poprzednio odrębności obrazu neuropatologicznego encefalopatii hipoglikemicznej u noworodków i niemowląt skłoniło do prób weryfikacji tych różnic w doświadczalnym materiale zwierzęcym. Badania przeprowadzone na noworodkach szczurzych, którym podawano insulinę w dawce 10 i 2 mU/zwierzę, wykazywały większą niż u zwierząt dorosłych odporność na uszkadzające działanie niedocukrzenia /Jones, Thomas-Smith, 1971/. Znalazło to zresztą potwierdzenie w biochemicznej analizie poziomu związków wysokoenergetycznych w mózgu /Mayman, Tijerina, 1971/. Wczesne zmiany patologiczne, występujące u zwierząt z głęboką hipoglikemią, przy poziomie glukozy we krwi poniżej 20 mg%, były bardziej uogólnione niż u zwierząt dorosłych i występowały w korze nowej, zakręcie hipokampa, w prążkowie, wzgórzu, mózdzku a nawet w rdzeniu kręgowym, przy niewątpliwej przewadze uszkodzeń kory, z predylekcją do III warstwy, zakrętu hipokampa oraz prążkowie. Nieprawidłowości neuronalne we wczesnym okresie miały przede wszystkim charakter ostrego obrzmienia komórki z nagromadzeniem mikrowodniczek, w późniejszym ewoluowały w kierunku schorzenia ischemicznego. Późne zmiany zejściowe oceniane po przeżyciu do 6 miesięcy po epizodzie hipoglikemicznym w okresie noworodkowym występowały jedynie w około 50% zwierząt i miały charakter ubytków neuronalnych zlokalizowanych w III i V warstwie kory, w rogu Amona, mózdzku /komórki Purkinjego/ i w rogach przednich rdzenia szyjnego. Towarzyszył im żywy odczyn wytwórczy gleju. Zwracała uwagę pełna mielinizacja oun, niezależna od stopnia uszkodzeń komórkowych i brak

ubytkowych zespołów neurologicznych przez cały okres obserwacji. Nasilenie uszkodzeń tkankowych w obu grupach wykazywało wyraźną zależność od stopnia niedocukrzenia i wieku zwierzęcia, w którym poddane było hipoglikemii.

Hipoglikemia przebiegająca z zanikiem czynności bioelektrycznej mózgu i potencjałów wzbudzonych prowadzi do głębokich zaburzeń metabolizmu węglowodanów w tkance nerwowej i drastycznego spadku zasobów związków wysokoenergetycznych w mózgu, przede wszystkim ATP /Hinzen, Müller, 1974; Meldrum i wsp., 1971; Feise i wsp., 1976; Norberg, Siesjö, 1976; Agardh i wsp., 1978, 1980, 1981 c; Chapman i wsp., 1981; Ghajar i wsp., 1982/. Na uwagę zasługuje przy tym regionalne zróżnicowanie tego spadku, zaznaczające się jego niższym stopniem w mózdzku /Agardh i wsp., 1981 a; Ratcheson i wsp., 1981/ oraz różnice w jego szybkości zależne od stosowania anestezji. U zwierząt nieuspionych jest on znacznie szybszy /Ghajar i wsp., 1982/ niż u zwierząt poddanych anestezji /Norberg, Siesjö, 1976/. Na odnotowanie zasługuje również zależność stopnia obniżenia zasobów energetycznych od wysokości układowego ciśnienia krwi /Agardh i wsp., 1978, 1981 c/. W umiarkowanej hipoglikemii nie dochodzi natomiast do znaczących zmian w zawartości związków wysoko-energetycznych w tkance nerwowej /Tarr i wsp., 1962; Mayman, Tijerina, 1971; Ferrendelli, Chang, 1973/. Upodobnia to ją do stanów niedotlenienia, przebiegających bez zaburzeń krążenia, w których również nie obserwuje się spadku ani trójfosforanów adeninowych ani fosfokreatyny /Zalewska, Domańska-Janik, 1980; Domańska-Janik, Zalewska, 1980/.

W warunkach hipoglikemii przy niezmiennym dopływie tlenu, dochodzi bowiem do uruchomienia zapasowych zasobów energetycznych tkanki i wykorzystania w jej metabolizmie pośrednich substratów metabolizmu beztlenowego i cyklu kwasu cytrynowego, a przede wszystkim aminokwasów /Tews i wsp., 1965; Watanabe i wsp., 1970; Meldrum i wsp., 1971; Ferrendelli, 1974; Agardh i wsp., 1978, 1981 c; Siesjö, 1981/. Wskazuje na to postępujący spadek ich zawartości w mózgu w okresie hipoglikemii. Z punktu widzenia patogenetycznego istotny jest również wzrost zawartości amoniaku /Shaw, Heine, 1965; Tews i wsp., 1965; Levis i wsp., 1974 a; Siesjö i wsp., 1982/. Może on odgrywać istotną rolę w obniżeniu funkcji mózgu w niedocukrzeniu i wystąpieniu drgawek hipoglikemicznych /Meldrum i wsp., 1971/. W przeświadczeniu Siesjö i wsp. /1982/, zasadniczą rolę w rozwoju uszkodzeń komórek nerwowych w hipoglikemii odgrywać mogą przesunięcia pH śródkomórkowego w kierunku jego alkalizacji, związane z opuszczaniem komórki przez kwaśne węglany /Pelligrino i wsp., 1979, 1981; Pelligrino, Siesjö, 1981/. Pod tym względem hipoglikemia różni się istotnie od zespołów hipoksyjno- -ischemicznych, przebiegających z zakwaszeniem środowiska, stanowiącym następstwo nagromadzenia kwaśnych produktów przemiany beztlenowej, przede wszystkim mleczanów /Albaum i wsp., 1953; Cohen, 1966; Bertman, Siesjö, 1978; Hansen, Nordström, 1979/. Zaburzenia metabolizmu energetycznego tkanki nerwowej w hipoglikemii insulinowej nie ograniczają się wyłącznie do energetycznych następstw obniżonej dostępności glukozy do mózgu w związku ze spadkiem jej stężenia

we krwi, tym bardziej, iż insulina zwiększa transport glukozy z krwi do mózgu, być może poprzez aktywację jej śródbłonkowego nośnika /Gottstein, Held, 1967, 1969; Butterfield i wsp., 1966; Hertz i wsp., 1981/. Jest on zresztą regionalnie zróżnicowany i jak wykazały badania Abdul-Rahmana i Siesjö /1980/ dostępność glukozy do kory mózgu i kory amonalnej jest niższa w warunkach prawidłowych niż do mózdzku i pnia mózgu. Hipoglikemia to zróżnicowanie pogłębia. Prowadzi ona również do obniżenia metabolizmu glukozy w mózgu, czego wyrazem jest zmniejszenie różnicy tętniczo-żylniej glukozy, stwierdzone przez Meldruma i wsp. /1971/ oraz obniżenie jej wskaźnika metabolicznego /CMR/ opisane przez Norberga i Siesjö /1976/, Agardha i wsp. /1980/ oraz Ghajara i wsp. /1982/.

Hipoglikemia oddziałuje również na inne tory metabolizmu komórkowego. Jej następstwem są zmiany w zawartości fosfolipidów, stanowiących istotny składnik błon komórkowych /Hinzen i wsp., 1970; Agardh i wsp., 1981 c/. Dochodzi do gromadzenia w tkance wolnych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych przede wszystkim kwasu arachidonowego i uruchomienia, wobec normalnej prężności tlenu syntezy prostaglandyn i reakcji wolnorodnikowych /Siesjö, 1981; Agardh i wsp., 1981 c; Agardh, Siesjö, 1981; Siesjö i wsp., 1982/. Regionalne zróżnicowanie wbudowywania aminokwasów do mózgu w hipoglikemii wykazane przez Kiesslinga i wsp. /1982/ sugeruje zaburzenia biosyntezy białek stwierdzone uprzednio przez Mettera i Yanagiharę /1979/. Istotne są również zaburzenia gospodarki wodno-elektrolitowej. Arief i wsp.

/1973/ stwierdzili wzrost zawartości wody w mózgu u hipoglikemizowanych psów. Według Feise i wsp. /1976/ natomiast obrzęk mózgu, oceniany na podstawie zawartości wody nie stanowi stałego następstwa hipoglikemii. Obniżenie metabolizmu energetycznego prowadzi do zaburzeń polaryzacji błon komórkowych i ucieczki potasu do przestrzeni międzykomórkowych /Astrup, Norberg, 1976/ oraz do zwiększenia śródkomórkowego stężenia jonów wapnia, związanego z jego zwiększonym napływem przez uszkodzone błony cytoplazmatyczne i uwalnianiem z miejsc śródkomórkowej sekwestracji /Siesjö i wsp., 1982/.

Z punktu widzenia patogenezy strukturalnych uszkodzeń mózgu w hipoglikemii istotne znaczenie ma jej wpływ na mózgowy przepływ krwi. U ludzi jest on nieznaczny /Siesjö, 1978; Siesjö i wsp., 1982/. U kuraryzowanych i sztucznie wentylowanych szczurów hipoglikemia powoduje wzrost mózgowego przepływu krwi /Norberg, Siesjö, 1976; Abdul-Rahman i wsp., 1980; Nilsson i wsp., 1981/. Nie obserwuje się go natomiast u zwierząt nieuspionych /Ghajar i wsp., 1982/. Godny odnotowania jest również fakt regionalnego zróżnicowania przepływu mózgowego w hipoglikemii i hipoperfuzji licznych okolic mózgowia w okresie po niedocukrzeniu /Abdul-Rahman i wsp., 1980/. Koresponduje to z wcześniejszymi spostrzeżeniami Höpfera /1954/, który metodami morfologicznymi stwierdził rozsiane ogniska upośledzonego ukrwienia mózgu we wczesnym okresie pohipoglikemicznym. Odnotować również należy zanik mechanizmów autoregulacyjnych krążenia mózgowego w warunkach hipoglikemii /Nilsson i wsp., 1981/.

Pelligrino i wsp., 1981; Siesjö i wsp., 1982/. Fakt ten uzależnia całkowicie przepływ mózgowy od wysokości układowego ciśnienia tętniczego krwi, którego wahania związane z wrażliwością mięśnia sercowego na niedostatek glukozy, wtórnie prowadzić mogą do rozwoju patologii niedokrwiennej ośrodkowego układu nerwowego.

Przedstawione powyżej informacje dotyczące zaburzeń metabolicznych ośrodkowego układu nerwowego towarzyszących hipoglikemii pochodzą w zasadniczej części z badań prowadzonych na modelu głębokiego niedocukrzenia z użyciem bardzo wysokich dawek insuliny /40 U/kg masy ciała zwierzęcia/. Dane w stosunku do mniej głębokiej hipoglikemii z jaką w większości przypadków mamy do czynienia w patologii ludzkiej są fragmentaryczne. Nawet przedstawione powyżej wszechstronne badania grupy Siesjö nie rozstrzygają jednoznacznie molekularnych mechanizmów uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego spowodowanych niedocukrzeniem, mimo iż w sposób wysoce przekonujący eksponują ich różnice w stosunku do zespołów hipoksyjno-ischemicznych /Siesjö i wsp., 1982/. Nie wiadomo przy tym w jakiej mierze są one uniwersalne to znaczy odzwierciedlają zaburzenia towarzyszące każdemu typowi hipoglikemii, a nie tylko niedocukrzeniu insulinowemu. Nieliczne doświadczenia z hipoglikemią wywołaną przez inne czynniki poza insuliną wskazują na jej odmienny przebieg /Konitzer, Voigt 1969; Naquet i wsp., 1970/. Nie można bowiem wyłączyć innego jeszcze, poza hipoglikemizującym, działania insuliny na ośrodkowy układ nerwowy. Wykrycie receptorów insulinowych nie tylko

w naczyniach mózgu /Havrankowa, 1978; Van Houten, Posner, 1979; Van Houten i wsp., 1979/ lecz także w komórkach glejowych /Albrecht i wsp., 1982/ sugeruje i taką możliwość. Jak wspomniano poprzednio insulina zwiększa transport glukozy i aminokwasów z krwi do mózgu zarówno u ludzi zdrowych jak i chorych na cukrzycę /Butterfield i wsp., 1966; Gottstein, Held, 1967, 1969; De Montis i wsp., 1978; Hertz i wsp., 1981/. Konitzer i Voigt /1969/ wykazali, iż przyspiesza ona zużycie glukozy w metabolizmie niektórych aminokwasów, a Mellerup i Rafaelson /1969/ stwierdzili, że dokomorowe podanie insuliny prowadzi do zwiększenia zasobów glikogenu w ośrodkowym układzie nerwowym.

Z przedstawionego powyżej przeglądu wynika również, że nie rozstrzygnięta jest jednoznacznie kwestia patomorfologii ośrodkowego układu nerwowego w doświadczalnej hipoglikemii. Doświadczenia Höpkera /1954/ budzą zastrzeżenia metodyczne. Używane w nich były szczury o masie ciała około 100 g, a nie zwierzęta w pełni dojrzałe, co ma istotne znaczenie wobec znanej odmienności reakcji niedojrzałej tkanki nerwowej, zastosowana była insulina o przedłużonym działaniu, która powoduje mniej gwałtowny spadek zawartości glukozy we krwi, grupy zwierząt były bardzo zróżnicowane zarówno w odniesieniu do dawek hormonu jak i czasu przeżycia, a liczebnie niewielkie. Materiał doświadczalny nie był perfundowany, co może mieć istotne znaczenie dla oceny subtelnych uszkodzeń komórkowych we wczesnym okresie. Badania Brierleya i wsp. /1971 a, b/ z kolei ograniczają się do obserwacji w mikroskopie świetlnym i omówienia ich

możliwego podłoża ultrastrukturalnego, jedynie przez analogię w stosunku do zmian o podłożu hipoksyjno-ischemicznym. Budzą one wątpliwości Olssona i wsp. /1982/ co do pełnego wyłączenia współdziałania czynników związanych z zaburzeniami krążeniowo-oddechowymi i co do sposobu utrwalania materiału. Spostrzeżenia Agardha i wsp. /1980/ oraz Kalimo i wsp. /1980/ oparte o analizę obrazów w mikroskopie świetlnym i elektronowym, w kontrolowanym modelu hipoglikemii insulinowej wzbudziły metodyczne zastrzeżenia Brierleya i Browna /1981/. Uzyskano je przy tym w hipoglikemii z użyciem bardzo wysokich dawek insuliny, a analiza zmian nie przekraczała okresu 3 godz.

Skłoniło to do podjęcia próby porównania obrazu patomorfologicznego encefalopatii hipoglikemicznej u ludzi z następstwami doświadczalnego niedocukrzenia u szczurów, z użyciem możliwie najniższych śpiączkowych dawek insuliny, w okresie co najmniej 48 godz.

C E L B A D A Ń

Wobec znacznego zróżnicowania patomorfologicznych opisów strukturalnych uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego, stanowiących następstwo hipoglikemii i kontrowersyjności poglądów na temat ich przyczynowego uwarunkowania, podjęto porównawczą analizę obrazu neuropatologicznego encefalopatii hipoglikemicznej u ludzi i następstw tkankowych doświadczalnego niedocukrzenia u zwierząt.

Bezpośrednim celem badań była patomorfologiczna charakterystyka zmian tkankowych w ośrodkowym układzie nerwowym u ludzi i zwierząt doświadczalnych w następstwie przebytego niedocukrzenia oraz ocena ich ewolucji, a także próba odpowiedzi na pytanie, które z uszkodzeń strukturalnych składających się na obraz neuropatologiczny encefalopatii hipoglikemicznej, uwarunkowane są stanem niedocukrzenia, a które mogą stanowić następstwo towarzyszących niedocukrzeniu powikłań takich jak zaburzenia krążeniowo-oddechowe, drgawki lub wzmożone ciśnienie wewnątrzczaszkowe.

Dla spełnienia tego celu badania doświadczalne prowadzono w dwóch grupach zwierząt:

- Grupę pierwszą stanowiły szczury, u których przy użyciu możliwie najniższej dawki insuliny /0,5 U/100 g masy ciała/ wywoływano krótkotrwałą śpiączkę, niepowikłaną zarówno w czasie stanu śpiączkowego, jak i w

okresie pościączkowym żadnymi dodatkowymi objawami klinicznymi.

- Grupę drugą - zwierzęta, u których wobec zastosowania wzrastających dawek insuliny /1-5 U/100 g masy ciała/ śpiączka hipoglikemiczna powikłana była stale zaburzeniami ze strony układu krążenia, oddychania i drgawkami.

Dodatkowym celem badań była mikroskopowo-elektronowa charakterystyka encefalopatii hipoglikemicznej, uboga w piśmiennictwie neuropatologicznym i ograniczona do danych dotyczących wyłącznie wczesnych okresów pościączkowych, uniemożliwiających ocenę dynamiki zmian cytopatologicznych.

M A T E R I A Ł I M E T O D Y

Zgodnie z założeniami pracy, badania przeprowadzono na autopsyjnym materiale ludzkim i doświadczalnym zwierzęcym.

1. MATERIAŁ LUDZKI

Autopsyjny materiał ludzki obejmował mózgowia /w jednym przypadku łącznie z rdzeniem kręgowym/ 10 chorych zmarłych; bądź w stanie niedocukrzenia, przebiegającego pod postacią śpiączki hipoglikemicznej /4 przypadki/, bądź też w okresie od 1 godziny do 3 tygodni po przebyciu głębokiego stanu hipoglikemicznego /6 przypadków/.

1.1. Ogólna charakterystyka materiału

Badane przypadki dotyczyły 6 kobiet i 4 mężczyzn, zmarłych w wieku od 24 do 82 lat. Średnia wieku zmarłych wynosiła 54 lata. Dziewięciu spośród nich chorowało na cukrzycę, trwającą od 18 lat do kilku tygodni i leczonych było insuliną. Okres stosowania insuliny był zmienny i wynosił podobnie jak okres rozpoznanej choroby od kilkunastu lat do kilku tygodni. Nie pokrywał się on jednak ściśle z czasem trwania choroby. Ze skąpej dokumentacji

klinicznej wiadomo, że 5 chorych przechodziło uprzednio kilkakrotne stany hipoglikemii o różnej głębokości i czasie trwania. U 3 chorych stan niedocukrzenia w końcowym okresie życia był pierwszym i jedynym epizodem hipoglikemicznym.

W jedynym "pozacukrzycowym" przypadku przyczyna śpiączki hipoglikemicznej nie została ustalona ani klinicznie ani w badaniu pośmiertnym. Wiadomo jednakże, że w okresie poprzedzającym chory nie przechodził nigdy podobnych stanów chorobowych. Najniższy poziom glukozy we krwi w okresie końcowego stanu hipoglikemicznego zawierał się w granicach od 10,5 mg% w przypadku najmłodszego chorego, z poprzedzającymi objawami klinicznymi organicznego uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego, do 52 mg% u chorej z krótkotrwałą cukrzycą, charakteryzującą się najwyższymi wartościami glukozy we krwi w okresie poprzedzającym wystąpienie śpiączki hipoglikemicznej.

Podstawowemu zespołowi klinicznemu we wszystkich przypadkach towarzyszyły dodatkowe procesy chorobowe, o różnym zaawansowaniu i czasie trwania, które w sposób istotny mogły wpływać na stan ośrodkowego układu nerwowego. W 4 przypadkach występowały kliniczne cechy niewydolności krążenia, w 2 rozpoznano nieswoiste zapalenie płuc i dróg oddechowych, w 2 uogólnione stwardnienie tętnic, a w 2 - stan ropowiczy lub septyczny. Dwóch chorych obciążonych było czynnym procesem gruźliczym, w tym jeden z zajęciem ośrodkowego układu nerwowego. U jednego rozpoznano organiczne uszkodzenie mózgu po przebytych zapaleniu oponowo-mózgowym.

Badanie pośmiertne wykazało w 5 przypadkach zmiany w sercu lub narządowe wykładniki jego niewydolności. W 3 przypadkach stwierdzono uogólnione stwardnienie tętnic, różnego nasilenia, a w 7 - nieswoisty proces zapalny w płucach lub dolnych drogach oddechowych. Czynny proces gruźliczy płuc występował u 3 zmarłych. Podstawowe dane kliniczne i spostrzeżenia anatomo-patologiczne zestawiono w tabeli 1.

1.2. Metody badań

Mózgi pobierano podczas sekcji ogólnej, wykonywanej w okresie 6-60 godz. po śmierci, utrwalano w całości w zobojętnionej 10% formalinie. Sekcję mózgu wykonywano według metody Spielmeyera. Do badań mikroskopowych pobierano wycinki z płatów czołowych, ciemieniowych, skroniowych i potylicznych półkul mózgu, ze zwojów podstawy, śródmózgowia, mostu, opuszki i mózdzku. W jednym przypadku pobrano dodatkowo wycinki z reprezentatywnych poziomów rdzenia kręgowego. Bloki tkankowe w rutynowy sposób przeprowadzano do parafiny. Skrawki parafinowe barwiono hematoksyliną-cozyną, fioletem krezyłu oraz według metody Heidenhaina na osłonki mielinowe. W 4 przypadkach barwienie fioletem krezyłu i według metody Heidenhaina zastąpiono barwieniem według Klüvera-Barrery, ujawniającym równocześnie elementy komórkowe ośrodkowego układu nerwowego i osłonki mielinowe. W 1 przypadku zastosowano dodatkowo barwienie według metod Holzera i van Giesona i impregnację na włókna srebrochłonne według Griedleya.

Tabela 1. Charakterystyka kliniczna i anatomo-patologiczna

Lp.	Przypadek	Płeć	Wiek	Rozpoznanie kliniczne	Charakterystyka cukrzycy	Stany hipoglikemiczne		Dane anatomo-patologiczne
						poprzedzające	końcowy	
1.	K.M.155/67	m	36 l	Cukrzyca. Stan ropowiczy. Ropień wątroby. Ketonemia.	Wywiad 12-letni. Przebieg chwiejny. Powtarzające się epizody śpiączki kwasicznej. Leczenie insuliną. Maksymalne odnotowane wartości glukozy we krwi: 840 mg%.	Wielokrotne stany hipoglikemiczne ze śpiączką.	Kilkugodzinna śpiączka hipoglikemiczna poprzedzająca zejście śmiertelne. Poziom glukozy we krwi w stanie hipoglikemicznym: 20 mg%.	Powiększenie, stłuszczenie i rozsiane ogniska martwicy wątroby. Zanik prosty trzustki, grudkowe obrzmienie śledziony. Nerczyca. Rostrzeń serca, stłuszczenie mięśnia serca.
2.	S.D.2531/ 1110	k	62 l	Cukrzyca. Zespół Klimmelstela-Wilsona. Zwyródnienie mięśnia sercowego w okresie niewydolności krążenia. Blok przedsionkowo-komorowy. Obrzęk płuc. Stwardnienie naczyń.	Wywiad 3-letni. Leczenie insuliną. Maksymalne odnotowane wartości glukozy we krwi: 186 mg%.	Wielokrotne stany niedocukrzenia ze śpiączką.	Kilkugodzinna śpiączka hipoglikemiczna. Śmierć w kilka godzin po wprowadzeniu ze śpiączki. Poziom glukozy we krwi w stanie hipoglikemicznym: 40 mg%.	Przerost mięśnia sercowego. Obrzęk płuc. Stwardnienie naczyń średniego stopnia. Grudkowate obrzmienie śledziony. Zwyródnienie trzustki. Oryłość.
3.	Z.M.362/77	k	78 l	Cukrzyca. Stan hipoglikemiczny. Choroba nadciśnieniowa. Zwyródnienie mięśnia sercowego w okresie niewydolności krążenia. Zapalenie płuc. Stwardnienie uogólnione tętnic.	Wywiad 10-letni. Od 5 lat systematyczne leczenie insuliną. Brak danych odnośnie poziomu glukozy przed śpiączką hipoglikemiczną.	Brak danych.	Śpiączka hipoglikemiczna, w czasie której nastąpiło zejście śmiertelne. Poziom glukozy we krwi w stanie hipoglikemicznym: 28 mg%.	Obustronne odoskrzelowe zapalenie płuc. Rostrzeń oskrzeli. Krwotok do nadnercza lewego. Uogólnione zmiany miażdżycowe.
4.	P.E.1286/67	m	54 l	Cukrzyca. Gruźlicze zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. Włóknisto-jamista gruźlica płuc w fazie nacieczenia i rozpadu.	Cukrzyca rozpoznana na kilka tygodni przed zgonem. Maksymalny poziom glukozy we krwi przed stanem hipoglikemicznym: 150 mg%.	Stany niedocukrzenia nie występowały.	Śpiączka hipoglikemiczna na 7 dni przed zejściem śmiertelnym. Poziom glukozy we krwi w stanie hipoglikemicznym: 20 mg%.	Włóknisto-jamista gruźlica płuca lewego z rostrzeniami oskrzeli. Odoskrzelowe zapalenie płuca prawego. Zastój żylny i obrzęk płuc. Zwyródnienie mięśnia sercowego.

Tabela 1. Charakterystyka kliniczna i anatomiczno-patologiczna, cd.

Lp.	Przypadek	Płeć	Wiek	Rozpoznanie kliniczne	Charakterystyka cukrzycy	Stany hipoglikemiczne		Dane anatomiczno-patologiczne
						poprzedzające	końcowy	
5.	R.Z.1236/76	k	71 l.	Cukrzyca. Wyniszczenie. Stan hipoglikemiczny. Zwrodnienie mięśnia sercowego w okresie niewydolności krążenia. Wole guzowate nietoksyczne zamostkowe.	Wywiad 10-letni. Przebieg chwiejny. Powtarzające się stany śpiączki kwasicy. Leczenie insuliną od 5 lat. Maksymalne odnotowane wartości glukozy we krwi w okresie poprzedzającym śpiączkę hipoglikemiczną: 300 mg%.	Wielokrotne stany hipoglikemiczne ze śpiączką.	Klikudniowy stan hipoglikemiczny, w okresie którego nastąpiło zejście śmiertelne. Poziom glukozy we krwi w stanie hipoglikemicznym: 30 mg%.	Zastój żylny i obrzęk płuc. Ropno-śluzowe zapalenie oskrzeli. Gruźlica włóknista szczytów płuc. Złośliwa martwica nerek. Zanik włóknisty trzustki. Wole pozamostkowe. Wyniszczenie.
6.	M.J.1545/65	k	46 l.	Cukrzyca. Stan splątaniowo-majaczeniowy w przebiegu schizofrenii. Stan hipoglikemiczny.	Cukrzyca rozpoznana na 6 miesięcy przed zgonem. Kilkakrotna śpiączka kwasicy. Leczenie insuliną. Maksymalne odnotowane wartości glukozy we krwi w okresie poprzedzającym stan hipoglikemiczny: 600 mg%.	Epizodów hipoglikemicznych nie odnotowano.	Śpiączka hipoglikemiczna na 2 dni przed zejściem śmiertelnym. Poziom glukozy we krwi w stanie hipoglikemicznym: 52 mg%.	Zapalenie oskrzeli. Otyłość.
7.	S.G.104/64	k	51 l.	Cukrzyca. Posocznica nerkowopochodna. Zwrodnienie mięśnia sercowego w okresie niewydolności krążenia. Otyłość.	Wywiad 18-letni. Przebieg chwiejny. Leczenie insuliną od początku choroby. Maksymalne wartości glukozy we krwi w okresie poprzedzającym stan hipoglikemiczny: 500 mg%.	Wielokrotne stany hipoglikemiczne ze śpiączką.	Śpiączka hipoglikemiczna na 7 dni przed zejściem śmiertelnym. Poziom glukozy we krwi w stanie hipoglikemicznym: 40 mg%.	Przerost lewej komory serca z poszerzeniem komory prawej. Zastój i obrzęk płuc. Rozlane odoskrzelowe zapalenie płuc. Otyłość. Stwardnienie tętnic.
8.	S.M.6268/74	k	82 l.	Cukrzyca. Śpiączka hipoglikemiczna. Podejrzenie udaru mózgu.	Wywiad 5-letni. Leczenie insuliną. Brak danych odnośnie poziomu glukozy we krwi w okresie poprzedzającym stan hipoglikemiczny.	Brak danych.	Dwudniowa śpiączka hipoglikemiczna, wśród której nastąpił zgon. Poziom glukozy we krwi w stanie hipoglikemicznym: 22 mg%.	Przewlekłe zapalenie trzustki z martwicą tłuszczową. Zakrzep tętnicy śledzionowej. Uogólnione stwardnienie tętnic. Otyłość.

Tabela 1. Charakterystyka kliniczna i anatomo-patologiczna, cd.

Lp.	Przypadek	Płeć	Wiek	Rozpoznanie kliniczne	Charakterystyka cukrzycy	Stany hipoglikemiczne		Dane anatomo-patologiczne
						poprzedzające	końcowy	
9.	C.M.10158/ 76	m	56 l.	Śpiączka hipoglikemiczna niewiadomego pochodzenia. Zapalenie płuc. Podejrzenie marskości wątroby.	-----	-----	Kilkudniowa śpiączka hipoglikemiczna, wśród której nastąpiło zejście śmiertelne. Poziom glukozy we krwi w stanie hipoglikemicznym: 23 mg%.	Odoskrzelowe zapalenie płuca prawego. Gruźlica włóknisto-guzkowa płuca prawego. Rozedma pęcherzykowa płuc. Przerost wtórny serca. Łagodna marskość wątroby.
10.	K.J.1/70	m	24 l.	Cukrzyca. Zespół urojeniowy u osobnika z encefalopatią po przebyłym zapaleniu opon i mózgu.	Wywiad 2,5-letni. Leczenie insuliną. Maksymalne odnotowane wartości glukozy we krwi w okresie poprzedzającym stan hipoglikemiczny: 382 mg%.	Wielokrotne stany hipoglikemiczne ze śpiączką.	Sześciodniowa śpiączka hipoglikemiczna po przedawkowaniu insuliny. Zejście śmiertelne w 3 tyg. po śpiączce. Poziom glukozy we krwi w stanie hipoglikemicznym: 10,5 mg%.	Ropne zapalenie oskrzeli, niedodma ogniskowa dolnych płatów płuca obustronna. Rostrzeń serca, zwłaszcza komory prawej. Zwióknienie mięśnia serca. Zwyrodnienie tłuszczowe trzustki. Zanik kory nadnerczy. Zanik prosty wątroby i nerek. Wypłyczenie.

2. MATERIAŁ ZWIERZĘCY

Badania doświadczalne przeprowadzono na 2-miesięcznych szczurach białych rasy Wistar, obojga płci, o masie ciała wynoszącej średnio 180-250 g, u których wywoływano stan hipoglikemiczny przez jednorazowe podanie podskórnej iniekcji krystalicznej insuliny firmy Polfa, rozpuszczonej w fizjologicznym roztworze soli kuchennej. O wyborze tej postaci insuliny zdecydowało jej szybkie i krótkotrwałe działanie. Do doświadczeń użyto łącznie około 400 zwierząt.

