

2
P. 05
25.3.13
eqr 2
STOWARZYSZENIE NEUROPATOLOGÓW POLSKICH

M. (550P) 109

NEUROPATOLOGIA POLSKA

TOM XI

1973

ZESZ. 1

WARSZAWA

NEUROPATHOLOGIA POLSKA

K W A R T A L N I K

Tom XI

Styczeń–Marzec 1973

Nr 1

KOMITET REDAKCYJNY

Janusz Groniowski (Warszawa), *Hanna Jędrzejowska* (Warszawa), *Jerzy Kulczycki* (Szczecin), *Adam Kunicki* (Warszawa), *Tadeusz Majdecki* (Warszawa), *Danuta Markiewicz* (Pruszków), *Mirosław Mossakowski* (Warszawa), *Ewa Osetowska* (Mińsk Mazowiecki), *Mieczysław Wender* (Poznań), *Irmina Zelman* (Warszawa).

Przy współpracy

Ludo van Bogaert (Antwerpia), *Igor Klatzo* (Bethesda), *Istvan Környey* (Pecs), *William H. McMenemy* (Londyn), *Franz Seitelberger* (Wiedeń), *Istvan Tariska* (Budapeszt).

REDAKCJA SCISŁA

Janusz Groniowski, *Adam Kunicki*, *Mirosław Mossakowski*, *Ewa Osetowska*, *Mieczysław Wender*

REDAKCJA

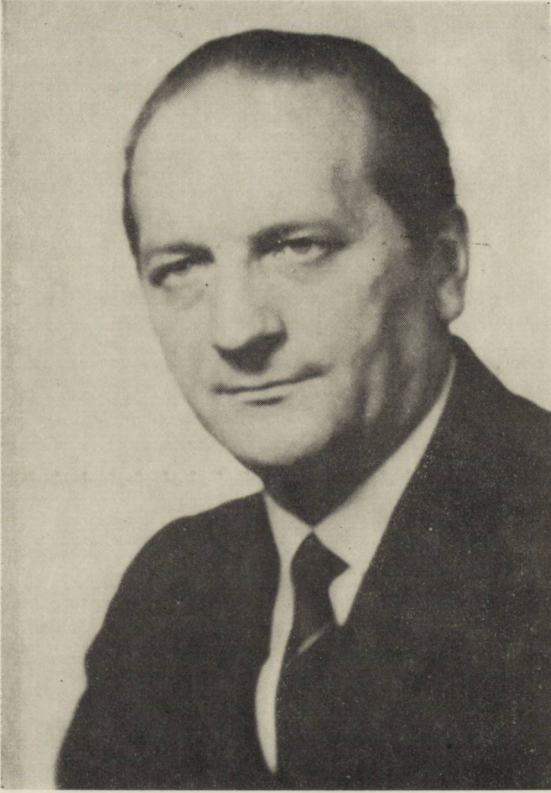
Redaktor Naczelny: *Irmina Zelman*
Sekretarz Redakcji: *Tadeusz Majdecki*
Sekretarz techniczny: *Władysława Smolińska*

ADRES REDAKCJI

Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej Polskiej Akademii Nauk.
ul. Dworkowa 3, 00-784 Warszawa, tel. 45-56-76

Wydawca

PAŃSTWOWY ZAKŁAD WYDAWNICTW LEKARSKICH



ANDRZEJ GŁUSZCZ

1924—1972

Dnia 17 marca 1972 roku zmarł nagle dr med. habil. Andrzej Głuszczyński, docent Akademii Medycznej w Łodzi, kierownik Pracowni Neuropatologii w Zakładzie Anatomii Patologicznej, jeden z współtwórców neuropatologii w Polsce, członek-założyciel Stowarzyszenia Neuropatologów Polskich, jego wieloletni przewodniczący i reprezentant w International Society of Neuropathology, członek Komitetu Redakcyjnego Neuropatologii Polskiej.



* *
* *

Andrzej Głuszczyk urodził się w roku 1924 we wsi Wola Pękoszewska w powiecie Skierniewickim. W latach 1931—1939 ukończył naukę w zakresie szkoły podstawowej i dwóch klas Gimnazjum Ogólnokształcącego w Toruniu. W okresie wojny, spędzonej na Podhalu pracował jako robotnik i uczył się. W roku 1946 otrzymał świadectwo dojrzałości w Liceum Ogólnokształcącym w Wadowicach. W tym samym roku rozpoczął studia na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Dyplom lekarza uzyskał w roku 1952. Już w czasie studiów w roku 1950 rozpoczął pracę jako asystent w Zakładzie Anatomii Patologicznej Uniwersytetu Jagiellońskiego pod kierunkiem prof. dr Janiny Kowalczykowej. Swoją działalność anatomopatologa przerwał na krótko w związku z powołaniem do służby czynnej w Wojsku Polskim jesienią 1952 r. Od roku 1953 kontynuuje ją jako starszy wykładowca w Wojskowym Centrum Wyszkożenia Medycznego w Łodzi. W roku 1955 rozpoczęła pracę w Zakładzie Anatomii Patologicznej Akademii Medycznej w Łodzi pod kierunkiem prof. dr Antoniego Pruszczyńskiego. W Zakładzie tym, w którym przeszedł przez wszystkie kolejne szczeble kariery młodego pracownika naukowego do stopnia docenta, pracował do swojej śmierci. W roku 1957 uzyskał specjalizację II stopnia w zakresie anatomii patologicznej. W tym czasie uformowały się definitywnie jego zainteresowania naukowe obejmujące kształtującą się dopiero w Polsce dziedzinę patomorfologii układu nerwowego.

W roku 1960 uzyskał stopień doktora medycyny na podstawie pracy pt. „Zmiany anatomopatologiczne w mózgach wcześniaków ze szczególnym uwzględnieniem martwicy okołokomorowej”. W latach 1961—1962 przebywał na rocznym stażu naukowym w Montreal Neurological Institute, jako stypendysta fundacji Rockefellera. W czasie pobytu w Montrealu ukierunkował swoje zainteresowania neuropatologiczne na patomorfologię nowotworów ośrodkowego układu nerwowego. Tam też przygotował zasadniczą część pracy poświęconej badaniom histologicznym i histochemicznym głąbków mózgu ze szczególnym uwzględnieniem ich zrębu naczyniowego, którą w roku 1963 przedstawił Radzie Wydziału Lekarskiego AM w Łodzi, jako pracę habilitacyjną. W tym samym roku zorganizował w Zakładzie Anatomii Patologicznej Pracownię Neuropatologii współpracującą ściśle z Kliniką Neurochirurgiczną. W roku 1964

przebywał jako visiting scientist w Instytucie Patologii Uniwersytetu w Marburgu, NRF, a w latach 1970—1971 na zaproszenie Rady Wydziału nowo utworzonego Uniwersytetu im. Erazma w Rotterdamie kierował tamtejszym Zakładem Neuropatologii.

Dwudziestoletnią, błyskotliwą, tragicznie przerwana przez przedwczesną śmierć karierę naukową Andrzeja Głuszcza wypełniała intensywna działalność badawcza, dydaktyczna i organizacyjna.

W jego twórczości naukowej wyróżnić można kilka odrębnych nurtów tematycznych. Pierwszy stanowią prace o tematyce ogólnie anatomopatologicznej i pochodzą z najwcześniejszych lat jego działalności, chociaż powracał on do niej również i w okresie późniejszym. Te „wycieczki” w kręgi ogólnej anatomii patologicznej wytrawnego i uznanego neuropatologa, jakim był Głuszczyk w latach sześćdziesiątych, stanowiły z jednej strony wykładnik rozległości jego zainteresowań, z drugiej zaś świadectwo jego świadomej potrzeby podtrzymywania więzi z dyscypliną macierzystą. Z tej rozległej i rozproszonej grupy tematycznej prac Andrzeja Głuszcza na uwagę zasługuje publikacja pt. „Zieleniak, jego stosunek do białaczki mieloblastycznej”. W pracy tej opartej na wyjątkowo bogatym materiale Głuszczyk podał próbę systematyzacji odmian choroby wyodrębniając w niej zieleniaka ogniskowego, zieleniaka układowego i białaczkę zieleniakową. Autor wykazał powiązanie zieleniaka z białaczkami szpikowymi, co znalazło pełne potwierdzenie w późniejszych pracach w piśmiennictwie światowym.

Z okresu późniejszego wymienić należy publikację pt. „Intracellular localization of the Golgi apparatus-associated phosphatase in rat kidneys”, w której jako pierwszy zlokalizował histochemicznie aktywność pyrofosfatazy tiaminowej w organellach aparatu Golgiego nabłonków kanalików nerkowych u szczura.

Drugi krąg tematyczny w dorobku Andrzeja Głuszcza stanowią prace z zakresu neuropatologii procesów nienowotworowych, w tym przede wszystkim publikacje z dziedziny neuropatologii wieku dziecięcego i patologii krążenia ośrodkowego układu nerwowego. Zainteresowania neuropatologią dziecięcą zapoczątkowała publikacja „Stwardnienie rozległe typu Krabbe. Odmiana dziedziczno-rodzinnej postaci stwardnienia rozległego mózgu u dwóch braci”, w której autor dał pierwszą w piśmiennictwie polskim analizę obrazu patomorfologicznego tego rzadkiego schorzenia, wysuwając interesujące koncepcje patogenetyczne, dotyczące udziału mikrogleju w kształtowaniu obrazu morfologicznego choroby.

Praca doktorska Andrzeja Głuszcza, poświęcona zmianom anatomopatologicznym w mózgach wcześniaków jest również wyrazem jego zainteresowań neuropatologią dziecięcą. Autor wyodrębnił dwa zasadnicze zespoły kliniczno-patologiczne wśród przyczyn śmierci wcześniaków

w okresie okołoporodowym (z wyłączeniem urazów porodowych): zespół płucno-mózgowy z niedotlenienia oraz zespół płucno-mózgowy z zakażenia (posocznicy) w następstwie zachłystnięcia się zakażonymi wodami płodowymi i zachłystowego zapalenia płuc. Oryginalnym dorobkiem Głuszczyka było wykazanie roli czynnika bakteryjnego w etiopatogenezie rozsianej martwicy mózgu, związanej poprzednio wyłącznie z zaburzeniami w krążeniu oraz udowodnienie, że martwica z towarzyszącym odczynem zapalnym jest specyficzną reakcją niedojrzałego mózgu na działanie drobnoustrojów. Rozwinięcie tego zagadnienia, poszerzonego o udział zakażeń toksoplazmowych w kształtowaniu uszkodzeń niedojrzałego układu nerwowego znalazło swój wyraz w pracy pt. „On the periventricular septic necroses of the brain in premature infants” przedstawionej na Międzynarodowym Kongresie Neuropatologów w Monachium. Dorobek Andrzeja Głuszczyka z tego zakresu uzupełnia szereg opracowań kliniczno-morfologicznych poświęconych między innymi toksoplazmozie, jej klinicznemu podobieństwu do cytomegalii, związkowi zespołu Glińskiego-Simmondsa z nowotworami okolicy podwzgórzowo-przysadkowej i współistnieniu różnych form zaburzeń rozwojowych ośrodkowego układu nerwowego.

Z patologii układu nerwowego związanej z zaburzeniami w krążeniu na wyodrębnienie zasługuje praca poświęcona tzw. zespołowi wieńcowo-mózgowemu, przedstawiona na Międzynarodowym Kongresie Neurologów w Rzymie w roku 1960. Andrzej Głuszczyk wraz ze współautorami klinicystami przedstawił w niej szereg odmian uszkodzeń mózgu w przebiegu zawałów mięśnia sercowego i wykazał zależność powstawania, umiejscowienia i rozległości zawałów mózgu od ostrej niewydolności wieńcowej. Szereg opracowań kazuistycznych z tej dziedziny ze względu na wartość poznawczą, wnikliwość analizy kliniczno-patologicznej i implikacje patogenetyczne ma rangę cennych opracowań oryginalnych. Do nich należy pierwsza w piśmiennictwie neuropatologicznym morfologiczna analiza tzw. przewlekłego zespołu pourazowego, opisanego przez Hermana oraz praca „Neuropathological changes in the brain after cardiac arrest followed by state of unconsciousness of three months duration”, przedstawiona na V Międzynarodowym Kongresie Neuropatologów w Zürichu, omawiająca interesujący zespół zmian zwyrodnieniowo-martwiczych i nieznanego przedtem typu zwyrodnienia komórek gleju skąpowypustkowego, związany z uszkodzeniem szlaków nerwowych.

Pomostem tematycznym między neuropatologią nienowotworową, a neuroonkologią, stanowiącą podstawowy przedmiot zainteresowań Andrzeja Głuszczyka są prace poświęcone patomorfologii fakomatoz — układowych procesów dysgenetycznych z pogranicza nieprawidłowości roz-

wojowych i nowotworzenia. Należy do nich opis nieznanego uprzednio zespołu ogólnej dysplazji układu łącznotkankowo-naczyniowego, połączonego z nowotworami naczyniowymi kanału kręgowego, pokrewnego zespołowi Hippel-Lindaua; morfologiczna analiza ośrodkowej postaci choroby Recklinghausena ze szczególnym uwzględnieniem rozrostu na stykach glejowo mezodermalnych, uzasadniająca w pełni nowoczesną teorię o kompleksowej, ektomezenchymalnej naturze zaburzeń rozrostowych w chorobie Recklinghausena; wreszcie praca „Melanoblastosis diffusa i choroba Sturge-Webera”, wykazująca powiązanie między zaburzeniami rozwojowymi naczyń ośrodkowego układu nerwowego a rozrostem układu melanoblastycznego. Prace te wnoszą istotne elementy w poznanie procesów dysgenetycznych układu nerwowego i są znakomitym świadectwem głębokiej erudycji autora i jego naukowej dojrzałości.

Trzecim nurtem działalności naukowej Andrzeja Głuszcza, w którym jego talent i dociekliwość badacza wyraziły się najpełniej i najdoskonalej, jest problematyka neuroonkologiczna, obejmująca ponad połowę jego publikowanego dorobku. Przedmiot jego specjalnych zainteresowań — biologia guzów pochodzenia glejowego stanowi tę dziedzinę, w której mimo licznych i wielokierunkowych badań daleko jest jeszcze od syntetyzujących sformułowań w odniesieniu do natury, sposobu rozrostu, biologicznego oddziaływania guzów, a nawet ich klasyfikacji.

Badania Andrzeja Głuszcza i kierowanego przez niego Zespołu charakteryzuje różnorodność aspektów i metod badawczych. Stosowano metodę analizy kliniczno-morfologicznej, prowadzono badania histochemiczne i histoenzymatyczne guzów glejowych *in vivo*, wykorzystano technikę przeszczepiania materiału nowotworowego, hodowlę tkanek uzupełnioną badaniami cytoenzymatycznymi, ostatnio wprowadzono również technikę immunofluorescencyjną i mikroskopię elektronową.

Prace z tego cyklu niezależnie od stosowanych metod i technik badawczych łączy wspólna myśl przewodnia i cel, którym jest poznanie dynamiki rozwoju nowotworów pochodzenia glejowego w zależności od wpływu podłoża, stanu unaczynienia, zaburzeń metabolicznych i wtórnych zmian morfologicznych określanych przez Głuszcza nazwą dysplazji. Kierunek tych badań można określić jako biologiczne podejście do oceny nie tylko natury i procesu nowotworzenia, lecz również i struktury morfologicznej glejaków, a tym samym ich oceny diagnostycznej i prognostycznej. Stwarza to przesłanki do nowoczesnego rozwiązywania zagadnień histokliniki i klasyfikacji glejaków.

W problematyce onkologicznej Andrzej Głuszcza ma dwie główne linie tematyczne: dążenie do uporządkowania glejaków w logiczny układ oparty o przesłanki histokliniczne, dla potrzeb diagnostyki i rokowania oraz pełna charakterystyka morfologiczna, biologiczna i patogenetyczna

zjawiska dysplazji w nowotworach pochodzenia glejowego. Zjawisko to uważa on za proces wiążący w jedną całość pewne odmiany rozrostu nowotworowego z nienowotworowymi procesami dystroficznymi układu nerwowego. Te ambitne i trudne kierunki badań wytycza już praca habilitacyjna „Badania histologiczne i histochemiczne glejaków mózgu ze szczególnym uwzględnieniem ich zrębu naczyniowego”. Znajdują one również wycinkowe rozwiązanie w kolejnych publikacjach i doniesieniach przedstawianych na licznych zjazdach i konferencjach naukowych krajowych i międzynarodowych. Próby histoklinicznej systematyzacji guzów glejowych poddawane autokorektom i uzupełnieniom znalazły najpełniejszy wyraz w publikacji „Morphogenesis and evolution of intracerebral monstrocellular tumours” i w wydrukowanej już po śmierci autora pracy „The grouping system of supratentorial gliomas according to their dominant biomorphological features”. Andrzej Głuszczyk zawarł w niej całokształt swoich dotychczasowych obserwacji, analiz i przemyśleń. Podstawową wartością tej klasyfikacji jest próba wyrowadzenia z obrazów morfologicznych danych charakteryzujących możliwie najwszechstronniej właściwości biologiczne guza i jego dynamikę rozwojową.

Andrzej Głuszczyk rozwija problematykę transformacji dysplastycznej glejaków w szeregu opracowań, z których na podkreślenie zasługują następujące publikacje: „Disseminate cerebral gliomatosis with fibrillary degeneration of glia and with Rosenthal fibres”, „The study on the so-called dysplastic gliomas using polychrom stains”, „Dysplastic features in glial tumours — contribution to biological approach in diagnosis and changes and intracellular homogenous conglomerates in tissue culture of classification of gliomas”, „Rosenthal fibres, birefringent gliofibrillary gliomas”. W pracach tych autor zawarł dokładną analizę morfologiczną i histochemiczną komórkowych zmian dysplastycznych oraz przedstawił doskonale udokumentowany pogląd na ich pato- i morfogenezę i powiązanie z procesami o charakterze nienowotworowym. Trwałą pozycję w piśmiennictwie neuropatologicznym mają pionierskie obserwacje Głuszczyka dotyczące włókienkowatego zwyrodnienia gleju, pokrewnego włóknom Rosenthala.

Prace Głuszczyka z zakresu patomorfologii neuroonkologicznej wielokrotnie wyróżniane nagrodami zyskały szerokie uznanie decydując w zasadniczej mierze o jego pozycji naukowej.

Wynikające z charakteru opracowania skromne omówienie sylwetki naukowej nie oddaje w żadnej mierze bogactwa i wszechstronności zainteresowań Andrzeja Głuszczyka, sygnalizuje tylko niektóre kierunki badań i pewne etapy jego naukowego rozwoju. Podobnie zresztą jego do-

robek publikowany obejmujący ponad 50 pozycji nie oddaje całokształtu jego działalności naukowej, na którą złożyło się ponadto wiele referatów wygłaszanych na zjazdach i konferencjach naukowych, z których tylko znikoma część ukazała się drukiem. Składają się na nią również rękopisy przygotowywanych prac

Działalność naukową Andrzeja Głuszcza charakteryzowała głęboka sumienność, wnikliwość, oryginalność i twórczy niepokój intelektualny. Podejmował zagadnienia nowe, trudne, stale poszerzając własne poglądy, rozbudowując i doskonaląc warsztat badawczy. Wychowanek klasycznej szkoły morfologicznej opracował i rozwinął szeroki wachlarz technik i metod badawczych, jakimi dysponuje nowoczesna neuropatologia.

W skromnych warunkach katedry uczelnianej stworzył żywy, aktywny i nowoczesny ośrodek neuropatologiczny. Skupił wokół siebie grono młodych entuzjastów wiedzy o mózgu, jego strukturze i patologii. Umiał natchnąć ich swoimi wizjami naukowymi i zapałem. Był świetnym nauczycielem. Uczył od początków swojej kariery naukowej. Jego wykłady cechowała prostota, jasność, precyzyjność i logika. Unikał konwencjonalności i nudy. Każdy jego wykład, czy seminarium były starannie przygotowane i poprzedzone długim przemyśleniem. Był nauczycielem wymagającym, wyrozumiałym, cierpliwym i sprawiedliwym. Lubił i umiał uczyć. Wynikiem jego zamiłowań dydaktycznych jest udział w opracowaniu podręczników i publikacji popularyzatorskich. Te same zamiłowania sprawiły, że od lat systematycznie i starannie przygotowywał skrypt neuropatologii dla studentów. Pracy tej nie zdążył zakończyć.

Andrzej Głuszczy był aktywnym członkiem szeregu towarzystw naukowych — Polskiego Towarzystwa Anatomopatologów, Polskiego Towarzystwa Histo- i Cytochemików oraz Stowarzyszenia Neuropatologów Polskich, którego był współzałożycielem, wieloletnim wiceprzewodniczącym i przewodniczącym. Był członkiem Komitetu Redakcyjnego Neuropatologii Polskiej. W roku 1971 objął funkcję przewodniczącego nowoutworzonej Komisji Neuroonkologii Komitetu Nauk Neurologicznych PAN. Ponadto Andrzej Głuszczy prowadził ożywioną działalność polityczną w Komitecie Uczelnianym Polskiej Zjednoczonej Partii Robotniczej Akademii Medycznej w Łodzi.

Był człowiekiem prawnym, dobrym i skromnym. Cechowała go pracowitość, wytrwałość i systematyczność. Pobłażliwy, serdeczny i życzliwy dla ludzi, sobie samemu stawiał najsurowsze wymagania i najostrejsze oceny. Wrażliwy, subtelny i przyjacielski, stale gotów był do służenia pomocą, radą i opieką. W jego krótkiej i owocnej działalności mieściły się harmonijnie praca badacza, nauczyciela i wychowawcy, bogata dzia-

łalność organizacyjna, rodzina, przyjaciele, rozległe zainteresowania pozazawodowe. Był człowiekiem, który znał wartość życia i umiał cenić jego urok.

Tym tragiczniejsze jest jego odejście. Odszedł w okresie szerokich perspektyw, dojrzałego działania i zasłużonego uznania.

Absurdalna, budząca sprzeciw śmierć zabrała jednego z najwybitniejszych neuropatologów polskich, znakomitego pełnego inwencji badacza, człowieka, który swoją pracę naukową traktował jako cel najwyższy, źródło osobistej radości i satysfakcji i autentyczną intelektualną przygodę, człowieka wielkich ambicji, wielkiego talentu wielkiej pracy i wielkiego serca. Takim pozostanie w pamięci tych, którzy się z Nim zetknęli.