W celu ujednoczenia warunków badań zwierzętom doświadczalnym na 24 godz. przed podaniem insuliny odstawiano pokarm, pozostawiając swobodny dostęp do wody.

2.1. Ogólna charakterystyka materiału

Badania doświadczalne przeprowadzono w dwóch grupach zwierząt. Podstawą podziału na grupy była wielkość dawki insuliny oraz stan kliniczny zwierząt.

Grupę I stanowiły szczury, którym podano insulinę w dawce 0,5 U/100 g masy ciała. Prowadziło to do wystąpienia krótkotrwałego stanu śpiączkowego, z którego zwierzęta wybudzały się samoistnie po upływie 10-30 min. U zwierząt tej grupy zarówno w stanie śpiączkowym jak i w okresie 48-godzinnej obserwacji nie występowały zaburzenia krążeniowe i oddechowe ani też napady drgawkowe. Pojedyncze zwierzęta, u których pojawiły się tego typu nieprawidłowości kliniczne zostały wyłączone z badanego materiału.

Grupę II stanowiły szczury, którym podawano insulinę w dawce 1, 2, 3, 4 i 5 U/100 g masy ciała. Powodowało to wystąpienie stanu śpiączkowego, trwającego bądź podobnie jak w grupie I od 10 do 30 min, bądź znacznie przedłużonego, z którego część zwierząt nie wybudzała się samoistnie, ginąc w czasie krótszym od założonego 48-godzinne go okresu obserwacji. Przy zastosowaniu insuliny w dawce 4 i 5 U/100 g masy ciała nie udało się utrzymać zwierząt przy życiu do 24 godz. Najdłuższy okres obserwacji w tym przypadku wynosił 4 godz. Cechą dominującą obrazu klinicznego tej grupy zwierząt były zaburzenia krążeniowo-oddechowe /tachykardia, sinica, objawy obrzęku płuc, przyspieszenie oddechu, występowanie nieprawidłowych form oddechu/ oraz napady drgawkowe, występujące zarówno przed, w trakcie, jak i po stanie śpiączkowym. Zwierzęta, które padły przed zakończeniem założonego okresu obserwacji zostały wyeliminowane z dalszych badań.

Grupę kontrolną stanowiły szczury, którym podawano podskórną injekcję fizjologicznego roztworu chlorku sodu w takiej samej objętości jaką otrzymywały zwierzęta doświadczalne. Podobnie jak w przypadku zwierząt doświadczalnych, pozbawiano je pokarmu, przy zachowanym dostępie do wody na okres 24 godz. przed injekcją fizjologicznego roztworu NaCl.

Przeprowadzone badania obejmowały analizę stanu morfologicznego ośrodkowego układu nerwowego przy zastosowaniu metod histologicznych, histochemicznych i mikroskopowo-elektronowych, uzupełnioną oceną stanu mikrokrążenia w

mózgu. Stan niedocukrzenia scharakteryzowano oznaczając zawartość glukozy we krwi w okresie od podania insuliny do 48 godz. po iniekcji.

Pełny cykl badań przeprowadzono w grupie I, stanowiącej podstawowy materiał doświadczalny dla oceny wpływu "niepowikłanego" niedocukrzenia. W grupie II, w której można było oczekiwać nieprawidłowości uwarunkowanych zarówno niedocukrzeniem, jak i towarzyszącymi mu zaburzeniami krążeniowo-oddechowymi oraz zjawiskami związanymi ze stanami drgawkowymi, badania ograniczono do określenia poziomu glukozy we krwi zwierząt oraz histopatologicznej oceny ośrodkowego układu nerwowego.

2.2. Metody badań

2.2.1. Oznaczanie zawartości glukozy we krwi

Oznaczanie zawartości glukozy we krwi przeprowadzono w obu grupach doświadczalnych i kontrolnych. U zwierząt doświadczalnych stężenie glukozy określano bezpośrednio przed podaniem insuliny oraz po upływie 1, 2, 3, 4, 5, 6, 24 i 48 godz. po jej zastosowaniu. Każda grupa czasowa reprezentowana była przez 5 zwierząt doświadczalnych i 5 kontrolnych.

Zawartość glukozy we krwi oznaczano przy zastosowaniu metody ortotoluidynowej wg. Krygera /1963/.

Zasada metody polega na wykorzystaniu barwnej reakcji bezwodnych amin aromatycznych z aldozami. Mierzy się

kolorymetrycznie natężenie barwy, proporcjonalne do zawartości cukru i porównuje z zabarwieniem roztworu wzorcowego. Orto-toluidyna wykazuje reakcję barwną wyłącznie z aldoheksozami - glukozą i galaktozą, nie reaguje ona z fruktozą. Przy zastosowaniu metody oznacza się bezpośrednio cukry wolne we krwi. W warunkach prawidłowych jest to wyłączny pomiar glukozy, dlatego też uzyskiwane wartości są z zasady niższe od uzyskiwanych przy zastosowaniu metod redukcyjnych.

Oznaczanie glukozy przeprowadzono w sposób następujący: 0,1 ml krwi dodawano do 1 ml 3% kwasu trójchlorooctowego. Próbę wirowano przez 5 min., następnie pobierano 0,2 ml nadsącza, do którego dodawano 1,8 ml odczynnika o-toluidynowego. Mieszaninę umieszczano we wrzącej łaźni wodnej na 8 min. Po oziębieniu natężenie zabarwienia próby oznaczano w spektrokolorymetrze "Specol", f-my Zeiss, przy długości fali 630 nm, wobec próby ślepej, zawierającej 0,2 ml 3% kwasu trójchlorooctowego oraz 1,8 ml odczynnika o-toluidynowego. Zawartość glukozy w badanym materiale oznaczano z porównania z wartościami uzyskanymi z roztworem wzorcowym.

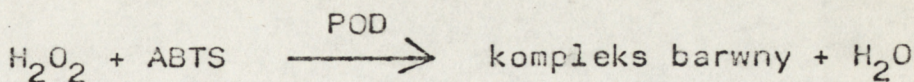
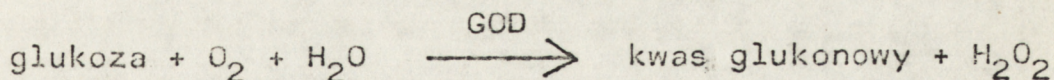
Przygotowanie odczynnika o-toluidynowego: 1,5 g tiomocznika rozpuszczano w 940 ml lodowatego kwasu octowego oraz dodawano 60 ml przedestylowanego roztworu wodnego orto-toluidyny.

Przygotowanie macierzystego roztworu wzorcowego glukozy: 100 mg glukozy wysuszonej do masy stałej w temp. 60° rozpuszczano w 100 ml wody redestylowanej.

Przygotowanie standardu glukozy: 0,1 ml macierzystego wzorcowego roztworu glukozy dodawano do 1 ml 3% roztworu kwasu trójchlorooctowego. Po wymieszaniu pobierano 0,2 ml tego roztworu i dodawano 1,8 ml odczynnika orto-toluidynowego. Dalsze postępowanie jak z próbą właściwą.

Wyniki uzyskane metodą ortotoluidynową zostały w przypadku grupy I zweryfikowane oznaczeniami spektrofotometrycznymi przy użyciu testów f-my Boehringer.

Zasada metody oparta jest na reakcji utleniania glukozy w obecności oksydazy d-glukozy /GOD/ do kwasu glukonowego, przy czym powstaje nadtlenek wodoru /H₂O₂/. W obecności peroksydazy /POD/ nadtlenek wodoru zostaje zredukowany do wody, utleniając równocześnie ABTS /dwuamonowa sól kwasu 2,2'-azyno-dwu/3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowego/, którego utleniona forma charakteryzuje się niebiesko-fioletowym zabarwieniem. Ilość powstałego barwnika jest wprost proporcjonalna do ilości glukozy zawartej w badanej próbce materiału. Przebieg reakcji obrazują przedstawione poniżej wzory:



Oznaczenia glukozy przeprowadzono w sposób standardowy, wg przepisu stosowanych testów, posługując się próbkami

krwi odbiałczonymi octanem uranylu /Schmidt, 1971/. Oznaczenia wykonano na spektrofotometrze Spekord Uv-vis, f-my Zeiss, przy długości fali 580 nm.

2.2.2. Badanie histopatologiczne ośrodkowego układu nerwowego

Badania histopatologiczne przeprowadzono na mózgach zwierząt obu grup doświadczalnych, zabijanych po upływie 1, 2, 4, 6, 24 i 48 godz. po podaniu insuliny. Każda grupa czasowa obejmowała mózgi 2 zwierząt doświadczalnych i 1 kontrolnego. W płytkiej narkozie eterowej wykonywano u zwierząt przezsercową perfuzję 10% roztworem zobojętnionej formaliny w 0,9% roztworze chlorku sodu. Następnie zwierzęta dekapitowano, a odcięte głowy pozostawiano na noc w płynie perfuzyjnym w temp. 4°C. Mózgi po wyjęciu z jamy czaszki krojono cięciami czołowymi przechodzącymi na wysokości skrzyżowania nerwów wzrokowych, guza popielatego oraz granicy mostu i opuszki. Bloki tkankowe w sposób rutynowy przeprowadzano do parafiny. Skrawki parafinowe barwiono hematoksyliną i eozyną, fioletem krezyłu oraz według metody Heidenhaina.

2.2.3. Badanie histochemiczne ośrodkowego układu nerwowego

Badania histochemiczne obejmowały tkankową lokalizację złogów glikogenu oraz ocenę aktywności adenozyntotrójfosfatazy

/E.C.3.6.1.3. fosfohydrolaza ATP/ i monofosfatazy kwaśnej
/E.C.3.1.3.2. fosfohydrolaza monoestrów ortofosforanowych/.

Histochemiczne oznaczanie glikogenu przeprowadzono u zwierząt grupy I z 4, 6, 24 i 48-godzinnym przeżyciem po podaniu insuliny. Zwierzęta każdej grupy czasowej, obejmującej 3 szczury doświadczalne i 1 kontrolny, dekapitowano bez narkozy. Mózg po wyjęciu z jamy czaszki krojono na bloki cięciami czołowymi na wysokości skrzyżowania nerwów wzrokowych, guza popielatego i pogranicza mostowo-opuszkowego. Bloki tkankowe utrwalano przez 48 godz. w płynie Rossmana, a następnie przeprowadzano w sposób rutynowy do parafiny. Na skrawkach parafinowych wykonywano odczyn PAS wg Mc Manusa /1946/ oraz PAS-dimedon według Bulmera /1959/.

Przesłanką do przeprowadzenia histochemicznego badania zawartości glikogenu w mózgu był fakt uznania jego gromadzenia się w tkance nerwowej jako wykładnika zaburzeń metabolizmu glukozy /Mossakowski, Zelman, 1979/ oraz wykazanie ilościowych zmian w jego zawartości w ośrodkowym układzie nerwowym w następstwie niedocukrzenia /Albrecht i wsp., 1979/.

Histochemiczne oznaczanie aktywności adenozynotrójfosfatazy wykonano u zwierząt grupy I zabijanych przez dekapitację po upływie 1, 2, 4, 6, 24 i 48 godz. po podaniu insuliny. Każda grupa czasowa zawierała po 3 zwierzęta doświadczalne i 1 - kontrolne. Po dekapitacji mózgowia wyjmowano z jamy czaszki i utrwalano je przez okres 24 godz.

w temp. 4°C w formalinie Beckera /1% roztwór chlorku wapnia -CaCl₂- w 4% zobojętnionej formalinie/. Po utrwaleniu mózgowia krojono na bloki w płaszczyźnie czołowej na wysokości skrzyżowania nerwów wzrokowych, guza popielatego oraz pogranicza mostowo-opuszkowego. Bloki skrawano w kriostacie w temp. -20°C, a skrawki montowano na szkiełkach nakrywkowych. Odczyn histoenzymatyczny wykonywano według metody Wachsteina i Meisela /1957/. Roztwór inkubacyjny zawierał: 6,25 mg ATP, rozpuszczonego w kilku mililitrach wody redestylowanej i doprowadzonego do pH 7,2 przy użyciu 1 N NaOH, 5,5 ml buforu TRIS-HCl 0,2 M, pH 7,2, 0,75 ml 2% azotanu ołowiu oraz 1,25 ml 0,1 M siarczanu magnezu. Roztwór inkubacyjny dopełniano wodą bidestylowaną do 12,5 ml i dodawano 0,9375 g poliwinylolohynolidonu. Skrawki inkubowano w temp. 37°C przez okres 1,5 godz.

Przesłanką do wykonania odczynu ujawniającego aktywność adenozynotrójfosfatazy był przede wszystkim fakt, iż enzym umiejscowiony w ścianach naczyńowych uczestniczy w procesach związanych z transportem w złączy naczyniowo-tkankowym oraz odznacza się nieprawidłowościami aktywności i lokalizacji w stanach związanych z niedostatecznym utlenianiem tkankowym /Szumańska i wsp., 1976; Szumańska, 1981/.

Histochemiczne oznaczanie aktywności monofosfatazy kwaśnej wykonano u zwierząt grupy I, zabijanych po upływie 1, 2, 4, 6, 24 i 48 godz. po podaniu insuliny. Każda grupa czasowa składała się z 3 zwierząt doświadczalnych i 1 kontrolnego. Materiał do badań histoenzymatycznych przygotowywano w sposób identyczny jak w przypadku aktywności

adenozynotrójfosfatazy. Aktywność monofosfatazy kwaśnej ujawniano w reakcji opisanej przez Barkę i Andersona /1962/. Mieszanina inkubacyjna składała się z dwóch roztworów, z których pierwszy zawierał: 5 ml buforu Michaelisa, pH 7,2, 12 ml wody bidestylowanej oraz 1 ml naftolu AS-TR, a drugi: 0,8 ml pararozaniliny-HCl oraz 0,8 ml 4% azotynu sodu. Mieszaninę obu roztworów doprowadzano do pH 5,0 przy użyciu 0,1 N NaOH. Inkubację skrawków przeprowadzano w temp. 37°C przez okres 1,5 godz.

Przesłanką do wykonania badań aktywności monofosfatazy kwaśnej był zamiar ujawnienia aktywności lizosomalnej komórek ośrodkowego układu nerwowego, jako subhistologicznego wykładnika ich uszkodzenia.

2.2.4. Ocena stanu mikrokrążenia w ośrodkowym układzie nerwowym

Ocenę stanu mikrokrążenia w mózgu wykonano u zwierząt grupy I dekapitowanych po upływie 1, 2, 4, 6, 24 i 48 godz. po podaniu insuliny. Każda grupa czasowa reprezentowana była przez 3 zwierzęta doświadczalne i 1 kontrolne. Po dekapitacji mózgowia wyjmowano z jamy czaszki i utrwalało przez 7 dni w 4% zobojętnionym roztworze formaliny. Utrwalone mózgowia dzielono na bloki cięciami czołowymi na wysokości przednich i w pełni rozwiniętych zwojów podstawy oraz mostu z mózdzkiem. Bloki tkankowe zamrażano i skrawano w mikrotomie zamrozeniowym na skrawki o grubości 80-100 um. Wolno pływające skrawki barwiono według benzydynamowej metody Pickwortha.

Przesłanką do przeprowadzenia oceny stanu mikrokrążenia były uprzednie obserwacje wskazujące, iż zaburzenia mikrokrążenia, towarzyszące różnym typom niedotlenienia ośrodkowego układu nerwowego, mogą stanowić istotny czynnik odpowiedzialny za jego uszkodzenia tkankowe /Mossakowski, 1978/.

2.2.5. Badanie mikroskopowo-elektronowe

Badania mikroskopowo-elektronowe przeprowadzono u zwierząt grupy I, zabijanych po upływie 1, 3, 6 i 24 godz. po podaniu insuliny. Każda grupa czasowa obejmowała 3 zwierzęta doświadczalne i 1 kontrolne. W przedstawionych powyżej przedziałach czasowych, zwierzęta poddawano lekkiej narkozie eterowej i przeprowadzano przezsercową perfuzję, początkowo fizjologicznym roztworem chlorku sodu z dodatkiem heparyny /Polfa/, a następnie 3% roztworem aldehydu glutarowego w buforze kakodylowym, pH 7,4. Po wyjęciu z jamy czaszki utrwalonych mózgow, pobierano bloczki tkankowe o wymiarach ok. 1 mm^3 z okolicy ciemieniowej, obejmujące korę i podkorową istotę białą, z zakrętu hipokampa i kory mózdzku. Bloczki utrwalano następnie dodatkowo w 3% roztworze aldehydu glutarowego w buforze kakodylowym, pH 7,4 w temp. 4°C przez okres 2 godz. i w 2% czterotlenku osmu w tym samym buforze o pH 7,4, w temp. 4°C przez 1 godz. Bloczki odwadniano w roztworach alkoholu etylowego o wzrastających stężeniach i zatapiano w Eponie 812. Z bloczków eponowych skrawano na ultramikrotomie LKB półciennie

skrawki grubości 1 μm , które barwiono 1% roztworem błękitu toluidyny i oglądano w mikroskopie świetlnym. Ultracienkie skrawki montowano na siatkach, kontrastowano octanem uranilu i cytrynianem ołowiu i oglądano w mikroskopie elektronowym JEM-7A.

W Y N I K I

1. MATERIAŁ LUDZKI

1.1. Obraz makroskopowy

Dominującym elementem makroskopowego obrazu ośrodkowego układu nerwowego w badanych przypadkach były cechy obrzęku. Jego wyrazem było spłaszczenie i poszerzenie zakrętów kory mózgu oraz zaciśnięcie rozdzielających je rowków i bruzd płaszczka mózgowego, a przede wszystkim wykładniki strukturalne wgłobienia podnamiotowego i do otworu potylicznego. Te ostatnie występowały w 8 na 10 badanych przypadków. Nie stwierdzono ich jedynie w przypadku 1, dotyczącym stosunkowo młodego chorego, z krótkotrwałym epizodem hipoglikemicznym oraz w przypadku 8, który charakteryzował się najbardziej wyrażonymi uogólnionymi cechami zaniku mózgu /82 lata/. Drugą co do częstości nieprawidłowością makroskopową było uogólnione przekrwienie obejmujące zarówno opony miękkie jak i utkanie mózgowia. Występowało ono w 6 przypadkach, wykazując różny stopień nasilenia, największy w przypadkach z cechami niewydolności krążenia. Zmiany miażdżycowe w naczyniach podstawy stwierdzono w 4 przypadkach, w tym w 2 dotyczących najstarszych pacjentów w badanej serii, oraz w 2

młodszych z klinicznie rozpoznanymi cechami uogólnionej patologii naczyniowej. Zróznicowane w swoim nasileniu zmiany miażdżycowe tętnic podstawy mózgu były na ogół umiarkowane i mieściły się w granicach II^o-III^o w skali Bakera i wsp. /1960/. Ogniskowe uszkodzenia tkankowe stwierdzono w 2 przypadkach. W przypadku pierwszym, dotyczącym 78-letniej chorej z klinicznie rozpoznaną chorobą nadciśnieniową i sekcyjnie stwierdzonymi uogólnionymi zmianami miażdżycowymi, miały one charakter drobnych, nie przekraczających średnicą 5 mm, naczyniopochodnych, dobrze ograniczonych jamek umiejscowionych w bocznej części spoidła wielkiego, w jądrze ogoniastym i w przednim ramieniu torebki wewnętrznej. W przypadku drugim, 24-letniego chorego z wieloletnim wywiadem cukrzycowym i długotrwałą śpiączką hipoglikemiczną wyrażały się obustronną martwicą krwotoczną obejmującą korę płatów potylicznych a częściowo skroniową na przyśrodkowo-podstawnej powierzchni półkul. W przypadku z klinicznie rozpoznany gruźliczym zapaleniem oponowo-mózgowym /4/ stwierdzono obfity, korzuchowaty wysięk zapalny zlokalizowany w oponach podstawy mózgu, najmaszyniejszy w okolicy dołu międzykonarowego i przechodzący stąd do bruzd bocznych mózgu. Na tle rozlanego zgrubienia i zmętnienia opon miękkich w tych obszarach występowały drobne, wielkości łebka od szpilki, szaro-żółtawe guzki. Analogiczne zmiany, choć mniej nasilone występowały na powierzchni grzbietowej robaka mózdzku i na sklepiści półkul mózgu wzdłuż przebiegu rowków centralnych.

1.2. Badanie mikroskopowe

Podobnie jak w badaniu makroskopowym dominującym elementem mikroskopowego obrazu neuropatologicznego były wykładniki obrzęku mózgu. Występowały one we wszystkich przypadkach, wykazując znaczne zróżnicowanie zarówno nasilenia jak i rozległości. W 2 przypadkach przy najmniejszym zaawansowaniu obrzęku, wyrażały się okołonaczyniowymi rozrzedzeniami tkanki /ryc. 1/, występującymi zarówno w strukturach szarych, jak i białych, z wyraźną przewagą tych ostatnich. Rozrzedzenia okołonaczyniowe towarzyszyły z jednakową częstością naczyniom niezmiennym i wykazującym nieprawidłowości w strukturze ścian. Przy bardziej nasilonym obrzęku, występującym w kolejnych sześciu przypadkach, zmiany okołonaczyniowe przybierały postać rozległych pól zgębczenia tkanki /ryc. 2/, któremu towarzyszyło porozsuwanie szeregów gleju wyznaczających przebieg włókien nerwowych oraz spłowienie osłonek mielinowych. W 2 przypadkach znacznie zaawansowany obrzęk prowadził do wykształcenia obrazu tzw. martwicy obrzękowej Jakoba /ryc. 3, 4/, obejmującej rozległe obszary istoty białej półkul mózgu i mózdzku, a nawet pnia mózgu. Pola martwicy obrzękowej charakteryzowały się rozległym zgębczeniem tkanki, prowadzącym do zatarcia właściwych jej układów strukturalnych, zblednięciem osłonek mielinowych, ich nieregularnym przebiegiem i zarysami oraz występowaniem oligodendrocytów z cechami ostrego obrzmienia. Tylko w 1 przypadku martwicy obrzękowej towarzyszył wytwórczy

odczyn glejowy w postaci namnożenia jąder astrocytów oraz występowania reaktywnych postaci gleju gwiaździstego zarówno w polach martwicy jak i w ich pobrzeżu. W drugim przypadku, martwicy obrzękowej nie tylko nie towarzyszył jej odczyn glejowy, lecz stwierdzało się wręcz zmniejszenie populacji glejowej, jak się wydaje przede wszystkim kosztem oligodendrocytów. Przy nawet najbardziej nasilonym obrzęku stwierdzało się zaoszczędzenie okolicy podkorowych włókien łukowatych, a w mniejszym stopniu okolic okołokomorowych, które w 5 przypadkach wykazywały rozrzedzenie utkania, prowadzące do stanu gąbczastego lub porozsuwania włókien nerwowych. Wykładnikom obrzęku mózgu w ośmiu przypadkach towarzyszyły cechy przekrwienia tkanki. Przewaga zmian w łożysku naczyń włosowatych i żylnych pozwala uznać je za wykładniki zastoju. Nierzadko znacznemu przekrwieniu towarzyszyło wynaczynienie elementów morfotycznych krwi, przyjmujące postać mikrokrwotoczków okołonaczyniowych /ryc. 4/.

Bardzo rzadko, bo tylko w 1 przypadku, w polach obrzęku występowały dyskretne okołonaczyniowe skupienia limfocytów, leukocytów i makrofagów. Częściej natomiast w poszerzonych przestrzeniach okołonaczyniowych spotykano pojedyncze erytrocyty i makrofagi wypełnione krwiopochodnym barwnikiem.

Nieprawidłowości w strukturze ścian naczyń mózgu stanowiły zjawisko stosunkowo częste. Stwierdzono je łącznie w 8 przypadkach. Dotyczyły one zarówno drobnych, jak i większych naczyń śródmiąższowych, a także naczyń zewnątrz-mózgowych. Miały zróżnicowany charakter i nasilenie.

Najpospoliciej występował włóknisty przerost ścian drobnych naczyń lub ich zeszkliwienie /ryc. 5, 6/. W 5 przypadkach zwłóknieniu błony wewnętrznej i środkowej drobnych tętnic towarzyszył przerost i rozplem komórek śródbłonna. W 6 włóknisty przerost ścian przebiegał bez zmian mikroskopowych śródbłonna, natomiast obecne były rozwarstwienia błony sprężystej wewnętrznej. Obecność blaszek miażdżycowych, prowadzących do zwężenia światła naczyń tętnicznych o średnicy przekraczającej 500 um stwierdzono w 3 przypadkach. Analogiczne zmiany występowały w tętnicach zewnątrzmożgowych /ryc. 7/ w tych przypadkach, w których stwierdzono makroskopowe cechy miażdżycy. Sporadycznie natomiast spotykano zmiany zarostowe z wtórną rekanalizacją. We wszystkich przypadkach powyżej 70 roku życia stwierdzano cechy włóknistej przebudowy ścian naczyńiowych.

Zmiany w obrazie mikroskopowym komórek nerwowych stanowiły obok cech obrzęku mózgu zjawisko najpospolitsze. Miały one charakter ubytków komórkowych, o różnym nasileniu i rozkładzie topograficznym oraz ich nieswoistego zwyrodnienia. Występowały praktycznie we wszystkich strukturach szarych mózgu, z wyraźną przewagą kory mózgu, kory zakrętu hipokampa i warstwy zwojowej kory mózdzku.

Rozległe ubytki komórek nerwowych kory mózgu obecne były we wszystkich przypadkach. Miały charakter ubytków rozlanych, warstwowych i okołonaczyńiowych. Były najbardziej nasilone w otoczeniu naczyń /ryc. 8/, w dnie rowków korowych /ryc. 9/, w polach zaawansowanego obrzęku mózgu, a przede wszystkim w obszarach pogranicza unaczynienia

przez duże pnie tętnicze. Ubytkom neuronów w większości przypadków towarzyszył żywy odczyn glejowy, w postaci rozplemu i przerostu komórek gwiaździstych z obecnością tzw. reaktywnych astrocytów. W 7 przypadkach występował różnego nasilenia zanik komórek piramidowych kory amonalnej, a w 9 ubytki komórek Purkinjego w korze mózdzku, ze zmiennie intensywnym rozplemem gleju Bergmanna lub jego brakiem /ryc. 10 i 11/. Wybiórcza martwica komórek ziarnistych kory mózdzku /ryc. 11/ obecna była w 2 przypadkach. Zanik komórek nerwowych występował również w innych strukturach mózgu, w tym w jądrach podstawy, wzgórzu i ugrupowaniach neuronów pnia mózgu. Był on jednak znacznie mniej wyraźny. W tym kontekście na szczególną uwagę zasługują rozległe ubytki komórkowe w oliwkach dolnych i jądrze zębatym mózdzku, występujące aż w 5 przypadkach. Towarzyszył in intensywny odczyn wytwórczy astrocytów i pobudzenie mikrogleju.

Nieswoiste zmiany zwyrodnieniowe neuronów obecne były we wszystkich przypadkach i obejmowały większość formacji szarych mózgu. Wyrażały się przede wszystkim nieprawidłowościami obrazu mikroskopowego tigroidu, bądź zanikającego, bądź nieprawidłowo rozmieszczonego w cytoplazmie komórkowej, bądź też nadmiernie zagęszczonego. Przybierały one postać zmian znanych jako schorzenie ischemiczne, homogenizacyjne, przewlekłe i ciężkie oraz ostre obrzmienie komórki. Na odrębną uwagę zasługuje występowanie mikrowakuolizacji neuronów, wyrażające się gromadzeniem drobnych wodniczek, rozrzuconych nieregularnie na obwodzie niezmięnionej bądź

obkurczonej cytoplazmie /ryc. 12/: Zmianom zwyrodnieniowym komórek nerwowych towarzyszyła niekiedy satelitoza glejowa. Jakkolwiek poszczególne typy uszkodzeń neuronów spostrzeżano się w wielu strukturach ośrodkowego układu nerwowego, to niektóre z ich odmian wiązały się częściej z wybranymi czynnościowo-morfologicznymi układami mózgu. Zmiany o cechach schorzenia ischemicznego i przewlekłego występowały głównie w neuronach III i V warstwy kory nowej mózgu /ryc. 13/ oraz w komórkach piramidowych kory amonalnej. Spostrzeżano je tam w 9 przypadkach. Rzadziej dotyczyły one komórek nerwowych jąder mostu oraz ugrupowań tworzących siatkowatego rdzenia przedłużonego. Tak zwane schorzenie ciężkie stwierdzone w 6 przypadkach występowało przede wszystkim w korze potylicznej oraz w poszczególnych ugrupowaniach neuronów podwzgórza, gałki bladej i śródmózgowia. Ostry obrzęk komórek nerwowych stanowił zjawisko stosunkowo rzadkie i ograniczał się zazwyczaj do neuronów jąder podstawy. We wszystkich 10 przypadkach stwierdzono zmiany homogenizacyjne komórek Purkinjego kory mózdzku /ryc. 14/. Znacznie rzadziej były one obkurczone lub przypominały swoim obrazem i kształtem zmiany ischemiczne lub przewlekłe. Mikrowakuolizacja cytoplazmy komórek nerwowych występowała w korze mózgu, zakręcie hipokampa /ryc. 15/, w jądrach podstawy i w korze mózdzku. W 5 przypadkach stwierdzono obfite nagromadzenie lipopigmentu /ryc. 16/ w komórkach nerwowych oliwki dolnej, jądra zębatego mózdzku, gałki bladej oraz niektórych ugrupowań jądrowych śródmózgowia i mostu.

Zmiany glejowe były znacznie mniej nasilone. Wyrażały się one wspomnianym uprzednio zubożeniem populacji oligodendrocytów w obszarach martwicy obrzękowej oraz rozplemem i przerostem astrocytów w polach rozległych ubytków komórek nerwowych. Podobny odczyn glejowy towarzyszył ogniskom rozpadu mieliny w przypadkach zaawansowanego obrzęku istoty białej /ryc. 17/. Rozlane nagromadzenie gemistocytów stwierdzono ponadto w jednym z 2 przypadków rozległej martwicy obrzękowej /ryc. 18/. Ugrupowania przerosłych astrocytów występowały również w strukturach podwysciółkowych. W 6 z badanych przypadków obecne były obfite ciała skrobiowate, gromadzące się w warstwie drobinowej kory mózgu, głównie na dnie rowków oraz w warstwie gleju podwysciółkowego.

Ogniskowe uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego występowały rzadko. Stwierdzono je jedynie w 2 przypadkach, z których pierwszy dotyczył 78-letniej kobiety z długotrwałą chorobą nadciśnieniową i niewydolnością krążenia, a drugi 24-letniego mężczyzny ze szczególnie długotrwałym i ciężkim stanem niedocukrzenia. W obu zmiany miały charakter martwicy naczyniopochodnej. W przypadku pierwszym ogniska martwicy zupełnej, znajdujące się w fazie zaawansowanej rozbiórki i wyraźnym odczynem gleju gwiaździstego /ryc. 19/ zlokalizowane były w zakręcie czołowym górnym, zakręcie obręczy prawym, spoidle wielkim oraz w gałce bladej. W przypadku drugim obecne były rozległe ogniska martwicy, obejmujące obustronnie korę potyliczną i przylegające zakręty ciemieniowe i skroniowe /ryc. 20/. Cechy strukturalne ognisk wskazywały na ich jednoczasowość, a stopień zaawansowania

procesów rozbiórkowo-reparacyjnych pozwalał określić ich wiek na około 2 tygodnie. Charakteryzowały się one znacznym bogactwem świeżej, nieuporządkowanej sieci naczyń włosowatych, obfitością komórek żernych w znacznej części wypełnionych barwnikiem krwiopochodnym oraz żywym komórkowym odczynem łącznotkankowo-glejuwym /ryc. 21/. Ogniska otoczone były szerokim wałem odczynowych astrocytów.

Opony miękkie mózgu w 5 przypadkach były pogrubiałe i zwłókniałe, zawierając zwiększoną ilość fibroblastów i histiocyty. Niekiedy były w nich widoczne skupienia limfocytów i komórek żernych wypełnionych krwiopochodnym barwnikiem. W 6 przypadkach stwierdzono w oponach miękkich nagromadzenie mniejszych lub większych skupień erytrocytów.

W przypadku z klinicznie rozpoznany grążliczym zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych stwierdzono obfity oponowy naciek zapalny, złożony z limfocytów i komórek plazmatycznych z udziałem licznych makrofagów i komórek nabłonkowych oraz pojedynczych komórek olbrzymich typu Langerhansa. Naciekowi towarzyszyło znaczne zwłóknienie opon. Stwierdzony obraz histopatologiczny, ze względu na swoją typowość, pozwalał na potwierdzenie rozpoznania klinicznego mimo, iż nie wykonywano barwień specjalnych w celu ujawnienia prądków kwasoopornych.

2. MATERIAŁ ZWIERZĘCY

Ze względu na różnice obrazu klinicznego i neuropatologicznego wyniki badań obu grup doświadczalnych przedstawiono odrębnie.

2.1. Grupa doświadczalna I

2.1.1. Obraz kliniczny

Zwierzęta w okresie pierwszej godziny po podaniu insuliny w dawce 0,5 U/100 g masy ciała nie wykazywały uchwytnych odchyłań od stanu prawidłowego. Zachowywały prawidłową postawę ciała i zdolność poruszania się. Nie obserwowano ani ich spowolnienia ani nadmiernej wrażliwości na bodźce czuciowe i słuchowe. Najwcześniejsze objawy kliniczne niedocukrzenia pojawiały się w drugiej godzinie po podaniu insuliny. Miały one charakter spowolnienia ruchowego i przyspieszenia oddechu. W okresie tym niektóre zwierzęta stawały się agresywne oraz wykazywały nadpobudliwość na bodźce dźwiękowe i bólowe. U żadnego ze szczurów w tej fazie doświadczenia nie występowały napady drgawkowe. W okresie między 2 i 3 godz. od podania insuliny u wszystkich zwierząt występowała śpiączka, w czasie której obserwowano ślinotok, spowolnienie oddechu i czynności serca, częste oddawanie moczu i stolca oraz obniżenie ciepłoty ciała, średnio o 0,5 stopnia C. Bardzo rzadko w okresie pozostawania w stanie śpiączkowym u

nielicznych zwierząt występowały napady drgawkowe. Stan śpiączki utrzymywał się zazwyczaj przez okres od 10 do 30 min., po którym następowało samoistne wybudzenie się. Bezpośrednio po ustąpieniu śpiączki zwierzęta były mniej ruchliwe, słabo reagowały na bodźce zewnętrzne, nie piły wody znajdującej się w ich zasięgu i nie podejmowały prób przyjmowania pokarmu. Pod koniec 5 godz. po podaniu insuliny przyjmowały prawidłową postawę i poruszały się swobodnie. Łapczywie piły wodę i jadły pokarm stały. Po 6 godzinach, do końca obserwacji nie wykazywały żadnych odchyień od stanu prawidłowego.

U części zwierząt w okresie śpiączki występowały objawy ostrej niewydolności krążenia, prowadzącej do zejścia śmiertelnego. Zwierzęta te podobnie jak szczury, u których obserwowano napady drgawkowe zostały wyeliminowane z dalszych badań.

2.1.2. Zawartość glukozy we krwi

Obraz zmian w zawartości glukozy we krwi szczurów po jednorazowym podaniu insuliny w dawce 0,5 U/100 g masy ciała przedstawiono w tabeli 2.

Zawarte w tabeli dane przedstawiają zarówno wyniki uzyskane przy zastosowaniu ortotoluidynowej jak i enzymatycznej metody oznaczania glukozy. Różnice bezwzględnych wartości zawartości glukozy uzyskane przy zastosowaniu obu metod należy zapewne wiązać z większą selektywnością metody enzymatycznej. Obie metody pozwoliły jednakże na

Tabela 2. Zawartość glukozy we krwi szczurów /mg%/
po jednorazowym podaniu insuliny w dawce
0,5 U/100 g masy ciała.

Czas po podaniu insuliny lub fizjologicznego roztworu NaCl /godz./	Zwierzęta kontrolne /NaCl/		Zwierzęta doświadczalne /insulina/	
	Metoda o-toluidynowa	Metoda enzymatyczna	Metoda o-toluidynowa	Metoda enzymatyczna
0	78 [±] 4,47*	59,5 [±] 12,0	79 [±] 5,96	-
1	100 [±] 3,68	-	28 [±] 4,39	22,4 [±] 2,8
2	95 [±] 15,15	-	9 [±] 1,96	6,6 [±] 3,0
3	101 [±] 4,64	65,2 [±] 10,3	3 [±] 1,35	1,9 [±] 1,6
4	102 [±] 3,81	-	8 [±] 1,97	6,2 [±] 2,4
5	110 [±] 11,61	68,6 [±] 5,7	13 [±] 1,96	12,3 [±] 7,2
6	98 [±] 12,12	-	98 [±] 11,65	-
24	95 [±] 15,13	-	90 [±] 9,90	-
48	92 [±] 10,79	-	85 [±] 7,69	-

* Średnia z 5 oznaczeń [±] odchylenie standardowe.

ujawnienie tego samego charakteru dynamiki zmian w zawartości glukozy i tego samego rzędu jej obniżenia po podaniu insuliny.

Przedstawione w tabeli dane wskazują, iż zawartość glukozy we krwi szczurów kontrolnych, pozbawionych pokarmu przez okres 24 godz. wahała się w granicach od 78 do 110 mg% w oznaczeniach metodą orto-toluidynową i od 59 do 68 mg% przy zastosowaniu metody enzymatycznej.

Po podaniu insuliny obserwowano gwałtowny spadek zawartości glukozy we krwi zwierząt. Spadek ten postępował w okresie pierwszych godzin doświadczenia, osiągając najniższe wartości po upływie 3 godzin od podania insuliny /3 mg% w oznaczeniach metodą orto-toluidynową i 1,9 mg% przy zastosowaniu metody enzymatycznej/. Od tego czasu obserwowano stopniowy wzrost zawartości glukozy we krwi, osiągającej po upływie 6 godz. wartości nie odbiegające od stwierdzonych u zwierząt kontrolnych. Zawartość glukozy we krwi utrzymywała się na tym samym poziomie w dalszych przedziałach czasowych obserwacji. Wydaje się, że znaczny wzrost zawartości glukozy w okresie między 5 i 6 godz. obserwacji wiązać można z obfitym przyjmowaniem pokarmu w tym właśnie przedziale czasowym.

2.1.3. Obraz makroskopowy ośrodkowego układu nerwowego

We wszystkich badanych przypadkach, niezależnie od okresu przeżycia po podaniu insuliny, nie stwierdzono nieprawidłowości w obrazie makroskopowym mózgowia. Na przekrojach przez półkule mózgowe, pień mózgu i mózdzek - rysunek struktur anatomicznych był wyraźny, szerokość kory, istoty białej oraz układu komorowego prawidłowa, a granice struktur szarych i białych ostre. Nie stwierdzono również żadnych wykładników morfologicznych wzmożonego ciśnienia wewnątrzczaszkowego.

2.1.4. Obraz mikroskopowy ośrodkowego układu nerwowego

Zmiany patomorfologiczne w mózgach szczurów doświadczalnych ograniczały się zasadniczo do uszkodzenia neuronów. Polegało ono na pojawieniu się w cytoplazmie komórek nerwowych drobnych nieregularnie rozmieszczonych wodniczek, czasami dostrzegalnych dopiero przy większych powiększeniach mikroskopowych. Niekiedy były one ograniczone wyłącznie do obwodowej części cytoplazmy komórki. Drugi typ nieprawidłowości morfologicznych komórek nerwowych wyrażał się ich obkurczeniem, nadbarwliwością, nierównomiernym wybarwianiem cytoplazmy, obecnością ciemnych trójkątnych jąder i wyraźnym uwidocznieniem falistych dendrytów szczytowych w przypadku komórek piramidowych. Nieprawidłowości te odpowiadały wczesnym zmianom ischemicznym według klasyfikacji Browna i Brierleya /1968, 1971/. Zmiany obu typów często współistniały ze sobą, występując niekiedy w tych samych komórkach.

Obraz mikroskopowy mózgow zwierząt zabijanych w kolejnych przedziałach czasowych po podaniu insuliny różnił się nasileniem i dystrybucją zmian patologicznych oraz wzajemnym stosunkiem obu typów uszkodzeń komórkowych.

W mózgach szczurów z 1-godzinym przeżyciem zmiany komórkowe były nieznaczne i ograniczały się wyłącznie do kory nowej i kory mózdzku. Polegały one na mikrowakuolizacji cytoplazmy pojedynczych komórek nerwowych. Dotyczyła ona głównie dużych i małych komórek piramidowych

III i V warstwy kory mózgu oraz komórek Purkinjego kory mózdzku. W neuronach struktur podkorowych i pnia mózgu zmian komórkowych nie stwierdzono. Nieprawidłowościom w obrazie mikroskopowym komórek nie towarzyszył odczyn glejowy.

W mózgach szczurów z 2-godzinnym przeżyciem obserwowano mikrowakuole w cytoplazmie komórek nerwowych kory nowej i zakrętu hipokampa, jąder podkorowych, mózdzku i rdzenia przedłużonego /ryc. 22/. W niektórych neuronach liczne, różnej wielkości wodniczki ułożone na obwodzie komórki prowadziły do zatarcia jej zarysu /ryc. 23/. Poza mikrowakuolizacją stwierdzono pojedyncze neurony barwiące się nierównomiernie, niekiedy z hiperchromatyczną cytoplazmą i obkurczonym, trójkątnym, ciemnym jądrem /ryc. 23 i 24/. Ten typ nieprawidłowości dotyczył głównie komórek piramidowych zakrętu hipokampa i opaski zębatej oraz neuronów III i V warstwy kory nowej, a także komórek Purkinjego kory mózdzku.

W mózgach zwierząt z 4-godzinnym przeżyciem liczba uszkodzonych neuronów była znacznie większa. Cechy mikrowakuolizacji oprócz uprzednio wymienionych struktur stwierdzano ponadto obficie w komórkach nerwowych wzgórza. Zmiany komórkowe o cechach schorzenia ischemicznego były liczne i przeważały w tym okresie nad mikrowakuolizacją. Niekiedy pojedyncze drobne wodniczki widoczne były także w ciemno barwiących się obkurczonych neuronach /ryc. 25 i 26/. Zmiany o typie schorzenia ischemicznego dotyczyły również komórek Purkinjego. Liczne spośród nich wykazywały

ponadto nieprawidłowości typu schorzenia homogenizacyjnego.

W 6 godz. po podaniu insuliny zmiany komórkowe wydawały się mniej nasilone w porównaniu z poprzednią grupą. Tym niemniej we wszystkich z badanych struktur stwierdzano zmienione komórki nerwowe, o zróżnicowanym charakterze i nasileniu nieprawidłowości morfologicznych. W cytoplazmie licznych neuronów występowały nadal różnej wielkości wodniczki, na ogół mniejsze w otoczeniu jądra komórkowego, a większe i zlewające się na obwodzie komórki. Ich obfite nagromadzenie prowadziło do zatarcia zarysów błony komórkowej. Często mikrowakuolizacji towarzyszyły nieprawidłowości w obrazie tigroidu, polegające bądź na jego nieregularnym zagęszczeniu lub rozpadzie. Liczne komórki wykazywały cechy hiperchromazji lub nierównomierne zabarwienie, typu schorzenia ciężkiego /ryc. 27, 28, 29/. Zmiany ischemiczne dotyczyły przede wszystkim małych komórek piramidowych warstwy III i V kory mózgu, oraz neuronów zakrętu hipokampa, głównie w sektorze h_2 i zakrętu zębatego /ryc. 30, 31/, a także komórek nerwowych wzgórza, przede wszystkim jego jądra przedniego grzbietowego /ryc. 32/. Stwierdzano ponadto cechy rozpadu komórek nerwowych. Wokół pojedynczych komórek nerwowych obserwowano zwiększoną satelitozę glejową /ryc. 33/. W mózgach niektórych szczurów występowały cechy obrzęku wyrażające się porozsuwaniem pasm włókien nerwowych, ostrym obrzmieniem oligodendrocytów oraz niewielkim poszerzeniem przestrzeni okołonaczyniowych /ryc. 32, 34/.

W mózgach zwierząt zabijanych po upływie 24 i 48 godz. po podaniu insuliny stwierdzano stopniowe zmniejszanie się liczby uszkodzonych komórek nerwowych. W obu grupach nie występowały zmiany o cechach mikrowakuolizacji. Sporadycznie obserwowano zmiany ischemiczne komórek. Obecne były natomiast niewielkie, przeważnie bezodczynowe ubytki komórkowe, występujące głównie w korze zakrętu hipokampa i korze mózdzku.

W żadnej z grup czasowych nie stwierdzono nieprawidłowości w obrazie osłonek mielinowych. Poza niewielką sate-litozą okołoneuronalną występującą w późniejszych okresach obserwacji nie stwierdzono również morfologicznych wykładników odczynu glejowego.

2.1.5. Obraz histochemiczny ośrodkowego układu nerwowego

a. Odkładanie się glikogenu w ośrodkowym układzie nerwowym

U zwierząt kontrolnych drobnoziarniste złogi glikogenu stwierdzano jedynie w komórkach nabłonkowych spłotu naczyniówkowego, w części komórek wyściółki oraz w niektórych neuronach tworzących siatkowatego pnia mózgu, przede wszystkim w komórkach jądra olbrzymiokomórkowego. Skąpe ziarniste złogi polisacharydu występowały również w warstwie drobinowej kory mózgu w jej części podoponowej.

U zwierząt doświadczalnych^{*/} w 4 godz. po podaniu insuliny złogi glikogenu były bardziej skąpe niż u zwierząt kontrolnych i ograniczały się do komórek nabłonkowych splotów i komórek wyściółki. Obraz histochemiczny w 6 godzinie obserwacji nie różnił się istotnie od poprzedniej grupy czasowej. Zbliżał się on bardziej do stanu stwierdzonego w kontroli. W warstwie drobinowej kory mózgu stwierdzano jedynie drobne ziarniste złogi wielocukru rozsiane luźno w neuropilu lub zagęszczone wokół pojedynczych jąder astrocytów /ryc. 35/. Po upływie 24 godz. obok powyżej wymienionej lokalizacji złogów glikogenu stwierdzano jego drobnoziarniste skupienia przynaczyniowe i rozsiane w neuropilu kory nowej /ryc. 36/, w korze zakrętu hipokampa /ryc. 37/ oraz w korze mózdzku w otoczeniu komórek Purkinjego. Złogi w korze amonalnej były najobfitsze. Tendencja do skupiania się ziaren wielocukru w otoczeniu jąder glejowych sugerowała jego astrocytarną lokalizację. Stosunkowo obfite złogi glikogenu w otoczeniu naczyń wskazywały na jego gromadzenie się również w wypustkach astrocytów /ryc. 38/. Po 48 godzinach od podania insuliny ilość i dystrybucja tkankowa ziarnistości glikogenu nie różniły się od obrazu opisanego u zwierząt kontrolnych.

^{*/} Histochemiczne oznaczanie złogów glikogenu w ośrodkowym układzie nerwowym ograniczono wyłącznie do tych grup czasowych, w których badaniem ilościowym /Albrecht i wsp., 1979/ stwierdzono jego zmienioną zawartość.

b. Aktywność fosfatazy kwaśnej

W mózgach zwierząt kontrolnych ziarniste produkty reakcji histoenzymatycznej zlokalizowane były w cytoplazmie komórek nerwowych kory nowej i amonalnej, jąder podstawy, pnia mózgu oraz komórkach Purkinjego kory mózdzku. Złogi produktu reakcji enzymatycznej były na ogół obfitsze w neuronach dużych. Dyfuzyjną postać aktywności enzymatycznej stwierdzono natomiast w warstwie ziarnistej i drobinowej kory mózdzku oraz w splocie naczyniówkowym. U zwierząt doświadczalnych, po upływie 1 godz. od podania insuliny odczyn ujawniający aktywność enzymu był ogólnie słabszy w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi. Jego osłabienie wyrażało się zarówno zmniejszeniem ilości ziaren w poszczególnych komórkach, ograniczeniem liczby komórek wypełnionych nimi oraz mniejszą intensywnością reakcji barwnej. Spadek aktywności enzymatycznej dotyczył głównie komórek piramidowych rogu Amona, komórek Purkinjego oraz dużych neuronów zwojów podstawy. Intensywność dyfuzyjnej reakcji histoenzymatycznej występującej w drobinowej i ziarnistej warstwie kory mózdzku oraz w splocach naczyniowych nie ulegała zmianie w porównaniu do materiału kontrolnego. W 2 i 4 godz. po podaniu insuliny stwierdzono dalsze obniżenie się intensywności odczynu reakcji histoenzymatycznej komórek nerwowych. Tylko pojedyncze komórki piramidowe kory mózgu, kory amonalnej oraz komórki Purkinjego wypełnione były drobno- lub gruboziarnistym produktem końcowym odczynu. Większość spośród nich wykazywała jedynie

b. Aktywność fosfatazy kwaśnej

W mózgach zwierząt kontrolnych ziarniste produkty reakcji histoenzymatycznej zlokalizowane były w cytoplazmie komórek nerwowych kory nowej i amonalnej, jąder podstawy, pnia mózgu oraz komórkach Purkinjego kory mózdzku. Złogi produktu reakcji enzymatycznej były na ogół obfitsze w neuronach dużych. Dyfuzyjną postać aktywności enzymatycznej stwierdzono natomiast w warstwie ziarnistej i drobinowej kory mózdzku oraz w splocie naczyniówkowym. U zwierząt doświadczalnych, po upływie 1 godz. od podania insuliny odczyn ujawniający aktywność enzymu był ogólnie słabszy w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi. Jego osłabienie wyrażało się zarówno zmniejszeniem ilości ziaren w poszczególnych komórkach, ograniczeniem liczby komórek wypełnionych nimi oraz mniejszą intensywnością reakcji barwnej. Spadek aktywności enzymatycznej dotyczył głównie komórek piramidowych rogu Amona, komórek Purkinjego oraz dużych neuronów zwojów podstawy. Intensywność dyfuzyjnej reakcji histoenzymatycznej występującej w drobinowej i ziarnistej warstwie kory mózdzku oraz w splotach naczyniowych nie ulegała zmianie w porównaniu do materiału kontrolnego. W 2 i 4 godz. po podaniu insuliny stwierdzono dalsze obniżenie się intensywności odczynu reakcji histoenzymatycznej komórek nerwowych. Tylko pojedyncze komórki piramidowe kory mózgu, kory amonalnej oraz komórki Purkinjego wypełnione były drobno- lub gruboziarnistym produktem końcowym odczynu. Większość spośród nich wykazywała jedynie

dyfuzyjny odczyn cytoplazmatyczny /ryc. 39/. Dyfuzyjna reakcja w warstwach drobinowej i ziarnistej kory mózdzku wydawała się również mniej intensywna. W 6 godz. obserwacji ogólny odczyn ziarnisty ujawniający aktywność fosfatazy kwaśnej w neuronach nowej kory mózgu, kory amonalnej, jąder podstawy, pnia mózgu i w komórkach Purkinjego /ryc. 40/ był najniższy spośród wszystkich grup czasowych, przy równoczesnej normalizacji odczynu dyfuzyjnego w warstwach molekularnej i drobinowej kory mózdzku. Zjawiskiem nowym w tej grupie czasowej była nierównomierność odczynu, wyrażająca się pojawieniem się podwyższonej reakcji w pojedynczych neuronach lub ich ugrupowaniach położonych na tle komórek z odczynem śladowym. Zjawisko to występowało we wszystkich strukturach szarych ośrodkowego układu nerwowego /ryc. 41/, a było najwyraźniejsze w pniu mózgu, w którego dużych neuronach stwierdzano nagromadzenie obfitych, gruboziarnistych, nieregularnie rozmieszczonych w cytoplazmie złogów produktu końcowego reakcji histoenzymatycznej /ryc. 42/. W 24 godz. doświadczenia stwierdzono wykładniki normalizacji obrazu histochemicznego mózgu. Jedynie pojedyncze komórki nerwowe wykazywały dyfuzyjny odczyn histoenzymatyczny lub jego brak. W większości neurocytów występował prawidłowy odczyn drobnoziarnisty. Nierzadko jednak spotykano okołojądrowe nagromadzenie drobnoziarnistych produktów, podczas gdy obwód komórki zajmowały grube nieregularnie rozmieszczone ziarnistości. W 48 godzinie po podaniu insuliny nasilenie i rozkład odczynu histoenzymatycznego nie różniły się od stwierdzonych w materiale kontrolnym /ryc. 43/.

c. Aktywność adenozyntotrójfosfatazy

U zwierząt kontrolnych silny odczyn reakcji histoenzymatycznej ujawniającej aktywność enzymu wyznaczał sieć naczyń krwionośnych wszystkich struktur ośrodkowego układu nerwowego. Był on również znaczny w splotach naczyńnkowych komór mózgu. W bezpośrednim otoczeniu naczyń stwierdzało się delikatną reakcję dyfuzyjną. Podobnie dyfuzyjny charakter odczynu występował w stosunkowo licznych neuronach: jąder podstawy, pnia mózgu i w komórkach Purkiniego kory mózdzku. Można było dostrzec również delikatny dyfuzyjny odczyn w komórkach glejowych. W 1 godz. doświadczenia obserwowano wzrost intensywności odczynu naczyniowego w porównaniu do zwierząt kontrolnych. Dotyczyło to głównie naczyń kory mózgu i mózdzku. Wzrastała również wydatnie intensywność dyfuzyjnego odczynu okołonaczyniowego. Nasilenie reakcji histoenzymatycznej w 2 i 4 godz. po podaniu insuliny było znacznie wzmożone zarówno w stosunku do materiału kontrolnego jak i zwierząt zabijanych po upływie 1 godz. doświadczenia. Wzrost ten dotyczył odczynu w ścianach naczyń jak i dyfuzyjnej reakcji okołonaczyniowej. Przyrost intensywności tej ostatniej prowadził niekiedy do zatarcia zarysów sieci naczyniowej /ryc. 44/. Produkty reakcji gromadzące się w astrocytach prowadziły do uwidocznienia ich zarysów wraz z bogato rozgałęzionymi wypustkami. W 6 i 24 godz. doświadczenia obserwowano stopniowe obniżenie intensywności odczynu histoenzymatycznego, przede wszystkim kosztem spadku dyfuzyjnej

reakcji okołonaczyniowej. Widoczna była nadal żywa reakcja w ścianach naczyń, oraz słaby odczyn dyfuzyjny w neuronach zwojów podstawy, pnia mózgu i w komórkach Purkiniego. Utrzymywała się również słaba reakcja w astrocytach. W 48 godz. doświadczenia następowała normalizacja obrazu histo-enzymatycznego, z tym jednak, że znacznie bardziej niż u zwierząt kontrolnych uwidoczniał się dodatni odczyn w komórkach glejowych /ryc. 45/.

2.1.6. Obraz ultrastrukturalny ośrodkowego układu nerwowego

a. Ocena skrawków półcienkich

W 1 godz. doświadczenia w neuronach kory ciemieniowej obserwowano liczne, różnej wielkości wodniczki rozmieszczone nieregularnie w cytoplazmie komórkowej. Widoczne one były również, choć w mniejszej ilości, w elementach neuropilu. Ich liczba zarówno w perikarionach komórek nerwowych jak i w neuropilu zmniejszała się w 3 i 6 godz. po podaniu insuliny. W mózgach zwierząt z tych grup czasowych spotykano natomiast stosunkowo nieliczne ciemne neurony z zagęszczoną cytoplazmą i trójkątnym kształtem jąder. Występowały one stosunkowo najczęściej w populacji małych komórek piramidowych kory ciemieniowej. Po upływie 24 godzin doświadczenia zarówno mikrowakuole w neuronach kory i jej neuropilu jak i ciemne komórki nerwowe stanowiły zjawisko sporadyczne.

Zmiany patologiczne spostrzegane w korze zakrętu hipokampa miały identyczny charakter i charakteryzowały się podobną dynamiką jak przedstawione powyżej nieprawidłowości w korze ciemieniowej. Były one jednak wyraźnie mniej nasilone. W 1 godz. doświadczenia obserwowano wodniczki w cytoplazmie komórek piramidowych rogu Amona i w neuronach zakrętu zębatego, a także w elementach neuropilu. W 3 i 6 godz. do opisanych wyżej nieprawidłowości dołączyła się nadbarwliwość cytoplazmy niektórych komórek piramidowych. Po upływie 24 godzin od podania insuliny zarówno wakuolizacja cytoplazmy neuronów jak i obecność ciemnych obkurczonych profili komórkowych stanowiły zjawisko sporadyczne.

W korze mózdzku w 1 godzinie doświadczenia najintensywniejsza wakuolizacja dotyczyła cytoplazmy komórek Purkinjego /ryc. 46/. Drobne wodniczki widoczne były również w cytoplazmie neuronów warstwy ziarnistej oraz przylegających elementów neuropilu. Widoczne astrocyty charakteryzowały się przejaśnieniem cytoplazmy perikarionalnej i wypustkowej. Ilość wakuoli w komórkach nerwowych kory mózdzku i w neuropilu zmniejszała się wyraźnie w 3 i 6 godz. po podaniu insuliny. Utrzymywało się natomiast przejaśnienie cytoplazmy astrocytów. Spostrzegano się również zagęszczenie cytoplazmy pojedynczych komórek nerwowych, przede wszystkim komórek Purkinjego. W 24 godz. doświadczenia występowały jedynie pojedyncze uszkodzone komórki nerwowe, charakteryzujące się bądź obecnością wakuoli bądź zagęszczeniem cytoplazmy, bądź też łączące oba typy nieprawidłowości.

b. Obraz mikroskopowo-elektronowy

Kora ciemieniowa

W 1 godz. doświadczenia nieprawidłowości ultrastrukturalne komórek nerwowych kory dotyczyły mitochondriów, aparatu Golgiego oraz szorstkiej siateczki śródplazmatycznej. Najbardziej zaawansowane były zmiany mitochondriów. W porównaniu do obrazu stwierdzanego u zwierząt kontrolnych mitochondria zmienionych komórek nerwowych były powiększone, charakteryzowały się przejaśnieniem macierzy i niemal całkowitym zanikiem grzebieni. Zbiorniki i kanały aparatu Golgiego były znacznie poszerzone. Stosunkowo mniej poszerzone były kanały szorstkiej siateczki śródplazmatycznej /ryc. 47/. Podobne zmiany organelli cytoplazmatycznych występowały w dendrytach. Aksonalne mitochondria były również obrzmiałe i w znacznej części pozbawione grzebieni. Karioplazma jąder komórek nerwowych zawierała bogate nagromadzenia nierównomiernie rozproszonej heterochromatyny, skupiającej się najobficiej pod otoczką jądrową. Stwierdzało się odcinkowe poszerzenie przestrzeni pomiędzy wewnętrzną i zewnętrzną blaszką osłonki jądrowej. Jąderka, zazwyczaj duże o nieregularnym kształcie, położone były zwykle w sąsiedztwie błony jądrowej. W porównaniu z komórkami nerwowymi zmiany w astrocytach i w gleju skąpowypustkowym były znacznie mniej nasilone. Dotyczyły one głównie mitochondriów i wyrażały się przejaśnieniem ich macierzy i uszkodzeniem grzebieni. Towarzyszyło im niewielkie poszerzenie kanałów szorstkiej siateczki śródplazmatycznej i aparatu Golgiego. Astrocyty,

głównie protoplazmatyczne, wykazywały ponadto znaczne obrzmienie cytoplazmy perikarionalnej i wypustkowej. Wyrażało się ono powiększeniem ich rozmiarów, przejaśnieniem cytoplazmy oraz znacznym zubożeniem organelli cytoplazmatycznych. Ich jądra charakteryzowały się bogatą zawartością heterochromatyny zagęszczonej pod osłonką jądrową. Znacznie obrzmiałe wypustki astrocytarne otaczały naczynia włosowate o niezmięnionej strukturze ścian.

U zwierząt z 3-godzinnym przeżyciem nieprawidłowości w obrazie mitochondriów komórek nerwowych były identyczne jak w poprzedniej grupie czasowej, natomiast poszerzenie kanałów aparatu Golgiego i szorstkiej siateczki śródplazmatycznej było w większości neuronów bardziej nasilone. Ponadto liczne kanały szorstkiej siateczki śródplazmatycznej pokryte były mniejszą ilością rybosomów. W licznych neuronach i komórkach glejowych, zwłaszcza oligodendrocytów, spotykano często skupienia wolnych rybosomów. Spotykano także pojedyncze komórki nerwowe z jądrem zawierającym bardzo obfitą, zbitą heterochromatynę. Komórki te charakteryzowały się znacznym zagęszczeniem hialoplazmy zawartej między bardzo poszerzonymi kanałami szorstkiej siateczki śródplazmatycznej. Zmiany ultrastrukturalne tej grupy komórek nerwowych odpowiadały obrazowi mikroskopowo-elektrowemu schorzenia ischemicznego neuronów. Nieprawidłowości mikroskopowo-elektronowe oligodendrocytów i astrocytów były zasadniczo podobne do stwierdzonych w poprzedniej grupie czasowej /ryc. 48/. Jedynie obrzmienie wypustek astrocytarnych wydawało się bardziej zaawansowane /ryc. 49/.