Mirosław J. Mossakowski

Warszawa, czerwiec 1972

IN MEMORY OF ANDRZEJ GŁUSZCZ

The death of Andrzej Głuszczyk was a sad tragedy, not only for his intimate environment, but also for many people who worked with him for a longer or a shorter time and for all people here and abroad who devoted their life to the study of the pathology of the nervous system.

On me who worked a long time with him in one room this loss made a deep impression. Again, I see him looking in his microscope, again, I hear him calling me to look with him at one of the many obscure but always fascinating problems of the pathology of the brain. I remember the discussions we had, his extensive learning, his large experience (beginning with early descriptions of Krabbe's disease in Poland), his listening to the arguments of other people and his fast thinking and rich creative mind. Together we looked again and again at the puzzling mysteries and planned to solve them.

I will never forget the first day he worked in Rotterdam. In the afternoon we had a discussion with a group of pathologists. Somebody showed a rather incomprehensible tumour. Without any hesitation he immediately gave his contribution: a very valuable idea and everybody was amazed and charmed. He was so certain in his field of research that he lost all hesitation and had no objection to propose with courage new hypotheses. We in Rotterdam will never forget his contribution to the pathology and the neuropathology in the two periods of six months he worked in the new faculty of medicine of the Erasmus University in birth. I suppose, that in his country Poland — which he loved with all his heart — comparable feelings will be present. Andrzej Głuszczyk had a cosmopolitan way of living, but he was in the first place a Polish doctor.

Polish: often he told me some of the many sad and heroic stories of his dear country. I wrote "doctor" for he was really a physician who never forgot the background of his daily work, although he was fond and proud of the laboratory studies he performed. Any biopsy was not only a scientific problem in his mind, but it referred also towards a patient, a sick man in a bed.

His work in the field of pathology is well known. He was not happy with many schematic systems which are used by oncologists. His study

brought him to a new synopsis of the field. This synopsis was more than a scheme. It was very subtle and sophisticated. It was a fertile hypothesis of great value. But still it was a system-like scheme and gave — perhaps in any conscious way — help to him who needed some fixed points.

Gluszczyk was a very complicated man who lived almost always in stress. He was driven by high ideals and plans, he was sensitive and vulnerable, he was a man of culture, aesthetically gifted. His writings even in foreign language showed a fine spirit, a man of style: almost poetical even in the ordinary descriptions of the daily work. Sometimes it was clear that he was aggressive, but his aggression was contained, perhaps almost completely aimed at himself. For he was indeed really full of hesitations. I will never forget how he drove his car: sitting upright without touching the back of his seat. Another not understood weak moment: he had an appointment with one of his compatriots, a very open, somewhat talkative man. "I do not know", he said to me, "I do not understand, but I am so afraid to talk with this man". He never explained why. In the following months he often spoke with him and they became good friends.

It is a great misfortune that a man so richly gifted, so brilliant a speaker, so creative in his work could not find the place and the opportunity he needed to unfold his gifts.

There was — so I guess — one thing he missed and which may be the key to the story: he missed a free, relaxed way of living. In his activities was always a bit of stress.

Writing this I cannot avoid thinking of his national background. Poland has a long past full of bloodshed and has been independent in last century only for some decades. One gets the impression that this past (with still the memory of a horrible war) influences deeply both thoughts and feelings of the citizens. It seems to me that men like Andrzej Gluszczyk lived under the pressure of a "holy" duty: a man should show his compatriots, the world and himself that Poland is able of great achievements. This duty, however, is not always "holy" and may become a tyrannic super-ego, feeding passive and active authoritarian feelings and self-aggression.

It is unspeakably sad that this man has disappeared. We, his friends and family, stay back together heavily burdened with a complex of unanswerable questions.

V. W. D. Schenk

Rotterdam, June 1972

ANDRZEJ GŁUSZCZ, JANUSZ ALWASIAK, WIELISŁAW PAPIERZ,
BOLESŁAW LACH

OBSERWACJE MORFOLOGICZNE GLEJAKÓW
W PRZEBIEGU WIELOKROTNEGO PRZESZCZEPIANIA
NA ŚWINKI MORSKIE *)

Pracownia Neuropatologii przy Klinice Neurochirurgii
i Katedrze Anatomii Patologicznej AM w Łodzi
Kierownik Kliniki: doc. dr J. Brzeziński
Kierownik Katedry: prof. dr A. Pruszczyński

Celem podjętych badań, w których glejaki ludzkie przeszczepiano do przedniej komory oka świnek morskich, było ustalenie stopnia przeszczepialności różnych odmian tych nowotworów oraz analiza stopnia ich morfologicznej i histochemicznej zmienności. Poza tym zamierzano dokonać obserwacji cytobiologicznych cech guzów przeszczepianych na zwierzęta i wtórnie hodowanych *in vitro*.

Szczególnym celem przeszczepiania glejaków było uzyskanie „trwałych linii” tych nowotworów zarówno dla badań biomorfologicznych, jak też i immunologicznych.

Doniesienie niniejsze dotyczy badań morfologicznych dwóch podstawowych odmian glejaków złośliwych: odmiany litej przeważnie drobnokomórkowej z wyraźnymi cechami anaplazji (*glioma solidum anaplasticum*) oraz odmiany z cechami dysplazji, składającej się przeważnie z komórek olbrzymich obfitozarodziowych (*glioma malignum dysplasticum*).

Szczegółowe uzasadnienie podziału na podstawie którego wyróżniono wymienione odmiany guzów glejowych zostało przedstawione w poprzednich publikacjach (Głuszczyk 1963, 1969, 1970, 1972). Podział ten przyjmuje istnienie trzech zasadniczych typów wzrostu glejaków, a mianowicie: ortoplastyczny (zorganizowany), anaplastyczny i dysplastyczny. Rozrost typu anaplastycznego charakteryzuje się przewagą rozrostu komórek nad ich różnicowaniem, prowadząc do rozwoju niskozróżnicowanych gleja-

*) Praca wykonana w ramach problemu węzłowego PAN — 09.4.1.3.

ków litych, bądź monomorficznych, złożonych z komórek drobnych, bądź pleomorficznych, w których utkaniu dominują komórki atypowe, olbrzymie, o hyperchromatycznych jądrach. Dysplastyczne tendencje w rozwoju biomorfologicznym nowotworu ujawniają się pod postacią nieprawidłowego różnicowania się komórek oraz przyspieszonego i nietypowego ich dojrzewania. W drobnokomórkowym utkaniu występują liczne komórki olbrzymie, o obfitej zarodki, przypominające komórki gleju oczynowego lub nienowotworowego gleju dystroficznego. Cytoplazma ich jest kwasochłonna, homogenna, ziarnista, lub włókienkowata. Jądra są pojedyncze, niekiedy podwójne, lub mnogie i zwykle nie wykazują hyperchromazji.

Czy transformacja dysplastyczna glejaków jest zjawiskiem wtórnym, związanym ze strukturą podłoża, czy też zależy ona od genetycznie uwarunkowanych aberacji w metabolizmie komórek — pozostaje zagadnieniem otwartym. Transplantacja glejaków może być jedną z metod, prowadzącą do jego wyjaśnienia.

MATERIAŁ I METODY

Do przeszczepów użyto tkankę z 54 nowotworów śródczaszkowych pacjentów operowanych w Klinice Neurochirurgii AM w Łodzi. Tkanke przeszczepiano według sposobu opisanego przez Greene'a (1941, 1950) oraz przez Manuelidisa (1966).

Jałowe fragmenty tkanki nowotworowej wprowadzano do przedniej komory oka świnek morskich przy pomocy trokaru zaopatrzonego w mandren. Przed zabiegiem zwierzęta znieczulano nembutalem, wstrzykiwanym dostrzewnowo w dawce 25 mg/kg wagi ciała i unieruchamiano na stole operacyjnym. Dodatkowo znieczulano rogówkę oka 0,5% wodnym roztworem kokainy, wkraplanym do worka spojówkowego. Rogówkę nacinano pośrodku górnego brzegu jej rąbka nożem okulistycznym do usuwania katarakty. Poprzez nacięcie wprowadzono trokar, zawierający fragment guza, do przedniej komory oka zwierzęcia, umiejscawiając tkankę nowotworową w jej dolnym kącie. Nacięcia rogówki nie zaopatrywano, ulegało ono samoistnemu zaklejeniu. W przypadku uzyskania wzrostu nowotworu, w momencie, gdy wypełniał on całkowicie przednią komorę oka zwierzęcia, retransplantowano tkankę nowotworową na nową, zwykle liczniejszą serię świnek morskich, stosując wyżej podaną metodę. W jednym przypadku (1193 Nch), w którym uzyskano trwałą linię wzrostu nowotworu, poczynając od dziesiątego kolejnego pasażu, dokonywano również transplantacji guza z przedniej komory oka do mózgu świnek morskich. Fragmenty tkanki nowotworowej wprowadza-

no do mózgu trokarem przez otwór trepanacyjny w ciemieniowej okolicy czaszki.

Tkanekę nowotworową otrzymaną z każdego kolejnego pasażu, a nie użytą do transplatacji, przeznaczano do badań histologicznych oraz eksplantacji na hodowle tkankowe. W tym celu eksplantowano fragmenty tkanki nowotworowej (o średnicy 1—2 mm) na szkiełka nakrywkowe (o wymiarach 5×20 mm), uprzednio pokryte warstwą dializowanego kolagenu, sporządzanego z włókien ogonów szczurzych. Hodowle prowadzono we flaskach Carrela, w medium, składającym się z 25% inaktywowanej surowicy cielęcej, z 4% ekstraktu sporządzonego z dziesięciodniowych zarodków kurzych, 0,5% glukozy oraz 70,5% płynu Hanksa lub Parkera. Płyn odżywczy zmieniano co trzy dni. Hodowle przechowywano w termostacie w temp. 37°C . W ustalonych okresach wzrostu wybierano hodowle do badań morfologicznych, stosując rutynowe metody barwienia.

WYNIKI

Spośród 54 nowotworów przeszczepionych do przedniej komory oka świnek morskich, uzyskano wzrost tylko w 10 przypadkach glejaków złośliwych; nie przyjął się żaden ze zróżnicowanych gwiaździaków i skąpodrzewiaków, ani też żaden z glejaków II stopnia złośliwości, określanych ogólnie jako glejaki niedojrzałe mieszane (tabela 1).

Tabela 1. Zestawienie przeszczepionych glejaków
Table 1. Collection of the transplanted gliomas

| Typ guza Type of tumour | Ogółem Total | Przyjęte Taken | Nie przyjęte Rejected |
|---|-----------------|-------------------|--------------------------|
| Gwiaździaki I° złośliwości Astrocytomas I° of malignancy | 7 | — | 7 |
| Skąpodrzewiak I° złośliwości Oligodendrogliomas I° malignancy | 7 | — | 7 |
| Glejaki niedojrzałe różnych typów II° złośliwości Immature gliomas of various types II° malignancy | 19 | — | 19 |
| Glejaki lite anaplastyczne III° złośliwości Solid anaplastic gliomas III° of malignancy | 12 | 6 | 6 |
| Glejaki złośliwe dysplastyczne III° złośliwości Malignant dysplastic gliomas III° of malignancy | 9 | 4 | 5 |
| Razem Total | 54 | 10 | 44 |

Lite glejaki anaplastyczne — typ izomorficzny

Spośród 6 przyjętych litych glejaków anaplastycznych, 3 reprezentowały typ izomorficzny, odpowiadający nisko zróżnicowanym gąbczakom.

Nowotwory te zbudowane były głównie z komórek wrzecionowatych, bądź ułożonych w pasma i pęczki, bądź też nie wykazujących wyraźnych układów strukturalnych; charakteryzowała je cienkościenne sieć naczyń i liczne ogniska martwicy „palisadowej” (ryc. 1). Dwa glejaki tego typu obserwowano tylko w nielicznych, kolejnych przeszczepach. Trzeci osiągnął 19 przeszczepów do przedniej komory oka i 9 do mózgu (tabela 2).

Tabela 2. Przeszczepy litych glejaków anaplastycznych typu izomorficznego
Table 2. Transplants of solid anaplastic gliomas of isomorphous type

| Nr przyp. No. of case | Wiek (lat) Age (years) | Płeć Sex | Umiejscowienie Location | Liczba przeszczepów Number of transplants |
|--------------------------|---------------------------------|-------------|---|--|
| 1190 Nch | 56 | m | okolica czołowa prawa right frontal region | 2 oko 2 eye |
| 1193 Nch | 58 | ż f | okolica czołowo-skroniowa lewa left fronto-temporal region | 19 oko 9 mózg 19 eye 9 brain |
| 1790 Nch | 52 | m | okolica czołowo-skroniowa prawa right fronto-temporal region | 3 oko 3 eye |

Typ komórkowy i histoarchitektonika nowotworów utrzymywały się na ogół w przeszczepach wtórnych, z uwidaczniającą się skłonnością do narastania stopnia anaplazji, co najwyraźniej obserwowano w przypadku 1193 Nch. Przeszczepy rosnące w przedniej komorze oka z reguły charakteryzowały się podziałem na zraziki, oddzielone pasmami tkanki łącznej, wrastającymi do mięszu nowotworu od strony ścian komory oka (ryc. 2). W zrębie nowotworu stwierdzano zwykle dość obfite limfoidalne i plazmatyczno-komórkowe nacieki zapalne.

W przeszczepach do mózgu, na pograniczu guza i w otoczeniu tkanki nowotworowej obserwowano charakterystyczne, kłębkowate rozrosty naczyń krwionośnych, występujące typowo w pierwotnych guzach śródmózgowych (ryc. 3). W dwunastej generacji guza 1193 Nch można było stwierdzić wysoce anaplastyczny obraz nowotworu. Dominowały w nim komórki wrzecionowate, o znacznie wydłużonych jądrach, wykazujących wybitną hyperchromazję. Jądra układały się w struktury rzekomo — rozetkowe lub palisadowate, spotykane zwykle w niskozróżnicowanym „spongiblastoma verum” (ryc. 4). Należy podkreślić, że narastanie anaplazji wiązało się wyraźnie z przyspieszeniem wzrostu przeszczepów. W pierwszej generacji oraz w kilku następnych maksymalny wzrost guza (z całkowitym wypełnieniem przedniej komory oka) następował

zazwyczaj po 6—9 miesiącach od chwili wszczęcia. Dwunaste pokolenie uzyskiwało maksymalny wzrost po 3—4 miesiącach. Wtórne przeszczepy z oka do mózgu świnek morskich przyjmowały się znacznie szybciej, średnio po około 2 miesiącach. Nie wiązało się to jednak ze zmianą obrazu komórkowego, ani też z wyraźnym zwiększeniem liczby figur podziału w guzie.

Przeszczepy nowotworowe każdej generacji eksplantowano do hodowli tkankowej. W przypadkach, w których udało się uzyskać eksplantat z mięszu nowotworowego, bez elementów mezenchymalnych, hodowle ze wszystkich generacji wykazywały podobieństwo do hodowli uzyskanej z guza macierzystego. Z eksplantatu wyrastały komórki wrzecionowate, które w pośredniej strefie wzrostu przekształcały się w komórki o obfitszej cytoplazmie i kształcie zbliżonym do trójkąta, a w zewnętrznej części w duże komórki płatkowate (ryc. 5 i 6).

Lite glejaki anaplastyczne — typ polimorficzny

Tabela 3. Przeszczepy litych glejaków anaplastycznych typu polimorficznego
Table 3. Transplants of solid anaplastic gliomas of polymorphous type

| Nr przyp. No. of case | Wiek (lat) Age (years) | Płeć Sex | Umiejscowienie Location | Liczba przeszczepów Number of transplants |
|--------------------------|---------------------------------|-------------|--|--|
| 1979 Nch | 67 | m | lewe jądra podstawy left basal ganglia | 4 |
| 1504 Nch | 44 | ż f | okolica czołowa lewa left frontal region | 2 |
| 1341 Nch | 46 | m | okolica czołowo-skroniowa prawa right fronto-temporal region | 2 |

Spośród polimorficznej odmiany litych glejaków anaplastycznych wzrost guza w przedniej komorze oka świnek morskich uzyskano tylko w trzech przypadkach (tabela 3). W jednym z nich (1979 Nch) wzrost guza utrzymał się w czterech kolejnych pasażach, przy czym całkowite wypełnienie przedniej komory oka przez tkankę nowotworową następowało kolejno po 4½, 4 i 3 miesiącach. Przeszczepiany materiał pochodził z guza o głębokim umiejscowieniu w okolicy jąder podstawy i charakteryzował się splotową budową utkania (ryc. 7 i 8) oraz dość znacznym polimorfizmem komórkowym z przewagą wrzecionowatych komórek spongioblastycznych. W utkaniu guza rozrzucone były nieliczne, atypowe

komórki olbrzymie, o hyperchromatycznych jądrach. W tkance pierwszego przeszczepu (materiał do badań morfologicznych pochodził tylko od jednej świnki) dominującą cechą obrazu histologicznego był pleomorfizm komórkowy bardziej nasilony niż w guzie macierzystym (ryc. 9). Jednakże już w trzecim pasażu w utkaniu guza przeważały komórki wrzecionowate, typu spongioblastów (ryc. 10) i przypominały obraz mikroskopowy izomorficznych glejaków anaplastycznych. Podobne obrazy obserwowano również w hodowlach tkankowych, w których stwierdzano jednak większą liczbę komórek mikrogleju (ryc. 10 i 12).

W pozostałych dwóch przypadkach obrazy mikroskopowe przeszczepów nie różniły się istotnie od obrazów guzów macierzystych, zachowując charakter polimorficznych glejaków. Wzrost przeszczepów w tych przypadkach był jednak znacznie dłuższy (8 miesięcy w przypadku 1504 Nch i 9 miesięcy w przypadku 1341 Nch).