Nasilenie zmian mitochondrialnych zarówno w komórkach nerwowych jak i glejowych u zwierząt w 6 godz. doświadczenia było mniejsze niż w poprzednich grupach doświadczalnych. W licznych neurocytach i komórkach glejowych obok zmienionych obrzmiałych mitochondriów występowały mitochondria o prawidłowym obrazie mikroskopowo-elektronowym. Mniej nasilone było również poszerzenie zbiorników i kanałów aparatu Golgiego i szorstkiej siateczki śródplazmatycznej /ryc. 50/, choć nadal spostrzegano zmniejszenie ilości rybosomów związanych z błonami siateczki śródplazmatycznej. Rzadziej spotykano również neurony i komórki glejowe z hiperchromatynowym jądrem i obwodowo przemieszczonym jądrem. Sporadycznie występowały komórki o cechach ciemnych neuronów. Utrzymywało się natomiast w dalszym ciągu obrzmienie perikarionalnej i wypustkowej cytoplazmy astrocytów /ryc. 51/. Zmiany te w znacznym stopniu dotyczyły okołonaczyniowych wypustek komórek gwiazdzistych.

Po upływie 24 godz. od podania insuliny tylko nieliczne mitochondria w komórkach nerwowych i ich wypustkach oraz w komórkach glejowych wykazywały cechy uszkodzenia. Większość mitochondriów miała prawidłowy wygląd i rozmiary. Aparat Golgiego był prawidłowy, a tylko w nielicznych komórkach stwierdzało się odcinkowe poszerzenie jego kanałów. To samo dotyczyło kanałów szorstkiej siateczki śródplazmatycznej, choć nadal stwierdzano pojedyncze komórki z licznymi skupieniami wolnych rybosomów /ryc. 52/. Sporadycznie tylko występowały komórki z bogatochromatynowymi hiperchromatycznymi jądrami. Nieliczne wypustki astrocytów wykazywały cechy obrzmienia.

Kora amonalna

W 1 godz. doświadczenia nieprawidłowości ultrastrukturalne dotyczyły zarówno komórek nerwowych jak i glejowych. W obrazie mikroskopowo-elektronowym neuronów dominowało znaczne poszerzenie zbiorników i kanałów aparatu Golgiego oraz kanałów szorstkiej siateczki śródplazmatycznej /ryc. 53/. W przeciwieństwie do neuronów kory ciemniowej, nieprawidłowości mitochondriów polegające na ich powiększeniu, przejaśnieniu macierzy i uszkodzeniu grzebieni, były mniej nasilone /ryc. 53/. Wypustki komórek nerwowych zawierały na ogół niezmienione organelle cytoplazmatyczne. Tylko w nielicznych aksonach stwierdzano jasne mitochondria ze skróconymi lub uszkodzonymi grzebieniami i poszerzone kanały gładkiej siateczki śródplazmatycznej, a pojedyncze dendryty wykazywały zmiany identyczne do opisanych w cytoplazmie perikarionalnej. Stwierdzano również nieliczne zakończenia nerwowe o obrzmiałej synaptoplazmie z nieprawidłowym rozkładem pęcherzyków synaptycznych. Do rzadkich należały neurony i komórki glejowe z nadbarwliwymi jądrami zawierającymi obfite, nierównomiernie rozproszone ziarnistości heterochromatyny, zbijające się w różnej wielkości grudki lub zagęszczone pod otoczką jądrową. W komórkach gleju gwiaździstego dominowało poszerzenie kanałów szorstkiej siateczki śródplazmatycznej. Zmiany w strukturze aparatu Golgiego i mitochondriach, jakkolwiek wyraźne, miały charakter drugoplanowy. Podobnie przedstawiały się nieprawidłowości w gleju skąpowypustkowym. Tylko nieliczne mitochondria oligodendrocytów wykazywały zatarcie struktury

wewnętrznej i przejaśnienie macierzy. Stwierdzano ponadto znaczne obrzmienie cytoplazmy perikarionalnej i wypustkowej astrocytów, z jej zubożeniem w organelle cytoplazmatyczne. Najbardziej nasilone zmiany dotyczyły okołowłóścińskich wypustek gleju gwiaździstego, których jasna cytoplazma zawierała mniej lub bardziej zagęszczony kłaczkowaty materiał /ryc. 54/.

U szczurów z 3-godzinnym przeżyciem po podaniu insuliny poza zmianami w mikroskopowo-elektronowym obrazie mitochondriów, aparatu Golgiego i szorstkiej siateczki śródplazmatycznej neuronów o opisanym powyżej charakterze obserwowano zmniejszenie ilości rybosomów związanych z komórkowymi strukturami błoniastymi oraz zwiększenie wolnych ugrupowań rybosomów. Częściej niż w poprzedniej grupie czasowej występowały komórki nerwowe i glejowe o hiperchromatynowych jądrach oraz pojawiały się neurony o ciemnej zagęszczonej cytoplazmie. Nieprawidłowości w obrazie astrocytów i oligodendrocytów miały taki sam charakter i nasilenie jak w grupie poprzedniej.

W 6 godz. po podaniu insuliny nasilenie zmian mitochondrialnych zarówno w komórkach nerwowych jak i glejowych było wyraźnie mniejsze w porównaniu z poprzednimi grupami czasowymi. Utrzymywało się nadal niewielkie poszerzenie zbiorników i kanałów aparatu Golgiego i szorstkiej siateczki śródplazmatycznej oraz zmniejszenie ilości rybosomów związanych z błonami cytoplazmatycznymi /ryc. 55/. Nadal stwierdzano znaczne obrzmienie wypustek astrocytarnych /ryc. 55/ oraz obecność neuronów i astrocytów o hiperchromatynowych

jądrami. Występowały również neurony o typowych cechach "dark neurons".

U zwierząt z 24-godzinnym przeżyciem tylko nieliczne mitochondria zarówno w komórkach nerwowych jak i glejowych wykazywały opisane powyżej nieprawidłowości. Większość mitochondriów była niezmienniona. Nieco częściej spotykano poszerzenie struktur aparatu Golgiego i kanałów szorstkiej siateczki śródplazmatycznej przede wszystkim w komórkach nerwowych. Sporadycznie występowały neurony z hiperchromatycznym jądrem i ciemną zagęszczoną cytoplazmą. Wokół naczyń włosowatych obserwowano nadal obrzmiałe wypustki astrocytów.

W żadnej z grup czasowych nie stwierdzano nieprawidłowości w obrazie naczyń włosowatych i osłonek mielinowych /ryc. 56/.

Kora mózdzku

U zwierząt z 1-godzinnym przeżyciem po podaniu insuliny najbardziej nasilone nieprawidłowości mikroskopowo-elektronowe dotyczyły komórek nerwowych, zarówno Purkiniego jak i ziarnistych /ryc. 57, 58/. Wyrażały się one znacznym obrzmieniem mitochondriów, które były powiększone, zawierały jasną macierz i miały niemal całkowicie zatarty rysunek grzebieni. Poszerzenie zbiorników i kanałów aparatu Golgiego stanowiło również częste zjawisko. Natomiast szorstka siateczka śródplazmatyczna w znacznej części komórek miała wygląd prawidłowy, choć zdarzało się również znaczne poszerzenie jej kanałów. W niektórych komórkach

Purkinjego występowało odcinkowe poszerzenie przestrzeni okołojądrowej zawartej między błonami otoczki jądrowej /ryc. 57/. Obserwowano również znaczne obrzmienie wypustek astrocytów, jakkolwiek w zestawieniu z komórkami nerwowymi nieprawidłowości ultrastrukturalne gleju były mniejsze.

W 3 godz. po podaniu insuliny uszkodzenia mitochondriów w komórkach nerwowych nie różniły się istotnie od stwierdzonych w poprzedniej grupie czasowej. Nasileniu uległo natomiast poszerzenie struktur aparatu Golgiego oraz kanałów szorstkiej siateczki śródplazmatycznej. Podobnie jak w neuronach kory ciemieniowej i amonalnej zmniejszona była liczba rybosomów związanych z błonami siateczki śródplazmatycznej a zwiększona ilość wolnych ugrupowań rybosomalnych. Nieprawidłowości ultrastruktury organelli cytoplazmatycznych astrocytów były identyczne jak u zwierząt z 1-godzinnym przeżyciem. Częściej natomiast w neurocytach i astrocytach spostrzegano jądra ze zwiększoną zawartością heterochromatyny nierównomiernie rozproszonej w karioplazmie lub zagęszczonej nieregularnie pod otoczką jądrową, wykazującą nierzadko poszerzenie przestrzeni zawartej między jej błonami. Jąderka w nieprawidłowych jądrach zajmowały zazwyczaj mimośrodkowe położenie. Stosunkowo częstym, w porównaniu z innymi okolicami ośrodkowego układu nerwowego, zjawiskiem były komórki nerwowe o cechach tzw. "dark neurons", charakteryzujące się znacznym zagęszczeniem hialoplazmy, współtowarzyszącym poszerzeniu kanałów szorstkiej siateczki śródplazmatycznej. Cytoplazma większości astrocytów była natomiast rozrzedzona

i zubożała w organelle śródplazmatyczne. W neuropilu stwierdzano liczne obrzmiałe wypustki astrocytów.

Po 6 godz. mitochondria większości komórek nerwowych miały wygląd prawidłowy, a tylko pojedyncze wykazywały przejaśnienie macierzy i częściowy zanik grzebieni /ryc. 59/. Nadal utrzymywało się znaczne poszerzenie zbiorników i kanałów aparatu Golgiego /ryc. 59/. Było ono mniej wyraźne w przypadku kanałów szorstkiej siateczki śródplazmatycznej. Jej nieznacznie poszerzone kanały pokryte były na ogół prawidłową ilością rybosomów, choć nadal stwierdzało się jej kanały pozbawione rybosomów oraz zwiększenie ilości wolnych ugrupowań rybosomalnych zarówno w cytoplazmie neuronów jak i komórek glejowych /ryc. 59, 60/. Sporadycznie występowały komórki nerwowe i glejowe o jądrach z nieprawidłową zawartością heterochromatyny i obwodowo usytuowanymi jąderkami oraz neurony z zagęszczoną, ciemną cytoplazmą. Liczne okołonaczyniowe wypustki astrocytów były nadal obrzmiałe.

Po 24 godz. obraz mikroskopowo-elektronowy większości mitochondriów w komórkach nerwowych i glejowych był prawidłowy. Tylko pojedyncze mitochondria i to przede wszystkim w obrzmiałych wypustkach astrocytów wykazywały nieznaczne zatarcie grzebieni i przejaśnienie macierzy. Nadal spotykano niewielkie poszerzenie kanałów aparatu Golgiego i szorstkiej siateczki śródplazmatycznej zarówno w neuronach jak i oligodendrocytach oraz astrocytach /ryc. 61/. Nie stwierdzano natomiast komórek o hiperchromatynowych jądrach i zagęszczonej cytoplazmie. Liczne były obrzmiałe wypustki astrocytów w neuropilu /ryc. 62/.

W żadnej grupie czasowej nie spostrzegano nieprawidłowości w strukturze ścian naczyń, osłonek mieliniowych i synaps.

2.1.7. Ocena sieci naczyniowej ośrodkowego układu nerwowego

W mózgach zwierząt kontrolnych sieć naczyń krwionośnych, uwidoczniła dzięki wypełnieniu przez wybarwione erythrocyty, wykazywała charakterystyczne zróżnicowanie gęstości, układu i kalibru naczyń w poszczególnych strukturach ośrodkowego układu nerwowego. Najbardziej uderzająca różnica wyrażała się znaczną obfitością i zagęszczeniem naczyń w strukturach szarych w porównaniu z ubogim unaczynieniem istoty białej /ryc. 63/. Niektóre struktury szare takie jak kora mózgu wykazywały warstwowe zróżnicowanie gęstości sieci naczyniowej. Było ono jeszcze wyraźniejsze w korze zakrętu hipokampa /ryc. 64, 65/, w której obfitonaczyniowe pasmo wyznaczało przebieg warstwy komórek piramidowych. Podobne zróżnicowanie występowało w korze mózdzku, w której warstwa komórek Purkinjego i warstwa ziarnista odcinały się bogactwem sieci naczyniowej od względnie ubożej unaczynionej warstwy drobinowej, zawierającej stosunkowo nieliczne naczynia o promienistym przebiegu. Naczynia kory mózgu tworzyły gęstą sieć, wśród której wyróżniały się promieniste układy większych naczyń, odpowiadające zarówno tętnicom jak i żyłom. Podobny charakter miało unaczynienie jąder podkorowych. Nie spostrze-

gało się tu układów warstwowych, a większe naczynia zarówno tętnicze jak i żyłne miały przebieg nieregularny. Tętnice i żyły można było odróżnić na podstawie grubości ścian oraz obfitości rozgałęzień. W istocie białej sieć naczyń była uboższa, a stosunkowo bogaty jej składnik stanowiły drobne naczynia żyłne. Obraz sieci naczyniowej pnia mózgu wyróżniał się mozaikowym naprzemiennym układem bogatych i ubogich ugrupowań naczyniowych, odpowiadających strukturom szarym i białym /ryc. 66/.

U zwierząt z 1-godzinnym przeżyciem po podaniu insuliny na wszystkich poziomach mózgowia stwierdzono zatarcie różnic między gęstością sieci naczyniowej w istocie szarej i białej /ryc. 67/. Było to szczególnie wyraźne w strukturach półkul mózgu. Naczynia kory mózgu, jąder podkorowych i istoty białej były obficie wypełnione erytrocytami. Liczne naczynia drobnego i średniego kalibru wykazywały wężykowaty przebieg. W korze mózgu uwidocznione były znacznie poszerzone proste naczynia o promienistym układzie w stosunku do powierzchni mózgu. Sądząc po przebiegu i kalibrze naczyń najbardziej poszerzone były naczynia żyłne kory i jąder podstawy. Szczególnie wyraźne przepełnienie wybarwionymi erytrocytami dotyczyło średnich i dużych naczyń struktur białych, takich jak spoidło wielkie, spoidło przednie, pęczek tyłozgięty Meynerta i pień węchowy boczny. W korze zakrętu hipokampa stwierdzano również zatarcie różnicy gęstości sieci naczyniowej w poszczególnych jej warstwach /ryc. 68/. Występowały tu także liczne poszerzone większe naczynia o wężykowatym przebiegu. W pniu mózgu

uwidocznione były średnie i większe naczynia o silnie wypełnionych światłach, oddające liczne odgałęzienia boczne o falistym przebiegu. W korze mózdku zacierano się zróżnicowanie gęstości unaczynienia w jej poszczególnych warstwach.

Po upływie 2 godz. stopień wypełnienia sieci naczyniowej wszystkich struktur ośrodkowego układu nerwowego wybarwionymi erytrocytami wydawał się jeszcze większy niż w poprzedniej grupie czasowej. Szczególnie zwracały uwagę liczne naczynia średniego i dużego kalibru, bardzo znacznie poszerzone i oddające obfite odgałęzienia o nierównym falistym przebiegu. Były one najbogaciej reprezentowane w strukturach podkorowych takich jak jądro ogoniaste, skorupa i wzgórze.

U zwierząt z 4-godzinnym przeżyciem utrzymywało się nadal przepełnienie krwią włosniczek i większych naczyń tętnicznych i żylnych oraz zatarcie fizjologicznej różnicy w gęstości sieci naczyniowej między istotą szarą i białą /ryc. 69, 70/. W korze półkul zatarciu ulegał warstwowy układ sieci naczyniowej. Nie stwierdzano charakterystycznie uboższej sieci naczyń w jej III i V warstwie piramidowej /ryc. 69/. W pniu mózgu zanikał mozaikowy rysunek rozkładu naczyń /ryc. 70/. W korze amonalnej pojawiły się drobne okrągłe lub owalne pólka pozbawione wypełnionych krwinkami naczyń włosowatych /ryc. 71/. Występowały one zarówno w warstwie brzeżnej stopy hipokampa jak i w warstwie brzeżnej zakrętu zębatego na pograniczu unaczynienia przez tętnice poprzeczne wewnętrzne i zewnętrzne.

Te same nieprawidłowości w obrazie sieci naczyniowej kory amonalnej stwierdzano w mózgach zwierząt zabijanych po 6 godz. od podania insuliny /ryc. 72/. Występowało nadal obfite wypełnienie krwią sieci włósczkowej struktur szarych i białych oraz obecne były liczne większe naczynia wykazujące cechy przekrwienia. Podobnie jak w poprzednich grupach czasowych widoczne były ich obfite odgałęzienia o nierównym falistym przebiegu. Analiza grubości ścian większych naczyń, ich położenia w tkance oraz charakteru odgałęzień pozwalała przyjąć, iż najbardziej zaawansowane przekrwienie dotyczyło w tym okresie naczyń żylnych. Nowym zjawiskiem była obecność drobnych, okrągłych, nieregularnie rozsianych pól o obniżonej zawartości naczyń włosowatych, występujących w korze nowej półkul.

Po 24 godz. doświadczenia następowała zasadnicza normalizacja obrazu sieci naczyniowej w większości struktur ośrodkowego układu nerwowego /ryc. 73/. Powracało charakterystyczne zróżnicowanie gęstości sieci naczyniowej w korze mózgu, pniu i w mózdzku. Widoczna była prawidłowa różnica unaczynienia istoty szarej i białej. Nie spostrzegano rozsianych plackowatych pól upośledzonego unaczynienia w korze amonalnej, ani w jej warstwach brzeżnych, ani w stopie hipokampa. Widoczne były jednak nieliczne przepełnione krwią większe naczynia w korze nowej i w jądrach podstawy. Występowały również sporadycznie drobne pólka niedokrwienia rozsiane w korze mózgu /ryc. 73/.

U szczurów, które przeżyły 48 godz. po podaniu insuliny obraz sieci naczyniowej ośrodkowego układu nerwowego był identyczny jak u zwierząt kontrolnych.

2.2. Grupa doświadczalna II

2.2.1. Obraz kliniczny

Niezależnie od zastosowanej dawki insuliny /1-5 U/100 g masy ciała/ przez okres wstępnych 30-60 min. doświadczenia szczury nie wykazywały żadnych uchwytnych odchyień klinicznych od stanu prawidłowego. Na przełomie 1 i 2 godz. zwierzęta stawały się mniej ruchliwe, senne i słabiej reagujące na bodźce czuciowe lub słuchowe, bądź też nadmiernie pobudzone. W 2 godz. u większości zwierząt pojawiały się zaburzenia krążeniowo-oddechowe o różnym nasileniu, rzadziej pojedyncze napady drgawkowe. W okresie między 3 i 4 godz. doświadczenia obserwowano największe nieprawidłowości kliniczne: sinicę, zaburzenia oddechu, śpiączkę, drżenie lub toniczno-kloniczne napady drgawkowe, niekiedy wytrzeszcz gałek ocznych. W stan śpiączkowy, podobnie jak w grupie I, większość zwierząt wpadała po upływie 3 godz. od podania insuliny. Trwał on zazwyczaj od 10 do 30 min., niekiedy wydłużając się poza ten okres. W okresie śpiączki występował ślinotok oraz następowało oddawanie moczu i kału. Towarzyszyły jej wszystkie wspomniane powyżej objawy kliniczne, o indywidualnie zróżnicowanym natężeniu. Ze stanu śpiączkowego zwierzęta, jeśli nie zginęły w czasie jego trwania, wybudzały się samoistnie. Towarzyszące zaburzenia krążeniowo-oddechowe wyrażały się tachykardią, sinicą, przyspieszeniem oddechu, występowaniem jego nieprawidłowych postaci, wydzielaniem pianistej, krwawo podbarwionej wydzieliny z nozdrzy, pojawiającej się zwykle po dużych napadach drgawkowych.

Czwarta godzina doświadczenia była okresem krytycznym dla zwierząt znajdujących się w ciężkim stanie klinicznym, który niejednokrotnie skłaniał do usypiania ich we wcześniejszym niż zaplanowano terminie. Liczne zwierzęta padały w tej fazie doświadczenia. Nasilenie i czas trwania zaburzeń klinicznych zwiększały się na ogół wraz z wzrastającą dawką hormonu. Obserwowano jednak w tym względzie znaczne różnicowanie osobnicze. U niektórych szczurów nawet stosunkowo niskie dawki insuliny wywoływały ciężkie zaburzenia krążeniowe i zgon w wczesnym okresie doświadczenia.

Stan zwierząt, które przeżyły wspomniany okres krytyczny, ulegał stopniowej poprawie. Bezpośrednio po ustąpieniu śpiączki były one mniej ruchliwe i wykazywały wyraźnie obniżone reakcje na bodźce zewnętrzne. Po 6 godz. przyjmowały prawidłową postawę, poruszały się swobodnie, piły wodę i zaczynały przyjmować pokarm stały. Po 24 godz. nie różniły się swoim zachowaniem od zwierząt kontrolnych. Pomimo obserwowanego wyrównania zaburzeń klinicznych liczne zwierzęta ginęły w okresie kilku do kilkunastu godzin po ustąpieniu zespołu hipoglikemicznego. Dotyczyło to zwłaszcza szczurów, które otrzymały insulinę w dawce 4 i 5 U/100 g masy ciała. Uniemożliwiało to praktycznie morfologiczną ocenę stanu ośrodkowego układu nerwowego w tych grupach zwierząt w okresie dłuższym niż 4 godz. po podaniu hormonu. Zwierzęta padające samoistnie, bez wykonanej perfuzji, eliminowano bowiem z dalszych badań.

2.2.2. Zawartość glukozy we krwi

Zawartość glukozy we krwi szczurów kontrolnych, oznaczana przy zastosowaniu metody orto-toluidynowej, zamykała się w granicach 79-105 mg%.

U zwierząt po jednorazowym podaniu insuliny w dawce 1-5 U/100 g masy ciała dynamika spadku zawartości glukozy we krwi była identyczna jak u zwierząt grupy I. Różnice polegały na niższej, często nieoznaczalnej wartości stężenia glukozy pod koniec 3 godziny doświadczenia, a w przypadku braku samoistnego wybudzania się zwierząt ze śpiączki hipoglikemicznej, na utrzymywanie się niskiego, a nawet nieoznaczalnego poziomu glukozy aż do śmierci zwierzęcia.

W tabeli 3 przedstawiono przykładowo wartości stężenia glukozy we krwi u szczurów po podaniu 2 U insuliny/100 g masy ciała. Była to grupa z najwyższą dawką insuliny, w której wszystkie zwierzęta przeżyły założony czas 48-godzinnej obserwacji. Przy wyższych dawkach liczne zwierzęta ginęły, a w grupach z podaniem 4 i 5 U insuliny/100 g masy ciała nie była w ogóle możliwa przyżyciowa obserwacja dłuższa niż 4 godziny.

Z przedstawionej tabeli wynika, iż po podaniu hormonu, podobnie jak w grupie I, następował ostry spadek zawartości glukozy we krwi w ciągu pierwszych godzin doświadczenia. Osiągał on swoje największe nasilenie po upływie 3 godz. po podaniu insuliny. Następnie obserwowano postępujący wzrost stężenia glukozy we krwi, osiągający po upływie

Tabela 3. Zawartość glukozy we krwi szczurów /mg%/
po jednorazowym podaniu insuliny w dawce
2 U/100 g masy ciała.

Czas po podaniu insuliny lub fizjologicznego roztworu NaCl /godz./	Zwierzęta kontrolne /NaCl/	Zwierzęta doświadczalne /insulina/
0	80 ± 5,23 ^x	79 ± 4,52
1	95 ± 3,45	20 ± 4,23
2	90 ± 4,13	5 ± 1,96
3	100 ± 10,25	1,5 ± 1,23
4	105 ± 3,42	6 ± 2,32
5	98 ± 11,53	10 ± 4,62
6	85 ± 15,26	70 ± 10,38
24	92 ± 4,52	85 ± 8,25
48	79 ± 13,35	76 ± 8,69

^x Średnia z 5 oznaczeń ± odchylenie standardowe.

6 godz. wartości zbliżone do stwierdzanych u zwierząt kontrolnych. Wzrost ten był niezależny od przyjmowania pokarmu, gdyż zwierzęta w tej grupie w swojej znakomitej większości nie jadły w ogóle do 6 godz. obserwacji.

2.2.3. Obraz makroskopowy ośrodkowego układu nerwowego

Mózgi zwierząt dekapitowanych w 2, 4 i 6 godz. po podaniu insuliny wykazywały makroskopowe cechy obrzęku, wyrażającego się wygładzeniem powierzchni zewnętrznej mózgowia, poszerzeniem istoty białej półkul oraz zatarciem granicy pomiędzy istotą szarą i białą. W żadnym przypadku nie stwierdzono zmian w obrazie układu komorowego ani cech wgłobienia mózdzku do otworu potylicznego wielkiego. Nasilenie zmian wykazywało zależność od ciężkości stanu klinicznego w okresie doświadczenia, niezależnie od zastosowanej dawki hormonu. Mózgi zwierząt dekapitowanych po 24 i 48 godz. od podania insuliny nie wykazywały żadnych uchwytanych zmian makroskopowych. Należy jednakże przypomnieć, że nie poddawano ocenie zwierząt, którym podawano insulinę w dawce 4 i 5 U insuliny/100 g masy ciała, gdyż padały one samoistnie w przedziale czasowym między 4 i 24 godziną obserwacji.

2.2.4. Obraz mikroskopowy ośrodkowego układu nerwowego

W mózgach szczurów z 1-godzinnym przeżyciem po podaniu insuliny obserwowano w korze nowej, korze amonalnej i w korze mózdzku neurony z mikrowakuolizacją cytoplazmy /ryc. 74/ oraz komórki nerwowe o ciemnej, nierówno barwiącej się cytoplazmie, w której widoczne były pojedyncze, nierówno-

miernie, zwykle obwodowo rozmieszczone wodniczki.

W przypadku kory nowej, najczęściej dotknięte były komórki piramidowe III i V warstwy, a w korze amonalnej zarówno piramidowe neurony stopy hipokampa jak i komórki zakrętu zębatego. Podobnie zmienione były komórki Purkinjego kory mózdzku. Liczne z nich charakteryzowały się ciemną obkurczoną cytoplazmą z pojedynczymi wodniczkami, inne wyróżniały się obkurczonym, hiperchromatycznym jądrem przy stosunkowo mało zmienionej cytoplazmie /ryc. 75/. Zmiany komórkowe występowały najwyraźniej w mózgach zwierząt, które otrzymały wyższą dawkę insuliny.

U szczurów z przeżyciem 2, 4 i 6 godz. zespół zmian neuropatologicznych był bardziej zróżnicowany, a charakter, lokalizacja i nasilenie uszkodzeń były przede wszystkim uwarunkowane ciężkością przebytych zaburzeń klinicznych.

W mózgach zwierząt z 2-godzinnym przeżyciem po podaniu insuliny liczba uszkodzonych neuronów była większa niż w poprzedniej grupie czasowej i występowały one we wszystkich badanych strukturach szarych ośrodkowego układu nerwowego. Obok kory nowej, amonalnej i kory mózdzku stwierdzano je w podwzgórzu, jądrach podstawy, wzgórzu, pniu mózgu i w korze gruszkowatej. Zmiany ischemiczne komórek nerwowych przeważały ilościowo nad mikrowakuolizacją ich cytoplazmy /ryc. 76/. U niektórych zwierząt obserwowano ogniskowe nagromadzenie neuronów o cechach schorzenia ischemicznego w tych obszarach kory nowej, które stanowią pogranicze unaczynienia przez tętnicę środkową i przednią mózgu oraz środkową i tylną mózgu /ryc. 77/. Podobne zmiany występowały

w korze amonalnej /ryc. 78/ i w korze mózdzku /ryc. 79/.

W ugrupowaniach komórek pnia mózgu obok zmian ischemicznych i mikrowakuolizacji występowały nieprawidłowości o cechach schorzenia ciężkiego /ryc. 80/. U szeregu zwierząt z 2-godzinnym przeżyciem po ciężkim zespole klinicznym stwierdzano rozluźnienie podłoża tkankowego, wakuolizację neuropilu i poszerzenie przestrzeni okołonaczyniowych /ryc. 81/ oraz porozsuwanie pasm oligodendrocytów wyznaczających przebieg włókien nerwowych w istocie białej. Powyższe zmiany, stanowiące wykładniki obrzęku mózgu były najbardziej zaznaczone w zakręcie hipokampa, w mózdzku i w pniu mózgu. Zarówno u zwierząt z 2-godzinnym przeżyciem jak i dłuższym, w przypadku obrzęku mózgu, znajdowano w mózdzku komórki Purkinjego o ciemnych nadbarwliwych jądrach i silnie eozynochłonnej cytoplazmie /ryc. 82/. Tak zmienione komórki obserwowano w najbardziej wysuniętych płacikach górnej i bocznej powierzchni mózdzku, a także w obrębie robaka nad komorą IV.

U szczurów, które przeżyły 4 godz. po podaniu insuliny, wyraźnie narastały cechy obrzęku mózgu. Znacznie bardziej niż w poprzedniej grupie czasowej wyrażona była wakuolizacja neuropilu w korze mózgu, w jądrach podkorowych, a przede wszystkim w strukturach pnia mózgu /ryc. 83/.

Bardziej zaznaczone było porozsuwanie pasm oligodendrogleju wyznaczających przebieg włókien nerwowych w istocie białej oraz poszerzenia przestrzeni okołonaczyniowych. Zmianom ischemicznym towarzyszyło ciężkie uszkodzenie neuronów pnia mózgu /ryc. 83/, kory i zakrętu hipokampa /ryc. 84 i 85/ oraz komórek Purkinjego. Wśród tych ostatnich zniszczenie

komórek prowadziło do utrzymywania się jedynie cieni komórkowych /ryc. 86/. Stwierdzano również liczne ubytki komórek Purkinjego. W opuszcze wyraźnie narastały nieprawidłowości dotyczące neuronów różnych ugrupowań komórkowych z ich niewątpliwą przewagą w strukturach tworu siatkowatego. Wśród zmian komórkowych dominowało schorzenie ischemiczne i zmiany rozplywne /ryc. 87, 88/ oraz schorzenie przewlekłe /ryc. 89/. Podobnie jak w poprzedniej grupie czasowej, u niektórych zwierząt zmiany ograniczały się do ischemicznego uszkodzenia neuronów, szczególnie nasilonego w polach granicznych unaczynienia dużych naczyń tętnicznych /ryc. 90/.

W 6 godz. po podaniu insuliny ogólny wzorzec nieprawidłowości neuropatologicznych był taki sam jak w poprzedniej grupie czasowej. Dominowało ischemiczne i ciężkie uszkodzenie neuronów z obecnością rozplywających się cieni komórkowych, występujące we wszystkich formacjach szarych mózgowia. Najbardziej nasilone zmiany stwierdzano jednak w korze półkul mózgowych, korze amonalnej i formacjach pnia mózgu oraz w mózdzku. Niekiedy wśród rozplywających się cieni komórkowych stwierdzano satelitozę glejową. W pniu mózgu uszkodzenia dotyczyły również tych formacji komórkowych, które w poprzednich grupach czasowych były niezmiennione, np. neuronów jąder mostu /ryc. 91/. Nasilone były również morfologiczne wykładniki obrzęku mózgu: poszerzenie przestrzeni okołonaczyniowych, wakuolizacja neuropilu w formacjach szarych i porozsuwanie pasm oligodendrocytów w istocie białej. To ostatnie zjawisko prowadziło do słabszego zabarwienia istoty białej w barwieniach na

osłonki mielinowe. Przy najbardziej nasilonym obrzęku występowały oligodendrocyty z cechami ostrego obrzmienia oligodendrogleju oraz odczynowe astrocyty.

W 24 i 48 godz. doświadczenia /okres ten przeżyły tylko szczury, które otrzymywały hormon w dawce niższej niż 4 i 5 U/100 g masy ciała i które okres hipoglikemii przeżyły bez nasilonych objawów ogólnoustrojowych/ stwierdzano nadal zmienione neurony o cechach schorzenia ischemicznego, ciężkiego i przewlekłego, występujące w korze półkul mózgowych, zakrętu hipokampa i mózdzku oraz w strukturach pnia mózgu. Obecne były ponadto niewielkie rozsiane i okołonaczyniowe ubytki komórkowe w korze półkul mózgu, zlokalizowane głównie w dnie rowków naczyniowych /ryc. 92/. Podobną lokalizację miały stwierdzone ubytki komórek Purkinjego /ryc. 93/. U jednego ze zwierząt występował ponadto odcinkowy ubytek komórek opaski zębatej w korze amonalnej /ryc. 94/. Ubytki neuronów pnia mózgu były mniej uchwytnie. Opisanym uszkodzeniom komórkowym nie towarzyszył odczyn glejowy. Wykładniki obrzęku mózgu były wyraźnie mniej nasilone lub nie występowały w ogóle.

OMÓWIENIE

Skąpy materiał ludzki, stanowiący przedmiot analizy neuropatologicznej był wysoce zróżnicowany pod względem klinicznym, co w sposób oczywisty mogło wpływać na obraz patomorfologiczny ośrodkowego układu nerwowego. Spośród czynników oddziałujących na jego ukształtowanie należy wymienić zaawansowany u większości chorych wiek, zróżnicowany w czasie trwania proces cukrzycowy, towarzyszące choroby narządowe i ogólnoustrojowe, nie wykluczając nieswoistych i swoistych procesów zapalnych, a przede wszystkim objawy niewydolności krążeniowo-oddechowej, występujące w okresie zejściowym u wszystkich pacjentów.

Wiek chorych zamykał się w szerokich granicach od 24 do 82 lat, z wyraźną przewagą grup starszych. Tylko 3 przypadki dotyczyły chorych poniżej 50 roku życia. Fakt ten znajdował swoje niewątpliwe odbicie w stanie układu naczyniowego. Potwierdza to choćby obecność wykładników włóknistej przebudowy ścian naczyń mózgowych, właściwej dla zmian typu starczego /Iwanowski, 1980/ we wszystkich przypadkach powyżej 70 roku życia. Zaskakująca w tym kontekście jest względna rzadkość zmian miażdżycowych w dużych tętnicach podstawy mózgu, stwierdzonych jedynie w 4 przypadkach i to tylko w 2 w najwyższej grupie wiekowej. Jest to tym bardziej nieoczekiwane, iż cukrzyca jest znanym czynnikiem

przyspieszającym rozwój procesu miażdżycowego /Santen i wsp., 1972; Stout, 1979/, a Olejniczak /1984/ stwierdził jego większe zaawansowanie w grupach cukrzycowych w zestawieniu z porównywalnymi grupami wiekowymi. Na podkreślenie zasługuje przy tym fakt, że obecne, nawet u najstarszych chorych zmiany miażdżycowe dużych naczyń podstawy mózgu mieściły się w granicach II i III stopnia wg. Bakera i wsp. /1960/. Być może potwierdza to tezę Barcikowskiej-Litwin /1984/, że chorzy obciążeni zaawansowanym procesem miażdżycowym nie dożywają późnego wieku. Należy również uwzględnić fakt, iż wg De Jonga /1950/ i Bellę /1952/ - tylko cukrzyca rozpoczynająca się w wieku młodzieńczym i trwająca nie krócej niż 10 lat stanowi istotny czynnik przyspieszający rozwój zmian miażdżycowych. Zjawiskiem częstym w przedstawionym materiale było stwardnienie naczyń śród-mózgowych. Jego wykładniki w postaci zwłóknienia ścian drobnych naczyń i/lub ich zeszkliwienia z towarzyszącym rozwarstwieniem błony sprężystej wewnętrznej stwierdzono w 8 przypadkach, w tym również u chorych poniżej 50 roku życia. Mogły one być zarówno elementem postępującego z wiekiem procesu stwardnieniowo-miażdżycowego /Dymecki, 1981/, choroby nadciśnieniowej, jak i samej cukrzycy /Dąbska, Buksowicz, 1962; Mossakowski, Renkawek, 1981/. Z podręcznikowego piśmiennictwa wiadomo, iż zasadniczą nieprawidłowością strukturalną w ośrodkowym układzie nerwowym w przebiegu cukrzycy jest mikroangiopatia, która w swoim obrazie patomorfologicznym różni się niewiele od zmian towarzyszących nadciśnieniu tętniczemu, różnego

pochodzenia, które występowało również w kilku przypadkach włączonych do przedstawianego materiału. U 9 spośród 10 chorych występowała cukrzyca o wieloletnim przebiegu, w większości przypadków wahającym się od kilku do kilkunastu lat. Zwraca przy tym uwagę fakt, że 2 przypadki bez zmian naczyniowych w mózgu reprezentują grupę o stosunkowo najkrótszym wywiadzie cukrzycowym. Niezależnie od źródeł przyczynowych, stwierdzone nieprawidłowości w układzie naczyniowym mózgu mogły prowadzić do obniżenia przepływu mózgowego, pogorszenia ukrwienia mózgu, zmniejszenia wymiany substancji energetycznych i produktów przemian tkankowych między krwią i mózgiem i zwiększenia gotowości obrzękowej /Obrist, 1979; Sokoloff, 1979; Hossmann, 1979 Mossakowski, 1983/ już w okresie poprzedzającym wystąpienie stanu neurohipoglikopenii. Do upośledzonego zaopatrzenia ośrodkowego układu nerwowego w tlen prowadziły również obecne w 7 przypadkach procesy zapalne, zlokalizowane w układzie oddychowym. Ich świeży charakter, z wyjątkiem 3 przypadków przewlekłej gruźlicy płuc, wskazuje, iż mogły one odgrywać rolę dodatkowego czynnika patogenetycznego w okresie stanu hipoglikemicznego i po jego ustąpieniu.

W obrazie neuropatologicznym przedstawionych przypadków występowały wszystkie typy strukturalnych uszkodzeń tkankowych opisywanych w encefalopatii hipoglikemicznej. Były one obecne w przypadkach z krótkim i dłuższym przeżyciem, po różnie trwającej śpiączce hipoglikemicznej, zarówno wówczas gdy stanowiła ona pierwszy jak i kolejny epizod neuroglikopeniczny. Dominowały wśród nich cechy obrzęku mózgu oraz nieswoiste zwyrodnienia i ubytki komórek nerwowych.

Mikroskopowe wykładniki obrzęku mózgu występowały we wszystkich przypadkach, nawet w tych w których nie stwierdzono go w makroskopowych oględzinach mózgu. Jego nasilenie, w większości przypadków, było znaczne, czego wyrazem były cechy wzmożonego ciśnienia wewnątrzczaszkowego: wgłobienie migdałków mózdzku do otworu potylicznego wielkiego i zaklinowanie haków do wcięcia namiotu mózdzku. Niewątpliwym jego następstwem, związanym z ciasnotą wewnątrzczaszkową była również symetryczna martwica okolicy potylicznej półkul mózgowych u młodego pacjenta z długotrwałym stanem hipoglikemicznym i kilkutygodniowym przeżyciem po jego przebyciu. Stopień zaawansowania procesu rozbiórkowo-reparacyjnego ognisk martwicy, pozwalał w tym przypadku na ich czasowe wiązanie z epizodem neuroglikopenicznym. Zaawansowany obrzęk mózgu w wielu przypadkach prowadził do rozległego zgałbczenia tkanki, niekiedy najbardziej zaawansowanego w otoczeniu naczyń, niekiedy zaś zajmującego jej rozległe obszary, przede wszystkim w istocie białej. Występował on typowo w przypadkach z dłużej trwającą śpiączką i dłuższym okresem przeżycia po jej przebyciu. Obecny był również i wówczas gdy zejście śmiertelne następowało bezpośrednio po kilkugodzinnym stanie śpiączkowym lub w czasie jego trwania. Skrajne nasilenie procesu obrzękowego, przyjmującego postać martwicy obrzękowej Jacoba, z wykładnikami uszkodzenia osłonek mielinowych oraz z objawami odczynowej reakcji gleju gwiaździstego lub z zanikiem oligodendrocytów, obecne było jedynie w przypadkach o najdłuższym przeżyciu długo-

trwałej śpiączki. Obecność reakcji obrzękowej i jej pogłębianie się przy dłuższych okresach przeżycia przeczy poglądom tych autorów, którzy uważają ją za znamienne wyłącznie dla wczesnych okresów pośpiączkowych /Moersch, Kernohan, 1938; Höpker, 1954; Courville, 1957; Pentschew, 1958/. Jest ona również niezgodna z obserwacjami Lawrence'a i wsp. /1942/, Brierleya /1965/ oraz Vitala i wsp. /1967/, którzy uważają, że obrzęk mózgu stanowi sporadyczne zjawisko w encefalopatii cukrzycowej. Lokalizacja i struktura mikroskopowych wykładników procesu obrzękowego sugerują jego naczyniopochodny charakter w kategoriach Klatzo /1967/, a nakładanie się w znacznej części przypadków objawów zastoiny żylny pozwala wiązać jego rozwój z niewydolnością krążenia występującą w okresie zejściowym u wszystkich chorych. Zastoiny naczyniowemu należy zapewne również przypisać obecność okołonaczyniowych wybroczyn rozsianych w różnych strukturach mózgowia. Stanowią one zresztą stosunkowo rzadkie zjawisko w ostrej encefalopatii hipoglikemicznej /Moersch, Kernohan, 1938; Höpker, 1954; Kernyey, 1955, Courville, 1957; Pentschew, 1958/.

Z obecnością reakcji obrzękowej należy wiązać zapewne również sporadyczne uszkodzenia mieliny, przyjmujące w przedstawionym materiale postać zblednięć lub rozpadu osłonek rdzennych. Wiązały się one zawsze z nasilonym obrzękiem mózgu i przybierały największe nasilenie w obszarach martwicy obrzękowej Jacoba. Mielinoklastyczne działanie obrzęku jest faktem znanym i podnoszonym w pracach szeregu autorów, między innymi Brüchera /1967/ i

Klatzo /1967/. W tym kontekście wydaje się wysoce prawdopodobne, iż rozległa demielinizacja istoty białej półkul mózgu zarówno towarzysząca masywnym ubytkom komórkowym /Richardson, Russel, 1952; Kőernyey, 1955; Pentschew, 1958/ jak i przebiegająca bez uchwytnych zmian w obrazie komórek nerwowych /Hempel, 1949/, opisywana w późnych okresach encefalopatii hipoglikemicznej, stanowić może zejście obrzęku mózgu.

Uszkodzenie komórek nerwowych, przyjmujące postać ich nieswoistych zwyrodnień były zjawiskiem powszechnym. Nie udało się, w przeciwieństwie do szeregu autorów /Terplan, 1932; Baker, 1938, 1939; Ferraro, Jervis, 1939; Ferraro, 1942; Malamud, 1948/49; Meyer, 1963; Brierley, 1965; Brzecki i wsp., 1972/ dostrzec zależności ich występowania oraz obecności ich poszczególnych typów morfologicznych od czasu trwania śpiączki hipoglikemicznej i okresu przeżycia po jej ustąpieniu. Stwierdzono je w mózgach chorych z kilkugodzinną i kilkudniową śpiączką. Były one obecne w przypadku zejścia śmiertelnego w czasie trwania śpiączki oraz po kilku i kilkunasto-dniowym przeżyciu.

Nieswoiste zwyrodnienia komórkowe, podobnie jak w materiale innych autorów /Malamud, Grosh, 1938; Lawrence i wsp., 1942; Höpker, 1954; Courville, 1957; Pentschew, 1958; Brierley, 1965; Vital i wsp., 1967; Brzecki i wsp., 1972/ występowały praktycznie we wszystkich ich postaciach morfologicznych. Przeważał jednak obraz schorzenia ischemicznego, homogenizacyjnego, ciężkiego i mikrowakuolizacja cytoplazmy neuronów. To ostatnie zjawisko, opisywane często

w stanach neuroglikopenii /Bowen, Beck, 1932; Tendström, 1934; Moersch, Kernohan, 1937; Höpker, 1954; Courville, 1957; Pentschew, 1958/, zasługuje na specjalną uwagę ze względu na fakt, iż doświadczalne badania Brierleya i wsp. /1971 a, b/ wskazują na jego wczesny charakter. Stanowi ono fazę przejściową do schorzenia ischemicznego /Brown, Brierley, 1968, 1971/ i jako takie mogłoby być związane z ostatnim epizodem chorobowym, którym we wszystkich przypadkach była śpiączka hipoglikemiczna. Częstość i nasilenie nieprawidłowości strukturalnych tego typu było rzeczywiście największe w przypadkach zejścia śmiertelnego w krótkim czasie po śpiączce. Stwierdzano je jednak również w mózгах chorych zmarłych po dłuższym okresie. Fakt ten każe powątpiewać o ich wyłącznym związku przyczynowym ze stanem niedocukrzenia. Można bowiem założyć również ich uwarunkowanie niedotlenieniem, stanowiącym następstwo niewydolności oddechowo-kръżeniowej występującej u wszystkich chorych zarówno w czasie śpiączki jak i po jej ustąpieniu.

Przy braku wyraźnej zależności typu uszkodzeń neuronalnych od czasu trwania śpiączki i okresu pośpiączkowego, stwierdzono niewątpliwie jego związek z zajęciem określonych struktur ośrodkowego układu nerwowego. Schorzenie ischemiczne i przewlekłe przeważało w przednich obszarach kory mózgu oraz w zakręcie hipokampa. Rzadko tylko występowało w innych obszarach ośrodkowego układu nerwowego, w tym przede wszystkim w jądrach tworzących siatkowatego pnia mózgu. Schorzenie ciężkie dominowało w korze potylicznej i w gałce bladej, a zmiany o cechach ostrego obrzmienia komórek obejmowały

niemal wyłącznie prążkowie. Schorzenie homogenizacyjne dotyczyło wybiórczo komórek Purkinjego kory mózdzku. Mikrowakuolizacja cytoplazmy występowała w komórkach piramidowych III i V warstwy kory mózgu i rogu Amona oraz w komórkach Purkinjego.

Pomimo uogólnionego charakteru zmian komórkowych przeważały uszkodzenia wybranych struktur mózgowia. Dominowały zmiany w korze mózgu, z wybiórczym zajęciem warstwy III i V, w zakręcie hipokampa oraz warstwie zwojowej kory mózdzku. Inne czynnościowo-strukturalne układy mózgowia były zajęte rzadziej i w mniejszym stopniu. Identyczną lokalizację topograficzną wykazywały ubytki komórek nerwowych. Miały one postać zaników okołonaczyniowych, warstwowych i rozlanych. Szczególnie charakterystyczne były warstwowe ubytki w III i V warstwach kory mózgu, przeważające w głębi rowków mózgowych i w pasmie komórek piramidowych rogu Amona, zlokalizowane przede wszystkim w sektorze H_1 i H_3 Sommera oraz zanik komórek Purkinjego kory mózdzku. Zjawiskiem zwracającym szczególną uwagę były ubytki komórkowe w obszarach granicznych unaczynienia dużych gałęzi tętniczych mózgu. Ubytkom neuronalnym towarzyszył zmiennie nasilony, niekiedy bardzo żywy wytwórczy odczyn glejowy. Jego obecność w przypadkach z krótkotrwałym przeżyciem po kilkugodzinnym stanie śpiączkowym każe powątpiewać o związku przyczynowym obu zjawisk.

Rozkład topograficzny zmian komórkowych, zarówno ubytkowych jak i zwyrodnieniowych, stwierdzonych w przedstawionym materiale odpowiada większości znanym z piśmiennictwa

opisom patomorfologii śpiączki hipoglikemicznej /Terplan, 1932; Baker, 1938, 1939; Ferraro, 1942; Malamud, 1948; Höpker, 1954; Courville, 1957; Meyer, 1963; Brierley, 1965, 1976; Vital i wsp., 1967; Brzecki i wsp., 1972/. Na podkreślenie zasługują jednak pewne odrębności, stanowiące zresztą przedmiot kontrowersji w piśmiennictwie neuropatologicznym. Należy tu przede wszystkim stałe zajęcie mózdzku, wyrażające się nie tylko zwyrodnieniem i ubytkami komórek Purkinjego, z mniej lub bardziej wyrażonym odczynem wytwórczym ze strony gleju Bergmanna, lecz także obecność w 2 przypadkach rozległą martwicę warstwy komórek ziarnistych. Spostrzeżenia te są wprawdzie zgodne z obserwacjami takich autorów jak Jansen i Waaler /1940/, Grunthal /1941/, Malamud /1948/49/, Hempel /1949/, Kobernyey /1955/, Courville /1957/, Pentschew /1958/ i in., lecz całkowicie sprzeczne z poglądami Meyera /1963/ i Brierleya /1976/, którzy uważają zajęcie mózdzku za niezwykle rzadkie. Są one również niezgodne z opinią Kalimo i Olssona /1980/, według których mózdzek charakteryzuje się znaczną opornością na uszkodzenia w warunkach hipoglikemii. Z kolei, nikłe zajęcie struktur prążkowania w większości przypadków przedstawionego materiału odbiega również od obserwacji tychże autorów, a zbliżone jest do spostrzeżeń Lawrence'a /1942/, Meyera /1963/, Brierleya /1965/ oraz Vitala i wsp. /1967/.

Naczyniopochodne ogniska martwicy zupełnej były zjawiskiem rzadkim. Występowały one w 2 przypadkach, w tym tylko w jednym można je było czasowo wiązać z przebytym stanem niedocukrzenia /wspomniany powyżej przypadek młodego

pacjenta, z kilkudniową śpiączką i 3-tygodniowym okresem przeżycia z symetryczną martwicą krwotoczną płatów potylicznych w następstwie nadciśnienia wewnątrzczaszkowego/. W przypadku drugim, dotyczącym chorej z zaawansowaną patologią naczyniową - w świetle stopnia zaawansowania procesów rozbiórkowo-reparacyjnych ognisk martwiczych w mózgu ich związek z przebyłym stanem niedocukrzenia wydaje się wysoce wątpliwy.

Podsumowując spostrzeżenia poczynione na materiale ludzkim należy stwierdzić, że zarówno charakter morfologiczny zmian, jak i topograficzne rozmieszczenie w ośrodkowym układzie nerwowym mimo wspomnianych powyżej odrębności mieszczą się w znanym z piśmiennictwa obrazie patomorfologicznym encefalopatii hipoglikemicznej.

Złożoność czynników patogenetycznych towarzyszących hipoglikemii i jej neurologicznym powikłaniom, wśród których obok obniżonego stężenia glukozy przy znacznej wrażliwości oun na jej niedostatek /Himwich, Fazekas, 1937; Lolley, Scanson, 1962; Lowry i wsp., 1964; Ferrandelli, 1974; Mac Millan, 1977/, wymienić należy wspomniane uprzednio zaburzenia krążeniowo-oddechowe i drgawki /Wilkinson, Prochop, 1976/ oraz obrzęk mózgu /Taubin, Matz, 1968/, a także niejednorodność badanego materiału, w którym nakładały się na siebie dodatkowe procesy patologiczne takie jak cukrzyca, miażdżyca, nadciśnienie tętnicze, choroby narządowe oraz procesy inwolucyjne i zapalne, nie oszczędzające samego układu nerwowego, nie pozwalają na jednoznaczne określenie związku całokształtu zmian patomorfologicznych i ich

poszczególnych elementów z przebytych incydentem niedocukrzenia. Opisane nieprawidłowości strukturalne przypominają w swoim podstawowym wzorcu uszkodzenia o charakterze hipoksyjno-ischemicznym /Brierley, 1970; Mossakowski, Renkawek, 1981/. Te właśnie podobieństwa podniesione po raz pierwszy przez Lawrence'a /1942/, a następnie podtrzymywane przez innych autorów i udokumentowane doświadczalnie przez Brierleya i wsp. /1971 a, b/ oraz Myersa i Kahna /1971/ stały się podstawą koncepcji wiążących lub wręcz identyfikujących zespół encefalopatii hipoglikemicznej z encefalopatią hipoksyjno-niedokrwinną. Należy jednak podkreślić istotne różnice obrazu patomorfologicznego własnych przypadków w stosunku do typowych zmian towarzyszących stanom hipoksyjno-ischemicznym. Przy stosunkowo drugoplanowych zmianach w prążkowie nie stwierdzono charakterystycznego dla niedotlenienia wybiórczego uszkodzenia małych neuronów. Brak było również nieprawidłowości w obrazie cytologicznym wzgórza, którego jądra brzuszno-boczne stanowią obok kory amonowej, III i V warstwy kory mózgu, warstwy zwojowej kory mózdzku, prążkowie i gałki bladej, obszary o szczególnej wrażliwości na niedostatek tlenu. Wydaje się przeto, że nawet w oparciu o przedstawiony materiał ludzki, którego ograniczoną wartość podnoszono już uprzednio, można uznać, iż występuje jedynie podobieństwo, a nie identyczność wykładników strukturalnych neuroglikopenii i niedotlenienia, co w sposób oczywisty

nie przesądza sprawy identyczności lub odrębności ich mechanizmów patogenetycznych.

Zastosowany model badań doświadczalnych, które w założeniu odpowiedzieć miały na pytanie w jakiej mierze zmiany neuropatologiczne, charakterystyczne dla encefalopatii hipoglikemicznej związane są z "czystym" stanem niedocukrzenia, a w jakiej od towarzyszących im czynników dodatkowych, różnił się zasadniczo od modelu doświadczeń prowadzonych na małpach przez Kahna i Myersa /1971/ i Meldruma i wsp. /1971/, a na szczurach przez Agardha i wsp. /1978/ oraz Agardha i Rosena /1979/. Podstawowa grupa badań własnych /grupa I/ prowadzona była z użyciem możliwie najniższej śpiączkowej dawki insuliny /0,5 U/100 g masy ciała/, podczas gdy dawki stosowane w doświadczeniach na małpach wynosiły 1,0 U/100 g masy ciała, a na szczurach aż 4,0 U/100 g masy ciała. Pozwoliło to na uzyskanie krótkotrwałej śpiączki, z której zwierzęta wychodziły samoistnie bez konieczności "wybudzającego" stosowania glukozy. Jedynie w grupie II, której założeniem była ocena wpływu zaburzeń krążeniowo-oddechowych i drgawek towarzyszących niedocukrzeniu, na obraz zmian patomorfologicznych ośrodkowego układu nerwowego, stosowano dawki hormonu porównywalne z użytymi przez wyżej wymienionych autorów. Wobec nie prowadzenia kontrolowanego oddechu oraz celowego nie podawania egzogennej glukozy, znaczna część zwierząt tej grupy ginęła zarówno w czasie śpiączki hipoglikemicznej jak i w okresie pośpiączkowym, zostały one jednak wyeliminowane z dalszych badań.

Niewątpliwym niedostatkim własnych badań było nie stosowanie precyzyjnej kontroli parametrów fizjologicznych i biochemicznych, które pozwoliłyby na dokładniejszą charakterystykę uzyskanego stanu niedocukrzenia oraz środków przeciwdziałających jego ubocznym skutkom /kontrolowane oddychanie, farmakologiczne wyrównywanie zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej, zapobieganie rozwojowi obrzęku mózgu i in./ używanych przez Kahna i Myersa /1971/, Meldruma i wsp. /1971/ oraz Agardha i wsp. /1978/. Wydawało się jednakże, że dokładna obserwacja kliniczna, pozwalająca na wyłączenie z badań w grupie I wszystkich zwierząt z objawami zaburzeń krążeniowo-oddechowych i z drgawkami, była wystarczająca dla uzyskania "czystego" materiału hipoglikemicznego, a uzyskanie zwierząt z tymi objawami w grupie II było zamierzeniem celowym. Przeciwdziałanie im wydawało się w tym kontekście czynnikiem, który mógłby raczej zaciemniać mózgowie następstwa niedocukrzenia, do którego obrazu klinicznego u ludzi należą zarówno drgawki jak i zaburzenia krążeniowo-oddechowe.

Zastosowany w badaniach własnych model doświadczalny w przeciwieństwie do modelu Agardha i wsp. /1978/ przy znacznym spadku zawartości glukozy we krwi, nie prowadził w grupie I do znamienego obniżenia zasobów wysokoenergetycznych w mózgu, podobnie jak w doświadczeniach Tarra i wsp. /1962/, Maymana i Tijerina /1971/ oraz Ferrendelli'ego i Changa /1974/. Zawartość adenozynotrójfosforanu i fosfo-kreatyny w mózgach szczurów w różnych przedziałach czasowych po podaniu insuliny ilustruje tabela 4, w której

przedstawiono wyniki pilotowych badań biochemicznych^{+/}.

Tabela 4. Zawartość adenozynotrójfosforanu /ATP/ i fosfo-
kreatyny /P-kreat./ w mózgach szczurów po jedno-
razowym podaniu insuliny w dawce 0,5 U/mg masy
ciała

Grupa zwierząt	ATP ^x	P-kreat. ^x
	/mmol/kg świeżej tkanki/	/mmol/kg świeżej tkanki/
Kontrolne:		
- niegłodzone	2,81 [±] 0,88 ^{xx} /3/	3,20 [±] 0,75 /3/
- głodzone	2,99 [±] 0,53 /3/	3,24 [±] 0,58 /6/
Doświadczalne:		
- 3 godz. po podaniu insuliny	2,20 [±] 0,38 /3/	3,66 [±] 0,46 /3/
- 6 godz. po podaniu insuliny	2,19 [±] 0,38 /3/	2,54 [±] 0,36 /3/
- 24 godz. po podaniu insuliny	3,17 [±] 0,73 /3/	2,94 [±] 0,36 /3/

^x Zawartość adenozynotrójfosforanu i fosfokreatyny oznaczano wg metody Mc Millana i Siesjö /1972/.

^{xx} Wartości średnie [±] odchylenie standardowe. W nawiasach liczba zwierząt.

^{+/} Autorka dziękuje serdecznie Pani Teresie Czachmańskiej z Zakładu Neurochemii CMDiK PAN za bardzo staranne wykonanie oznaczeń.

Zasadnicze różnice dotyczyły również czasu oceny morfologicznej w stosunku do przebytego stanu niedocukrzenia. W doświadczeniach Kahna i Myersa /1971/ oceniano późne /kilkumiesięczne/ następstwa niedocukrzenia /Myers, Kahn, 1971/, a w przypadku zarówno Meldruma i wsp. /1971/ jak i Agardha i wsp. /1978/ wczesne zmiany pościączkowe /Brierley i wsp., 1971 a, b; Agardh i wsp., 1980; Kalimo i wsp., 1980/. W materiale własnym przeprowadzono analizę dynamiki uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego w okresie przed- i pościączkowym, obejmującym zresztą znacznie dłuższy przeciąg czasu w porównaniu z Agardhem i wsp. /1980/ i Brierleyem i wsp. /1971 a/. Należy przy tym dodać, że badania własne obejmują zarówno ocenę w mikroskopie świetlnym jak i elektronowym, podczas gdy Brierley i wsp. /1971 a, b/ ograniczyli się wyłącznie do analizy histopatologicznej, a dyskusję na temat zmian ultrastrukturalnych prowadzili jedynie przez analogię do uszkodzeń stwierdzanych w zespołach hipoksyjno-ischemicznych /McGee-Russel i wsp., 1970; Brown, Brierley, 1971/. Mikroskopowo-elektronowe obserwacje Kalimo i wsp. /1980/ oraz Agardha i wsp. /1981 a/ dotyczą z kolei wczesnych okresów pościączkowych.

W obrazie histopatologicznym grupy pierwszej, w której wyłączenie zwierząt z zaburzeniami oddechowo-krążeniowymi i z drgawkami pozwalało na wiązanie stwierdzonych zmian wyłącznie z niedocukrzeniem, dominowały uszkodzenia komórek nerwowych. Wykazywały one przy tym charakterystyczną i powtarzalną dynamikę i ewolucję w czasie. Już w najwcześniejszym okresie niedocukrzenia, poprzedzającym pojawienie

się jego klinicznych wykładników stwierdzono nieprawidłowości strukturalne neuronów, wyrażające się mikrowakuolizacją ich cytoplazmy, głównie w jej obwodowych częściach. Zmiany w tym czasie dotyczyły nielicznych neuronów i ograniczały się praktycznie do III i V warstwy kory mózgu i warstwy zwojowej kory mózdzku. W kolejnych okresach obserwacji ulegały one pogłębieniu i uogólnieniu. W 2 godz. niedocukrzenia, znamionującej się w obrazie klinicznym pojawieniem się przedśpiączkowych zaburzeń behawioralnych, dominująca nadal mikrowakuolizacja cytoplazmy neuronów dotyczyła większej liczby komórek i obejmowała dodatkowo korę amonalną oraz struktury podkorowe takie, jak prążkowie, gałkę bladą oraz podwzgórze, a także niektóre formacje pnia mózgu. W okresie tym pojawiały się również zmiany o cechach schorzenia ischemicznego, przede wszystkim w strukturach rogu Amona, III i V warstwie kory nowej oraz w warstwie zwojowej kory mózdzku. Ten typ uszkodzeń komórkowych przeważał w 4 godz. obserwacji, przypadającej na wczesny okres pośpiączkowy, znamionujący się w ogóle największym nasileniem nieprawidłowości strukturalnych. Liczba komórek z mikrowakuolizacją cytoplazmy była tu jednak znacznie mniejsza. Obserwowało się dalsze rozszerzenie procesu patologicznego, obejmującego dodatkowo niektóre ugrupowania komórek wzgórza. W kolejnych etapach okresu pośpiączkowego następowało postępujące zmniejszenie nasilenia uszkodzeń komórkowych. Obserwowano je już w 6 godz. po podaniu insuliny, w której liczba neuronów z mikrowakuolizacją cytoplazmy była zdecydowanie niższa. Wśród zmniejszonej

ogółem populacji uszkodzonych komórek nerwowych przeważały w tym czasie tzw. ciemne neurony oraz pojawiały się komórki ze zmniejszoną zawartością i nierównomiernym rozkładem tigróidu, przypominające obraz tzw. schorzenia ciężkiego. Widoczne były również nieliczne cienie komórkowe oraz komórki z cechami rozpadu, którym towarzyszyła delikatna satelitoza glejowa. W dalszych etapach okresu pościączkowego obejmujących 24 i 48 godz. po podaniu insuliny następowała wyraźna normalizacja obrazu cytologicznego ośrodkowego układu nerwowego. Prawie w ogóle nie spostrzegano neuronów z mikrowakuolizacją cytoplazmy, nieliczne były komórki z cechami schorzenia ischemicznego. Pojawiały się natomiast niewielkie ubytki neuronów, rozsiane głównie w korze mózgu i mózdzku oraz w zakręcie hipokampa.