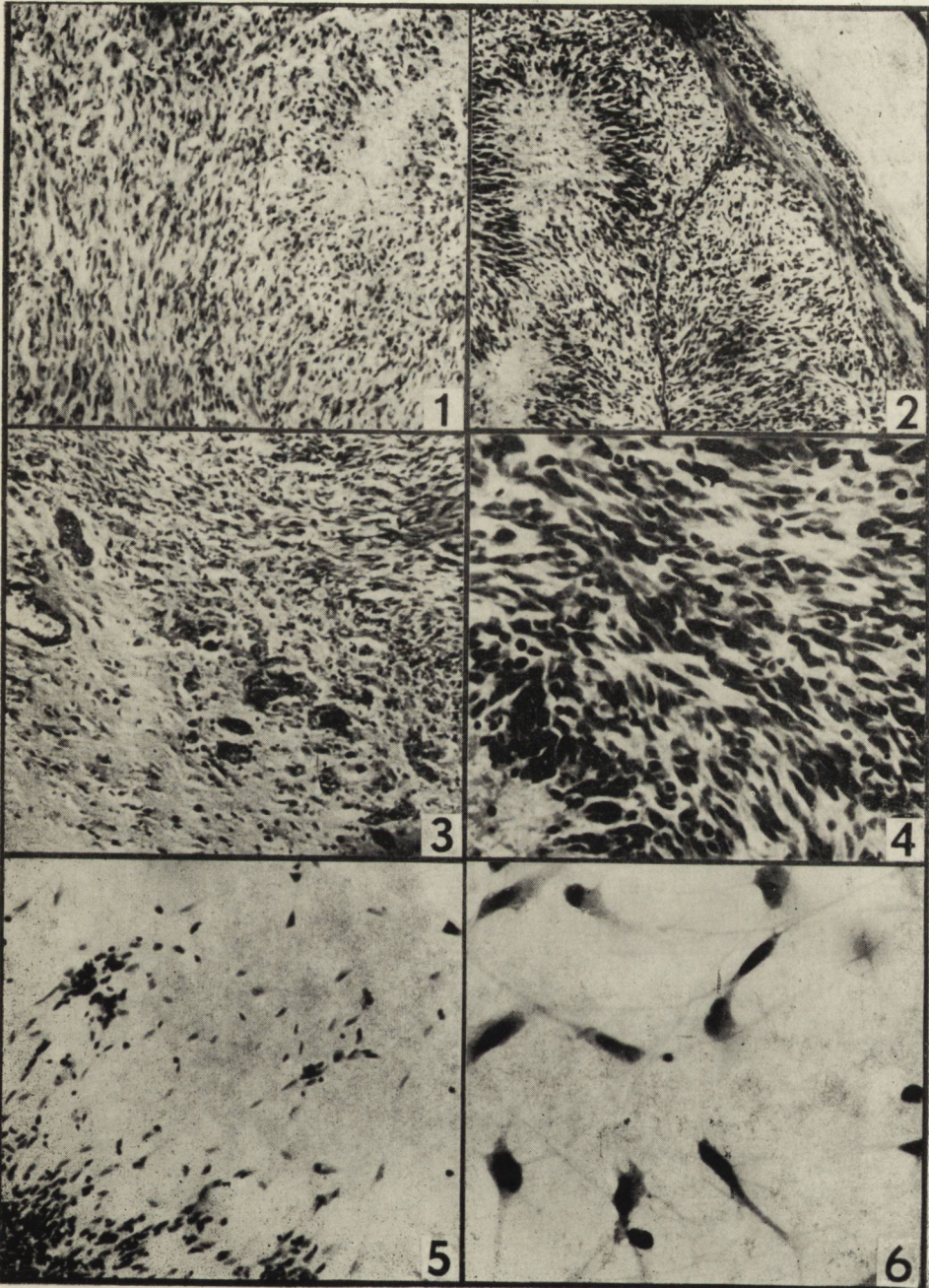
Glejaki złośliwe dysplastyczne

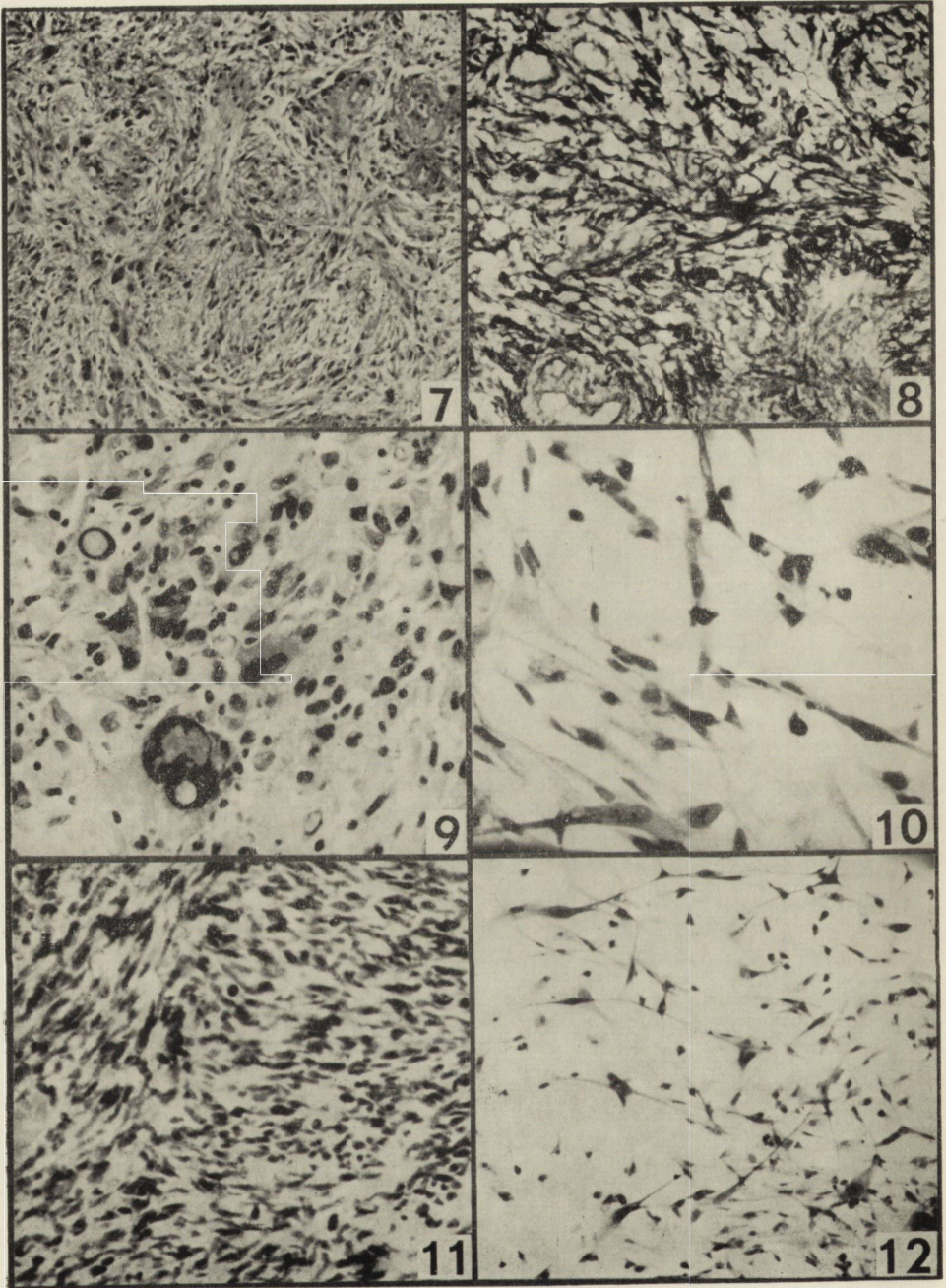
Tabela 4. Przeszczepy złośliwych glejaków dysplastycznych

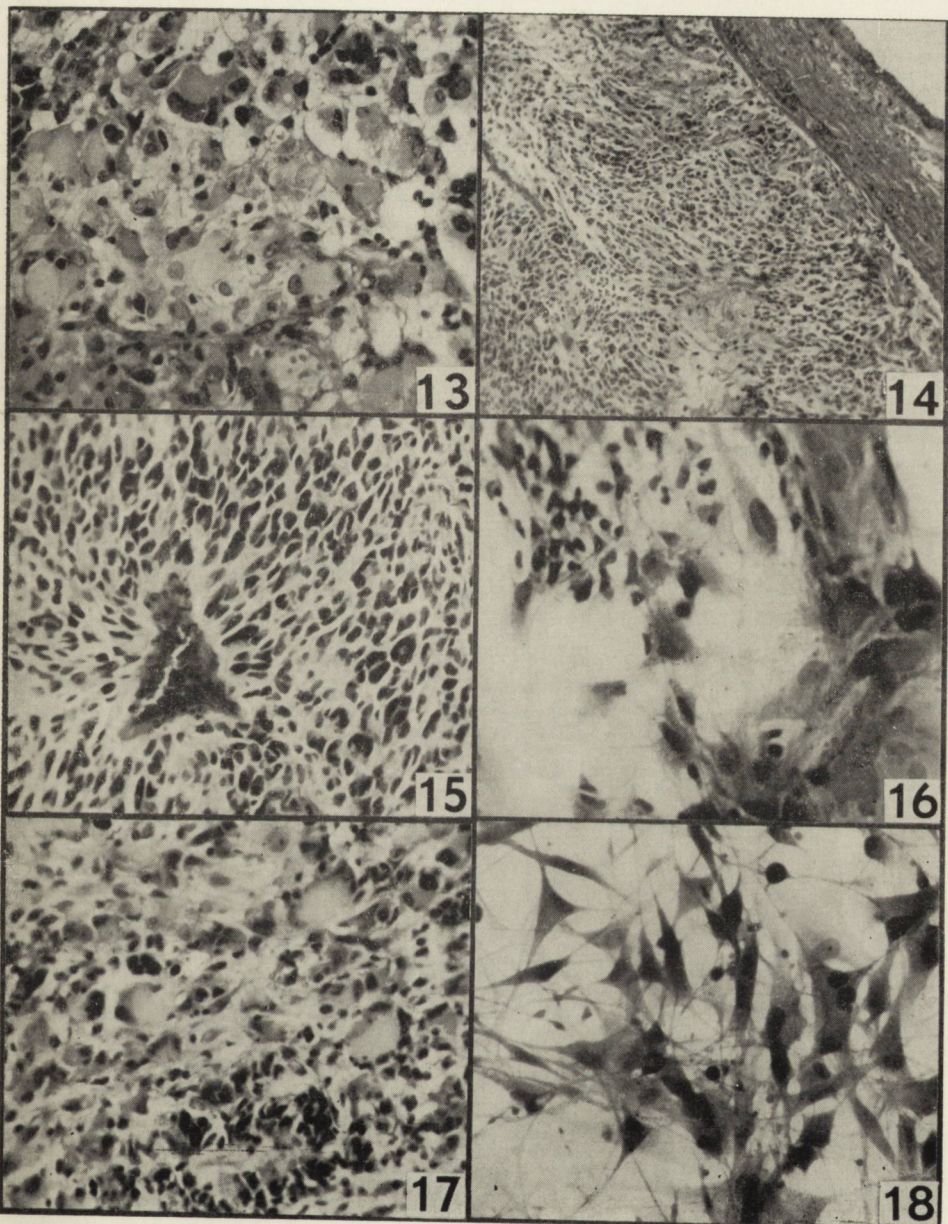
Table 4. Transplants of malignant dysplastic gliomas

| Nr przyp. No. of case | Wiek (lat) Age (years) | Płeć Sex | Umiejscowienie Location | Liczba przeszczepów Number of transplants |
|--------------------------|---------------------------------|-------------|--|--|
| 1204 Nch | 50 | ż f | okolica ciemieniowa lewa left parietal region | 2 |
| 1664 Nch | 37 | m | okolica czołowo-skroniowa prawa right fronto-temporal region | 4 |
| 1736 Nch | 38 | m | okolica czołowo-skroniowa prawa region right fronto-temporal | 1 |
| 1995 Nch | 63 | m | okolica skroniowa prawa right temporal region | 2 |

Spośród 4 rosnących glejaków dysplastycznych (tabela 4) najbardziej interesujące obrazy uzyskano w guzie 1664 Nch, zbudowanym niemal całkowicie z olbrzymich komórek o obfitej zarodki oraz o dużych normochromatycznych jądrach z wyraźnymi jąderkami — o obrazie określanym niekiedy jako mięsak (ryc. 13). Tylko miejscami w utkaniu guza stwierdzano skupienia drobnych komórek okrągłych. Guz ten po pierwszym pasażu przyjął się tylko u jednego zwierzęcia, po 4 miesiącach wzrostu przedstawiał obraz o przewadze komórek drobnych z ciemnymi, ostro zarysowanymi jądrami (ryc. 14 i 15). W hodowli tkankowej analogiczne,







drobne komórki nowotworowe już w wewnętrznej strefie wzrostu przekształcały się w olbrzymie komórki o obfitej zarodki (ryc. 16). W kolejnym trzecim i czwartym pasażu tego guza, których wzrost trwał 6 i 8 miesięcy, dominował typowy obraz *oligodendroglioma polymorphum*, składający się częściowo z komórek drobnych, częściowo z komórek olbrzymich, o małych hyperchromatycznych jądrach ułożonych obwodowo, częściowo zaś z komórek drobnych limfoidalnych (ryc. 17). W hodowlach tkankowych stwierdzano najczęściej obrazy mieszane z przewagą komórek olbrzymich, wyrastających wprost z eksplantatu. Przeważnie jednak obrazy hodowli składały się z komórek trójbiegunowych, o jądrach ułożonych na obwodzie (ryc. 18). W pośredniej strefie wzrostu komórki te przekształcały się w komórki olbrzymie. W guzie tym nie uzyskano więc jednokierunkowych zmian podczas czterech kolejnych pasaży, jednak stwierdzono wyraźną tendencję do rozrostu komórek drobnych.

Z pozostałych trzech przypadków jeden (1736 Nch) miał utkanie analogiczne do guza poprzednio omówionego. Wzrost przeszczepu trwał 9 miesięcy; wtórnych przeszczepów nie udało się uzyskać.

Przypadki 1204 Nch oraz 1995 Nch miały nieco odmienne utkanie, przeważały w nich komórki monstrialne z nieznaczną tylko komponentą drobnokomórkową. Wzrost przeszczepów trwał od 10 do 12 miesięcy, przy czym nie stwierdzano istotnych zmian w ich utkaniu w porównaniu do guza macierzystego, poza nieznacznym rozrostem komórek drobnych, o typie oligodendrogleju. W hodowlach tkankowych przeważały komórki olbrzymie.

OMÓWIENIE

Krótkotrwałość obserwacji i zbyt skąpy materiał nie pozwala na wywnioskowanie ugruntowanych i jednoznacznych wniosków, dotyczących przeszczepialności glejaków i zmian morfologicznych, rozwijających się w miarę ich sukcesywnego przeszczepiania. Z naszych obserwacji wynika jednak, że zdolnością do rozrostu w przedniej komorze oka świnek morskich odznaczają się tylko glejaki złośliwe, szczególnie zaś guzy anaplastyczne, zbudowane z niskozróżnicowanych komórek typu spongioblastycznego. W ciągu kolejnych pasaży obserwuje się stopniowe przyśpieszenie okresu pełnego wzrostu guza, a jednocześnie skłonność do upraszczania, a raczej ujednocniania obrazu komórkowego. Atypowe komórki polimorficznych glejaków znikają; nie obserwowano pojawienia się ani jednej komórki olbrzymiej atypowej w izomorficznych guzach drobnokomórkowych. Liczba figur podziału ulega zwiększeniu, występują szeregowo lub pseudorozetkowe układy komórek, co stanowi charakterystycz-

ną cechą glejaków najniżej zróżnicowanych. Pod tym względem nasze obserwacje pokrywają się ze spostrzeżeniami Manuelidisa (1966) dotyczącymi przekształcania się obrazu guza wielopostaciowego w „jednopościowy”, wrzecionowatokomórkowy obraz glejaka złośliwego, który występuje w wyniku większej żywotności i zdolności do rozrostu komórek spongioblastycznych, a nie na skutek przekształcania się komórek. Ze względu na krótkotrwałą obserwację guzów tego typu, trudno się wypowiedzieć, czy zasada ta dotyczy również guzów o mniejszej złośliwości, określonych przez nas jako dysplastyczne (Alwasiak 1969, Głuszczyk 1972).

Obserwacje świadczące o tym, że zaliczane niekiedy do mięsaków, olbrzymiokomórkowe guzy lite mogą przekształcać się, poprzez fazę drobnokomórkową, w typowe skąpodrzewiaki polimorficzne Zülcha, prowadzą do interesujących wniosków. Jakkolwiek w pierwotnych guzach tego typu znajduje się zawsze składnik drobnokomórkowy, który zapewne odznacza się znaczną przewagą zdolności do rozrostu nad składnikiem olbrzymiokomórkowym, to jednak istnieje także tendencja do utrzymania się procesu transformacji dysplastycznej, najwyraźniej widoczna w hodowli tkankowej. Potwierdzenie tego spostrzeżenia na większej liczbie dłużej obserwowanych przypadków mogłoby świadczyć, że transformacja dysplastyczna nie jest, jak atypia komórkowa, zmianą typu zwyrodnieniowego, a raczej procesem zależnym od czynnika dysgenetycznego.

A. Глуц,

Я. Альвасяк, В. Папеж, В. Лях

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ ГЛИОМ В ПРОЦЕССЕ МНОГОКРАТНОЙ ПРИВИВКИ НА МОРСКИЕ СВИНКИ

Резюме

Авторы прививали ткань, полученную из оперированных человеческих глиом, в переднюю камеру глаза морских свинок. В случае получения роста опухоли проводили дальнейшие очередные пассажи в глаза этих животных, а также эксплантировали опухоль в тканевую культуру. Цель работы заключалась в исследовании степени трансплантивности разных видов глиом и их морфологической изменчивости *in vivo* и *in vitro*. Среди 54 привитых опухолей их рост был получен только в 10 случаях. Установлено, что только злокачественные глиомы, построенные из низкодифференцированных клеток спонгиобластического типа, способны развиваться в передней камере глаза морских свинок. В очередных пассажах наблюдалось постепенное ускорение полного роста опухоли и тенденция стандартизации клеточной картины. Интересным кажется наблюдение, что гигантоклеточные плотные опухоли, иногда зачисляемые к саркомам, могут, через мелкоклеточную фазу, превращаться в типичные полиморфичные олигодендроглиомы Цыльха.

A. Głuszczyk,

J. Alwasiak, W. Papierz, B. Lach

MORPHOLOGICAL OBSERVATIONS OF GLIOMAS IN THE COURSE
OF REPEATED TRANSPLANTATIONS ON GUINEA PIGS

Summary

The authors were implanting the tissue obtained from operated human gliomas into the anterior eye chamber of guinea pigs. In case the tumour growth was achieved, further subsequent passages into the eyes of these animals were made and the tumour explanted on tissue cultures. The aim of this work was to examine the degree of transplantability of various forms of gliomas and their morphological mutability *in vivo* and *in vitro*. Out of the 54 transplanted tumours, the growth was achieved only in 10 cases. It was established, that only the malignant gliomas formed of poorly-differentiated cells of spongioblastic type are capable of growth in the anterior eye chamber of guinea pigs. In the subsequent passages the following was observed: a gradual acceleration of the full tumour growth and a tendency to uniformity of the cellular picture. It seems interesting that giant-cellular solid tumours, sometimes reckoned among sarcomas, may undergo transformation through the small-cellular phase into typical polymorphous oligodendrogliomas (after Zülch).

PIŚMIENICTWO

1. Alwasiak J.: Zmiany mikroskopowe we wznowach i pozostałościach pooperacyjnych glejaków nadnamiotowych. *Neuropat. Pol.* 1970, 8, 37—78.
2. Głuszczyk A.: Badania histologiczne i histochemiczne glejaków ze szczególnym uwzględnieniem ich zrębu naczyniowego. *Łódzkie Tow. Naukowe, Wydz. IV, Łódź* 1963, 47, 1—72.
3. Głuszczyk A.: Zasady tzw. krzyżowego podziału glejaków. *Acta Med. Lodziensis* 1969, 11, 7—16.
4. Głuszczyk A.: Dysplastic features in glial tumors. VIth Congress of Neuropathology, *Proceed. Ed. Masson et Cie. Paris* 1970, pp. 512—529.
5. Głuszczyk A.: The grouping system of supratentorial gliomas according to their dominant biomorphological features. *Acta Neuropath. (Berl.)* 1972, 22, 110—126.
6. Greene H. S. N.: Heterologous transplantation of mammalian tumors. *J. Exp. Med.* 1941, 73, 461—486.
7. Greene H. S. N.: Heterologous transplantation of human melanomas. *Yale J. Biol. Med.* 1950, 22, 611—620.
8. Manuelidis E. B.: The fate of serial heterologously transplanted glioblastoma multiforme in the eye of the guinea pig. *Am. J. Path.* 1966, 48, 65—89.

Adres autorów: Pracownia Neuropatologii Katedry Anatomii Patologicznej, Łódź, ul. Narutowicza 96.

PODPISY POD RYCINY
LEGENDS FOR FIGURES

Ryc. 1. Typowy obraz glejaka anaplastycznego, utkanego głównie z komórek wrzecionowatych typu spongioblastów. Charakterystyczne ognisko martwicy palisadowej. Przyp. 1193 Nch, guz macierzysty. H—E. Pow. 160 ×.

Fig. 1. Typical picture of anaplastic glioma, with a texture formed mostly of spindle-like cells of spongioblast type. Characteristic focus of palisad necrosis. Case 1193 Nch, maternal tumour. H—E. × 160.

Ryc. 2. Obraz guza z trzeciego kolejnego przeszczepu. W górnym prawym rogu widoczne wrastanie pasm tkanki łącznej w mięsz nowotworu oraz fragment zgrubiałej rogówki oka świnki morskiej. H—E. Pow. 160 ×.

Fig. 2. Picture of a tumour from the third subsequent transplant. In the upper right edge visible growth of connective tissue into the neoplastic parenchyma and a fragment of thickened cornea of guinea pig eye. H—E. × 160.

Ryc. 3. Obraz guza z czwartego kolejnego przeszczepu do mózgu świnki morskiej. Widoczne bujanie naczyń krwionośnych na obwodzie rozrostu nowotworowego. H—E. Pow. 160 ×.

Fig. 3. Picture of a tumour from the fourth subsequent transplant into the guinea pig brain. On the periphery of tumour growth proliferation of blood vessels is visible. H—E. × 160.

Ryc. 4. Fragment guza z dwunastego kolejnego przeszczepu z wyraźnie zaznaczonymi cechami anaplazji, pod postacią powiększonych, hyperchromatycznych jąder komórkowych. H—E. Pow. 400 ×.

Fig. 4. Tumour fragment from the twelfth subsequent transplant with marked features of anaplasia in the form of enlarged hyperchromatic cell nuclei. H—E. × 400.

Ryc. 5 i 6. Hodowle tkankowe z trzeciego (ryc. 5) i dwunastego (ryc. 6) przeszczepu nowotworu do oka świnki morskiej. Wydłużone komórki o typie jedno- i dwubiegunowych spongioblastów, miejscami widoczne tworzenie się komórek wielobiegunowych. H—E. Pow. 160 ×; Pow. 400 ×.

Fig. 5 and 6. Tissue cultures from the third (Fig. 5) and twelfth (Fig. 6) subsequent transplant of neoplasm into the guinea pig eye. Elongated cells of the mono- and bipolar spongioblast type, here and there visible formation of multipolar cells. H—E. × 160; and × 400.

Ryc. 7 i 8. Polimorficzny typ glejaka anaplastycznego. W utkaniu o splotowej architektonice widoczne rozrzucone pojedynczo lub w drobnych skupieniach komórki olbrzymie o hyperchromatycznych jądrach. Przyp. 1979 Nch, guz macierzysty. Ryc. 7 — H—E. Pow. 75 ×; Ryc. 8. — Cajal. Pow. 160 ×.

Fig. 7 and 8. Polymorphous type of anaplastic glioma. In a texture of tangle-like architectonics giant cells with hyperchromatic nuclei are visible scattered individually or in small agglomerations. Case 1979 Nch, maternal tumour. Fig. 7. — H—E. × 75; Fig. 8. — Cajal. × 160.

Ryc. 9. Typowy fragment z pierwszego przeszczepu tego samego guza. Wyraźna atypia komórek. H—E. Pow. 160 ×.

Fig. 9. Typical fragment of the first transplant of the same tumour. Marked atypia of the cells. H—E. × 160.

Ryc. 10. Hodowla tkankowa z pierwszego przeszczepu tego samego guza. Przewaga komórek wrzecionowatych, widoczne liczne komórki mikrogleju. H—E. Pow. 160 ×.

Fig. 10. Tissue culture from the first transplant of the same tumour. Predominance of spindle like cells, numerous microglial cells. H—E. × 160.

Ryc. 11. Fragment utkania przeważającego w guzie z trzeciego pasażu tego samego guza, o obrazie drobnokomórkowego glejaka izomorficznego. H—E. Pow. 400 ×.

Fig. 11. Fragment of predominating texture in a tumour from the third passage of the same tumour. Picture of small-cellular isomorphous glioma. H—E. × 400.

Ryc. 12. Fragment hodowli tkankowej z guza przedstawionego na ryc. 11. Przewaga komórek spongioblastycznych z dużą domieszką komórek mikrogleju. H—E. Pow. 75 ×.

Fig. 12. Fragment of tissue culture from the tumour of Fig. 11. Predominance of spongioblastic cells with a significant admixture of microglial cells. H—E. × 75.

Ryc. 13. Typowy obraz glejaka dysplastycznego. Utkanie guza składa się przede wszystkim z komórek o obfitej zarodki i pojedynczych, rzadziej mnogich jądrach bez wyraźnej hyperchromazji. Guz macierzysty, przyp. 1664 Nch. H—E. Pow. 160 ×.

Fig. 13. Typical picture of dysplastic glioma. Tumour texture mainly consisting of cytoplasm — rich cells with single, rarely multiple nuclei without marked hyperchromasia. Maternal tumour, case 1664 Nch. H—E. × 160.

Ryc. 14 i 15. Fragment utkania przeważającego w pierwszym przeszczepie tego samego guza. Jednolity typ komórek drobnych, o silnie zarysowanych, owalnych lub różnokształtnych jądrach. H—E. Pow. 160 ×; 400 ×.

Fig. 14 and 15. Fragment of texture predominating in the first transplant of the same tumour. Uniform type of small cells with strongly outlined oval or diversiform nuclei. H—E. × 160; × 400.