Mikroskopowe cechy obrzęku mózgu, wyrażające się porozsuwaniem pasm włókien nerwowych w istocie białej oraz zmianami o typie ostrego obrzmienia oligodendrogleju, przy braku jego makroskopowych wykładników, stanowiły zjawisko rzadkie i krótkotrwałe. Odnotowano je wyłącznie w 6 godz. niedocukrzenia, przy zmniejszającym się już nasileniu uszkodzeń komórkowych.

Nieprawidłowości stwierdzone w badaniu mikroskopowo-elektronowym dotyczyły zarówno komórek nerwowych jak i neurogleju. Zmiany neuronów miały dwojaki charakter. Dominujące nieprawidłowości typu pierwszego, wyrażały się obrzmieniem mitochondriów z powiększeniem ich rozmiarów, przejaśnieniem macierzy oraz skróceniem, a nierzadko zanikiem grzebieni oraz znacznym poszerzeniem zbiorników i kanałów

szorstkiej siateczki śródplazmatycznej i aparatu Golgiego. Temu ostatniemu zjawisku towarzyszyło zmniejszenie liczby związanych z siateczką śródplazmatyczną rybosomów i pojawianie się nieregularnych wolnych skupień rybosomalnych. Zmiany mitochondrialne i poszerzenie kanałów siateczki śródplazmatycznej występowały we wszystkich częściach neuronu w cytoplazmie perykarioidalnej i wypustkowej oraz w kolbach synaptycznych, w których ponadto stwierdzano nierównomierne rozproszenie pęcherzyków synaptycznych lub ich nieprawidłowe skupienia. Zmianom dotyczącym struktur cytoplazmatycznych towarzyszyły nieprawidłowości obrazu mikroskopowo-elektronowego jąder. Polegały one na zwiększeniu zawartości nieregularnie rozproszonych w karioplazmie ziarnistości heterochromatynowych, często zagęszczonych pod otoczką jądrową a nierzadko wypełniających całą powierzchnię wewnętrzną jądra. W tak zmienionych jądrach, bogato rozbudowane jąderka położone były zazwyczaj mimośrodkowo. Nierzadkim zjawiskiem było poszerzenie przestrzeni okołojądrowej.

Drugi typ nieprawidłowości komórkowych reprezentowały ciemne neurony, charakteryzujące się znacznym zagęszczeniem hialoplazmy, zawartej między bardzo znacznie poszerzonymi, a niekiedy wręcz rozdętymi zbiornikami i kanałami szorstkiej siateczki śródplazmatycznej. W ich cytoplazmie stwierdzało się również obrzmiałe mitochondria, jakkolwiek występowały tu również mitochondria o prawidłowej strukturze i zagęszczonej macierzy. Nieprawidłowości w obrazie mikroskopowo-elektronowym jąder nie różniły się od opisanych w typie pierwszym.

Oba typy zmian komórkowych występowały we wszystkich badanych formacjach ośrodkowego układu nerwowego, różniły się jednakże czasem pojawiania się. Zmiany typu pierwszego obecne były wcześniej, bo już w pierwszej godzinie niedocukrzenia. W okresie tym charakteryzowały się one różnym stopniem zajęcia poszczególnych struktur subkomórkowych. I tak w neuronach kory ciemieniowej dominowało obrzmienie mitochondriów, przy mniej zmienionym obrazie zbiorników i kanałów aparatu Golgiego i szorstkiej siateczki śródplazmatycznej, podczas gdy w neuronach kory mózdzku przeważało obrzmienie mitochondriów i poszerzenie struktur aparatu Golgiego przy nieznacznie zmienionej siateczce śródplazmatycznej. Z kolei komórki piramidowe rogu Amona charakteryzowały się mniejszym nasileniem zmian mitochondrialnych. Stopień zajęcia poszczególnych struktur cytoplazmatycznych neuronów w trzech różnych formacjach ośrodkowego układu nerwowego wyrównywał się w 3 godz. niedocukrzenia, na którą u większości zwierząt przypadał okres śpiączki hipoglikemicznej. W tym okresie również najsilniej była wyrażona redukcja ilości rybosomów związanych z błoniastymi strukturami śródplazmatycznymi. Dalsza ewolucja zmian typu pierwszego, rozpoczynająca się w 6 godz. niedocukrzenia wyrażała się zmniejszeniem nasilenia obrzmienia mitochondriów i poszerzenia kanałów szorstkiej siateczki śródplazmatycznej, choć nadal obserwowano zubożenie ilości związanych z nią rybosomów. Dłużej utrzymywało się natomiast poszerzenie struktur aparatu Golgiego oraz nieprawidłowości w obrazie jąder komórkowych. W znacznej części komórek

obok obrzmiałych mitochondriów występowały mitochondria o całkowicie prawidłowej strukturze. W 24 godz. po podaniu insuliny zmiany komórkowe typu pierwszego należały do rzadkości, a nieprawidłowości poszczególnych organelli subkomórkowych, składające się na jego obraz mikroskopowo-elektronowy były znacznie mniej wyrażone niż w okresach wcześniejszych. Zmiany drugiego typu, stanowiące zjawisko znacznie rzadsze pojawiały się dopiero w 3 godz. niedocukrzenia i utrzymywały się do końca obserwacji we wszystkich badanych formacjach ośrodkowego układu nerwowego.

Nieprawidłowości w obrazie mikroskopowo-elektronowym neurogleju wyrażały się, podobnie jak w neuronach, obrzmieniem mitochondriów, poszerzeniem zbiorników i kanałów aparatu Golgiego i szorstkiej siateczki śródplazmatycznej oraz zmianami obrazu jąder komórkowych. Wykazywały one podobną dynamikę do uszkodzeń pierwszego typu w neuronach, a w późnym okresie pościączkowym stanowiły zjawisko mało pospolite. Obok wyżej opisanych zmian występujących zarówno w gleju gwiaździstym jak i skąpokomórkowym, astrocyty wykazywały ponadto ultrastrukturalne wykładniki obrzmienia ich cytoplazmy zarówno perykarionalnej jak i wypustkowej. Wyrażało się ono jej przejaśnieniem oraz zubożeniem w organelle cytoplazmatyczne i było najsilniej wyrażone w okołonaczyniowych wypustkach astrocytów, których cytoplazma nierzadko pozbawiona była całkowicie struktur subkomórkowych i wypełniona kłaczkowatym materiałem. Zjawisko to stwierdzało się już w najwcześniejszym okresie niedocukrzenia i utrzymywało się, acz w zmniejszonym nasileniu do końca obserwacji.

Obraz histologiczny mózgow zwierząt w grupie drugiej był znacznie bogatszy i wykazywał wyraźną zależność od wysokości dawki insuliny, ciężkości stanu klinicznego zarówno w czasie śpiączki hipoglikemicznej jak i w okresie pośpiączkowym oraz od czasu przeżycia zwierząt. Już w najwcześniejszej fazie niedocukrzenia uszkodzenia komórkowe, ograniczone wprawdzie przede wszystkim do kory nowej mózgu, zakrętu hipokampa i kory mózdzku, miały cechy zarówno mikrowakuolizacji cytoplazmy jak i schorzenia ischemicznego. Znamienne było przy tym łączne występowanie obu typów zmian w tych samych neuronach. W późniejszych okresach obserwacji zwyrodnienia komórek nerwowych ulegały uogólnieniu, obejmując praktycznie wszystkie struktury ośrodkowego układu nerwowego, ze szczególną akcentacją w korze nowej, rogu Amona i w korze mózdzku oraz w pniu mózgu, w tym przede wszystkim w jądrach formacji siatkowatej. Zwiększało się również spectrum uszkodzeń komórkowych. Obok komórek z cechami mikrowakuolizacji cytoplazmy oraz schorzenia ischemicznego pojawiały się obficie nieprawidłowości typu schorzenia ciężkiego i przewlekłego, a także cienie komórkowe stanowiące wyraz rozpadu neuronów. Zmiany te utrzymywały się do końca obserwacji, pomimo że badania histopatologiczne w 24 i 48 godz. po podaniu hormonu prowadzono jedynie u zwierząt z zastosowaniem niższych dawek hormonu, które zarówno w czasie śpiączki jak i w okresie pośpiączkowym wykazywały mniej nasilone objawy kliniczne.

Od 4 godz. niedocukrzenia pojawiały się ubytki komórek nerwowych, dotyczące niemal wyłącznie kory nowej, zakrętu

hipokampa i kory mózdzku. Miały one charakter ubytków okołonaczyniowych i warstwowych oraz w sposób typowy wykazywały największe nasilenie w głębi rowków naczyniowych kory mózgu i mózdzku. Rozległość ich pogłębiała się w czasie.

Drugim zjawiskiem kształtującym obraz neuropatologiczny badanych mózgow tej grupy był obrzęk mózgu, którego wykładniki stwierdzono już w badaniu makroskopowym u zwierząt z 2, 4 i 6-godzinnym przeżyciem. Na uwagę zasługuje obecność dwóch grup histologicznych cech obrzęku. Pierwszą z nich reprezentowały zmiany w formacjach szarych kory mózgu i mózdzku oraz pnia mózgu, polegające na narastającej w czasie wakuolizacji neuropilu, prowadzącej do rozluźnienia podłoża tkankowego, a na dalszym etapie do jego zgębczenia. Drugą były uszkodzenia istoty białej półkul mózgu i mózdzku, a w mniejszym stopniu pnia mózgu, wyrażające się porozsuwaniem pasm włókien nerwowych, ostrym obrzmieniem oligodendrocytów, a następnie zblednięciem osłonek mielinowych. Oba typy zmian, z których pierwsze znamienne są dla obrzęku cytotoksycznego, a drugie dla obrzęku naczyniopochodnego /Klatzo, 1967, 1975/ występowały już w 2 godz. niedocukrzenia, przyjmując największe nasilenie w 6 godzinie. W późniejszych fazach okresu pościączkowego były słabo wyrażone lub nieobecne. Na uwagę zasługuje przy tym fakt, iż zarówno zwyrodnienie komórkowe i ich ubytki jak i wykładniki obrzęku cytotoksycznego były najsilniej zaakcentowane w polach granicznych unaczynienia dużych pni tętniczych mózgowia.

Porównanie spostrzeżeń histologicznej grupy pierwszej i drugiej wskazuje na ich wyraźne różnice przede wszystkim, choć nie wyłącznie, natury ilościowej. W grupie pierwszej zmiany ograniczały się w istocie do zwyrodnień komórek nerwowych typu mikrowakuolizacji cytoplazmy i schorzenia ischemicznego, obejmujących przede wszystkim neurony kory nowej mózgu, hipokampa i warstwy zwojowej kory mózdzku z wyraźnie mniejszym zajęciem takich struktur ośrodkowego układu nerwowego jak prążkowie, gałka biała i wzgórze. Ewolucja zmian wskazywała na zmniejszanie się w czasie liczby komórek z mikrowakuolizacją cytoplazmy, a zwiększanie się ilości neuronów z cechami schorzenia ischemicznego, stanowiącego we wczesnych okresach obserwacji zjawisko wyraźnie drugoplanowe. Nieznaczne ubytki komórkowe stwierdzone w późnych fazach obserwacji uznać można za wykładnik dojrzewania procesu patologicznego /Klatzo, 1975/ i efekt zejściowy schorzenia ischemicznego, stanowiącego według Browna i Brierleya /1972/ nieodwracalny typ zwyrodnień neuronalnych. Histologicznie uchwytny wykładnik obrzęku były minimalne i ograniczone w czasie do jednej wyłącznie fazy niedocukrzania.

Uszkodzenia strukturalne w grupie drugiej pojawiały się wcześniej, były bardziej uogólnione i histologicznie bogatsze. Oprócz mikrowakuolizacji i schorzenia ischemicznego /homogenizacyjnego/ stwierdzano zmiany typu schorzenia ciężkiego i przewlekłego oraz cienie komórkowe, stanowiące niewątpliwe oznaki śmierci komórki. Potwierdzeniem tego, w ewolucji procesu patologicznego były ubytki komórek

nerwowych. Zmiany komórkowe obecne były we wszystkich praktycznie formacjach ośrodkowego układu nerwowego, z wyraźną jednak akcentacją okolic zajętych w pierwszej grupie doświadczalnej i pnia mózgu. Te ostatnie zasługują na szczególną uwagę, ponieważ uszkodzenia jąder tworzą siatkowatego, a tu były one głównie zlokalizowane, pojawiające się już we wczesnych fazach stanu hipoglikemicznego, mogły być wtórnie odpowiedzialne za zaburzenia krążeniowo-oddechowe, prowadzące do śmierci zwierząt w późniejszych okresach obserwacji /Zelman, Wierzba-Bobrowicz, 1980/. W świetle znacznej oporności struktur pnia mózgu na niedocukrzenie Brierley i wsp., 1971 a, b; Agardh i wsp., 1980; Abdul-Rahman, Siesjö, 1980; Kiessling i wsp., 1982/ wydaje się, że zmiany te mogły mieć odmienny mechanizm patogenetyczny. Prawdopodobne jest ich niedokrwienne pochodzenie, związane z miejscowymi zaburzeniami krążenia w pniu mózgu w następstwie zmian wewnątrzczaszkowych stosunków przestrzennych towarzyszących obrzękowi mózgu. Jest faktem znanym zarówno z patologii ludzkiej jak i doświadczalnej, iż w przypadkach narastającej ciasnoty wewnątrzczaszkowej dochodzi do przemieszczeń pnia mózgu wraz z towarzyszącymi mu naczyniami, prowadzących do upośledzenia jego ukrwienia. Obrzęk mózgu w tej grupie zwierząt był zjawiskiem częstym, znacznie nasilonym i pojawiającym się w stosunkowo wczesnym okresie niedocukrzenia, a utrzymującym się, acz w zmniejszającej się intensywności, do końca obserwacji. Uszkodzenia komórkowe w pniu mózgu pojawiały się właśnie w fazie intensyfikacji zmian obrzękowych. Nie wykluczone jest również

sumowanie się patogennego czynnika hipoglikemicznego i hipoksyjno-niedokrwiennego, tym bardziej iż głębokie niedocukrzenie prowadzi do obniżenia zużycia tlenu w mózgu /Fazekas i wsp., 1951/.

Drugim elementem topograficznego rozmieszczenia uszkodzeń neuronalnych w tej grupie doświadczalnej zasługującym na uwagę był ich wyraźny związek z okolicami pogranicza unaczynienia przez duże pnie tętnicze mózgowia. Lokalizację tę od czasów klasycznych opracowań Zülcha /1955/ oraz Adamsa i wsp. /1966/ uważa się za charakterystyczną dla następstw układowych zaburzeń hemodynamicznych. Potwierdziły to przekonująco obserwacje Kapuścińskiego i Mossakowskiego /1983/ na modelu przejściowego niedokrwienia mózgu u chomików mongolskich, w których wykazano, iż znaczne uszkodzenia tkanki, do jej pełnej martwicy włącznie, występowały tylko u tych zwierząt, u których dochodziło do głębokiego spadku układowego tętniczego ciśnienia krwi. Podobnie Meldrum i wsp. /1971/ oraz Brierley i wsp. /1971 a/ obserwowali wybiórcze uszkodzenia okolic pogranicza w przypadkach znacznych zaburzeń krążeniowych u małp w kontrolowanej hipoglikemii. Stwierdzony przez Nilssona i wsp. /1981/, Pelligrino i wsp. /1981/ oraz Siesjö i wsp. /1982/ zanik mechanizmów autoregulacyjnych krążenia mózgowego w głębokiej hipoglikemii, uzależniający mózgowy przepływ krwi od wysokości ciśnienia układowego, mógł sprzyjać rozwojowi tego typu uszkodzeń tkankowych. Wszystkie natomiast zwierzęta grupy drugiej wykazywały mniej lub bardziej nasilone zaburzenia krążenia.

W swoim ogólnym wzorcu patomorfologicznym uszkodzenia strukturalne ośrodkowego układu nerwowego u zwierząt grupy drugiej przypominały zmiany opisane we własnym i znanym z piśmiennictwa materiale ludzkim /Wohlwill, 1928; Terplan, 1932; Bowen, Beck, 1933; Bodechtel, 1933; Harris, 1934; Tendström, 1934; Moersch, Kernohan, 1938; Leppien, Peters, 1937; Malamud, Groesh, 1938; Cammermyer, 1938; Baker, 1938, 1939; Ferraro, Jervis, 1939; Kobler, 1939; Jansen, Waaler, 1940; Lawrence i wsp., 1942; Ferraro, 1942; Rauch, 1944; Grünthal, 1947; Spencer, 1948; Malamud, 1948/49; Hempel, 1949; Höpker, 1954; Köernyey, 1955; Courville, 1957; Pentschew, 1958; Meyer, 1963; Brierley, 1965; Vital i wsp., 1967/. Były one zresztą bardzo zbliżone do nieprawidłowości tkankowych znanych z prac doświadczalnych, prowadzonych we wczesnym okresie na modelach niekontrolowanej hipoglikemii /Schereschewsky i wsp., 1929; Stief, Tokay, 1935; Schmidt, 1936; Wilkelman, Moor, 1940; Finley, Brenner, 1941; Oberdisse, Schaltenbrandt, 1944; Töbel, 1948; Höpker, 1954/. Różniły się natomiast istotnie od spostrzeżeń w kontrolowanym modelu hipoglikemii /Kahn, Myers, 1971; Myers, Kahn, 1971; Meldrum i wsp., 1971; Brierley i wsp., 1971 a, b; Agardh i wsp., 1978, 1980/.

Ze względu na ścisłe przestrzeganie kryteriów doboru materiału porównywalne z nimi mogły być jedynie obserwacje dotyczące pierwszej grupy doświadczalnej. Pełną porównywalność z obserwacjami Brierleya i wsp. /1971 a, b/ prowadzonymi w kontrolowanej hipoglikemii u małp, ograniczają niewątpliwe różnice gatunkowe zwierząt, a z badaniami

Agardha i wsp. /1980, 1981 a/ i Kalimo i wsp. /1980/ - zasadnicza odmienność stosowanych dawek hormonu i metabolicznych skutków niedocukrzenia w ośrodkowym układzie nerwowym, w obu zaś przypadkach - różnice czasu analizy patomorfologicznej. Pomimo tych różnic stwierdzono szereg podobieństw obrazu neuropatologicznego, a przyjęty w badaniach własnych 48-godzinny okres obserwacji obejmuje również stadia hipoglikemii oceniane przez autorów brytyjskich i skandynawskich.

Struktura uszkodzeń komórkowych, stwierdzonych we własnym materiale doświadczalnym była zasadniczo identyczna ze zmianami opisanymi przez Brierleya i wsp. /1971 a/. W obu obserwacjach dominowały nieprawidłowości o cechach mikrowakuolizacji cytoplazmy i schorzenia ischemicznego. Różnice w proporcjach obu komponentów patologicznych obrazu odnieść należy zapewne do ograniczenia badań Brierleya i wsp. /1971 a, b/ do wczesnych okresów pośpiączkowych, podczas gdy nasze obejmują zarówno fazę przedśpiączkową jak i znacznie dłuższy czas po śpiączce. Z tym również zapewne wiązać należy fakt, iż we własnym materiale obecne były dyskretne ubytki komórkowe nie spostrzegane u małp. W badaniach Myersa i Kahna /1971/, prowadzonych w identycznych niemal warunkach doświadczalnych, a dotyczących późnych następstw hipoglikemii u małp, ubytki neuronalne stały się stałe, a nierzadko dominujący element obrazu neuropatologicznego.

Podobny był również topograficzny rozkład zmian komórkowych, z jedną, lecz wydaje się zasadniczą różnicą

dotyczącą stałego w naszym materiale zajęcia kory mózdzku przy jej zaoszczędzeniu zarówno w badaniach Brierleya i wsp. /1971 a, b/ jak i Myersa i Kahna /1971/. Odrębność ta była również uderzająca w zestawieniu własnych spostrzeżeń z obserwacjami Agardha i wsp. /1980, 1981 a/ oraz Kalimo i wsp. /1980/, którzy zaoszczędzenie komórek Purkinjego, obok zasadniczo odmiennej, w ich przeświadczeniu, morfologicznej struktury uszkodzeń komórkowych, uważają za podstawową cechę wyróżniającą tkankowe następstwa hipoglikemii od skutków hipoksji. Mniej istotne wydają się odrębności stopnia uszkodzeń prążkowiec, pierwszoplanowych u Agardha i wsp. /1980/, a wyraźnie drugoplanowych i późniejszych w materiale własnym. Wiązać je można z odmiennościami dawek hormonu, za czym przemawia ich obecność i głębokie nasilenie u zwierząt grupy drugiej.

Odrębności reakcji mózdzku wymagają jednakże szerszego komentarza, ze względu na obecność uszkodzeń komórek Purkinjego w naszym materiale, a ich brak w izoelektrycznej śpiączce hipoglikemicznej, wywołanej ośmiokrotnie wyższą dawką insuliny i przebiegającej z głębokim spadkiem zasobów wysokoenergetycznych tkanki nerwowej. Uprzywilejowaną pozycję mózdzku w zakresie dostępności glukozy, w stosunku do kory mózgu i rogu Amona, wykazały w sposób przekonujący badania Abdul-Rahmana i Siesjö /1980/, a jego niską wrażliwość na niedostatek glukozy - cytowane już uprzednio biochemiczne i morfologiczne spostrzeżenia Agardha i wsp. /1981 a/, poświęcone specjalnie temu zagadnieniu. Z drugiej zaś strony komórki Purkinjego należą do neuronów znamionu-

jących się wybiórczą wrażliwością na niedobór tlenu /Brierley, 1976; Mossakowski, Renkawek, 1981/. Ich uszkodzenie jest stałym komponentem stanów hipoksyjno-ischemicznych /Levin, 1960; Hager i wsp., 1960; Bakay, Lee, 1968; Brierley, Brown, 1969; Brierley i wsp., 1969; Brown, Brierley, 1971, 1972; Yu i wsp., 1972; Hartman i wsp., 1973; Kalimo i wsp., 1979/. Zmiany w strukturze komórek Purkiniego stwierdzone we własnym materiale, zarówno w badaniach histologicznych, jak i mikroskopowo-elektronowych mogą wskazywać, iż mimo bardzo starannej selekcji materiału, opartej jednakże wyłącznie o kryteria kliniczne, nie uniknięto udziału czynnika hipoksyjnego. Potwierdzać to może stan sieci naczyniowej mózgu. Cechą znamionową jej obrazu zarówno w okresie hipoglikemicznym jak i pohipoglikemicznym było przekrwienie mózgowia, wyrażające się zatarciem prawidłowych układów angioarchitektonicznych i różnic sieci naczyniowej w strukturach szarych i białych. Należy przy tym podkreślić, iż podobnie jak w stanach hipoksyjnych /Wierzba-Bobrowicz, 1977/ dominowały, zwłaszcza w czasie śpiączki i we wczesnym okresie pośpiączkowym, zmiany znamionujące przekrwienie żyłne. Stwierdzony obraz przypominał nieprawidłowości opisane wcześniej w innym modelu doświadczalnej hipoglikemii przez Höpfera /1954/. Przekrwienie żyłne znamionujące upośledzenie mózgowego przepływu krwi, mogło w naszych doświadczeniach wprowadzić dodatkowe elementy hipoksji stagnacyjnej /Brierley, 1976/, mimo niewielkiego nasilenia i krótkotrwałości dostatecznej dla wywołania zmian w strukturach tak wrażliwych na niedostatek tlenu jakimi są komórki Purkiniego.

Drugi typ nieprawidłowości w obrazie sieci naczyniowej mózgu, obrazującym stan mikrokrążenia, polegał na obecności drobnych plackowatych ognisk upośledzonego wypełnienia naczyń włosowatych przez wybarwione benzydyną erythrocyty, rozsianych w korze mózgu i w zakręcie hipokampa. Zjawisko to stanowi powtarzalny typ zaburzeń mikrokrążenia w różnych stanach niedostatku tlenowego, a występuje i z zasady długo-trwale utrzymuje się po przebytych incydencie hipoksyjnym /Mossakowski, 1978/. Mossakowski i Zelman /1975/ przypisują mu istotne znaczenie w patomechanizmie uszkodzeń tkankowych związanych z niedostatkami tlenu. Zmiany tego typu, które w hipoglikemii opisał uprzednio Höpker /1954/ mają stanowić morfologiczny wykładnik regionalnej hipoperfuzji mózgu, stwierdzonej w kontrolowanym niedocukrzeniu przez Abdul-Rahmana i wsp. /1980/, mimo iż Ghajar i wsp. /1982/ nie obserwowali globalnych zaburzeń przepływu mózgowego w tych samych warunkach. Nieprawidłowości te, których występowanie Mossakowski i Gajkowska /1984/ wiążą z obrzmieniem okołowłóściaczkowych wypustek astrocytów, we własnym materiale stanowiły jednakże zjawisko mało nasilone i krótkotrwałe w porównaniu ze stanami hipoksyjnymi. Nie wydaje się przeto żeby odgrywały one istotną rolę w patomechanizmie opisanych uszkodzeń komórkowych, które nie wykazywały żadnego związku topograficznego z układem sieci naczyniowej, a jak wykazały badania Della Porta i wsp. /1964/ zaburzenia przepływu mózgowego krwi w lekkiej hipoglikemii są krótkotrwałe. Spostrzeżenia własne dotyczące stanu mikrokrążenia mózgu w kontekście danych z piśmiennictwa, opartych o badania przeprowadzone

w warunkach ściśle kontrolowanej hipoglikemii /Norberg, Siesjö, 1976; Abdul-Rahman i wsp., 1980; Nilsson i wsp., 1981; Pelligrino i wsp., 1981; Siesjö i wsp., 1982/ rodzą jednakże pytanie, co do możliwości całkowitego wyeliminowania roli czynników hipoksyjnych, uogólnionych bądź regionalnych, w ocenie wpływu niedocukrzenia na stan ośrodkowego układu nerwowego, nawet w najbardziej precyzyjnie przeprowadzonym doświadczeniu.

Różnice histologicznego obrazu uszkodzeń komórkowych stwierdzonych w badaniach własnych w stosunku do zmian obserwowanych przez Agardha i wsp. /1980/ mimo podkreślonej przez autorów ich odrębności wydają się mniej istotne. Nieprawidłowości opisane przez nich jako typ I, charakteryzujące się obkurczeniem neuronów oraz zagęszczeniem ich jąder i cytoplazmy a łączące cechy schorzenia ischemicznego i przewlekłego, przypominały w istocie zmiany określane przez nas, za Brownem i Brierleyem /1973/ jako schorzenie ischemiczne. Uszkodzenia tego typu uważane pierwotnie przez Cammermeyera /1961/ za artefaktyczne "dark neurons", w świetle późniejszych badań, prowadzonych na przyżyciowo utrwalonym materiale, okazały się być również skutkiem niedotlenienia i niedokrwienia mózgu /Brown, Brierley, 1973; Ito i wsp., 1975/. Kondensacja ich cytoplazmy, towarzysząca bardzo znacznemu poszerzeniu kanałów siateczki śródplazmatycznej jest następstwem zaburzeń przepuszczalności błon cytoplazmatycznych. Nieprawidłowości typu II Agardha i wsp. /1980/ przypominają z kolei uszkodzenia opisywane przez nas jako mikrowakuolizacja cytoplazmy. Analogiczność zmian

wydaje się tym bardziej prawdopodobna, jeśli uwzględnimy fakt, iż nagromadzeniu mikrowakuoli w cytoplazmie towarzyszyło zmniejszenie zawartości i mniejsza barwność ziarnistości tigroidu. Różnice w proporcjach zmian I i II typu u Agardha i wsp. /1980/ w zestawieniu ze stosunkiem mikrowakuolizacji do schorzenia ischemicznego w naszym materiale należy odnieść do różnych faz procesu hipoglikemicznego. W tym stadium hipoglikemii, na którą przypadają badania Agardha i wsp. /1980/ również w naszym materiale stwierdzano wzrost proporcji komórek z cechami schorzenia ischemicznego. Trzeba również uwzględnić różnice dawki insuliny. W grupie drugiej badań własnych, przy wyższej dawce hormonu zmiany ischemiczne były liczniejsze i pojawiały się wcześniej, a w okresie przypadającym na analizę morfologiczną Agardha i wsp. /1980/ były one bardzo liczne i współistniały z nieprawidłowościami typu schorzenia przewlekłego i ciężkiego.

Podobne paralele można przeprowadzić między obrazami elektronowo-mikroskopowymi obu typów zmian komórkowych w naszym materiale i w badaniach Kalimo i wsp. /1980/. Różniły się one jednak zasadniczo stanem mitochondriów, wykazujących w naszych doświadczeniach w sposób powtarzalny cechy zmiennie nasilonego obrzmienia zarówno w komórkach uznanych za odpowiedniki neuronów z mikrowakuolizacją cytoplazmy i w ciemnych ischemicznych neuronach, podczas gdy charakterystyczną cechą nieprawidłowości ultrastrukturalnych opisanych przez Kalimo i wsp. /1980/ był prawidłowy stan mitochondriów lub ich kondensacja. Wczesne uszkodzenia

mitochondrialne są stałym elementem obrazu mikroskopowo-elektronowego komórek nerwowych w następstwie niedotlenienia i niedokrwienia /Hager, 1963; Hills, Carole, 1964; Yu i wsp., 1972; Baldy-Moulinier i wsp., 1973; Kalimo i wsp., 1977; Lazriev i wsp., 1979/. Próbując wyjaśnić te rozbieżności, należy podobnie jak poprzednio, wziąć pod uwagę czas obserwacji. Nieprawidłowości mitochondrialne w naszym materiale przypadają bowiem na najwcześniejsze okresy hipoglikemii, a ich nasilenie zmniejszało się w okresie pośpiączkowym, porównywalnym z badaniami Kalimo i wsp. /1980/.

Cechą wspólną badań autorów skandynawskich i własnych były natomiast zmiany w obrazie siateczki śródplazmatycznej, wyrażające się poszerzeniem jej kanałów i zbiorników oraz zmniejszeniem ilości rybosomów z nimi związanych i pojawianiem się ich wolnych ugrupowań. Zmiany tego typu występowały w czasie śpiączki i narastały w okresie pośpiączkowym, a więc w tych fazach stanu niedocukrzenia, na które przypadają obserwacje Kalimo i wsp. /1980/. Opisywano je również w neuronach, poddawanych niedocukrzeniu w warunkach hodowli pozaustrojowej /Webster, Ames, 1965 a, b; Cohen, Hartman, 1964; Fujimoto, 1965; Patel i wsp., 1971/.