Ryc. 16. Hodowle tkankowe z pierwszego przeszczepu guza. Z drobnokomórkowego utkania w wewnętrznej strefie wzrostu wyłaniają się olbrzymie komórki o obfitej zarodki. H—E. Pow. 400 ×.

Fig. 16. Tissue culture from the first tumour transplant. Giant cells with abundant cytoplasm appear in the internal growth zone within small-cellular texture. H—E. × 400.

Ryc. 17. Obraz tego samego guza z czwartego pasażu. Z drobnokomórkowego utkania wyłaniają się komórki olbrzymie o wianuszkowato ułożonych jądrach na obwodzie. Obraz guza odpowiada polimorficznemu skąpodrzewiakowi Zülcha. H—E. Pow. 160 ×.

Fig. 17. Picture of the same tumour from the fourth passage. Giant cells with nuclei of wreath-like arrangement on the circumference. The tumour picture corresponds to polymorphous oligodendroglioma (after Zülch). H—E. × 160.

Ryc. 18. Hodowla tkankowa z czwartego pasażu guza. Prawie jednolity typ komórek kształtu trójkątnego, przekształcających się w duże komórki płatkowate. H—E. Pow. 400 ×.

Fig. 18. Tissue culture from the fourth passage of the tumour. Almost uniform type of cells of triangular shape, transforming into large layered cells. H—E. × 400.

EUGENIUSZ SOSIŃSKI

ZMIANY W TKANCIE NERWOWEJ W OTOCZENIU PIERWOTNYCH I WTÓRNYCH NOWOTWORÓW MÓZGU

Zakład Anatomii Patologicznej Instytutu Biostruktury AM w Poznaniu
Dyrektor Instytutu i Kierownik Zakładu: prof. dr P. Gabryel

Budowa podłoża, w którym rozrasta się nowotwór w znacznej mierze warunkuje sposób jego szerzenia się i modyfikuje okres występowania i nasilenia przerzutów. Zagadnienia te uwzględnia się w pracach doświadczalnych w onkologii ogólnej. W badaniach dotyczących nowotworów mózgu neuropatolodzy poświęcają znacznie więcej uwagi strukturze samego guza, jego histogenezie i wykładnikom dojrzałości, aniżeli wzajemnym stosunkom guz — tkanka otaczająca. W dostępnym piśmiennictwie zagadnienie to omawiane jest wycinkowo. Reakcja tkanki nerwowej w otoczeniu guza u człowieka badana była najczęściej na materiale pośmiertnym. Prowadzono również badania doświadczalne na zwierzętach (Aleu i wsp. 1964, Herzog i wsp. 1965, Hirano i wsp. 1965, Krigman i wsp. 1965), wykazując znaczne podobieństwo. Do stałych zjawisk stwierdzanych w obrzeżu nowotworu należy rozplem astrogleju (Freeman 1925, Spatz 1929, Greenfield 1939, Scheinker 1941, Perret i wsp. 1943, Bromowicz Kinderman 1965, Mossakowski 1965) obserwowany również w obszarach odległych od guza, względnie w całej półkuli mózgu (Freeman 1925). W bezpośrednim otoczeniu guza obserwowano fragmentację wypustek glejowych oraz postaci tzw. gleju amebowatego Alzheimera (Spatz 1929, Greenfield 1939, Scheinker 1941, Perret i wsp. 1943).

Zmiany postępowe i wsteczne stwierdzano również w komórkach oligodendrogleju. Wyrażały się one zwiększeniem ilości oligodendrocytów w otoczeniu naczyń, komórek nerwowych i ich wypustek w szerokim obrzeżu guza; obserwowano także podziały pośrednie i bezpośrednie (Perret i wsp. 1943). Nadmierny rozplem oligodendrocytów sprawiał niekiedy wrażenie rozrostu nowotworowego. Scherer (1940), Perret i wsp. (1943), Mossakowski (1965) podkreślają trudności w interpretacji tego zja-

wiska. Bromowicz i wsp. (1965) nie przypisują tym komórkom charakteru nowotworowego. Znacznie częściej oligodendroglej ulega zmianom wstecznym: cytoplazma komórek obrzmiewa, gromadzą się w niej substancje śluzowe, jądra obkurczają się, a błona komórkowa pęka (Perret i wsp. 1943).

Stosunkowo mało uwagi zwracano na odczynowość mikrogleju. Greenfield (1939) oraz Perret i wsp. (1943) spostrzegali niekiedy rozplem tych komórek.

Wielu autorów zwracało uwagę na występowanie zmian wstecznych w komórkach nerwowych (Freeman 1925, Spatz 1929, Greenfield 1939, Perret i wsp. 1943, Iwanowski 1958, Mossakowski 1965). Opisywano ostry obrzęk neuronów, schorzenie przewlekłe, ciężkie, ischemiczne i homogenizacyjne. Zmiany tego typu towarzyszyły najczęściej zaburzeniom w krążeniu i wybiórczo dotyczyły II i IV warstwy kory (na skutek ucisku) oraz warstwy III i V (przy obrzęku). Podobne mechanizmy mogą powodować powstanie uszkodzeń w miejscach odległych od guza. Różne postaci schorzeń neuronalnych stwierdzano przede wszystkim wokół guzów szybko rosnących (gąbczaków wielopostaciowych, przerzutów, niekiedy gwiaździaków i oponiaków). Zmiany w wypustkach komórek nerwowych wiązano również z zaburzeniami w krążeniu oraz z obrzękiem. Obserwowano rozlane spłowienie mieliny, rozpad osłonek bez obecności produktów sudanofilnych oraz uszkodzenie wypustek komórek nerwowych w obrzeżu całego guza.

Wielu autorów zajmowało się reakcją elementów mezenchymalnych w otoczeniu guza (Freeman 1925, Gough 1940, Hardman 1940, Scherer 1940, Storrington i wsp. 1954, Feigin i wsp. 1958, Iwanowski 1961, Głuszczyk 1963, Bromowicz i wsp. 1965, Mossakowski 1965, Enestrom 1966). Podkreślano żywy rozplem naczyń włosowatych, w mniejszym stopniu drobnych tętniczek i żył, w otoczeniu nowotworów szybko rosnących, mało zróżnicowanych (gąbczaków wielopostaciowych, mięsaków i przerzutów). Rozplem naczyń krwionośnych pod postacią wału naczyniowego ograniczał się do wąskiego pasa otaczającego guz. Prócz ilościowego namnożenia kanałów naczyniowych, opisano struktury przypominające kłębki naczyniowe. Powstają one przez rozplem komórek śródbłonna i przydanki (obserwowano tu figury podziału), względnie jako następstwo organizacji i rekanalizacji wewnątrznaczyniowej skrzepliny. W obrębie ograniczonego wału naczyniowego wykazano obecność włókien kolagenowych i srebrochłonnych oraz nagromadzenie komórek limfocytopodobnych. W naczyniach opon mózgowych obserwowano obrzmiałe komórki śródbłonna, imitujące cewki gruczołowe.

Obrzęk mózgu w otoczeniu nowotworów badano zarówno na materiale doświadczalnym zwierzęcym, jak i ludzkim (Spatz 1929, Jaburek 1931,

Greenfield 1939, Scheinker 1941, Perret i wsp. 1943, Feigin i wsp. 1962, Herzog i wsp. 1965, Hirano i wsp. 1965, Krigman i wsp. 1965, Klatzo 1967). Badania miały na celu wyjaśnienie mechanizmu wzrostu ciśnienia śródczaszkowego, zależności między stanem naczyń krwionośnych i rozległością obrzęku oraz wytłumaczenie sposobu szerzenia się obrzęku w istocie białej i szarej.

Badania nad reakcją tkanek otaczających na obecność nowotworu mają znaczenie nie tylko teoretyczne. Dają one neurochirurgowi wykonującemu zabieg operacyjny pewne praktyczne wskazówki co do rozległości zabiegu i rokowania. Taki charakter mają prace Scherera (1940), Matsukado i wsp. (1961), Kunickiego i wsp. (1965) oraz Bromowicza i Kinderman (1966). Kunicki i wsp. (1965) wprowadzili w odniesieniu do obrzeża glejaków mózgu pojęcie tzw. linii frontu inwazyjnego, strefy niepewnej i strefy wolnej od naciekania nowotworowego.

Podjęte badania miały na celu: 1) określenie rodzaju zmian w mózgu w obrzeżu nowotworu oraz w obszarach od niego odległych, 2) ustalenie jakie zmiany zależne są bezpośrednio od wzrastającego nowotworu, a jakie mają charakter wtórnych uszkodzeń tkanki.

MATERIAŁ I METODY

Przedmiotem badań były 103 mózgi (zmarłych nie operowanych) z pierwotnymi lub wtórnymi guzami nowotworowymi, sekcjonowane w latach 1959—1968 w Zakładzie Anatomii Patologicznej AM w Poznaniu. Sekcje ogólne zwłok wykonano w 6—36 godzin po zgonie. Mózgi utrwalano w całości w 10% obojętnym roztworze formaliny przez okres 3—4 tygodni i następnie sekcjonowano wykonując przekroje w płaszczyźnie czołowej, w odstępach 2 cm. Wycinki do badania histologicznego pobierano obustronnie, z płatów czołowych, ciemieniowych, potylicznych, skroniowych, rogu Amona, jąder podstawy, śródmózgowia, opuszki, mózdzku, szerokiego obrzeża guza i samego guza. Materiał zatapiano w parafinie, skrawki barwiono hematoksyliną-eozyną oraz metodą Nissla, ponadto w wybranych przypadkach stosowano barwienie sposobem Spielmeyera, Cajala, Holzera, Gomoriego, van Gieson, Massona (trój- i czterobarwną), kwasem nadjodowym i odczynnikiem Schiffa (PAS) oraz na błony podstawowe metodą Kimmelstiel-Wilsona.

WYNIKI

Guzy pierwotne mózgu — 88 przypadków, sklasyfikowano wg podziału Zülcha (1962) i zestawiono w tabeli 1, nowotwory przerzutowe — 15 przypadków zestawiono w tabeli 2. Umiejscowienie guzów oraz ich stosunek do tkanki otaczającej uwidaczniają tabele 3 i 4.

Tabela 1. Nowotwory pierwotne mózgu

Table 1. Primary tumours of the brain

| Rodzaj nowotworu Type of tumour | Liczba przypadków Number of cases | Wiek pacjentów Age of patients | Płeć | |
|------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|--------|--------|
| | | | m m | ż f |
| Astrocytoma fibrillare | 12 | 17—60 | 8 | 4 |
| Astrocytoma gemistocyticum | 4 | 32—59 | — | 4 |
| Astrocytoma malignum | 6 | 20—58 | 4 | 2 |
| Spongioblastoma polare | 7 | 1—47 | 4 | 3 |
| Glioblastoma multiforme | 40 | 39—68 | 26 | 14 |
| Medulloblastoma | 3 | 3—13 | 2 | 1 |
| Ependymoma | 6 | 9—36 | 3 | 3 |
| Pinealoma | 2 | 8—25 | 1 | 1 |
| Angiosarcoma | 8 | 15—58 | 4 | 4 |
| Razem Total | 88 | | 52 | 36 |

Tabela 2. Nowotwory przerzutowe

Table 2. Metastatic tumours

| Rodzaj nowotworu Type of tumour | Ognisko pierwotne Primary focus | Liczba przypadków Number of cases | Wiek pacjentów Age of patients | Płeć | |
|------------------------------------|---|--------------------------------------|-----------------------------------|--------|--------|
| | | | | m m | ż f |
| Carcinoma anaplasticum | oskrzele bronchus | 7 | 38—62 | 6 | 1 |
| Carcinoma planoepitheliale | oskrzele bronchus | 2 | 50 i 65 | 2 | — |
| Carcinoma planoepitheliale | nie znane unknown pęcherzyk żółciowy | 1 | 55 | 1 | — |
| Adenocarcinoma | gall blad. | 2 | 50 i 58 | 1 | 1 |
| Adenocarcinoma | trzustka pancreas | 1 | 53 | 1 | — |
| Carcinoma claro-cellulare | nerka kidney | 1 | 57 | 1 | — |
| Melanoma | nie znane unknown | 1 | 58 | 1 | — |
| Razem Total | | 15 | | 13 | 2 |

Tabela 3. Umiejscowienie guzów

Table 3. Localization of tumours

| Półkule mózgu Brain hemispheres | Pień mózgu Brain stem | Mózdzek Cerebellum | Wielogniskowe Multifocal | |
|------------------------------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|------------|
| | | | Primary | Metastatic |
| 68 | 11 | 6 | 10 | 10 |

Tabela 4. Naciekanie nowotworowe

Table 4. Infiltration of tumour

| Kora mózgu Cerebral cortex | Opony Meninges | J. podstawy Basal ganglia | Wyściółka Ependyma | Spoidło wielkie i dru- ga półkula Corpus callosum a. opposite hemisphere |
|-------------------------------|-------------------|------------------------------|-----------------------|---|
| 37 | 12 | 30 | 27 | 12 |

W obrazie makroskopowym obserwowano wgłobienie migdałków mózdzku do otworu potylicznego wielkiego, jedno- lub obustronne wgłobienie zakrętu hipokampa pod namiot mózdzku, splaszczenie zakrętów mózgu. Powierzchnia przekrojów była najczęściej słabo ukrwiona; istota biała była wilgotna, o zmniejszonej spoistości, zwłaszcza w półkuli po stronie guza. W pniu mózgu spostrzegano wybroczyny i ogniska krwotoczne.

W obrazie mikroskopowym oceniano obrzeże guza i zmiany w obszarach odległych od nowotworu. W obrzeżu guza uwzględniono trzy strefy wg zmodyfikowanego podziału Kunickiego i wsp. (1965). W każdej ze stref rozpatrzono: sposób naciekania nowotworu, zmiany naczyniowe i objawy zaburzeń w krążeniu, odczyny glejowe i zmiany w komórkach nerwowych.

Wyraźny wpływ na sposób szerzenia się nowotworu miała budowa podłoża. Przykładem tej zależności jest glejak złośliwy, rozrastający się w istocie białej. W tym przypadku uwidocznił się hamujący wpływ włókien „U”, w stosunku do linii inwazyjnej nowotworu. Komórki nowotworowe wydłużały się i układały równolegle do warstwy łukowatej. Kora mózgu przylegająca do linii frontu inwazyjnego była wolna od komórek nowotworowych. Przerwanie warstwy włókien „U” następowało ogniskowo, a z miejsca jej uszkodzenia komórki nowotworowe „wkraplały” się do dolnych warstw kory. Drogą naciekania była przestrzeń przynaczyniowa (ryc. 1). Komórki nowotworowe gromadziły się również wokół komórek nerwowych, w formie tzw. satelitozy. Przypominały one oligodendrocyty, ze względu jednak na atypię, uznano je za komórki nowotworowe (ryc. 2). Nawet przy nacieczeniu przez komórki nowotworowe

całego pasma kory poszczególne jej warstwy bywały zaoszczędzone (ryc. 3). W omawianym przypadku wolna była warstwa II, III i IV a w warstwie drobinowej komórki nowotworowe gromadziły się wokół drobnych naczyń (tętniczki korowe krótkie) zajmując je na całej szerokości lub rozlewały się w postaci płaszczyznowego nacieku pod oponą miękką. Podobny typ nacieku stwierdzono w 16 przypadkach; w 2 gwiaździażkach, w 3 mięsach naczyńpochodnych, w przerzucie raka oskrzela i w 7 glejakach złośliwych. Pewne podobieństwo w sposobie naciekania obserwowano w 3 przypadkach gąbczaka biegunowego. Linia frontu inwazyjnego, w omawianych przypadkach, zatrzymała się na poziomie warstwy ziarnistej i komórek Purkiniego. Po odcinkowym nacieczeniu tych warstw, komórki nowotworowe rozprzestrzeniały się w brzeżnym odcinku warstwy drobinowej (ryc. 4).

Opisanym zmianom można przeciwstawić sposób naciekania, w którym rozgraniczenie poszczególnych stref obrzeża było nieostre, szerokie. Najbardziej charakterystycznym przykładem były tu 3 gwiaździażki i 2 gąbczaki wielopostaciowe, w których szerokość strefy niepewnej, z rozsiągniętymi w niej komórkami nowotworowymi dochodziła do 3 cm (ryc. 5).

Jedną z form szerzenia się nowotworu, uwarunkowaną budową podłoża było rozprzestrzenianie się komórek nowotworowych wzdłuż wypustek komórek nerwowych. I w tych przypadkach przejście pomiędzy poszczególnymi strefami było nieostre, a szerokość strefy niepewnej dochodziła do 0,5 cm (ryc. 6). Inny rodzaj obrzeża kształtował się przy zetknięciu nowotworu ze strukturami okołokomorowymi. Obserwowano szereg wariantów występujących często równocześnie w obrębie tego samego guza:

— linia frontu inwazyjnego zatrzymywała się ostro na granicy gleju podwyściółkowego (ryc. 7),

— linia frontu inwazyjnego naciekała warstwę włóknistą gleju podwyściółkowego. Komórki nowotworowe rozrastały się podminowując komórki wyściółki, nie uszkadzając jednak jej ciągłości (ryc. 8),

— przerwanie warstwy gleju podwyściółkowego następowało ogniskowo. Komórki nowotworowe rozprzestrzeniały się po powierzchni wyściółki komory (ryc. 9),

— w przypadkach guzów rozrastających się w świetle komory napytkano wszczepianie się komórek nowotworowych w ścianę komory (2 przypadki rdzeniaka) i po ogniskowym zniszczeniu wyściółki, rozprzestrzenianie się nacieku w warstwie podwyściółkowej (ryc. 10, 11).

Nowotwory przerzutowe zachowywały się w stosunku do otaczających tkanek dość podobnie, niezależnie od rodzaju przerzutu. Najczęściej cechowała je wyraźna linia frontu inwazyjnego i wąska strefa niepewna, nieprzekraczająca 1 mm (tabela 5).

Tabela 5. Szerzenie się nowotworu

Table 5. Spread of tumour

| Obrzeże Border-zone | Astrocytoma fibrillare | Astrocytoma gemistocyticum | Astrocytoma malignum | Spongioblastoma polare | Glioblastoma multiforme | Medulloblastoma | Ependymoma | Pinealoma | Angiosarcoma | Metastases |
|--|---------------------------|-------------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------|------------|-----------|--------------|------------|
| Ostro odgraniczo- ne Sharply defined | 2 | 1 | — | — | 15 | 3 | 4 | 2 | 4 | 14 |
| Nieostro odgrani- czone Not sharply de- fined | 10 | 3 | 6 | 7 | 25 | 1 | 2 | 1 | 4 | 1 |

Zmiany naczyniowe i zaburzenia w krążeniu wykazywały wyraźną zależność od rodzaju guza. Bardzo żywe odczyny spostrzegano w obrzeżu glejaków złośliwych, gąbczaków wielopostaciowych, mięsaków oraz przerzutów (tabela 6). Najczęściej obserwowano poszerzenie i przepelnienie krwią naczyń włosowatych i żylnych. Obrzmiałe komórki śródbłonka, wpuklając się do światła naczyń często przypominały cewy gruczołowe. Rozplem śródbłonek (widoczne mitozy) prowadził do wydłużenia naczyń i formowania się pętli naczyniowych (ryc. 12). Często, głównie w obrzeżu glejaków złośliwych (*glioblastoma multiforme*, *astrocytoma malignum*) występowały struktury przypominające kłębki naczyniowe w nerkach (ryc. 13, 14). Tworzyły one niejednokrotnie wał otaczający nowotwór. Większe nasilenie odczynów naczyniowych towarzyszyło zwykle mniej ostremu odgraniczeniu obrzeża guza i rozległej martwicy nowotworu. Wały naczyniowe obserwowano głównie w I i II strefie, rzadko w III, najczęściej w istocie białej oraz w okolicy podwysięciolkowej komór. W formacjach szarych natomiast stwierdzono proliferujące w postaci pętli naczynia włosowate (ryc. 15). Występowały one głównie w nowotworach powoli rosnących, w których wyjątkowo spotykano kłębki naczyniowe. Te ostatnie spostrzegano w 5 gwiazdziakach wyrodnających śluzowo. Zakrzepicę naczyń stwierdzano sporadycznie, najczęściej w glejakach złośliwych, wyjątkowo w otoczeniu innych nowotworów (tab. 6).

Odczyny naczyniowe w obszarach odległych od guza były skąpe, nieco bardziej nasilone w półkuli po stronie guza. W obszarach tych obserwowano obrzmienie śródbłonek naczyń, poszerzenie i przepelnienie krwią włosniczek. Przy użyciu kwasu nadjodowego i odczynnika Schiffa wy-

kazywano niekiedy pogrubienie ścian drobnych tętniczek i w ich obrębie zwiększoną ilość substancji PAS — dodatnich. Stare i świeże wybroczyny okołonaczyniowe obserwowano głównie w pniu. Jednakże nie można było ustalić zależności pomiędzy nasileniem tych zmian a typem nowotworu.

Tabela 6. Zmiany naczyniowe
Table 6. Vascular changes

| Rodzaj zmian Type of changes | Astrocytoma fibrillare | Astrocytoma gemistocyticum | Astrocytoma malignum | Spongioblastoma polare | Glioblastoma multiforme | Medulloblastoma | Ependymoma | Pinealoma | Angiosarcoma | Metastases |
|--|---------------------------|-------------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------|------------|-----------|--------------|------------|
| Obrzmienie śródbłoneków Endothelial swelling | 11 | 3 | 6 | 2 | 38 | — | 4 | 1 | 2 | 14 |
| Rozplem naczyń Proliferation of blood vessels | 11 | 3 | 5 | 2 | 38 | — | 4 | 1 | 2 | 14 |
| Pętle naczyniowe Vascular loops | 6 | 1 | — | — | 17 | — | — | — | — | — |
| Kłębki naczyniowe Vascular glomeruli | 3 | 2 | 3 | 1 | 14 | — | — | 1 | — | 9 |
| Zakrzepica naczyń Vascular thrombosis | — | — | 1 | — | 3 | — | — | — | 1 | 1 |
| Nacieki limfocyt. Lymphocyte infiltration. | 1 | 2 | — | 3 | 13 | — | — | — | 1 | 8 |

Obrzęk o różnym nasileniu towarzyszył wszystkim guzom (tabela 7). Najbardziej nasilony obrzęk obserwowano w przypadkach glejaków złośliwych i przerzutów na granicy krawędzi naciekania nowotworowego lub strefy niepewnej, znacznie rzadziej w strefie obrzeża guza wolnej od nacieczenia nowotworowego. Zmiany obrzękowe występowały przede wszystkim w istocie białej (ryc. 16), wyjątkowo w formacjach szarych (ryc. 17, 18). Wśród płynu obrzękowego spotykano komórki atypowe (ryc. 20), a w otoczeniu naczyń nagromadzenie komórek limfocytopodobnych oraz komórek żernych (lipofagi i hemosyderocyty) — (ryc. 21). W odległej od guza istocie białej, głównie w nie zajętej przez proces nowotworowy półkuli oraz w pniu mózgu zmiany obrzękowe były znacznie mniej nasilone.

Tabela 7. Zmiany obrzękowe

Table 7. Edematous changes

| Rodzaj zmian Type of changes | Astrocytoma fibrillare | Astrocytoma gemistocyticum | Astrocytoma malignum | Spongioblastoma polare | Glioblastoma multiforme | Medulloblastoma | Ependymoma | Pinealoma | Angiosarcoma | Metastases |
|--|---------------------------|-------------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------|------------|-----------|--------------|------------|
| Obrzmienie astro- i oligodendrocy- tów Swelling of astro- and oligodendro- glia | 9 | — | 6 | 7 | 39 | — | — | 1 | 7 | 9 |
| Spowienie mieliny Myelin pallor | 4 | 1 | 3 | 1 | 16 | — | — | — | 3 | 3 |
| Zgąbczenie tkanki Sponginess | 3 | 1 | 4 | — | 24 | — | — | — | 3 | 3 |
| Wolny płyn „je- ziorka” Extravasacular fluid | 1 | 1 | 1 | 1 | 15 | — | — | — | 1 | 3 |

Tabela 8. Odezyny glejowe

Table 8. Glial reaction

| Rodzaj zmian Type of changes | Astrocytoma fibrillare | Astrocytoma gemistocyticum | Astrocytoma malignum | Spongioblastoma polare | Glioblastoma multiforme | Medulloblastoma | Ependymoma | Pinealoma | Angiosarcoma | Metastases |
|---|---------------------------|-------------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------|------------|-----------|--------------|------------|
| Glioza odezynowa Reactive gliosis | 4 | 4 | 6 | 1 | 23 | 1 | 2 | 1 | 5 | 5 |
| Rozplem oligoden- drogleju Oligodendroglia proliferation | 8 | 3 | — | 1 | 4 | 1 | — | 1 | 3 | 5 |
| Rozplem mikro- gleju Microglia proli- feration | 10 | 3 | 6 | 3 | 38 | — | — | 2 | 5 | 5 |

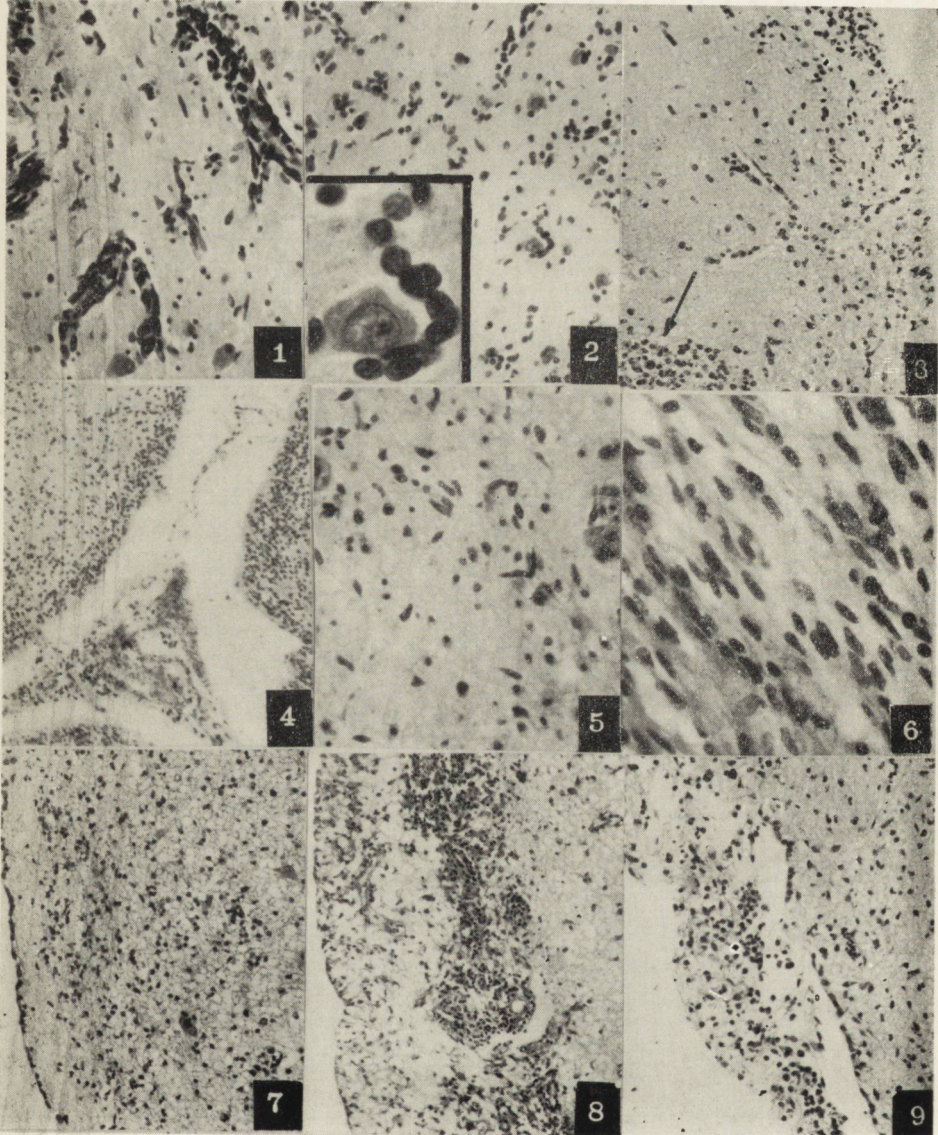
Tabela 9. Zmiany w komórkach nerwowych

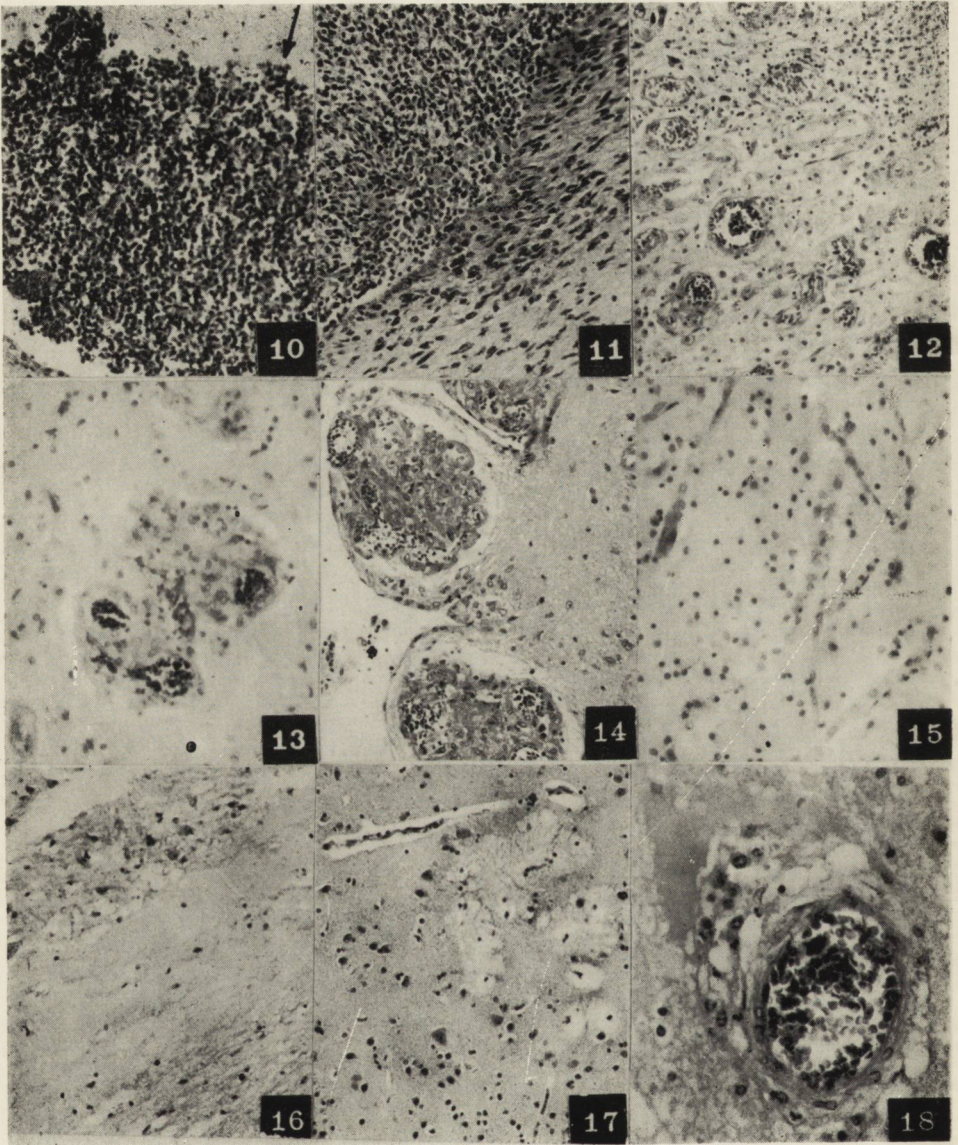
Table 9. Neuronal changes

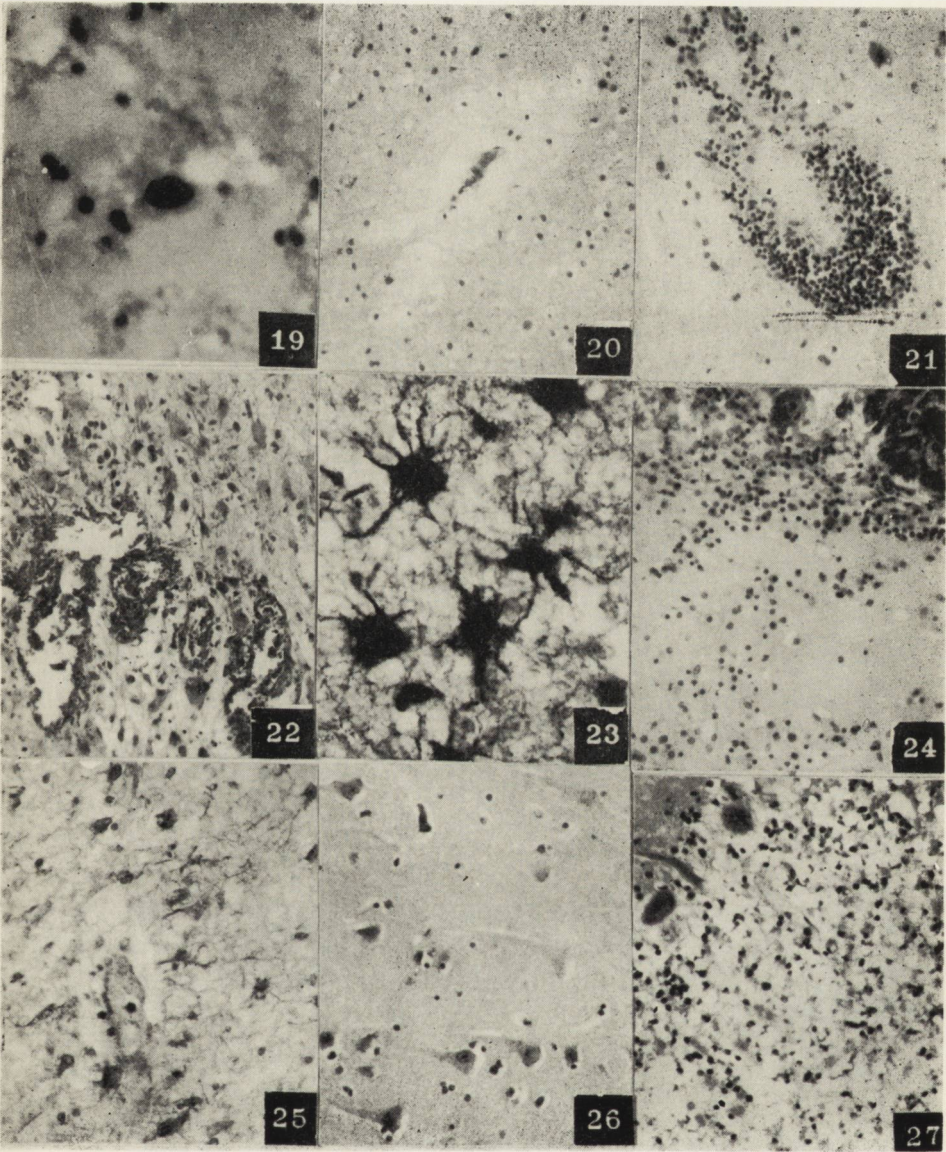
| Rodzaj zmian Type of changes | Astrocytoma fibrillare | Astrocytoma gemistocyticum | Astrocytoma malignum | Spongioblastoma polare | Glioblastoma multiforme | Medulloblastoma | Ependymoma | Pinealoma | Angiosarcoma | Metastases |
|--|---------------------------|-------------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------|------------|-----------|--------------|------------|
| Opustoszenia w korze mózgu Selective necrosis in cerebral cortex | 12 | 4 | 6 | 7 | 38 | — | 6 | 2 | 4 | 15 |
| Zwyrodnienie neuronów w korze mózgu Nerve cells degeneration in cerebral cortex | 12 | 4 | 6 | 7 | 39 | — | 8 | 2 | 4 | 15 |
| Ubytki i zwyrodnienie k. Purkinjego Loss and degeneration of Purkinje cells | 5 | 4 | 5 | 7 | 29 | 3 | 6 | 2 | 8 | 14 |
| Przerzedzenie warstwy ziarnistej w k. mózdzku Rarefaction of cerebellar granular layer. | 5 | 4 | 5 | 7 | 23 | 3 | 6 | 2 | 7 | 13 |

Odczyny glejowe wykazywały wyraźną zależność od typu nowotworu (tab. 8). W obrzeżu gąbczaków wielopostaciowych, glejaków złośliwych, mięsaków, gwiazdziaków obserwowano przerosłe, pobudzone astrocyty (ryc. 22, 23), rzadziej gemistocyty, zazwyczaj w strefie niepewnej oraz w strefie III. W przerzutach pas glejowy odczynowej był wąski i ograniczał się do krawędzi nowotworu i strefy niepewnej.

Niekiedy towarzyszył mu rozplam oligodendrocytów. Mikroglej, pod postacią pałeczek i komórek żernych, pojawiał się również w strefie III. W obszarach odległych od guza występował rozplam astrogleju, obserwowany w warstwie drobinowej kory i w warstwie podwysciółkowej. Barwienie wg Holzera wykazało również glejową włóknistą (ryc. 25) w tych strukturach. Zagęszczenie oligodendrogleju obserwowano wzdłuż







włókien zmielinizowanych, w otoczeniu naczyń krwionośnych oraz w postaci wzmoczonej satelitozy w V i VI warstwie kory. Rozplem mikrogleju pałeczkowatego wahał się od słabo do wyraźnie zaznaczonego.

Zmiany w komórkach nerwowych obrzeża były jednakowe, niezależnie od rodzaju guza (tabela 9). Obserwowano pola opustoszeń komórkowych, zatarcie budowy warstwowej kory, zmiany w komórkach nerwowych w postaci obrzęku, schorzenia przewlekłego, ciężkiego i ischemicznego oraz cienie neurocytów (ghost cell — ryc. 26).

W obszarach odległych od guza komórki nerwowe kory mózgu, struktur podkorowych i pnia ulegały zmianom podobnym do wyżej opisanych, o różnym stopniu nasilenia, niezależnie od typu nowotworu. W mózdzku spostrzegano ubytki i uszkodzenia komórek Purkinjego oraz przerzedzenie warstwy ziarnistej z ujawnianiem się w jej obrębie kwasochłonnych ziarnistości (ryc. 27).

OMÓWIENIE

Prześledzenie przesuwania się linii frontu inwazyjnego potwierdziło obserwacje poprzednich badaczy dotyczące wykorzystywania naturalnych struktur anatomicznych mózgu przez naciekający nowotwór, tzw. struktur wtórnych Scherera (1940) czyli wzrost nowotworu okołonacyniowy, wokół komórek nerwowych, około- i międzypęczkowy (Matsukado i wsp. 1961, Kunicki i wsp. 1965, Mossakowski 1965, Bromowicz i wsp. 1966).

Zagęszczenie komórek nowotworowych w warstwie drobinowej kory w glejakach obserwowano już uprzednio (Scherer 1940, Kunicki i wsp. 1965), nie tłumaczono jednak patomechanizmu tego zjawiska. W badanym materiale zmiany tego typu stwierdzano zarówno w glejakach, jak i nowotworach przerzutowych. Sposób szerzenia się guza w tym obszarze można tłumaczyć budową cytoarchitektoniczną kory, częściowo również sposobem jej unaczynienia (Lazorthes 1961) z wykorzystaniem przez nowotwór tętnic korowych krótkich. Również sposób kształtowania się obrzeża nowotworu przykomorowo można tłumaczyć morfologicznymi właściwościami tych okolic (Iwanowski 1961). Poza wzmianką Matsukado (1961) nie znaleziono piśmiennictwa dotyczącego tego zagadnienia, mającego zresztą znaczenie raczej teoretyczne. Zmienność szerokości linii frontu inwazyjnego i pozostałych stref, obserwowana w różnych odcinkach tego samego guza, zależy nie tylko od jego budowy morfologicznej. Zasadniczym czynnikiem modelującym kierunek inwazji nowotworu jest wpływ, jaki na komórki guza wywiera podłoże.

Obserwacje dotyczące częstości i rozległości obrzęku w najbliższym otoczeniu nowotworu są zgodne z danymi z piśmiennictwa. Zależność obrzęku od typu nowotworu znajduje uzasadnienie w obrazach uzyskanych przy pomocy mikroskopu elektronowego i związków znakowanych izotopami radioaktywnymi (Hossman 1967, Klatzo 1967, Krigman i wsp. 1965, Torack 1961). Badania Hossmana (1967) wykazały odmienne właściwości morfologiczne włóściczków, w zależności od typu nowotworu, otaczającego naczynie. W glejakach izomorficznych komórki śródbłonka opierały się na błonie podstawnej, do której ściśle przylegały wypustki nowotworowych komórek glejowych, zamiast wypustek astrocytów, obecnych w warunkach prawidłowych. W obu przypadkach brak było przestrzeni okołonaczyniowej. W glejakach złośliwych proliferujące naczynia były utworzone również ze śródbłonka leżącego na błonie podstawnej, lecz zamiast wypustek glejowych błonę podstawną otaczała przestrzeń zawierająca różne komórki. Przestrzeń tę zamykał niepełny pierścień, oddzielonych od siebie szczelinami komórek glejaka złośliwego. Podobne zjawisko obserwowano w przerzutach z tym, że szczeliny w pierścieniu pomiędzy komórkami nowotworu przerzutowego były znacznie szersze. Obraz ten tłumaczy niedostateczną funkcję błony glejowej w glejakach złośliwych oraz brak jej w przerzutach. Wyjaśnia to zaburzenia tych czynności bariery krew-mózg, które są zależne od stanu śródbłonka naczyń oraz sprawnej funkcji otaczającego je gleju. Być może znaczna ilość proliferujących nieprawidłowych form naczyniowych wokół nowotworu nasila rozmiary obrzęku w obrzeżu guza. Trudno wypowiedzieć się na temat mechanizmów warunkujących rozplem naczyń. Odpowiedzialne za to zjawisko mogą być zmiany wsteczne w obrębie guza (martwica, ześluzowacenie), niedojrzałość biologiczna nowotworu, ewentualnie mechanizmy immunologiczne, na co mogłaby wskazywać obecność nacieków drobno-okrągło-komórkowych, limfocytopodobnych, podobnie jak w nowotworach innych narządów.

Zjawisko wykonywania *in vitro*, w płynnym środowisku, ruchów pulsacyjnych przez komórki nowotworowe glejaków można odnieść do warunków *in vivo*. W tym ujęciu w naszym materiale komórki nowotworowe obdarzone własnym ruchem mogłyby być przenoszone z płynem obrzękowym do okolic wyznaczonych zasięgiem obrzęku, z dala od krawędzi guza. Byłoby to jeszcze jednym z czynników warunkujących nawrót nowotworu, nawet przy doszczętnym usunięciu guza. Droga wzdłuż której przesuwają się komórki inwazyjne może być wyznaczona obszarem zajęтым przez obrzęk. W miejscu, w którym istnieje zapora dla obrzęku ulega również zahamowaniu wzrost nowotworu. Wykorzystuje on wtedy inne drogi, np. okołonaczyniowe czy okołoneuronalne.

Zmiany morfologiczne w obrzeżu guza wykazują pewną zależność od typu nowotworu natomiast zmiany w strukturach odległych mają charakter nieswoistych uszkodzeń tkanki. Spostrzegane np. dosyć często obrzmienie śródbłonnków naczyniowych można tłumaczyć zaburzeniami w krążeniu i niedotlenieniem tkanki mózgowej (Gabryel 1961, 1963).

Ocena stanu komórek nerwowych napotyka na duże trudności. Analiza materiału autopsyjnego wymaga uwzględnienia wpływu czynników działających w okresie agonialnym (anoksja) oraz pośmiertnych (Camerer 1943, Marcinkowski 1959, Cammermeyer 1966). Przy ocenie zmian komórkowych uwzględniano wybiórcze umiejscowienie uszkodzeń komórkowych, odczyn gleju około komórek nerwowych oraz nierównomierność uszkodzeń. W badanym materiale stwierdzono uszkodzenie neurocytów zarówno w obrzeżu guza jak i strukturach odległych. Uszkodzenia komórkowe są najprawdopodobniej wypadkową działania ostrego, względnie przewlekłego obrzęku i niedokrwienia tkanki nerwowej.