Dodatkowym elementem patologicznym ultrastruktury komórek nerwowych uznanych za odpowiedniki neuronów z mikro-wakuolizacją cytoplazmy były nieprawidłowości elektronowo-mikroskopowego obrazu jąder, polegające na zagęszczeniu i kondensacji ziaren heterochromatyny. Zmian tych nie opisują Kalimo i wsp. /1980/ w typie II uszkodzeń komórkowych,

co jest zastanawiające w świetle ich obserwacji histopatologicznych /Agardh i wsp., 1980/. Nie wyjaśniają oni również charakteru wakuoli cytoplazmatycznych, ani nie wspominają nic o stanie aparatu Golgiego. Poszerzenie jego zbiorników i kanałów wraz z poszerzeniem siateczki śródplazmatycznej i obrzmieniem mitochondriów skłonni jesteśmy traktować jako ultrastrukturalne podłoże mikrowakuolizacji cytoplazmy komórek nerwowych. Na podkreślenie zasługuje przy tym fakt, iż zmiany tego typu występowały we wszystkich częściach neuronu, nie wyłączając wypustek osiowych i zakończeń synaptycznych, a także choć w mniejszym nasileniu w neurogleju, zarówno oligodendrocytach jak i komórkach gwiaździstych. Obserwowane przez nas nieprawidłowości w strukturze synaps korespondują ze spostrzeżeniami Gorella i wsp. /1977/ dotyczącymi obniżenia ich aktywności w stanie głębokiej hipoglikemii.

Zmiany ultrastrukturalne komórek nerwowych, a przede wszystkim nieprawidłowości szorstkiej siateczki śródplazmatycznej, układu rybosomów i jąder wskazywać mogą na obniżenie procesów syntez śródkomórkowych, dotyczących biosyntezy związków makromolekularnych. Występowanie tego typu zaburzeń w hipoglikemii sugerują badania Mettera i Yanagihary/1979/, Siesjö i wsp. /1982/ oraz Kiesslinga i wsp. /1982/. Na obniżenie procesów metabolicznych neuronów wskazywać mogą również własne spostrzeżenia histoenzymatyczne, dotyczące aktywności kwaśnej fosfatazy we wczesnej fazie niedocukrzenia. Wzmożenie jej aktywności w rozsiałyh komórkach nerwowych w późnym okresie obserwacji, należy

wiązać zapewne z podwyższoną czynnością lizosomów w neuronach strukturalnie uszkodzonych. Porównanie obrazów histopatologicznych i histoenzymatycznych pozwalało na identyfikowanie komórek ze wzmożoną grubo-ziarnistą aktywnością fosfatazy kwaśnej z ciemnymi ischemicznymi neuronami.

Z obniżoną aktywnością metaboliczną komórek nerwowych wiązać należy zapewne również późne nagromadzenie glikogenu w strukturach ośrodkowego układu nerwowego, przede wszystkim w astrogleju. Mossakowski i wsp. /1968/, którzy opisali to zjawisko po raz pierwszy w warunkach asfiksji okołoporodowej, wysunęli przypuszczenie, że astrocytarna akumulacja glikogenu jest wyrazem zahamowania zużycia glukozy w procesach syntez komórkowych przy jej zachowanej podaży z układu naczyniowego do mózgu. Przypuszczenie to oparte na spostrzeżeniach Yapa i Spectora /1965/ znalazło następnie swoje potwierdzenie w późniejszych badaniach Albrechta /1972/ i Domańskiej-Janik oraz Zalewskiej /1980/ na modelu umiarkowanej hipoksji. Wydaje się ono tym bardziej prawdopodobne w warunkach insulinowej hipoglikemii, ponieważ insulina aktywizuje transport glukozy z krwi do mózgu /Gottstein, Held, 1967, 1969; Butterfield i wsp., 1966; Hertz i wsp., 1981/, hipoglikemia prowadzi do obniżenia jej metabolizmu w mózgu /Meldrum i wsp., 1971; Norberg, Siesjö, 1976; Agardh i wsp., 1980; Ghajar i wsp., 1982/, a nagromadzenie glikogenu w ośrodkowym układzie nerwowym przypadało na okres normalizacji poziomu glukozy we krwi. Spostrzeżenia histochemiczne dotyczące ujawniania się złogów glikogenu są zgodne czasowo z wynikami badań

biochemicznych Albrechta i wsp. /1979/, prowadzonych na tym samym modelu doświadczalnym. Ich cechą znaną, wyróżniającą od innych stanów patologicznych, którym towarzyszy histochemicznie uchwytnie nagromadzenie glikogenu w astrocytach /Mossakowski, Zelman, 1979/ było ich zmniejszenie we wczesnym okresie hipoglikemicznym, na który przypada uruchamianie rezerw energetycznych tkanki nerwowej, związane ze zmniejszoną podażą glukozy z krwi, stanowiącą skutek niedocukrzenia /Tews i wsp., 1965; Watanabe i wsp., 1970; Meldrum i wsp., 1971; Lewis i wsp., 1974 b; Agardh i wsp., 1978, 1981 a; Siesjö i wsp., 1982/. Odpowiadało ono spadkowi zawartości glikogenu, stwierdzonemu w tym czasie metodami biochemicznymi /Albrecht i wsp., 1979/. Autorzy ci zakładają współistnienie dodatkowego mechanizmu nagromadzania się glikogenu w mózgu, związanego z bezpośrednim działaniem insuliny, stymulującym układy enzymatyczne uczestniczące w jego syntezie. Mechanizmu tego nie można oczywiście wykluczyć, wydaje się on jednak niepewny w świetle niewyjaśnionego przechodzenia insuliny z układu naczyniowego do mózgu. Wysuwając powyżej wspomnianą koncepcję opierano się na doświadczeniach prowadzonych in vitro na skrawkach mózgu /Praksaman, 1972/ lub przy domorowym podawaniu insuliny /Mellerup, Rafaelsen, 1969/.

Stałym elementem elektronowo-mikroskopowego obrazu naszego materiału było obrzmienie astrocytów, pojawiające się w czasie śpiączki hipoglikemicznej i utrzymujące się w okresie pośpiączkowym, a nawet nasilające się w jego pewnych fazach. Spostrzegano je również w hodowli tkanki

nerwowej in vitro przy obniżonej zawartości glukozy w środowisku odżywczym /Cohen, Hartman, 1964; Fujimoto, 1965; Patel i wsp., 1971/. Zjawisko to zostało marginesowo tylko potraktowane przez Kalimo i wsp. /1980/, jako towarzyszące uszkodzeniom neuronalnym typu I.

Obrzmienie cytoplazmy astrocytów jest wyjątkowo pospolitym zjawiskiem w patologii doświadczalnej ośrodkowego układu nerwowego i uważane jest za wykładnik zmian w przepuszczalności ich błon komórkowych. Na obecność tego typu nieprawidłowości w naszym materiale wskazywać mogą zmiany w histochemicznym obrazie komórek gwiazdzistych w reakcji ujawniającej aktywność ATP-azy. Obrzmienie astrocytów uważane jest za istotny element szeregu typów cytotoksycznego obrzęku mózgu, między innymi towarzyszącymi jego niedokrwieniu /Klatzo, 1975; Ito i wsp., 1975/.

Zagadnienie reakcji obrzękowej mózgu w następstwie niedocukrzenia jest kwestią otwartą. Jest ona powszechnym zjawiskiem we wczesnych stadiach encefalopatii hipoglikemicznej u ludzi. Arieff i wsp. /1973/ stwierdzili ją w doświadczalnej hipoglikemii u psów, natomiast Feise i wsp. /1976/ nie wykazali wzrostu wody w tkankach mózgu w kontrolowanej izoelektrycznej śpiączce hipoglikemicznej. Należy jednak zwrócić uwagę, iż obrzęk cytotoksyczny mózgu, z jakim sądząc na podstawie nieprawidłowości astrocytarnych mamy do czynienia w pierwszej grupie doświadczalnej, może w całym szeregu przypadków przebiegać bez zmian w globalnej zawartości wody w tkance, a jedynie z jej przemieszczeniem między poszczególnymi przedziałami komórkowymi /Klatzo,

1975; Mossakowski, 1981/. Rozstrzygnięcie, czy w naszym materiale występuje również naczyniopochodny komponent obrzęku, jest bardzo trudne. Jego obecność sugerować mogą dyskretne zmiany w obrazie mikroskopowym istoty białej, stwierdzone u zwierząt I grupy wyłącznie w 6 godz. niedocukrzenia. Sprzyjać jego rozwojowi mogło przekrwienie bierne mózgu, które według Kapuścińskiego /1976/ stanowi istotny czynnik obrzękorodny, oraz zmiany w przepuszczalności naczyń, których obecność sugerowały nieprawidłowości w aktywności ATP-azy w ich ścianach, identyczne ze stwierdzonymi w stanach hipoksyjno-ischemicznych /Szumańska i wsp., 1976; Ostenda i wsp., 1976; Szumańska, Ostenda, 1980/. Nie został on jednak potwierdzony w obrazach mikroskopowo-elektronowych, ograniczonych zresztą w większości do badań formacji szarych, podczas gdy typowym umiejscowieniem obrzęku naczyniopochodnego jest istota biała /Klatzo, 1967; Mossakowski, 1981/. Jednakże przy znacznym nasileniu jego wykładniki występują również w istocie szarej.

Schemat przeprowadzonych badań pozwolił na ocenę ewolucji procesu patologicznego w ośrodkowym układzie nerwowym towarzyszącego niedocukrzeniu w stosunkowo szerokich granicach czasowych. Ocena ta wskazuje, iż strukturalne uszkodzenia tkanki pojawiają się we wczesnym okresie hipoglikemicznym, poprzedzającym śpiączkę. Intensyfikują się one w stanie śpiączkowym i we wczesnych fazach pośpiączkowych, a następnie niektóre z nich cofają się, a inne ulegają dalszej ewolucji aż do śmierci komórki i jej zaniku.

Zagadnienie odwracalności hipoglikemicznych uszkodzeń tkanki nerwowej stanowi do tej pory kwestię otwartą. Sugerowały ją spostrzeżenia neuropatologiczne Andersona i wsp. /1967/, którzy w mózgach dzieci po dłuższym okresie przeżycia po przebytej w okresie noworodkowym głębokiej hipoglikemii nie stwierdzili zmian występujących w przypadkach zejścia śmiertelnego bezpośrednio po śpiączce. Domniemywać jej można było w oparciu o badania Kahna i Myersa /1971/, którzy nie znajdowali w ogóle nieprawidłowości strukturalnych w mózgach małąp, wykazujących ciężki zespół neurologiczny we wczesnym okresie posthipoglikemicznym. Zakładają ją również Agardh i wsp. /1980/ oraz Kalimo i wsp. /1980/ w stosunku do zmian typu II na podstawie znacznego zmniejszenia ich ilości w okresie 3-godzinnej przeżycia po kontrolowanej izoelektrycznej śpiączce hipoglikemicznej. Czasowe ograniczenie obserwacji nie pozwoliło jednak na jednoznaczne potwierdzenie tego stanowiska. Obserwacje własne, oparte o badania histopatologiczne i elektronowo-mikroskopowe, pozwalają na stwierdzenie, że większość zmian strukturalnych, stanowiących następstwo krótkotrwałego doświadczalnego niedocukrzenia ma charakter odwracalny. Niewątpliwie cofają się uszkodzenia określone jako mikro-wakuolizacja cytoplazmy, a których odpowiednikiem elektronowo-mikroskopowym jest obrzmienie mitochondriów, poszerzenie zbiorników i kanałów aparatu Golgiego i szorstkiej siateczki śródplazmatycznej oraz zubożenie ilości rybosomów związanych ze strukturami błonowymi cytoplazmy, dominujące we wczesnych fazach niedocukrzenia. W kontekście proporcji

komórek z mikrowakuolizacją cytoplazmy i ciemnych obkurczonych neuronów ischemicznych wątpliwy jest pogląd Browna i Brierleya /1972/, iż pierwsze z nich stanowią wyłącznie fazę wstępną schorzenia ischemicznego. Ilość tych ostatnich była nieproporcjonalnie niska w stosunku do spostrzeganych wcześniej komórek z mikrowakuolizacją cytoplazmy. Ewolucja obrzmienia astrocytów, uznanych za wykładnik cytotoksycznego obrzęku mózgu wskazuje również na jego odwracalność. Nieodwracalne natomiast, ewoluujące do zaniku komórki, są zmiany ischemiczne, które jak wspomniano uprzednio stanowiły w naszym materiale niepowikłanej hipoglikemii zjawisko drugoplanowe.

Na podstawie porównania obrazów patologicznych pierwszej i drugiej grupy doświadczalnej wydaje się uzasadniony pogląd, że o nieodwracalności i rozległości uszkodzeń tkankowych w ośrodkowym układzie nerwowym decyduje w pierwszej kolejności nakładanie się dodatkowych czynników związanych przyczynowo ze stopniem niedocukrzenia, a stanowiących następstwo zaburzeń krążenia i zmian ciśnienia wewnątrzczaszkowego. Zmiany podrgawkowe, ze względu na podobieństwo ich charakteru i topografii w ośrodkowym układzie nerwowym do uszkodzeń wywołanych przez niedocukrzenie i stany hipoksyjno-ischemiczne /Dąbska, 1960; Dymecki, 1981/ nie wydają się możliwe do wyodrębnienia. Zmiany komórkowe, charakterystyczne dla niedocukrzenia w warunkach doświadczalnych występują również w materiale ludzkim. Są one tu wzbogacone o szerokie spektrum uszkodzeń tkankowych, u których podłoża leżą, podobnie jak w drugiej grupie doświadczalnej, dodatkowe

czynniki towarzyszące hipoglikemii, komplikujące ją lub stanowiące jej następstwo.

Przeprowadzone badania nie stwarzają podstaw do omawiania molekularnego podłoża encefalopatii hipoglikemicznej. Na odnotowanie zasługuje jednakże fakt, iż zmiany neuropatologiczne w pierwszej grupie zwierząt występowały w warunkach zachowanych zasobów wysokoenergetycznych mózgu, a były zbliżone swoim charakterem i dystrybucją do uszkodzeń towarzyszących głębokiej hipoglikemii, przebiegającej z wybitnym spadkiem zawartości związków wysokoenergetycznych w tkance nerwowej /Agardh i wsp., 1980; Kalimo i wsp., 1980/. Pozwala to przypuszczać, że u ich podłoża może nie leżeć samo obniżenie procesów energetycznych mózgu, lecz także inne zaburzenia metaboliczne, między innymi i te, które zapewniają utrzymanie zasobów energetycznych tkanki przy ograniczonej podaży glukozy /Siesjö i wsp., 1982/. Do odpowiedzi na to pytanie zbliżyć mogą badania strukturalne przeprowadzone na modelu głębokiej izoelektrycznej śpiączki w okresie poprzedzającym spadek zawartości glukozy i związków wysokoenergetycznych w mózgu i ich porównanie z jego następstwami.

W N I O S K I

1. Uszkodzenie strukturalne ośrodkowego układu nerwowego, stanowiące następstwo krótkotrwałej, przebiegającej bez obniżenia zasobów wysokoenergetycznych w mózgu, insulinowej hipoglikemii u szczurów ograniczają się do zmian komórkowych o typie mikrowakuolizacji cytoplazmy neuronów oraz tzw. schorzenia ischemicznego, wykazujących predylekcję topograficzną do kory nowej, zakrętu hipokampa i warstwy zwojowej kory mózdzku.
2. Ewolucja nieprawidłowości tkankowych wskazuje na ich pojawianie się w okresie wyprzedzającym wystąpienie śpiączki hipoglikemicznej oraz cofanie się równoległe z normalizacją poziomu glukozy we krwi. Nieodwracalny charakter mają natomiast zmiany o typie tzw. schorzenia ischemicznego.
3. Mikroskopowo-elektronowym odpowiednikiem mikrowakuolizacji cytoplazmy neuronów jest obrzmienie mitochondriów, poszerzenie zbiorników i kanałów aparatu Golgiego oraz szorstkiej siateczki śródplazmatycznej, zubożenie ilości rybosomów związanych z błoniastymi strukturami cytoplazmatycznymi, a także nieprawidłowości w obrazie jąder komórkowych. Zmiany te implikują zaburzenia przepuszczal-

ności błon komórkowych i zahamowanie procesów biosyntezy białek. Odpowiednikiem ultrastrukturalnym zmian o charakterze schorzenia ischemicznego jest zagęszczenie hialoplazmy, skrajne poszerzenie kanałów siateczki śródplazmatycznej oraz nieprawidłowości w obrazie jąder, dające obrazy tzw. neuronów ciemnych.

4. Uszkodzenia strukturalne ośrodkowego układu komórkowego w przypadku stosowania większych dawek insuliny dla wywołania stanu niedocukrzenia, zawierają wszystkie składniki obrazu neuropatologicznego przedstawione powyżej, są jednakże bogatsze, rozleglejsze i w znacznej części nieodwracalne. Ich charakter oraz rozmieszczenie w ośrodkowym układzie nerwowym wskazują na patogenetyczny udział dodatkowych czynników związanych z zaburzeniami krążenia, oddychania oraz wzrostem ciśnienia wewnątrzczaszkowego.
5. Ciężkie uszkodzenia komórkowe struktur pnia mózgu, szczególnie zaakcentowane w tej grupie doświadczalnej w tworze siatkowatym mogą być jedną z przyczyn zaburzeń krążeniowo-oddechowych, występujących w okresie pośpiączkowym i prowadzących do wysokiej śmiertelności zwierząt.
6. Reakcja obrzękowa mózgu w niedocukrzeniu ma pierwotnie charakter obrzęku cytotoksycznego, przy nałożeniu się dodatkowych czynników hipoksyjno-ischemicznych, przekształca się w typowy obrzęk naczyniopochodny.

7. Obraz neuropatologiczny encefalopatii hipoglikemicznej u ludzi, przypominający zmiany stwierdzone u zwierząt z głębokim niedocukrzeniem po wysokich dawkach insuliny, jest wypadkową skutków niedocukrzenia i towarzyszących mu powikłań ogólnoustrojowych /zaburzenia krążenia i oddychania/ oraz neurologicznych /drgawki, wzrost ciśnienia wewnątrzczaszkowego/, a także cukrzycy i innych poprzedzających i współistniejących procesów patologicznych.
8. Zmiany patomorfologiczne, stanowiące następstwo niedocukrzenia są podobne swoim charakterem i rozmieszczeniem w ośrodkowym układzie nerwowym do uszkodzeń hipoksyjnych, nie są jednak identyczne. Wydaje się, że ściśle rozgraniczenie udziału obu czynników w kształtowaniu morfologicznego zespołu neuropatologicznego encefalopatii cukrzycowej jest bardzo trudne nawet w modelach kontrolowanej hipoglikemii.
9. Fakt występowania zmian komórkowych w hipoglikemii, przebiegającej bez obniżenia zasobów wysokoenergetycznych w mózgu, wskazywać może, iż u ich podłoża leżą inne zaburzenia metaboliczne, niż przyjmowane w piśmiennictwie obniżenie tkankowych procesów energetycznych, jakkolwiek nie można całkowicie wyłączyć ich roli ze względu na selektywność uszkodzeń komórek nerwowych. Wchodzić bowiem mogą w rachubę zaburzenia tych procesów ograniczone do poszczególnych populacji neuronów,

nieuchwytnie w ogólnym pomiarze zasobów kwasu trójadenozynofosforanowego i fosfokreatyny.

1. Abdul-Rahman A., Agardh C.D., Siesjö B.K.: Local cerebral blood flow in the rat during severe hypoglycemia and in the recovery period following glucose injection. *Acta Physiol. Scand.* 1980, 109, 307-314.
2. Abdul-Rahman A., Siesjö B.K.: Local cerebral glucose consumption during insulin-induced hypoglycemia and in the recovery period following glucose administration. *Acta Physiol. Scand.* 1980, 110, 149-159.
3. Adams J.H., Brierley J.B., Connor R.C.R., Treip C.S.: The effects of systemic hypotension upon human brain: Clinical and neuropathological observations in 11 cases. *Brain* 1966, 89, 235-268.
4. Agardh C.D., Folbergrova J., Siesjö B.K.: Cerebral metabolic changes in profound insulin-induced hypoglycemia and in the recovery period following glucose administration. *J. Neurochem.* 1978, 31, 1135-1142.
5. Agardh C.D., Rosen J.: EEG and SER after hypoglycemic coma in the rat: correlation with cerebral metabolism. *Neurosci. Lett. /Suppl./* 1979, 3, 45-52.
6. Agardh C.D., Kalimo H., Olsson Y., Siesjö B.K.: Hypoglycemic brain injury. I. Metabolic and light microscopic findings in rat cerebral cortex during profound insulin-induced hypoglycemia and in recovery period following glucose administration. *Acta Neuropath. /Berl./* 1980, 50, 31-41.
7. Agardh C.D., Kalimo H., Olsson Y., Siesjö B.K.: Hypoglycemic brain injury. Metabolic and structural findings in rat cerebellar cortex during profound insulin-induced hypoglycemia and in the recovery period following glucose administration. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1981a, 1, 71-84.

8. Agardh C.D., Kalimo H., Olsson Y., Siesjö B.K.: Reply to the remarks by J.B. Brierley and A.W. Brown. *Acta Neuro-path. /Berl./* 1981b, 55, 323-325.
9. Agardh C.D., Chapman A.G., Nilsson B., Siesjö B.K.: Endogenous substrate utilisation in rat brain in severe insulin-induced hypoglycemia. *J. Neurochem.* 1981c, 36, 490-500.
10. Agardh C.D., Siesjö B.K.: Hypoglycemic brain injury: phospholipids, free fatty acids and nucleotides in the cerebellum of the rat after 30 and 60 min of severe insulin-induced hypoglycemia. *J. Cerebral Blood Flow Metab.* 1981, 1, 267-275.
11. Albaum H.G., Noell W.K., Chinn H.J.: Chemical changes in rabbit brain during anoxia. *Am. J. Physiol.* 1953, 174, 408-416.
12. Albrecht J.: Wpływ niedotlenienia i niedokrwienia na biosyntezę białek w mózgu szczura. *Neuropat. Pol.* 1972, 10, 547-556.
13. Albrecht J., Hilgier W., Sikorska M., Mossakowski M.J.: Wpływ hipoglikemii na zawartość glikogenu w mózgu szczura. *Neuropat. Pol.* 1979, 17, 523-533.
14. Albrecht J., Wróblewska B., Mossakowski M.J.: The binding of insulin to cerebral capillaries and astrocytes. *Neurochem. Res.* 1982, 7, 483-488.
15. Anderson J.M., Milner R.D.G., Strich S.J.: Effects of neonatal hypoglycemia on the nervous system: a pathological study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* 1967, 30, 295-310.
16. Arieff A.J., Kleeman C.R., Keushkerian A., Bogdoyan H.: Studies on mechanism of cerebral edema in diabetic comas. Effects of hyperglycemia and rapid lowering of plasma glucose in normal rabbits. *J. Clinical Investig.* 1973, 52, 571-583.
17. Astrup J., Norberg K.: Potassium activity in cerebral cortex in rats during progressive severe hypoglycemia. *Brain Res.* 1976, 103, 418-423.

18. 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.
19. Baker A.B.: Cerebral lesions in hypoglycemia: Some possibilities of irrevocable damage from insulin shock. *Arch. Path.* 1938, 26, 765-776.
20. Baker A.B.: Cerebral lesions in hypoglycemia. *Arch. Path.* 1939, 28, 298-305.
21. Baker A.B., Iannone A., Kinard J.: Cerebrovascular disease. A comparative study of an American and a Norwegian population. *World Neurol.* 1960, 1, 127-136.
22. Baldy-Moulinier Humcan C., Passovant P., Senicin P.: Modification ultrastructurales primitives du cortex en cours de differents types d'anoxic cerebrale experimentale. *C.R. Sec. Biol.* 1973, 12, 1886-1891.
23. Banker B.Q.: The neuropathological effects of anoxia and hypoglycemia in the newborn. *Develop. Med. Child Neurol.* 1967, 9, 544-552.
24. Barcikowska-Litwin M.: Obraz morfologiczny rozmiękania mózgowego w wieku starczym. *Neuropat. Pol.* 1984, 22, /w druku/
25. Barka T., Anderson P.J.: Histochemical method for acid phosphatase using hexazonium pararosanilin as a complex. *J. Histochem. Cytochem.* 1962, 10, 741-753.
26. Bell E.T.: A postmortem study of vascular diseases in diabetics. *Arch. Path.* 1952, 53, 444-455.
27. Bertman L., Siesjö B.K.: Cerebral metabolic and circulatory changes induced by hypoxia in starved rats. *J. Neurochem.* 1978, 31, 1265-1276.
28. Bidziński J.: Objawy neurologiczne spowodowane hipoglikemią. *Neurol. Neurochir. Psychiat. Pol.* 1959, 9, 327-339.

29. Bodechtel G.: Der hypoglykämische Schock und seine Wirkung auf das Zentralnervensystem, zugleich ein Beitrag zu seiner Pathogenese. Dtsch. Arch. Klin. Med. 1933, 175, 188-201.
30. Bodechtel G., Erbslöh F.: Die Veränderungen des Zentralnervensystems beim Diabetes mellitus. W: Handbuch der speziellen Pathologischen Anatomie und Histologie. Red. O. Lubarsch, F. Henke, R. Rössle, Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg. 1958, 1717-1739.
31. Bogolepov N.N., Pavlovskaya N.J.: Early ultrastructural changes in the cerebral cortex of rat during ischemia. J. Hirnforsch. 1979, 20, 47-56.
32. Bowen B.D., Beck G.: Insulin hypoglycemia. Ann. int. Med. 1933, 6, 1412-1425.
33. Brierley J.B.: The influence of brain swelling, age and hypotension upon the pattern of cerebral damage in hypoxia. W: Proc. "Fifth Intern. Congress of Neuropath." Red. F. Lüthy, A. Bischoff. Excerpta Med. Found. Amsterdam 1965, 21-28.
34. Brierley J.B.: Neuropathology of brain hypoxia. W: "Scientific Foundations of Neurology". Red. M. Critchley, J.L. O'Leary, B. Jennett. Heinemann Medical. London. Vol. 2. 1972, 243-252.
35. Brierley J.B.: Cerebral hypoxia. W: "Greenfield's Neuropath." Red. W. Blackwood, J.A.N. Corsellis, Edward Arnold, London. 1976, 43-85.
36. Brierley J.B., Brown A.W.: Remarks on the paper by C.D. Agardh et al./H. Kalimo et al. "Hypoglycemic brain injury. I, II". Acta Neuropath. /Berl./ 1981, 55, 319-322.
37. Brierley J.B., Brown A.W., Excell B.J., Meldrum B.S.: Brain damage in the Rhesus monkey resulting from profound arterial hypotension. I. Its nature, distribution and general physiological correlates. Brain Res. 1980, 13, 68-100.

38. Brierley J.B., Brown A.W., Meldrum B.S.: The neuropathology of insulin-induced hypoglycemia in a primate /*M. mulatta*/. Topography and cellular nature. W: "Brain hypoxia". Red. J.B. Brierley, B.S. Meldrum. Spastics International Medical Publications. London, Philadelphia. 1971a, 225-229.
39. Brierley J.B., Brown A.W., Meldrum B.S.: The nature and time course of the neuronal alterations resulting from oligemia and hypoglycemia in the brain of *Macaca mulatta*. Brain Res. 1971b, 25, 483-499.
40. Brown A.W., Brierley J.B.: The nature, distribution and earliest stages of anoxic-ischemic nerve cell damage in the rat as defined by the optical microscope. Brit. J. Exp. Path. 1968, 49, 87-106.
41. Brown A.W., Brierley J.B.: The nature and time course of anoxic-ischemic cell change in rat brain. An optical and electron-microscope study. W: "Brain hypoxia". Red. J.B. Brierley, B.S. Meldrum. Spastics International Medical Books. London, Philadelphia. 1971, 49-60.
42. Brown A.W., Brierley J.B.: Anoxic-ischemic cell change in rat brain. Light microscopic and finestructural observations. J. Neurol. Sciences 1972, 16, 59-84.
43. Brown A.W., Brierley J.B.: The earliest alterations in rat neurons after anoxia-ischemia. Acta Neuropath. /Berl./ 1973, 23, 9-22.
44. Brücher J.M.: Neuropathological problems posed by carbon monoxide and anoxia. W: "Carbon monoxide poisoning". Red. H. Bour, I.McA. Ledingham. Elsevier, Amsterdam, London, New York, 1967, 75-100.
45. Brzecki A., Gruszka A., Zabiega A., Myélicka C.: Zmiany w mózgu w przebiegu wyspiaka trzustki. Neuropat. Pol. 1972, 10, 539-543.

46. Bulmer D.: Dimedon as an aldehyde blocking reagent to facilitate the histochemical demonstration of glycogen. *Stain Technol.* 1959, 34, 95-98.
47. Butterfield W.J.H., Abrams M.E., Sells R.A., Sterky G., Whichelow M.J.: Insulin sensitivity of the human brain. *Lancet.* 1966, 1, 557-563.
48. Cammermeyer J.: "Über Gehirnveränderungen entstanden unter Sakelscher Insulintherapie bei einem Schizophrenen. *Z. Neurol.* 1938, 163, 617-633.
49. Cammermeyer J.: The importance of avoiding "dark neurons" in experimental neuropathology. *Acta Neuropath. /Berl./* 1961, 1, 245-270.
50. Chapman A.G., Westerberg E., Siesjö B.K.: The metabolism of purine and pyrimidine nucleotides in rat cerebral cortex during insulin-induced hypoglycemia and recovery. *J. Neurochem.* 1981, 36, 179-189.
51. Chase H.P., Marlow R.A., Dabiere C.S., Welch N.N.: Hypoglycemia and brain development. *Pediatrics.* 1973, 52, 513-520.
52. Cohen M.M., Hartman J.F.: Biochemical and ultrastructural correlates in cerebral cortex slices metabolism in vitro. W: "Morphological and biochemical correlates of neural activity". Ed. M.M. Cohen, R.S. Snider. New York 1964, 37-74.
53. Cohen J.P.: The effects of decreased oxygen tension on cerebral circulation, metabolism and function. W: "International Symposium on the Hypoxia". Ed. J.D. Hatcher, D.B. Jennings. Karger, Basel, New York, 1966, 81-104.
54. Gourville C.B.: Late cerebral changes incident to severe hypoglycemia /insulin shock/. Their relation to cerebral anoxia. *Arch. Neurol. Psych.* 1957, 78, 1-44.