WNIOSKI

1. Sposób szerzenia się nowotworu do tkanek otaczających zależy w mniejszym stopniu od typu nowotworu, większy wpływ mają układy przestrzenne komórek, naczyń i elementów włóknistych najbliższego otoczenia nowotworu.

2. Zmiany w obrzeżu nowotworu mózgu mają charakter zmian wstecznych, rozplemowych oraz bywają skutkiem zaburzeń w krążeniu krwi. Swoistość ich można odnieść nie do poszczególnych rodzajów nowotworów, a raczej do grup nowotworów o podobnych cechach zróżnicowania, dojrzałości i szybkości wzrostu, a więc do grup nowotworów łagodnych i złośliwych.

3. Określenie zasięgu nowotworu jest możliwe jedynie w oparciu o badanie mikroskopowe obrzeża guza.

4. W strukturach odległych od guza obserwuje się uszkodzenie neurocytów, rozplem gleju komórkowego i zaburzenia naczyniowe. Zmiany te mają charakter nieswoistych uszkodzeń i uzależnione są od czasu trwania choroby, szybkości wzrostu nowotworu i jego umiejscowienia a nie od rodzaju nowotworu.

5. Mimo najczęściej jednoogniskowego wzrostu nowotworu w mózgu, uszkodzeniu ulega cały mózg; nieodwracalne zmiany występują, między innymi, w najbardziej wyspecjalizowanych elementach strukturalnych tkanki nerwowej, neurocytach.

Э. Сосиньски

ИЗМЕНЕНИЯ В НЕРВНОЙ ТКАНИ ВБЛИЗИ ПЕРВИЧНЫХ И ВТОРИЧНЫХ ОПУХОЛЕЙ МОЗГА

Резюме

Целью работы была оценка морфологических изменений по краям неоперированных опухолей мозга и в нервной ткани, отделенной от опухоли. Исследовались 103 мозга, умерших по поводу опухолей мозга: 88 случаев первичных опухолей (в том 72 глиомы) а также 15 метастазных опухолей. Опухоли классифицировались согласно проекту Цильха, представленном на Международном симпозиуме Противораковой комиссии в Кельн в 1971 г. Из фиксированных в формалине мозгов брались для микроскопического исследования срезы из опухоли, широкой каемки опухоли, репрезентативные срезы из обеих мозговых полушарий, ствола мозга и мозжечка.

В коемке опухоли, на основании классификации Куницкого, выделены 3 зоны: край опухолевой инфильтрации, промежуточный слой и район, не инфильтрированный опухолью. В каждой из зон, а также в отделенных от опухоли структурах оценивался характер инфильтрации опухоли, степень отека, сосудистые изменения, а также изменения в нервных и глиальных клетках. Были выделены две основные формы инфильтрации опухоли: острая и неострая и найдена зависимость инфильтрации опухоли от формы анатомических структур. Наблюдалось останавливание инфильтрации на границе U-волокон, а также характерное формирование коемки при инфильтрации коры мозга и мозжечка, а также эпендимы.

Обнаружено, что при одноочаговом росте опухоли повреждение морфологических элементов наступает как правило в целом мозгу и имеет неспецифический характер.

Обращается кроме того внимание на значение отека в патогенезе распространения опухоли и возможность переносения клеток опухоли отечной жидкостью к отдаленным районам.

E. Sosiński

CHANGES IN THE NERVOUS TISSUE IN THE SURROUNDING OF PRIMARY AND SECONDARY BRAIN TUMOURS

Summary

The aim of the work was the evaluation of morphological changes on the border of non-operated brain tumours and in the nervous tissue distant from the tumour. The 103 examined brains of patients who died for brain tumours included 88 cases of primary tumours (72 gliomas) and 15 cases of metastatic tumours. The tumours were classified according to the proposal of Zülch, which was presented at the International Symposium of the Anticancer Commission in Köln in 1971. The brains were fixed in formalin and the cuts for microscopic examination were taken from the tumour, broad tumour border, both cerebral hemispheres, brain stem and cerebellum.

Rasing on the Kunicki's classification, three zones were distinguished in tumour border; the edge of neoplastic infiltration, the intermediate layer and the

non-infiltrated area. In each of the zones and in the structures distant from the tumour, there were evaluated: the character of neoplastic infiltration, degree of edema, vascular changes and changes in the neuronal and glial cells. Two essential forms of tumour infiltration were distinguished: acute and non-acute, and the infiltration was found to depend upon the kind of anatomical structures. In addition there were observed a stop of infiltration on the border of the U — fibres and a characteristic formation of the border in the case of infiltration to the cerebral and cerebellar cortex and ependyma.

It was found that one-focal tumour growth is accompanied by damages to morphological elements, which as a rule appear in the whole brain and have an unspecific character.

Moreover, attention was paid to the significance of edema in the pathogenesis of tumour diffusion and to the possibility of transfer of tumour cells to distant regions by the edema fluid.

PISMIENNICTWO

1. Aleu F. P., Edelman F. L., Katzman R., Scheinberg L. C.: Ultrastructural and biochemical analysis in cerebral edema associated with experimental mouse gliomas. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1964, 23, 2, 253—265
2. Bromowicz J., Kinderman B.: Morfologia astrocytów odczynowych w impregnacji Cajala. *Biul. Wojsk. Akad. Med.* 1965, VIII, 3—4, 383—388
3. Bromowicz J., Kinderman B.: Wzrost glejaków z chirurgicznego punktu widzenia. *Biul. Wojsk. Akad. Med.* 1966, 9, 4, 315—318
4. Camerer J.: Untersuchungen über die postmortalen Veränderungen am Zentralnervensystem insbesondere an den Ganglienzellen. *Z. ges. Neurol. Psychiat.* 1943, 176, 4, 5, 596—635
5. Cammermeyer J.: The post mortem origin and mechanism of neuronal hyperchromatosis and nuclear pyknosis. *Exp. Neurol.* 1960, 2, 379—405
6. Enestrom S.: Meningeal relations of primary brain tumors. A histological study. *Cancer (Philad.)* 1966, 19, 8, 1117—1123.
7. Feigin J., Allen L. B., Lipkin L., Gross S. W.: The endothelial hyperplasia of the cerebral blood vessels with brain tumors and its sarcomatous transformation. *Cancer (Philad.)* 1958, 11, 264—277.
8. Feigin I., Popoff N.: Neuropathological observations on cerebral edema. *Arch. Neurol. (Chic.)* 1962, 6, 2, 151—160.
9. Freeman W.: Reactive gliosis in a case of brain tumor. *Arch. Neurol. Psychiat. (Chic.)* 1925, 14, 649—657.
10. Gabryel P.: Badania doświadczalne obrzęku tkanki mózgowej. *Poznań. Zakł. Graf. Nr 1*, 1961.
11. Gabryel P.: Właściwości morfologiczne naczyń włosowatych w ośrodkowym układzie nerwowym. *Neuropat. Pol.* 1963, II, 25—47.
12. Głuszczyk A.: Badania histologiczne i histochemiczne glejaków mózgu ze szczególnym uwzględnieniem ich zrębu naczyniowego. *Łódzkie Tow. Nauk.* 1963.
13. Gough J.: The structure of the blood vessels in cerebral tumours. *J. Path. Bact.* 1940, 51, 23—28.
14. Greenfield J. G.: The histology of cerebral edema associated with intracranial tumours (with special references to changes in the nerve fibres of the centrum ovale). *Brain* 1939, 62, 129—152.

15. Hardman J.: The angioarchitecture of gliomas. *Brain*. 1940, 63, 91—118.
16. Herzog J., Levy H. J., Scheiberg L. C.: Biochemical and morphologic studies of cerebral edema associated with intracerebral tumors in rabbits. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1965, 24, 2, 244—255.
17. Hirano A., Zimmerman H. M., Levine S.: Fine structure of cerebral fluid accumulation. *Arch. Neurol. (Chic.)* 1965, 12, 189—195.
18. Hossman K. A.: Morphological substrate of the blood-brain barrier in human brain tumors. *Brain Oedema*. Springer Verlag. Wien—New York, 1967, 249—258.
19. Iwanowski L.: Kliniczne i morfologiczne zespoły przerzutów raka do mózgu. *Pol. Tyg. Lek.* 1958, 8, 27.
20. Iwanowski L.: Kształtowanie się organizacji w okolicach przykomorowych w przebiegu spraw naczyniowych w mózgu. *Rozpr. Wydz. Nauk Med. Pol. Akad. Nauk* 1961, VI, I.
21. Jaburek L.: O obrzęku obocznym (kollateralnym) mózgu przy nowotworach mózgowych. *Neurologia Pol.* 1931/32, XIV—XV, 103—217.
22. Klatzo I.: Presidential address: Neuropathological aspect of brain edema. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1967, 26, 1, 1—14.
23. Krigman M. R., Manuelidis E. E.: Morphological and permeability changes in the cerebral parenchyma adjacent to heterologous intracerebral tumors. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1965, 24, 49—62.
24. Kunicki A., Stefanicka-Wiechowa A.: Remarks on the mode of spread of cerebral gliomas. *Neuropath. Pol.* 1965, III, 4, 373—380.
25. Lazorthes G.: Vascularisation et circulation cerebrales. *Masson*, 1961, 127—133.
26. Marcinkowski T.: Zagadnienie pośmiertnych zmian morfologicznych w tkance mózgowej. *Supl. Pat. Pol.* 1959, 1/61, 391—407.
27. Matsukado Y., MacCarty C. S., Kernohan J.: The growth of glioblastoma multiforme (astrocytoma grade 3 and 4) in neurosurgical practice. *J. Neurosurg.* 1961, 18, 636—644.
28. Mossakowski M. J.: Gwiaździki mózgu i mózdzku. *Neuropat. Pol.* 1965, III, 1—2, 131—214.
29. Perret G. E., Kernohan J. W.: Histopathologic changes of the brain caused by intracranial tumors (so-called edema or swelling of the brain). *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1943, 2, 341—352.
30. Scheinker J.: Cerebral swelling and edema associated with cerebral tumor (A histogenic and histopathologic study). *Arch. Neurol. Psychiat.* 1941, 45, 117—129.
31. Scherer H. J.: The forms of growth in gliomas and their practical significance. *Brain* 1940, 63, 1—35.
32. Spatz H.: Bedeutung der symptomatischen Hirnschwellung für die Hirntumoren und für andere raumbeengende Prozesse in der Schädelgrube. *Arch. Psychiat. Nervenkr.* 1929, 88, 790—794.
33. Storring F. K., Duguid J. B.: The vascular formations in glioblastoma. *J. Path. Bact.* 1954, 68, 231—233.
34. Torack R. M.: Ultrastructure of capillary reaction to brain tumors. *Arch. Neurol.* 1961, 5/4, 416—428.
35. Zülch K. J.: Die „Gradeinteilung“ (Gradin) der Malignität der Hirngeschwülste. *Acta neurochir. (Wien)*, 1962, X, 639—645.

Adres autora: Instytut Neurologii AM, Poznań, ul. Przybyszewskiego 49.

PODPISY POD RYCINY

Ryc. 1. *Carcinoma anaplasticum branchogenes* (380/67). Naciekanie komórek nowotworowych wzdłuż przestrzeni okołonaczyniowych. H-E. Pow. 160 ×

Fig. 1. *Carcinoma anaplasticum branchogenes* (380/67). Infiltration of neoplastic cells along the perivascular space. H-E. × 160

Ryc. 2. *Astrocytoma malignum* (62/65). Satelitoza nowotworowa w VI i V warstwie kory. H-E. 160×; Pow. wycinka 640 ×

Fig. 2. *Astrocytoma malignum* (62/65). Neoplastic satellitosis in the VIth and Vth cortex layer. H-E. × 160; Fragment × 640

Ryc. 3. *Astrocytoma malignum* (62/65). Szerzenie się nacieku nowotworowego w warstwie drobinowej kory. Ogniskowe naciekanie nowotworowe wzdłuż naczynia kory (strzałka). H-E. Pow. 170 ×

Fig. 3. *Astrocytoma malignum* (62/65). Dissemination of neoplastic infiltrate in the molecular layer of brain cortex. Focal neoplastic infiltration along the cortical vessel (arrow). H-E. × 170

Ryc. 4. *Spongioblastoma polare* (680/66). Zagęszczenie komórek nowotworowych wzdłuż wypustek komórek nerwowych. H-E. Pow. 160 ×

Fig. 4. *Spongioblastoma polare* (680/66). Condensation of neoplastic cells along the molecular layer of cerebellar cortex. H-E. × 160

Ryc. 5. *Glioblastoma multiforme* (374/64). Szeroka „strefa niepewna” w jej obrębie liczne komórki nowotworowe oraz naczynia krwionośne z rozplemem komórek śródbłonka. H-E. Pow. 160 ×

Fig. 5. *Glioblastoma multiforme* (374/64). Broad „uncertain region” with numerous neoplastic cells and blood vessels with proliferation of endothelial cells. H-E. × 160

Ryc. 6. *Glioblastoma multiforme* (435/66). Obrzeże guza, szerzenie się nowotworu wzdłuż wypustek komórek nerwowych. H-E. Pow. 320 ×

Fig. 6. *Glioblastoma multiforme* (435/66). Tumour border; dissemination of neoplasm along neuronal processes. H-E. × 320

Ryc. 7. *Spongioblastoma polare* (684/65). Warstwa włóknista gleju podwyściółkowego nie nacieczonego nowotworowo. H-E. Pow. 170 ×

Fig. 7. *Spongioblastoma polare* (684/65). Fibrous layer of subependymal glia, not infiltrated with neoplasm. H-E. × 170

Ryc. 8. *Pinealoma* (240/66). Linia frontu inwazyjnego przesuująca się wzdłuż warstwy włóknistej gleju podwyściółkowego. Komórki wyściółki zachowane. Wał naczyniowy od strony jąder podstawy. H-E. Pow. 160 ×

Fig. 8. *Pinealoma* (240/66). Line of invasion front moving along the fibrous layer of subependymal glia. Ependymal cells preserved. Vascular ridge on the side of basal nuclei. H-E. × 160

Ryc. 9. *Spongioblastoma polare* (680/66). Inwazja nowotworu do gleju podwyściółkowego, ogniskowe zniszczenie komórek wyściółki, naciek nowotworowy na powierzchni wyściółki. H-E. Pow. 170 ×

Fig. 9. *Spongioblastoma polare* (680/66). Invasion of neoplasm to subependymal glia, focal destruction of ependymal cells. Neoplastic infiltrate on the surface of ependyma. H-E. × 170

Ryc. 10. *Medulloblastoma* (438/67). Naciek nowotworowy w ścianie komory. Komórki wyściółki ogniskowo zachowane (strzałka). Ostre odgraniczenie nacieku, brak „strefy niepewnej”. H-E. Pow. 160 ×

Fig. 10. *Medulloblastoma* (438/67). Neoplastic infiltrate in ventricle wall. Ependymal cells focally preserved (arrow). Sharp separation of infiltrate, lack of „uncertain region”. H-E. × 160

Ryc. 11. *Medulloblastoma* (763/65). Naciekanie nowotworu od światła komory do gleju podwyściółkowego. Wyściółka komory częściowo zachowana. Szeroka „strefa niepewna”. H-E. Pow. 160 ×

Fig. 11. *Medulloblastoma* (763/65). Neoplastic infiltration from ventricular lumen into subependymal glia. Ventricular ependyma partially preserved. Broad „uncertain region”. H-E. × 160

Ryc. 12. *Glioblastoma multiforme* (850/64). Strefa III. Wał naczyniowy: naczynia włosowate, pętle naczyniowe i struktury kłębkopodobne. Obrzmiałe i proliferujące śródbłonki, liczne komórki ziarenko-tłuszczonośne. H-E. Pow. 160 ×

Fig. 12. *Glioblastoma multiforme* (850/64). Zone III. Vascular ridge: capillary vessels, vascular loops and glomerule-like structures. Swollen and proliferating endothelia, numerous sudanophilic cells. H-E. × 170

- Ryc. 13. *Glioblastoma multiforme* (850/64). Strefa III. Kłębkopodobne struktury naczyń. H-E. Pow. 320 ×
- Fig. 13. *Glioblastoma multiforme* (850/64). Zone III. Glomerulelike vascular structures. H-E. × 320
- Ryc. 14. *Astrocytoma gemistocyticum* (468/65). Strefa III. Kłębki naczyń w warstwie podwyściółkowej. H-E. Pow. 170 ×
- Fig. 14. *Astrocytoma gemistocyticum* (468/65). Zone III. Vascular bundles in the subependymal layer. H-E. × 170
- Ryc. 15. *Astrocytoma fibrillare* (302/65). Strefa III. Kora mózgu. Pętla naczyń włosowatych o obrzmiałych, proliferujących śródbłonkach. H-E. Pow. 160 ×
- Fig. 15. *Astrocytoma fibrillare* (320/65). Zone III. Cerebral cortex. Loops of capillary vessels with swollen, proliferating endothelia. H-E. × 160
- Ryc. 16. *Glioblastoma multiforme* (184/64). Smugi płynowe odgraniczające strefę I od II. H-E. Pow. 160 ×
- Fig. 16. *Glioblastoma multiforme* (184/64). Fluid trails separating zones I and II. H-E. × 160
- Ryc. 17. *Glioblastoma multiforme* (423/64). Strefa III. Kora mózgu. Ognisko rozrzedzenia tkanki z nagromadzeniem płynu obrzękowego. H-E. Pow. 160 ×
- Fig. 17. *Glioblastoma multiforme* (423/64). Zone III. Cerebral cortex. Focus of tissue rarefaction with accumulation of edematous fluid. H-E. × 160
- Ryc. 18. *Glioblastoma multiforme* (703/65). Okołonaczyniowe nagromadzenie płynu obrzękowego w warstwie drobinowej kory. H-E. Pow. 320 ×
- Fig. 18. *Glioblastoma multiforme* (703/65). Perivascular accumulation of edematous fluid in the molecular layer of cortex. H-E. × 320
- Ryc. 19. *Astrocytoma gemistocyticum* (302/65). Strefa II. Komórka atypowa wśród płynu obrzękowego. H-E. Pow. 320 ×
- Fig. 19. *Astrocytoma gemistocyticum* (302/65). Zone II. Atypical cell within edematous fluid. H-E. × 320
- Ryc. 20. *Glioblastoma multiforme* (374/64). Zgąbczenie istoty białej płata potylicznego. H-E. Pow. 160 ×
- Fig. 20. *Glioblastoma multiforme* (374/64). Spongy degeneration of occipital lobe white matter. H-E. × 160
- Ryc. 21. *Glioblastoma multiforme* (151/65). Strefa III. Szerokie, pierścieniowate, okołonaczyniowe nacieki z komórek limfocytopodobnych i pojedynczych komórek plazmatycznych. H-E. Pow. 160 ×
- Fig. 21. *Glioblastoma multiforme* (151/65). Zone III. Broad, annular perivascular infiltrates of lymphocyte-like cells and single plasmatic cells. H-E. × 160
- Ryc. 22. *Glioblastoma malignum* (180/65). Strefa III. Rozplem komórek gleju. Przerosłe astrocyty i gemistocyty. H-E. Pow. 170 ×
- Fig. 22. *Glioblastoma malignum* (180/65). Zone III. Proliferation of glial cells. Hypertrophied astrocytes and gemistocytes. H-E. × 170
- Ryc. 23. *Glioblastoma multiforme* (759/65). Strefa III. Przerosłe astrocyty. Impregnacja wg Cajala. Pow. 320 ×
- Fig. 23. *Glioblastoma multiforme* (759/65). Zone III. Hypertrophied astrocytes. Impregnation after Cajal. × 320
- Ryc. 24. *Carcinoma anaplasticum bronchogenes* (923/67). Strefa III. Nagromadzenie płynu obrzękowego. Rozplem komórek glejowych. Przerosłe astrocyty i obrzękłe komórki gleju skąpowypustkowego. H-E. Pow. 160 ×
- Fig. 24. *Carcinoma anaplasticum bronchogenes* (923/67). Zone III. Accumulation of edematous fluid. Proliferation of glial cells. Hypertrophied astrocytes and swollen oligodendroglial cells. H-E. × 160
- Ryc. 25. *Angiosarcoma* (621/64). Rozplem astrocytów włóknistych w otoczeniu naczynia w istocie białej. Holzer. Pow. 320 ×
- Fig. 25. *Angiosarcoma* (621/64). Proliferation of fibrous astrocytes in the surrounding of a vessel in white matter. Holzer. × 320
- Ryc. 26. *Glioblastoma multiforme* (151/65). Strefa III. Opustoszenia komórkowe w korze, cienie komórek nerwowych. H-E. Pow. 320 ×
- Fig. 26. *Glioblastoma multiforme* (151/65). Zone III. Cellular loss in the cortex. Shadows of nerve cells. H-E. × 320
- Ryc. 27. *Glioblastoma multiforme* (759/65). Przerzedzenie warstwy ziarnistej kory mózdzku. Zmiany wsteczne komórek Purkinjego. H-E. Pow. 320 ×
- Fig. 27. *Glioblastoma multiforme* (759/65). Rarefaction of the granular layer of cerebellar cortex. Regressive changes of Purkinje cells. H-E. × 320

MAGDALENA ROSSOWSKA, ANDRZEJ GROMEK

WPŁYW NIEDOTLENIENIA NA PROCESY OKSYDACYJNEJ
FOSFORYLACJI I PRZEMIANĘ KWASU GLUTAMINOWEGO
W MÓZDŻKU ŚWINEK MORSKICHZespół Neurochemii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN
Kierownik: dr n. przyr. A. Gromek

Niejednakowa wrażliwość poszczególnych struktur ośrodkowego układu nerwowego na niedotlenienie jest uwarunkowana między innymi różnicowaniem charakteru i intensywności metabolizmu neuronów. Mózgdek należy do jednej z najbardziej zróżnicowanych morfologicznie struktur ośrodkowego układu nerwowego. Temu zróżnicowaniu towarzyszy zróżnicowanie biochemiczne, o czym świadczą badania lokalizacji enzymów w poszczególnych warstwach morfologicznych mózgdzku (Robins i wsp. 1957) oraz badania dotyczące korelacji między wrażliwością różnych elementów komórkowych mózgdzku na niedotlenienie a intensywnością ich metabolizmu tlenowego (Friede 1966).

Na podstawie danych piśmiennictwa (Jongkind, Broniszewska-Ardelt 1971, Lolley, Samson 1962) można stwierdzić, że jednym z istotnych elementów zaburzeń funkcji fizjologicznej komórki ośrodkowego układu nerwowego, podczas niedoboru tlenowego, jest wyczerpanie się związków wysoko-energetycznych (fosfokreatyny, ATP) przy równoczesnym wzroście ADP i fosforanu nieorganicznego.

Badania MacDonalda i Spectora (1963) i Spectora (1964) wskazują, że podczas niedotlenienia zaburzenia aktywności enzymów mitochondrialnych wyprzedzają zmiany oddychania tkankowego. Badania aktywności dehydrogenazy kwasu glutaminowego i procesów oksydacyjnej fosforylacji mitochondriów kory mózgu świnek morskich poddanych niedotlenieniu (Rossowska 1971) również wskazują na zmiany w aktywności enzymu przy równoczesnym braku istotnych zaburzeń w procesach oksydacyjnej fosforylacji.

Różnorodność struktury morfologicznej i wrażliwość mózgdzku na niedotlenienie oraz występujące podczas niedotlenienia uszkodzenia frakcji

mitochondrialnej (Brown, Brierley 1968, Łazarewicz i wsp. 1971) skłoniły nas do podjęcia badań procesów oksydacyjnej fosforylacji mitochondriów mózdzku oraz aktywności enzymów biorących udział w przemianie glutaminianu, którego poziom może być uzależniony od rodzaju i warunków niedotlenienia (Wood i wsp. 1968).

MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto świnki morskie (samce i samice) o wadze 250 g. Niedotlenienie zwierząt wywoływano umieszczając je w szczelnej komorze, przez którą przepuszczano mieszaninę gazową czystego azotu pod ciśnieniem 0,5 Kp/cm². Mieszaniną zawierała około 1% tlenu. W celu wyeliminowania wpływu ewentualnych zanieczyszczeń znajdujących się w mieszaninie gazowej azotu, przeprowadzono analogiczne badania stosując oczyszczony azot wg Umbreita i wsp. (1957). Otrzymane wyniki badań kontrolnych nie wykazywały żadnych różnic w porównaniu do gazu używanego bezpośrednio z butli, a więc w dalszych badaniach nie prowadzono dodatkowego oczyszczania azotu. Jako kryterium niedotlenienia przyjęto kliniczny stan zwierząt, między innymi brak samoistnego oddechu, który na ogół występował po 3—5 min. niedotlenienia. Zwierzęta wyjmowano wówczas z komory i pobudzano sztucznym oddychaniem, po czym ponownie umieszczano w komorze i niedotleniano.

Zwierzęta podzielono na 3 grupy doświadczalne: I grupa — zwierzęta badane bezpośrednio po zakończeniu niedotlenienia, II grupa — zwierzęta badane po 2 godzinach i III grupa — zwierzęta badane po 24 godzinach od chwili zakończenia niedotlenienia.

Frację mitochondrialną z mózdzku otrzymywano wg metody Bacilia i wsp. (1964). Stopień oksydacyjnej fosforylacji badano poprzez pomiar zużycia tlenu w aparacie Warburga oraz oznaczanie przyrostu ATP w obecności bursztynianu i glutaminianu. W charakterze akceptora fosforanu stosowano ADP.

Aktywność dehydrogenazy glutaminianowej (EC. 1.4.1.3. oksydoreduktaza L-glutaminian NAD (P)) oraz zawartość glutaminianu oznaczano wg metod podanych uprzednio (Rossowska 1971). Stosując ogólne postępowania wg Bergmeyera (1963) oznaczano aktywność transaminaz: glutaminianowo-szczawiooctanowej (EC. 2.6.1.1. aminotransferaza L-asparaginian : 2-oksoglutaran) i glutaminianowo-pirogronowej (EC. 2.6.1.2 aminotransferaza L-alanina : 2-oksoglutaran). Aktywność obu enzymów oznaczano w układzie cytoplazmatycznym po odwirowaniu homogenatu przy 24.000 g w ciągu 1 godz. Aktywność enzymów wyrażano w jednostkach Wróblewskiego w przeliczeniu na 1 mg białka supernatantu (Layne 1957) po uwzględnieniu aktywności dehydrogenazy glutaminianowej.

W homogenatach mózdzku świnek morskich oznaczano aktywność dekarboksylazy glutaminianu (EC. 4.1.1.15 1-karboksy-liaza L-glutaminianu) przy pomocy manometrycznej metody Warburga (Umbreit i wsp. 1963). Dekarboksylację kwasu glutaminowego przeprowadzano w środowisku inkubacyjnym zawierającym: 0,2 ml homogenatu (około 7 mg białka), 1,1 ml 0,1 M TRIS-u doprowadzonym do pH 6,5 przy pomocy 1 M kwasu octowego, 0,2 ml 10 mM glutaminianu, 0,2 ml fosforanu pirydoksalu (0,5 mM) oraz ATP i ADP. Naczynka przedmuchiwano azotem w ciągu 7 minut. Inkubację przeprowadzono w temp. 37°C w ciągu 60 minut. Proces dekarboksylacji przerywano, przelewając z bocznego ramienia naczynka Warburga 0,5 ml 1,2 N H₂SO₄. Aktywność enzymu wyrażano w μmolach wydzielonego CO₂ w przeliczeniu na 10 mg białka homogenatu na godzinę.

WYNIKI

Ocena wpływu niedotlenienia na procesy oksydacyjnej fosforylacji oraz aktywność dehydrogenazy glutaminianu mitochondriów mózdzku świnek morskich

Tabela 1. Wpływ albuminy na oksydacyjną fosforylację mitochondriów mózdzku świnek morskich kontrolnych i poddanych niedotlenieniu

Table 1. Effect of albumin on the oxidative phosphorylation of guinea pig cerebellum mitochondria derived from control and hypoxic animals

| Warunki doświadczalne Experimental conditions | P/O | | |
|--|--------------------------|--|------------------------------------|
| | Bursztynian Succinate | Glutaminian Glutamate | Glut. + Album. |
| Kontrola Control | 1,62 ± 0,30 (7) | 2,14 ± 0,75 (7) | 2,80 (2) |
| Bezpośrednio po niedotlenieniu Directly after hypoxia | 1,54 ± 0,71 (5) | 2,68 ± 0,28 (4) | — |
| 2 godz po niedotlenieniu 2 hrs after hypoxia | 1,90 ± 0,21 (4) | a. 1,70 (2) b. 0,78 (5) | — 1,90 (2) |
| 24 godz po niedotlenieniu 24 hrs after hypoxia | 2,14 ± 0,86 (5) | a. 2,13 ± 0,50 (7) b. 1,00 ± 0,20 (7) | 1,90 ± 0,29 (8) 2,12 ± 0,31 (5) |

a. Grupa zwierząt o niezmiennym P/O; Group of animals with unchanged P/O

b. Grupa zwierząt o obniżonym P/O; Group of animals with decreased P/O

Cyfry w nawiasach przedstawiają liczbę doświadczeń; In parentheses — number of experiments.

Wyniki przedstawiają średnie ± przedziały ufności obliczone wg Deana i Dixona (1951); Mean values ± the confidence intervals calculated after Dean and Dixon (1951).

Wyniki przedstawione w tabeli 1 wskazują na pełną zdolność oksydacyjnej fosforylacji mitochondriów mózdzku zwierząt kontrolnych niezależnie od stosowanych substratów. Niedotlenienie zwierząt nie powoduje zmian wskaźnika P/O mitochondriów w obecności bursztynianu jako substratu.

W obecności glutaminianu, w grupach doświadczalnych II i III stwierdzono w części przypadków (b) prawie dwukrotne obniżenie wskaźnika oksydacyjnej fosforylacji P/O, w porównaniu do zwierząt grupy kontrolnej.

W oparciu o przedstawione wyniki można przypuszczać, że zwierzęta w grupach II i III różnie reagowały na niedotlenienie. Część z nich reagowała obniżeniem wskaźnika P/O, co może świadczyć o uszkodzeniu biochemicznej funkcji mitochondriów, natomiast u innych zwierząt niedotlenienie nie wpływało na biochemiczne właściwości frakcji mitochondrialnej mózdzku. Różna reakcja zwierząt na stosowane niedotlenienie najprawdopodobniej jest uwarunkowana szeregiem czynników (dieta, płeć, wiek) i w oparciu o wyniki niniejszej pracy nie może być całkowicie wyjaśniona.

Tabela 2. Wpływ niedotlenienia na aktywność dehydrogenazy glutaminianowej i zawartość glutaminianu w mózdzku świńek morskich

Table 2. Effect of hypoxia on the glutamate dehydrogenase activity and glutamate content in guinea pig cerebellum

| Warunki doświadczalne Experimental conditions | Warunki oznaczenia aktyw. enzymu Conditions of enzyme activ. assay | | Zawartość glutaminianu Glutamate content |
|--|---|------------------|--|
| | Inkub. 60 min. 37° | 1% Triton X-100 | |
| Kontrola Control | 72,2 ± 13,4 (4) | 195,7 ± 21,4 (4) | 5,63 ± 0,32 (6) |
| Bezpośrednio po niedotlenieniu Directly after hypoxia | 79,5 ± 23,8 (4) | 157,5 ± 17,1 (4) | — |
| 2 godz. po niedotlenieniu 2 hrs after hypoxia | 89,5 ± 22,3 (4) | 164,9 ± 22,2 (4) | 5,84 ± 0,76 (5) |
| 24 godz. po niedotlenieniu 24 hrs after hypoxia | 56,9 ± 10,5 (4) | 154,1 ± 38,8 (5) | 6,30 ± 0,60 (5) |

Aktywność enzymu — jednostki Wróblewskiego/mg. białka mit.

Enzyme activity — Wróblewski units/mg mitochondrial protein

Zawartość glutaminianu — μ mole/g świeżej tkanki

Glutamate content — μ moles/g fresh tissue

Liczby w nawiasach przedstawiają liczbę doświadczeń

In parentheses — number of experiments

Wyniki przedstawiają średnie \pm przedziały ufności obliczone wg Deana i Dixona (1951)

Mean values \pm the confidence intervals calculated after Dean and Dixon (1951)

Dodanie albuminy do mitochondriów mózdzku zwierząt kontrolnych oraz mitochondriów mózdzku zwierząt, które nie zareagowały obniżeniem wskaźnika P/O, nie powoduje zmian w procesach oksydacyjnej fosforylacji. W przypadku mitochondriów charakteryzujących się niskim wskaźnikiem P/O zarówno w grupie zwierząt po 2 godzinach, jak również po 24 godzinach po zakończeniu niedotlenienia, albumina znosi w istotnym stopniu efekt niedotlenienia, przywracając wartość wskaźnika oksydacyjnej fosforylacji mitochondriów mózdzku zwierząt niedotlenionych, do wartości, jaką wykazują mitochondria mózdzku zwierząt grupy kontrolnej.

Jednym z parametrów uszkodzenia struktury błon mitochondrialnych może być zjawisko ujawniania aktywności enzymów mitochondrialnych. Badania wpływu niedotlenienia na aktywność dehydrogenazy glutaminianu mitochondriów mózdzku (tabela 2) wskazują na brak istotnych zaburzeń w aktywności tego enzymu, niezależnie od stosowanych sposobów ujawniania aktywności enzymu (inkubacja mitochondriów przez 60 min. w temp. 37°C lub traktowanie frakcji mitochondrialnej Tritonem X-100 w ciągu 10 minut). Występujące nieznaczne obniżenie aktywności enzymu zarówno po inkubacji, jak i po zadziałaniu Tritonu X-100 w grupie zwierząt badanych 24 godz. po zakończeniu niedotlenienia, ze względu na duży rozrzut, charakteryzuje się brakiem znamienności statystycznej. Niedotlenienie zwierząt nie powoduje również zmian w zawartości glutaminianu w mózdzku.

Wpływ niedotlenienia na aktywność niektórych enzymów związanych z przemianą glutaminianu w mózdzku świnek morskich

Badania aktywności enzymów biorących udział w procesach transaminacji — transaminazy glutaminianu z kwasem szczawiooctowym, transaminazy glutaminianu z kwasem pirogronowym oraz aktywności dekarboksylazy glutaminianu (tabela 3) wykazały istotny wpływ stosowanej hypoksji na aktywność dekarboksylazy kwasu glutaminowego i transaminazy glutaminianowo-pirogronowej. W grupie zwierząt użytych do doświadczeń bezpośrednio po zakończeniu niedotlenienia zaobserwowano wzrost aktywności transaminazy glutaminianowo-pirogronowej przy równoczesnym wyraźnym obniżeniu (ok. 45%) aktywności dekarboksylazy kwasu glutaminowego. W pozostałych grupach doświadczalnych aktywność badanych enzymów wykazuje wartości grupy kontrolnej.

Tabela 3. Aktywność enzymów przemiany kwasu glutaminowego w mózdzku świńek morskich w normie i po niedotlenieniu

Table 3. Activity of the enzymes of glutamic acid metabolism in guinea pig cerebellum in norm and hypoxia

| Warunki doświadczalne Experiment conditions | Transaminaza*) — Transaminase*) | | Dekarboksylaza glutaminianu**) Glutamate decarboxylase**) |
|--|---|------------------------------|---|
| | Glut.-Szczaw.oct. Glutamate oxaloacet. | Glt.Pir. Glutamate pyruv. | |
| Kontrola Control | 22,24 ± 5,15 (9) | 10,16 ± 3,16 (4) | 1,00 ± 0,16 (9) |
| Bezpośrednio po niedotlenieniu Directly after hypoxia | 18,00 ± 4,25 (7) | 15,45 ± 0,80 (6) | 0,52 ± 0,11 (8) |
| 2 godz. po niedotlenieniu 2 hrs after hypoxia | | 10,37 ± 3,70 (4) | 0,89 ± 0,22 (6) |
| 24 godz. po niedotlenieniu 24 hrs after hypoxia | 19,33 ± 5,64 (6) | 8,66 ± 0,74 (3) | 1,00 ± 0,13 (5) |

*) Jednostki Wróblewskiego/mg białka cytoplazmy;
Wróblewski units/mg cytoplasmic protein;

**) μ mole CO₂/10 mg białka homogenatu/60 min.;
 μ moles CO₂/10 mg homogenate protein/60 min.;

Liczby w nawiasach przedstawiają liczbę doświadczeń
In parentheses — number of experiments

Wyniki przedstawiają średnie ± przedziały ufności obliczone wg Deana i Dixona (1951)
Mean values ± the confidence intervals calculated after Dean and Dixon (1951).

DYSKUSJA

Stosowany przez nas model niedotlenienia zwierząt powoduje zmiany procesów oksydacyjnej fosforylacji mitochondriów mózdzku (tabela 1). Należy jednak podkreślić zależność występujących zaburzeń od rodzaju używanego substratu. W przypadku stosowania glutaminianu występujące obniżenie wskaźnika oksydacyjnej fosforylacji P/O po 2 i 24 godzinach od chwili zakończenia niedotleniania (grupy b), w oparciu o dane z piśmiennictwa (Bazan i wsp. 1971, Łazarewicz i wsp. 1971), można tłumaczyć rozprzegającym wpływem uwolnionych podczas niedotleniania kwasów tłuszczowych na oksydacyjną fosforylację. Zahamowanie utleniania glutaminianu przez kwasy tłuszczowe należy łączyć z zaburzeniami stanu utleniania NAD(P)⁺, który jak wskazują badania Papa i wsp. (1966), spełnia w tym procesie rolę czynnika kontrolującego.

Wolne kwasy tłuszczowe powodując pęcznienie mitochondriów zmieniają przepuszczalność błon mitochondrialnych i ulegając utlenieniu powodują wzrost redukcji NAD(P)⁺ (Lehninger 1959, Rossi i wsp. 1966).

Potwierdzeniem wpływu kwasów tłuszczowych na zaburzenia procesów oksydacyjnej fosforylacji w mitochondriach w obecności glutaminianu są doświadczenia przeprowadzone z zastosowaniem albuminy, która usuwając czynniki rozprzegające oksydacyjną fosforylację znosi ich wpływ na metabolizm cyklu kwasów trójkarboksylowych (Garland i wsp. 1969, Łazarewicz i wsp. 1971). Zależność przemiany glutaminianu od NAD(P)^+ została również wykazana w badaniach z preparatami „starzejących się” mitochondriów (De Haan i wsp. 1967). Starzenie mitochondriów powoduje stopniowy spadek zużycia tlenu i utlenianie glutaminianu, natomiast dodanie NAD^+ znosi efekt starzenia mitochondriów, pozostając w zasadzie bez wpływu na zużycie tlenu i przemianę glutaminianu w świeżych mitochondriach. Brak zmian wskaźnika oksydacyjnej fosforylacji w przypadku stosowania bursztynianu jako substratu można łączyć z odmiennością mechanizmów kontrolujących utlenianie tego substratu w mitochondriach.

Krótkotrwała preekspozycja zwierząt do anoksji powoduje wyraźne złagodzenie efektu niedotlenienia na spadek związków wysokoenergetycznych przy równoczesnym wzroście stężenia pirogronianu i acetylo-CoA (Dahl, Balfour 1964, Schuberth i wsp. 1966). W związku ze stosowanym przez nas modelem niedotlenienia, stanowiącym właściwie wielokrotne powtarzanie procesu preekspozycji zwierząt do warunków anoksji należy sądzić, że zarówno powstawanie ATP w wyniku wzmożonej glikolizy, jak również akumulacja acetylo-CoA może przebiegać analogicznie do spostrzeżeń wymienionych powyżej autorów. W świetle przytoczonych danych ewentualne zaburzenia procesu utleniania bursztynianu przez mitochondria zwierząt niedotlenionych, uzależnione od akumulacji kwasu szczawiooctowego mogą być likwidowane przez ATP i wzrost acetylo-CoA (Tyler 1955).

Badania nad wpływem niedotlenienia na aktywność niektórych enzymów przemiany glutaminianu w mózdzku (tabela 2 i 3) wskazują na wzrost aktywności transaminazy glutaminianowo-pirogronowej i obniżenie aktywności dekarboksylazy glutaminianowej w grupie zwierząt badanych bezpośrednio po zakończeniu niedotlenienia. Wzmoczona aktywność transaminazy glutaminianowo-pirogronowej jest być może reakcją odpowiedzialną za ekstra akumulację pirogronianu po niedotlenieniu (Dahl, Balfour 1964) i włączenie przemiany aminokwasów w cykl Krebsa. Natomiast obniżenie aktywności dekarboksylazy glutaminianu może świadczyć o regulacji procesu powstawania kwasu gamma-aminomasłowego (GABA). Badania Sze i Lovella (1970) wskazują, że GABA może regulować własną syntezę poprzez Feedback mechanizm. Szereg badaczy (Elliot i wsp. 1965, Lovell, Elliot 1963) wykazuje wzrost zawartości GABA po niedotlenieniu. Jednakże badania Sandersa i wsp. (1969) wska-

zużą na wydatne zwiększenie reakcji transaminacji między α -ketoglutaranem i GABA, w wyniku której powstaje bursztynian i glutaminian. Autorzy tłumaczą obniżenie poziomu GABA w wyniku niedotlenienia aktywacją wymienionej reakcji.

Zmiany aktywności dekarboksylazy glutaminianowej podczas niedotlenienia mogą być spowodowane zaburzeniami w stężeniach nukleotydów adeninowych (Tursky 1970).

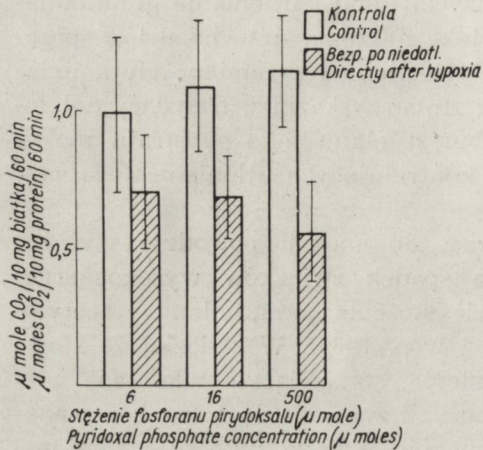


Diagram 1.

Wykres 1. Wpływ fosforanu pirydoksalu na aktywność dekarboksylazy glutaminianowej w homogenatach z mózdzku świnek morskich kontrolnych i poddanych niedotlenieniu.

Diagram 1. Effect of pyridoxal phosphate on the glutamate decarboxylase activity in guinea pig cerebellum homogenates derived from control and hypoxic animals.

Wykres 2. Wpływ różnych stężeń ATP na aktywność dekarboksylazy kw. glutaminowego w homogenacie mózdzku świnek morskich kontrolnych i poddanych niedotlenieniu. Stężenie fosforanu pirydoksalu 500 μ moli, akt. enzymu = μ moles $\text{CO}_2/10 \text{ mg białka}/60 \text{ min}$.

Diagram 2. Effect of various ATP concentrations on the glutamate decarboxylase activity in guinea pig cerebellum homogenates derived from control and hypoxic animals. Pyridoxal phosphate concentration 500 μ M, enzyme activity = μ moles $\text{CO}_2/10 \text{ mg protein}/60 \text{ min}$.

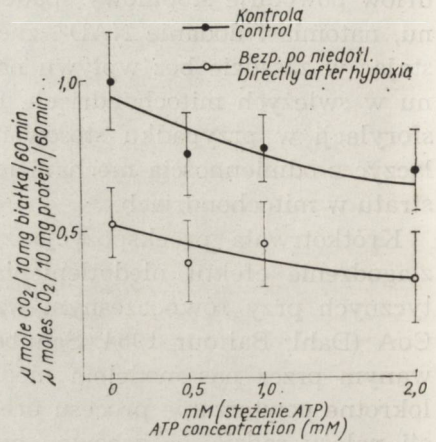


Diagram 2.

Przeprowadzone przez nas badania aktywności enzymu w mózdzku zwierząt kontrolnych i niedotlenionych (wykres 1 i 2) nie wykazały istotnego wpływu ATP i fosforanu pirydoksalu na aktywność dekarboksylazy glutaminianu grupy zwierząt niedotlenionych. W przypadku grupy kontrolnej można było odnotować hamujący wpływ ATP. Być może jest to uzależnione od zmian stosunku fosforan pirydoksalu/nukleotydy adeninowe w komórkach mózdzku niedotlenionych zwierząt.