55. Czyżyk A.: Stan niedocukrzenia krwi. W: "Klinika chorób wewnętrznych". Red. E. Szczeklik. PZWL. Tom 2. 1977, 1141-1144.
56. Dąbska M.: Neuropatologia zmian po napadach padaczkowych. Post. Hig. Med. Doświad. 1960, 14, 667-678.
57. Dąbska M., Buksowicz C.: Zmiany naczyniopochodne w zwojach podstawy ze szczególnym zajęciem prążkowiec w przebiegu cukrzycy. Przegląd Lek. 1962, 5, 1-9.
58. De Jong R.N.: The nervous system complications of diabetes mellitus with special reference to cerebrovascular changes. J. Nerv. Ment. Dis. 1950, 3, 181-196.
59. Della Porta P., Maiolo A.T., Negri V.U., Rossella E.: Cerebral blood flow and metabolism in therapeutic insulin coma. Metabolism 1964, 13, 131-140.
60. De Montis M.G., Olinas M.C., Haber B., Tagliamonte A.: Increase of large neutral aminoacids transport into brain by insulin. J. Neurochem. 1978, 30, 121-124.
61. Domańska-Janik K., Zalewska T.: Arterial and base changes and brain energy metabolism in unanaesthetized rats in mild hypoxia. Resuscitation, 1980, 7, 207-214.
62. Döring G.: Zur Histopathologie und Pathogenese des tödlichen Insulinschock. Dtsch. Z. Nervenheilk. 1938, 147, 217-227.
63. Dymecki J.: Choroby naczyniowe i naczyniopochodne ośrodkowego układu nerwowego. W: "Podstawy neuropatologii". Red. M.J. Mossakowski, J. Dymecki, M. Wender. PZWL. Warszawa, 1981, 207-252.
64. Dymecki J.: Padaczka - zmiany podrgawkowe. W: "Podstawy neuropatologii". Red. M.J. Mossakowski, J. Dymecki, M. Wender. PZWL. Warszawa, 1981, 584-586.
65. Ehrman R., Jacoby A.: "Über Blutungen bei mit Insulin behandelten Komafällen. Klin. Wschr. 1925, 4, 2151-2154.

66. Erbslöh F., Schröder A.: Klinik und Pathogenese neurologischer Krankheitsbilder beim Diabetes mellitus. *Z. Klin. Med.* 1963, 2, 50-56.
67. Fasekas F., Alman R.W., Parrish A.E.: Irreversible posthypoglycemic coma. *Am. J. med. Sci.* 1951, 222, 640-643.
68. Feise G., Kogure K., Busto R., Scheinberg P., Reinmutho M.: Effect of insuline hypoglycemia upon cerebral energy metabolism and EEG activity in the rat. *Brain Res.* 1976, 126, 263-280.
69. Ferraro A.: Neuropathologic findings in the brain in 3 additional cases of schizophrenia treated with insulin. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1942, 1, 188-201.
70. Ferraro A., Jervis G.A.: Brain pathology in four cases of schizophrenia treated with insulin. *Psychiat. Quart.* 1939, 13, 207-228.
71. Ferrendelli J.A.: Central utilization of nonglucose substrates and their effect in hypoglycemia. W: "Brain dysfunction in metabolic disorders". *Red. F. Plum. Res. Publ. Assoc. Nerv. Ment. Dis.* Raven Press. New York, 1974, 53, 113-126.
72. Ferrendelli J.A., Chang M.M.: Brain metabolism during hypoglycemia. Effect of insulin on regional central nervous system glucose and energy reserves in mice. *Arch. Neurol.* 1973, 28, 173-177.
73. Finley K.H., Brenner C.: Histologic evidence of damage to the brain in monkeys treated with metrazol and insulin. *Arch. Neurol.* 1941, 45, 403-438.
74. Fujimoto S.: Changes in the metabolism and the ultrastructure of brain cortex slices. *Psychiat. Neurol. Jap.* 1965, 67, 759-779.

75. Ghajar J.B.C., Plum F., Duffy T.E.: Cerebral oxidative metabolism and blood flow during acute hypoglycemia and recovery in unanesthetized rats. *J. Neurochem.* 1982, 38, 397-409.
76. Gorell J.M., Law M.M., Lowry O.H., Ferrendelli J.A.: Levels of cerebral cortical glycolytic and citric acid cycle metabolism during hypoglycemic stupor and its reversal. *J. Neurochem.* 1977, 29, 187-191.
77. Gottstein U., Held K.: Insulinwirkung auf den menschlichen Hirnmetabolismus von Stoffwechselgesunden und Diabetiker. *Klin. Wschr.* 1967, 45, 943-948.
78. Gottstein U., Held K.: The effect of insulin on cerebral metabolism during of normal and diabetic human subjects. W: "Research of the cerebral circulation". Red. J.S. Meyer, H. Lehner, O. Eichhorn. Thomas, Springfield. 1969, 193-207.
79. Gozzano M.: Alternazioni istologiche del sistema nervosa nell'intossicazione da insulina. *Bol. Soc. Ital. Biol. Sper.* 1929, 4, 73-82.
80. Gruk M., Mikołajczyk A., Rączkiewicz A.: Przypadek leczonego operacyjnie insulinoma malignum dającego objawy padaczki. *Pol. Tyg. Lek.* 1970, 26, 978-979.
81. Grünthal E.: Über eine ungewöhnliche Schädigung der Grosshirnrinde durch Insulin. Eine klinische und anatomische Studie. *Mtschr. Psychiat.* 1941, 104, 301-311.
82. Hager H.: Electron microscopical observations on the early changes in neurons caused by hypoxidosis and necrosis in the cerebral cortex of mammals. W: "Selective vulnerability of the brain in hypoxaemia". Red. W. Schade, W.H. McMenemey. Blackwell. Oxford, 1963, 125-138.
83. Hager H., Hirschberger W., Scholz W.: Electron microscopic changes in brain tissue of Syrian hamsters following acute hypoxia. *Aerospace Med.* 1966, 37, 379-382.

84. Hansen A.J., Nordström C.H.: Brain extracellular potassium and energy metabolism during ischemia in juvenile rats after exposure to hypoxia for 24 hours. *J. Neurochem.* 1979, 32, 915-920.
85. Harris S.: Clinical types of hyperinsulinism. Report of a case. *Am. J. Digest. Dist. Nutrition*, 1934, 1, 562-569.
86. Hartman J.F., Becker R.A., Cohen M.M.: Cerebral ultrastructure in experimental hypoxia and ischemia. W: "Biochemistry ultrastructure and physiology of cerebral anoxia, hypoxia and ischemia". Ed. M.M. Cohen. Karger, Basel, 1973, 50-63.
87. Havrankowa J., Roth J., Brownstein M.: Insulin receptors are widely distributed in the central nervous system of the rat. *Nature*, 1978, 227, 827-829.
88. Hempel J.: Zur Frage der Morphologischen Veränderungen in Gefolge von Insulin-Schock und Cardiazol-Azoman-Krampfbehandlung. *Z. neurol.* 1949, 173, 210-240.
89. Hertz M.M., Paulson O.B., Barry D.I.: Insulin increases glucose transfer across the blood-brain barrier in man. *J. Clin. Invest.* 1981, 67, 597-604.
90. Hills C.P., Carole P.: The ultrastructure of anoxic-ischemic lesions in the cerebral cortex of the adult rat brain. *Guy's Hosp. Rep.* 1964, 113, 333-348.
91. Himwich H.E., Fazekaz J.F.: The effect of hypoglycemia on brain metabolism. *Endocrinology* 1937, 21, 800-807.
92. Hinzen D.H., Becker P., Müller U.: Einfluss von Insulin auf den regionalen Phospholipidstoffwechsel der K6ninchengehirns in vivo. *Pflügers Arch. Physiol.* 1970, 321, 1-14.
93. Hinzen D.H., Müller U.: Energiestoffwechsel und Funktion des K6ninchengehirns während Insulin-hypoglikämie. *Pflügers Arch. Physiol.* 1974, 322, 47-59.

94. Hossmann K.A.: Cerebral dysfunction related to local and global ischemia. W: "Brain function in the old age". Red. F. Hoffmeister, C. Muller. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1979, 385-393.
95. Höpker W.: Die Wirkung des Glukosemangels auf das Gehirn. Thieme, Leipzig, 1954
96. Ito U., Spatz M., Walker J.T.Jr., Klatzo I.: Experimental cerebral ischemia in Mongolian gerbils. I. Light microscopic observation. Acta Neuropath. /Berl./ 1975, 32, 209-222
97. Yu M.C., Bakay L., Lee J.C.: Ultrastructure of the central nervous system after prolonged hypoxia. Neuronal alterations. Acta Neuropath. /Berl./ 1972, 22, 222-234.
98. Iwanowski L.: Rola zmian w naczyniach i w splocie naczyńkowym w procesie starzenia się mózgu. Praca habilitacyjna. Akademia Medyczna w Warszawie, 1980, 1-20.
99. Jansen J., Waaler E.: Pathologisch-anatomische Veränderungen bei Todesfällen nach Insulin- und Cardiazolschockbehandlung. Arch. Psychiatr. 1940, 111, 67-87.
100. Jones E.L., Thomas-Smith W.: Hypoglycemic brain damage in the neonatal rat. W: "Brain hypoxia". Red. J.B. Brierley, B.S. Meldrum. Spastics Intern. Med. Public. London, Philadelphia, 1971, 231-241.
101. Kahn K.J., Myers R.E.: Insulin-induced hypoglycaemia in non human primate. I. Clinical consequences. W: "Brain hypoxia". Red. J.B. Brierley, B.S. Meldrum. Spastics Intern. Med. Public. London, Philadelphia, 1971, 185-194.
102. Kalimo H., Agardh C.D., Olsson Y., Siesjö B.K.: Hypoglycemic brain injury. II. Electron microscopic findings in rat cerebral cortical neurons during profound insulin-induced hypoglycemia and in recovery period following glucose administration. Acta Neuropath. /Berl./. 1980, 50, 43-52.

103. Kalimo H., Garcia J.H., Kamijyo Y., Tanaka J., Trump D.P.: The ultrastructure of "brain death" cortex after complete ischemia. *Virchows Arch. /Cell pathol./*, 1977, 25, 207-220.
104. Kalimo H., Olsson Y.: Effects of severe hypoglycemia on the human brain. *Acta Neuropath. /Berl./*, 1980, 62, 777-778.
105. Kalimo H., Paljarvi L., Vapalante M.: The early ultrastructural alterations in the rabbit cerebral and cerebellar cortex after compression ischemia. *Neuropath. Appl. Neurobiol.* 1979, 5, 211-223.
106. Kapuściński A.: Badania nad ischemiczno-hipoksyjnym obrzękiem mózgu przy użyciu metod izotopowych. *Neuropat. Pol.* 1976, 14, 137-142.
107. Kapuściński A., Mossakowski M.J.: Pathological and morphological observation after 30 min bilateral occlusion of the common carotid artery in Gerbils. W: "Stroke: animal models". Red. V. Stefanovich. *Advances in the Biosciences*. Vol. 43. Pergamon Press, 1983, 63-82.
108. Kasperlik-Zaluska A.: Stany hipoglikemiczne. W: "Endokrynologia kliniczna". Red. W. Hartwig. *PZWL*. 1972, 2, 725-752.
109. Kiessling M., Weigel K., Gartzon D., Kleihues P.: Regional heterogeneity of L /3-³H/-tyrosine incorporation into rat brain proteins during severe hypoglycemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1982, 2, 249-253.
110. Klatzo I.: Neuropathological aspects of brain edema. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1967, 26, 1-13.
111. Klatzo I.: Pathophysiological aspects of cerebral ischemia. W: "Nervous System. The basic neurosciences". Vol. I. Red. D.B. Tower. Raven Press. New York, 1975, 322-331

112. Kobler F.: Histologische Gehirnbefund nach Insulinkoma. Arch. f. Psychiat. 1939, 107, 688-700.
113. Konitzer K., Voigt S.: The effect of insulin in the incorporation of blood glucose into free amino acids in rat brain. II. Intern. Meeting Intern. Soc. Neurochem. Milan, 1969. Abstracts, 253-254.
114. Köernyey S.: Histopathologie und Klinische Symptomatologie der anoxisch-vasalen Hirnschädigungen. Akad. Kiado, Budapest, 1955
115. Kryger B.: Szybka i dokładna metoda oznaczania poziomu glikozy we krwi i płynie mózgowo-rdzeniowym za pomocą o-tomidyny. Wiadomości Lek. 1963, 16, 1133-1136.
116. Lawrence R.D.: Hemiplegia in a diabetic producing unilateral peripheral neuritis and hypoglycemic attacks. Lancet. 1967, 7502, 1321-1332.
117. Lawrence R.D., Meyer R., Nevin S.: The pathological changes in the brain in fatal hypoglycemia. Quart. J. Med. 1942, 11, 181-202.
118. Lazriev L., Svanidze I.K., Tsitsishvili A.S.H., Džamova E.J. Effect of circulatory hypoxia /ischemia/ on fine structure of neurons and synapses of the rabbit cerebral cortex. Neuropat. Pol. 1979, 17, 351-368.
119. Leppien R., Peters G.: Todesfall infolge Insulinschockbehandlung bei einem Schizophrenen. Z. Neurol. 1937, 160, 444-454.
120. Levin S.: Anoxic-ischemic encephalopathy in rats. Am. J. Path. 1960. 36, 1-17.
121. Lewis L.D., Ljunggren B., Norberg K., Siesjö B.K.: Changes in carbohydrates, aminoacids and ammonia in the brain during insulin-induced hypoglycemia. J. Neurochem. 1974a, 23, 659-671.

122. Lewis L.D., Ljunggren B., Ratcheson R.A., Siesjö B.K.: Cerebral energy state in insulin induced hypoglycemia related to blood glucose and EEG. *J. Neurochem.* 1974b, 23, 673-679.
123. Lolley R.N., Scanson F.E.J.R.: Cerebral high energy compound: Changes in anoxia. *A.J. Physiol.* 1962, 202, 77-79.
124. Lowry O.H., Passaneau J.V., Hasselberger F.X., Schulz D.W.: Effects of ischemia on known substrates and cofactors of the glycolytic pathway in brain. *J. biol. chem.* 1964, 239, 18-30.
125. Luft V.C.: Aviation physiology - the effects of altitude. W: "Handbook of Physiol". Section III, Respiration. Ed. J. Field. Vol. 2. Am. Physiol. Soc. Washington, 1965, 1099-1145.
126. Mac Millan V.: Cerebral carbohydrate metabolism during acute carbon monoxide intoxication. *Brain Res.* 1977, 239, 18-30.
127. MacGee-Russell S.M., Brown A.W., Brierley J.B.: A combined light and electron microscope study of early anoxic-ischemic cell change in rat brain. *Brain Res.* 1970, 20, 193-200.
128. MacManus J.F.: A histological demonstration of mucin after periodic acid. *Nature*, 1946, 158, 202-204.
129. Mac Millan V., Siesjö B.K.: Brain energy metabolism in hypoxemia. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1972, 30, 127-136.
130. Malamud N.: Fatalities resulting from treatment with sub-shock doses of insulin. *Am. J. Psychiat.* 1948/49, 105, 373-392.
131. Malamud N., Grosh L.C.: Hyperinsulinism and cerebral changes. *Arch. Intern. Med.* 1938, 61, 579-599.
- 131a. Marks V., Rose F.C. Hypoglycemia. Blackwell, Oxford 1965, 54-81.
- 131b. Mellerup E., Rafaelsen J.: Brain glycogen after intercosternal insulin injection. *J. Neurochem.* 1969, 16, 777-781.

132. Mayman C.I., Tijerina M.L.: The effect of hypoglycemia on energy reserves in adult and newborn brain. W: "Cerebral hypoxia". Red. J.B. Brierley, B.S. Meldrum. Spastics Internat. Med. Public. London, Philadelphia, 1971, 242-250.
133. Meldrum B.S., Horton R.W., Brierley J.B.: Insulin-induced hypoglycemia in the primate. Relationship between physiological changes and neuropathology. W: "Cerebral hypoxia". Red. J.B. Brierley, B.S. Meldrum. Spastics Internat. Med. Public. London, Philadelphia, 1971, 207-224.
134. Metter E.J., Yanagihara T.: Protein synthesis in rat brain in hypoxia, anoxia and hypoglycemia. Brain Res. 1979, 161, 481-492.
135. Meyer S.: Intoxications. W: "Greenfield's Neuropathology". Red. H.W. McMenemey, A. Meyer, R.M. Norman, D.S. Russell. Arnold. London, 1963, 252-312.
136. Michaus L., Bertrand I., Scherer J., Bourguignon A.: Etude anatomique du coma insulinotherapique à propos de 2 cas personnels. Sem. Hôp. Paris, 1950, 26, 10-11.
137. Moersch F.P., Kernohan J.W.: Hypoglycemia - neurological and neuropathological studies. Arch. Neurol. Psychiat. 1938, 39, 242-257.
138. Mossakowski M.J.: Obrzęk mózgu. W: "Podstawy neuropatologii". Red. M.J. Mossakowski, J. Dymecki, M. Wender. PZWL. Warszawa, 1981, 251-256.
139. Mossakowski M.J.: Cerebral circulatory disturbances in various types of hypoxic conditions. Advances in Neurol. Red. J. Cervos-Navarro. Raven Press. New York, 1978, 20, 161-171.
140. Mossakowski M.J.: Wpływ wieku na obraz morfologiczny procesów patologicznych w ośrodkowym układzie nerwowym. Neuropat. Pol. 1983, 21, 1-16.

141. Mossakowski M.J., Gajkowska B.: Influence of indomethacin on the development of ultrastructural abnormalities in the brain following temporary ischemia. *Neuropat. Pol.* 1984, 22, 3.
142. Mossakowski M.J., Long D.M., Myers R.E., Rodriguez de Curren H., Klatzo I.: Early histochemical changes in perinatal asphyxia. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1968, 27, 500-516.
143. Mossakowski M.J., Renkawek K.: Encefalopatie endogenne. W: "Podstawy neuropatologii". Red. M.J. Mossakowski, J. Dymecki, M. Wender. PZWL. Warszawa, 1981, 355-387.
144. Mossakowski M.J., Zelman I.B.: Dynamics of microcirculation disorders in experimental circulatory hypoxia /ischemia/. *Proc. VII Intern. Congress Neuropath. Budapest 1974.* *Excerpta Med., Akademiai Kiado. Amsterdam, Budapest, 1975,* 573-576.
145. Mossakowski M.J., Zelman J.B.: Glycogen deposition in the brain as an indicator of glucose metabolism disturbances due to various damaging factors. *Neuropat. Pol.* 1979, 17, 85-96.
146. Myers R.E., Kahn K.J.: Insulin-induced hypoglycaemia in non-human primate. II. Long-term neuropathological consequences. W: "Cerebral hypoxia". Red. J.B. Brierley, S.W. Meldrum. *Spastics Intern. Med. Public. London, Philadelphia, 1971,* 195-206.
147. Naquet R., Meldrum B.S., Balzano E., Charrier J.P.: Photically-induced epilepsy and glucose metabolism in adolescent baboon /*Papio papio*/. *Brain Res.* 1970, 18, 503-509.
148. Nilsson B., Agardh C.D., Ingvar M., Siesjö B.K.: Cerebral response during and following severe insulin-induced hypoglycemia: CO₂ sensitivity, autoregulation and influence of

- prostaglandin synthesis inhibition. *Acta Physiol. Scand.* 1981, 111, 455-463.
149. Norberg K., Siesjö B.K.: Oxidative metabolism of the cerebral cortex of the rat in severe insulin-induced hypoglycemia. *J. Neurochem.* 1976, 26, 345-352.
150. Oberdisse K., Schaltenbrandt G.: Hirnschäden durch stumme Hypoglykämien bei pankreaslosen Hunden. *Z. exp. Med.* 1944, 114, 209-237.
151. Obrist W.D.: Cerebral circulatory changes in normal aging and dementia. W: "Brain function in old age". Red. F. Hoffmeister, C. Müller. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1979, 278-287.
152. Olejniczak P.: Charakterystyka miażdżycy tętnic podstawy mózgu u chorych z cukrzycą. *Neuropat. Pol.* 1984, 22, /w druku/
153. Olsson Y., Kalimo H., Agardh C.D., Siesjö B.K.: Neuropathological changes in hypoglycemic brain injury. W: "Energy transduction and neurotransmission". Red. G. Benzi, A.M. Guiffrida Stella, H.S. Bachelard, A. Agnoli. Roma, 1982, 83-91.
154. Opalski A.: Objawy neurologiczne w przebiegu niedocukrzeczenia insulinowego u chorych psychicznie. *Rocz. Psychiat.* 1938, 31, 112-157.
155. Opitz E., Schneider M.: Über die Sauerstoffversorgung des Gehirns und der Mechanismus von Magelwirkungen. *Erg. Psychiol.* 1950, 46, 126-260.
156. Ostenda M., Szumańska G., Gadamski R.: Specific hydrolase activity in blood vessels of rabbit brain after circulatory hypoxia. W: "Proc. Intern. Symp. Pathophysiological, biochemical and morphological aspects of cerebral ischemia and arterial hypertension". Warszawa 1975. Red. N.J. Mossakowski, I.B. Zelman, R. Kroh. *PZWL*, 1978, 60-67.

157. Patel K.K., Hartman J.F., Cohen M.M.: Ultrastructural estimation of relative volume of extracellular space in brain slices. *J. Neurol. Sci.* 1971, 12, 275-288.
158. Paz-Guevara A.T., Hsu H.T., White P.: Juvenile diabetes mellitus after forty years. *Diabetes*, 1975, 24, 559-565.
159. Pelligrino D.A., Agardh C.D., Siesjö B.K.: Intracellular pH in brain cortical tissue during insulin-induced hypoglycemia at varying levels of arterial pCO₂. *Neurosci Lett. /Supl./* 1979, 3, 53-62.
160. Pelligrino D.A., Siesjö B.K.: Regulation of extra and intracellular pH in the brain in severe hypoglycemia. *J. Cerebr. Blood Flow Metab.* 1981, 1, 85-96.
161. Pelligrino D., Almquist L.O., Siesjö B.K.: Effects of insulin-induced hypoglycemia on intracellular pH and impedance in the cerebral cortex of the rat. *Brain Res.* 1981, 221, 129-147.
162. Pentschew A.: Endogene /hormonale/ Vergiftungen. W: "Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie". Red. O. Lubarsch, F. Henke, R. Rössle. Springer. Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1958, 2373-2403.
163. Peters G.: Spezielle Pathologie der Krankheiten des zentralen und peripheren Nervensystems. Thieme. Stuttgart, 1951.
164. Praksaman K.G.: Effect of insulin on glucose metabolism in cerebral cortex slices under aerobic and anaerobic conditions. *J. Neurochem.* 1972, 19, 1825-1828.
165. Ratcheson R.A., Blanck A.C., Ferrendelli J.A.: Regionally selective metabolic effects of hypoglycemia in brain. *J. Neurochem.* 1981, 36, 1952-1958.
166. Rauch H.J.: Histopathologische Befunde bei Todesfällen in Insulinkoma. *Z. neurol.* 1944, 177, 556-577.

167. Richardson J.E., Russel D.S.: Cerebral disease due to functioning islet-cell-tumours with pathological report. *Lancet*, 1952, 2, 1054-1059.
168. Rubinstein L.: Neuropathological aspects of neonatal anoxia. W: "Drugs and poisons in relation to developing nervous system". U.S.P.H.S. Publications No 1791. Washington, 1967, 172-194.
169. Santen P.J., Willis R.W., Fajans S.S., Arbor A.: Atherosclerosis in diabetes mellitus. *Arch. Intern. Med.* 1972, 130, 833-843.
170. Schereschevsky N.A., Mogilnitzky B.N., Garjaewa A.W.: Zur Pathologie und pathologischen Anatomie der Insulinvergiftung. *Endocrinologie*, 1929, 5, 204-224.
171. Schmid H.H.: L'histopathologie du choc insulinique. *Ann. méd.-psychol.* 1936, 94, 658-677.
172. Schmidt F.H.: Methoden der Harn- und Blutzuckerbestimmung II. Blutzucker. W: "Handbuch des Diabetes mellitus" Red. E.F. Pfeiffer. J.F. Lekkmanns Verlag. München, 1971, 2, 938-945.
173. Shaw R.K., Heine J.D.: Effect of insulin on nitrogenous constituent of rat brain. *J. Neurochem.* 1965, 12, 527-535.
174. Siesjö B.K.: Brain energy metabolism. J. Wiley and Sons. Chichester, New York, 1978.
175. Siesjö B.K.: Cell damage in the brain: speculative synthesis. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1981, 1, 155-185.
176. Siesjö B.K., Wieloch T., Ingvar M.: Pathophysiology of hypoglycemia brain cell damage. W: "Energy transduction and neurotransmission". Red. G. Benzi, A.M. Guiffrida Stella, H.S. Bachelard, A. Agnoli. Roma, 1982, 69-82.

177. Sokoloff L.: Effects of normal aging on cerebral circulation and energy metabolism. W: "Brain function in old age". Red. F. Hoffmeister, C. Müller. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1979, 367-380.
178. Spencer A.M.: Posthypoglycemic encephalopathy in Sackel's insulin treatment. J. Ment. Sci. 1948, 99, 513-522.
179. Stief A., Tokay L.: Weitere experimentelle Untersuchungen über die cerebrale Wirkung des Insulins. Z. neurol. 1935, 153, 561-572.
180. Strout R.W.: Diabetes and arteriosclerosis - the role of insulin. Diabetologia, 1979, 16, 141-150.
181. Szumańska G., Ostenda M.: Histochemical changes in tissue vacular junction in the rat brain as the results of hypoxic hypoxia. Neuropat. Pol. 1980, 18, 601-618.
182. Szumańska G., Ostenda M., Mossakowski M.J.: Aktywność nukleozydo-dwu- i trójfosfataz w mózgu szczura w ostrym zatruciu tlenkiem węgla. Neuropat. Pol. 1976, 14, 197-207.
183. Tarr M., Brada D., Sampson F.E.: Cerebral high-energy phosphates during insulin hypoglycemia. Am. J. Physiol. 1962, 203, 690-692.
184. Tatoń J.: Molekularne podstawy działania insuliny na komórki. Przegląd Lek. 1979a, 7, 507-515.
185. Tatoń J.: Patogeneza i klinika neuroglikopenii. W: "Diabetologia kliniczna". J. Tatoń, PZWL. Warszawa, 1979b, 189-219.
186. Taubin H., Matz R.: Cerebral edema, diabetes incipidus and sudden death during treatment of diabetic ketoacidosis. Diabetes, 1968, 2, 108-120.
187. Tendström M.K.: Hypoglycemia and hyperinsulinism. Ann. Intern. Med. 1934, 7, 1013-1025.

188. Terplan K.: Changes in the brain in a case of fatal insulin shock. Arch. Path. 1932, 14, 131-150.
189. Tews J.K., Carter S.H., Stone W.E.: Chemical changes in the brain during insulin hypoglycemia and recovery. J. Neurochem. 1965, 12, 679-693.
190. Tom M.I., Richardson J.C.: Hypoglycemia from islet tumor of pancreas with amyotrophy and cerebro-spinal nerve cell loss. J. Neuropath. exp. Neurol. 1951, 10, 57-66.
191. Töbel F.: Über eigenartige Hirnschädigung durch Depotinsulin bei Hunden. Arch. Psychiat. 1948, 180, 569-591.
192. Von Houten M., Posner B.I.: Insulin binds to brain vessels in vivo. Nature, 1979, 282, 623-625.
193. Von Houten M., Posner B.I., Kaptiva B.M., Brower J.R.: Insulin-binding sites in the rat brain. In vivo localization to the circumventricular organs by quantitative radioautography. Endocrinology, 1979, 105, 666-673.
194. Van Liere E.J., Stickney J.C.: Hypoxia. University of Chicago Press. Chicago, 1963.
195. Vital C.J., Picard J., Arné L., Aubertin J., Fenelon J., Mouton L.: L'étude anatomoclinique de 3 cas d'encephalopathie hypoglycémique /dont un après sulfamidotherapie/. Diabète, 1967, 12, 291-305.
196. Yap S.L., Spector R.G.: cerebral protein synthesis in anoxic-ischemic brain injury in the rat. J. Path. Bact. 1965,
197. Wachstein M., Meisel E.: Histochemistry of hepatic phosphatases of a physiologic pH. Am. J. Clin. Path. 1957, 27, 13-23.
198. Wanatabe S., Otsuki S., Mitsunobu K., Sannomiya T., Okumura N.: /U-¹⁴C/-glucose metabolism of the perfused cat brain with blood flow disturbances. J. Neurochem. 1970, 17, 1571-1578.

199. Webster H., Ames A.: The ultrastructure and physiology of anoxia and hypoglycemia in nervous tissue. W: "Proc. Vth Intern. Congress Neuropath". Red. E. Lüthy, A. Bischoff. Excerpta Med. Found. Zurich, 1965a, 62-63.
200. Webster H., Ames A.: Reversible and irreversible changes in the fine structure of nervous tissue during oxygen and glucose deprivation. J. Cell Biol. 1956b, 26, 885-902.
201. Wierzba-Bobrowicz T.: Wpływ niedotlenienia na mikrokrążenie w mózgu szczura. Neuropat. Pol. 1977, 15, 183-191.
202. Wilkelman N.W., Moor M.T.: Neurohistopathologic changes with metrazol and insulin shock therapy. An experimental study on the cat. Arch. Neurol. 1940, 43, 1108-1137.
203. Wilkinson D.S., Prockop L.D.: Hypoglycemia: effects on the central nervous system. W: "Handbook of clinical neurology". Red. P.J. Vinken, G.W. Bruyn. North Holland. Amsterdam, Oxford, 1976, Vol. 22, 53-78.
204. Williams C.J.: Amyotrophy due to hypoglycemia. Brit. Med. J. 1955, 1, 707-709.
205. Wohlwill F.: Über Hirnbefunde bei Insulinüberdosierung. Klin. Wschr. 1928, 7, 344-346.
206. Zalewska T., Domańska-Janik K.: Energy utilization and changes in some intermediates of glucose metabolism in normal and hypoxic rat brain after decapitation. Resuscitation, 1980, 7, 199-205.
207. Zelman I.B.: Hypoglykämische Encephalopathie mit bevarzugtem symmetrischen Befall der Okzipitalrinde. Wien. Klin. Wochenschrift. 1972, 84, 432.
208. Zelman I.B., Wierzba-Bobrowicz T.: Obraz strukturalnych uszkodzeń mózgu szczura w zależności od nasilenia zaburzeń towarzyszących hipoglikemii. Neuropat. Pol. 1980, 18, 301-311.

209. Zölch J.: On circulatory disturbances in boderline zones of cerebrum and spinal cord. Proc. III. Intern. Congress Neurol. Excerpta Med. 1955, 849-895.