Dokładne wyjaśnienie zmian w aktywności tego enzymu i w poziomie GABA w połączeniu z metabolizmem energetycznym i aktywnością enzymów przemiany glutaminianu wymaga dalszych wnikliwych badań.

M. Россовска, А. Громек

ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ НА ПРОЦЕССЫ ОКСИДАТИВНОЙ ФОСФОРИЛЯЦИИ И ОБМЕН ГЛЮТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ В МОЗЖЕЧКЕ МОРСКИХ СВИНОК

Резюме

Исследовалось влияние гипоксии на метаболические пути глутамата и процессы оксидативной фосфорилиции митохондрий мозжечка морских свинок.

Гипоксия вызывалась помещением животных в камеру, через которую пропускался азот в течение 30 минут.

Исследовалась активность энзимов: глутаминат дегидрогеназы, трансминазы глутаминат-уксуснооксалата, глутаминат-пируватной трансминазы, декарбоксилазы глутамината, а также: уровень глутамината и способность митохондрий к оксидативной фосфорилиции.

Обнаружено, что гипоксия вызывает рост активности глутаминат-пируватной трансминазы и снижение активности глутаминатдекарбоксилазы при одновременном отсутствии существенных изменений в активности глутаминатдегидрогеназы, глутаминатуксуснооксалатной трансминазы и в уровне глутамината. Наблюдаемые изменения имеют место непосредственно после гипоксии. Исследования, проводимые спустя 2 и 24 часа от окончания гипоксии указывают на обратимый характер наблюдаемых нарушений активности энзимов.

Полученные из мозжечка морских свинок митохондрия были способны к оксидативной фосфорилиции в присутствии сукцината и глутамината, используемых в качестве субстратов. В группе животных 2 и 24 часа от момента окончания гипоксии было обнаружено снижение показателя оксидативной фосфорилиции митохондрий в присутствии глутамината в качестве субстрата. Наличие альбумина (1 мг/мл) нивелировало в большой степени нарушения оксидативной фосфорилиции митохондриальной фракции.

M ROSSOWSKA, A. GROMEK

EFFECT OF HYPOXIA ON OXIDATIVE PHOSPHORYLATION AND GLUTAMIC ACID METABOLISM IN GUINEA PIG CEREBELLUM

Summary

Effect of hypoxia on the glutamate metabolism and oxidative phosphorylation of cerebellar mitochondria of guinea pigs was examined. Hypoxia was produced by placing the animals for 30 minutes in a light-fitting chamber with a constant nitrogen flow. The activity of the following enzymes was tested: glutamate dehydrogenase, glutamate-oxaloacetate, glutamate-pyruvate transaminases, glutamate decarboxylase and in addition the glutamate level and the ability of mitochondria to perform the oxidative phosphorylation.

Hypoxia was shown to cause an increase in the glutamate-pyruvate transaminase activity and a decrease of that of glutamate decarboxylase, with a concomitant lack of marked changes in the activity of glutamate dehydrogenase, glutamate-oxaloacetate transaminase and in the glutamate level.

The above changes appeared directly after hypoxia. Results of the studies performed after 2 and 24 hrs following cessation of hypoxia are indicative of a reversible character of the observed disturbances in activities of these enzymes.

Mitochondria derived from guinea pig cerebellum were able to carry out oxidative phosphorylation in the presence of succinate and glutamate as substrates. In the group examined 2 and 24 hrs after hypoxia, a decrease of the index of oxidative phosphorylation was demonstrated in the presence of glutamate as a substrate. The presence of albumin (1/mg/ml) compensated to a high degree the disturbances in oxidative phosphorylation of the mitochondrial fraction.

PIŚMIENNICTWO

1. Bacilia M., Campello A. P., Vianna C. H. M., Voss D. O.: The respiratory chain of rat cerebrum and cerebellum mitochondria. *J. Neurochem.* 1964, 11, 231—242.
2. Bazan N. G., De Bazan H. E. P., Kennedy W. G., Joel C. D.: Regional distribution and rate of production of free fatty acids in rat brain. *J. Neurochem.* 1971, 18, 1387—1393.
3. Bergmayer H. U.: *Methods of enzymatic anal.* 1963.
4. Brown A. W., Brierley J. B.: The nature distribution on earliest stage of anoxic-ischemic nerve cell damage in rat brain as defined by optical microscopy. *Brit. J. Exp. Pathol.*, 1968, 49, 87—98.
5. Dahl N. A., Balfour W. M.: Prolonged anoxic survival due to anoxia preexposure: brain ATP, lactate, and pyruvate. *Am. J. Physiol.*, 1964, 207, 452—456.
6. Dean R. B., Dixon W. J.: Simplified statistics for small numbers of observations. *Analyt. Chem.* 1951, 23, 636.
7. De Haan J. E., Tager J. M., Slater E. C.: Factors affecting the pathway of glutamate oxidation in rat liver mitochondria. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1967, 131, 1—13.
8. Elliott K. A. C., Khan R. T., Bilcdeau F., Lovell R. A.: Bound γ -aminobutyric and other aminoacids in brain. *Can. J. Biochem.* 1965, 43, 407—416.
9. Friede R. L.: *Topografic brain chemistry.* Acad. Press, London 1966.
10. Garland P. B., Shepherd D. G., Nicholls D. W., Yates P. A., Light P. A.: Citric acid cycle control and compartmentation. Ed. J. M. Lowenstein, 1969, 163—212.
11. Jongkind J. E., Broniszewska-Ardelt B.: Effect of hypoxia on substrate in the brain of the adult mouse. — Third Intern. Meeting Intern. Soc. Neurochem, Budapest 1971.
12. Layne E.: Protein estimation with Folin-Ciocalten Reagent Methods in *Enzymology*, Ed. Colowick P., Caplan N. O., Acta Press N. J., 1957, 3, 448—450.
13. Lehninger A. L.: Reversal of various types of mitochondrial swelling by adenosine triphosphate. *J. Biol. Chem.*, 1959, 234, 2465—2471.
14. Lolly R. N., Samson F. E.: Cerebral high-energy compounds, changes in anoxia. *Am. J. Physiol.*, 1962, 202, 77—79.
15. Lovell R. A., Elliott K. A. C. and S. J.: The γ -aminobutyric acid and factor I content of brain. *J. Neurochem.* 1963, 10, 479—488.

16. Łazarewicz J. W., Strosznajder J., Gromek A.: Free unsaturated fatty acids liberated during ischemia as inhibitors of a brain energy metabolism. Third Intern. Meeting Intern. Soc. Neurochem., Budapest 1971.
17. MacDonald M., Spector R. G.: The influence of anoxia on respiratory enzymes in rat brain. *Brit. J. Exp. Pathol.*, 1963, 44, 11—15.
18. Papa S., Palmieri F., Quagliariello E.: Regulation of metabolic processes in mitochondria. Ed. J. M. Tager, S. Papa, E. Quagliariello, E. C. Slater, E. B. A. Library, vol. 7, 1966.
19. Robins E., Smith D. S., Jen M. K.: Ultrastructure and cellular chemistry of neuronal tissue. Ed. H. Waelsch, 1957, 205—214.
20. Rossi C. R., Galzigna L., Gibson M. D.: Regulation of metabolic processes in mitochondria. Ed. J. M. Tager, S. Papa, E. Quagliariello, E. C. Slater, E. B. A. Library, vol. 7, 1966.
20. Rossi C. R., Galzigna L., Gibson M. D.: Regulation of metabolic processes forylacji i aktywność dehydrogenazy glutaminianowej w ośrodkowym układzie nerwowym. *Neuropat. Polska* 1971, 9, 248—256.
22. Sanders A. P., Currie W. D., Woodhall B.: Protection of brain metabolism with glutathione, glutamate, γ -aminobutyrate and succinate., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1969, 130, 1021.
23. Schuberth J., Sollenberg J., Sundwall A., Sorbo B.: Acetyloenzyme A in brain, The effect of centrally active drugs, insulin coma and hypoxia., *J. Neurochem.*, 1966, 13, 819—822.
24. Spector R. G.: In vitro respiration of anoxic-ischemic rat brain. *Guy's Hosp. Rep.*, 1964, 113, 305—309.
25. Sze P. Y., Lovell R. A.: Reduction of level of L-glutamic acid decarboxylase by γ -aminobutyric acid in mouse brain. *J. Neurochem.* 1970, 17, 1657—1664.
26. Tursky T.: Inhibition of brain glutamate decarboxylase by adenosine triphosphate. *Eur. J. Biochem.* 1970, 12, 544—549.
27. Tyler D. B.: Effect of metal ions and adenosine triphosphate on an oxaloacetate — inhibited succinioxidase activity. *J. Biol. Chem.*, 1955, 216, 395—403.
28. Umbreit W. W., Burris R. H., Stauffer J. F.: *Manometric Techniques* 1957.
29. Wood J. D., Watson W. J., Ducker A. J.: The effect of hypoxia on brain γ -aminobutyric acid levels. *J. Neurochem.* 1968, 15, 603—608.

Adres autorów: Zespół Neurochemii, CMD i K, Warszawa, Dworkowa 3.

MIROSLAW J. MOSSAKOWSKI, ALICJA PRONASZKO-KURCZYŃSKA,
JAN KORTHALS, ARKADIUSZ WRUTNIAK

WPŁYW UMIARKOWANEGO NIEDOKRWIENIA
NA POZIOM GLIKOGENU W MÓZGU
W ZALEŻNOŚCI OD STOPNIA DOJRZAŁOŚCI
OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO *)

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN
Kierownik: prof. dr M. J. Mossakowski

Niedostatek tlenowy stanowi jeden z podstawowych czynników prowadzących do gromadzenia się glikogenu w ośrodkowym układzie nerwowym. Mossakowski i wsp. (1968) opisali obfite gromadzenie się glikogenu w mózgach noworodków małych w warunkach okołoporodowej asfiksji. Spostrzeżenia te potwierdziły późniejsze oznaczenia ilościowe Rivery i wsp. (1970). To samo zjawisko w przypadku umiarkowanego niedokrwienia ośrodkowego układu nerwowego opisali Ibrahim i wsp. (1970), Crowell i wsp. (1971), Mossakowski i Zelman (1971) oraz Long i wsp. (1972), którzy ponadto obserwowali gromadzenie się glikogenu w następstwie niedotlenienia prostego. W poprzedniej pracy (Pronaszko-Kurczyńska i wsp. 1971) określiliśmy dynamikę gromadzenia się glikogenu w mózgu w następstwie dwustronnego podwiązania tętnic szyjnych u szczurów dorosłych. Zabieg ten wywołujący krótkotrwałe, przemijające niedokrwienie mózgu (Albrecht 1972) nie prowadzi do powstawania nieodwracalnych uszkodzeń tkankowych w ośrodkowym układzie nerwowym. Mossakowski i Zelman (1971) zwrócili uwagę na istotne różnice w gromadzeniu się glikogenu w mózgach zwierząt dojrzałych i niedojrzałych.

Skłoniło to nas do przeprowadzenia analizy dynamiki gromadzenia się glikogenu i jego lokalizacji w mózgach zwierząt znajdujących się w różnych fazach dojrzewania ośrodkowego układu nerwowego.

*) Praca wykonana w oparciu o pomoc finansową P. L. 480. Program U. S. Public Health Service. Agreement 05—004—1

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na szczurach białych rasy Wistar, obu płci, którym w wieku 1, 2, 3, 4 i 6 tygodni podwiązywano w narkozie eterowej obustronnie tętnice szyjne wspólne. Zwierzętom kontrolnym, nie poddanym zabiegowi operacyjnemu stosowano również narkozę eterową, przez taki sam okres czasu, jak w grupie doświadczalnej. Dodatkową grupę kontrolną stanowiły zwierzęta zdrowe, nie poddane żadnym zabiegom. Zwierzęta wszystkich grup wieku dekapitowano po upływie 6, 12, 24, 48, 72 i 120 godzin od podwiązania tętnic lub od zakończenia narkozy. Następnie mózg podlegał opracowaniu, którego charakter zależał od typu prowadzonych badań.

Wykonywano równolegle badania biochemiczne, histologiczne, histochemiczne (oznaczanie glikogenu) i ultrastrukturalne. Te ostatnie ograniczone były jedynie do wybranych grup czasowych.

Badania biochemiczne

Do oznaczeń biochemicznych pobierano oddzielnie obie półkule mózgu. W celu wyizolowania glikogenu stosowano technikę opisaną w poprzedniej pracy (Pronaszko-Kurczyńska i wsp. 1971). Oznaczanie glukozy wykonano metodą kolorymetryczną wg Nelsona (1944), na fotometrze spektralnym „Specol” przy długości fali 540 nm. Stężenie glukozy odczytywano z krzywej wzorcowej, wykonanej z 10, 20, 40, 30 i 100 μg glukozy. Roztwór standardowy wynosił 100 μg glukozy na 1 ml. Zawartość glikogenu wyrażano w mg glukozy na 100 g tkanki. Wyniki poddano analizie statystycznej, stosując test Studenta. Obliczano odchylenie standardowe, zmienną losową t , oraz stopień prawdopodobieństwa. Każda grupa zarówno doświadczalna, jak i kontrolna liczyła co najmniej 5 zwierząt.

Badania morfologiczne

Badania morfologiczne obejmujące rutynowe barwienie hematoksyliną-eozyną i fioletem krezyłu oraz histochemiczne oznaczanie glikogenu wykonano na 75 mózgach szczurów, w tym 60 doświadczalnych i 15 kontrolnych.

Mózg po wydobyciu z czaszki dzielono dwoma cięciami, z których pierwsze prowadzono do przodu od skrzyżowania wzrokowego, a drugie do tyłu od ciał suteczkowatych na bloki, które następnie utrwalano w płynie Rossmanna, zatapiano w parafinie i skrawano w mikrotomie na skrawki grubości 10 μ .

Oznaczanie glikogenu wykonywano przy pomocy odczynu PAS z równoczesnym blokowaniem dimedonem wg sposobu opisanego przez Bulmera (1959). Swoistość odczynu histochemicznego sprawdzano przy pomocy trawienia diastazą.

Badanie mikroskopowo-elektronowe

Do badań mikroskopowo-elektronowych użyto 12 szczurów. Badania przeprowadzono na zwierzętach 1- i 4-tygodniowych z przeżyciem 48 godzin i 6-tygodniowych po przeżyciu 12 i 48 godzin. Na każdą grupę przypadały dwa zwierzęta po podwiązaniu tętnic szyjnych i 1 poddane wyłącznemu działaniu narkozy eterowej.

Zwierzęta dekapitowano, po czym szybko otwierano czaszkę i pobierano drobne wycinki tkanki z okolicy czołowo-ciemieniowej obu półkul mózgu. Pobrany materiał utrwalano przez 2 godziny w 4% roztworze aldehydu glutarowego w buforze fosforanowym o pH 7,3, a następnie przez 1 godzinę w 2% czterotlenku osmu. Tkanekę odwadniano w etanolu o wzrastającym stężeniu i zatapiano w Eponie 812. Materiał krojono na ultramikrotomie f-my Reichert. Ultracienkie skrawki podbarwiano octanem uranylu i cytrynianem ołowiu, a następnie oglądano w mikroskopie elektronowym JEM 7A.

WYNIKI

Obserwacje kliniczne

Zwierzęta doświadczały po wyjściu z narkozy eterowej nie zdradzały na ogół objawów świadczących o uszkodzeniu układu nerwowego, poza obecnością u większości z nich obustronnej ptozy, której wystąpienie wiązano z uszkodzeniem współczulnych splotów tętniczo-szyjnych w czasie podwiązania *a. carotis*.

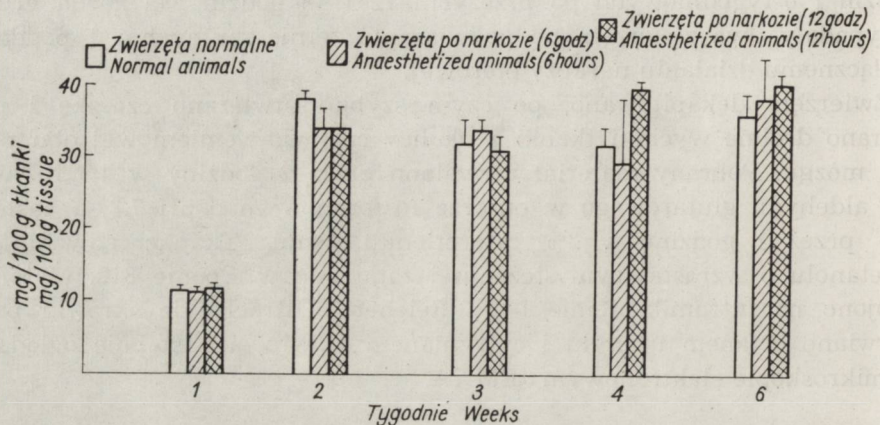
Jednakże u znacznego odsetka zwierząt, zwłaszcza w młodszych grupach wieku obserwowano często okresowe napady drgawek, z przewagą składowej tonicznej, występujące we wczesnych godzinach po zabiegu.

U szczurów 1-tygodniowych po podwiązaniu tętnic szyjnych obserwowano bardzo znaczne zahamowanie wzrostu.

Oznaczenia ilościowe

We wstępnej serii doświadczeń określono wpływ narkozy na zawartość glikogenu w mózgu. Ze względu na uprzednio stwierdzony, w grupie zwierząt dorosłych, statystycznie znamiennej wzrost zawartości glikogenu

jedynie w 12 godzinie po zastosowaniu narkozy (Pronaszko-Kurczyńska i wsp. 1971) badania tej serii ograniczono do 6- i 12-godzinnych grup czasowych. Poza nieznacznymi zmianami w grupie zwierząt 4-tygodniowych w 12 godzinie po zastosowaniu narkozy, w żadnej z pozostałych grup wieku nie stwierdzono różnic w zawartości glikogenu w mózгах zwierząt poddanych narkozie w porównaniu ze zwierzętami bez narkozy (wykres 1). Spostrzeżenie to pozwoliło na potraktowanie w dalszych doświadczeniach zwierząt poddanych narkozie jako grupę kontrolną.



Wykres 1. Porównanie zawartości glikogenu w mózgu szczurów nietkniętych i poddanych narkozie eterowej. Wysokość kolumn odpowiada średniej wartości uzyskanej z każdej grupy. Linie pionowe wyznaczają odchylenie standardowe.

Diagram 1. Comparison of glycogen content in the brain of normal and anaesthetized rats. The height of each column represents the mean of each group. Vertical bars represent an standard deviation.

Dla wyłączenia wpływu zabiegu na zawartość glikogenu w mózgu, przeprowadzono uzupełniającą serię oznaczeń na zwierzętach, u których wykonano tzw. zabieg rzekomy, polegający na wyizolowaniu tętnic szyjnych, bez ich podwiązania. Stwierdzono przy tym, że zawartość glikogenu w mózgu u zwierząt tej grupy nie różniła się od jego zawartości u zwierząt narkotyzowanych i nie poddanych żadnym zabiegom doświadczalnym.

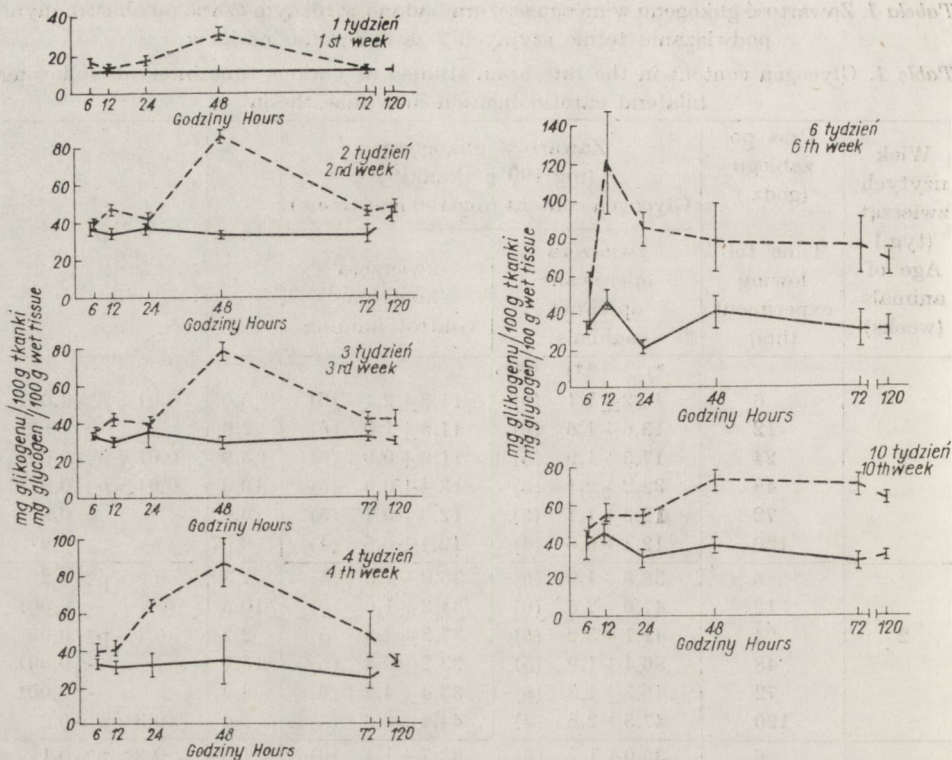
Poziom glikogenu w mózgu u zwierząt kontrolnych zmieniał się w miarę rozwoju. U szczurów 1-tygodniowych zawartość glikogenu wynosiła od 11,3 do 13,4 mg/100 g tkanki. U zwierząt 2-tygodniowych była ona już trzykrotnie wyższa, wynosząc od 33,2 do 44,4 mg/100 g tkanki. Na tym samym mniej więcej poziomie utrzymywała się w dalszych badanych grupach wieku, z wyjątkiem zwierząt 6-tygodniowych, wykazujących znaczne fluktuacje w poziomie wielocukru.

Tabela 1. Zawartość glikogenu w mózgu szczura badana w różnym czasie po obustronnym podwiązaniu tętnic szyjnych i zastosowaniu narkozy

Table 1. Glycogen content in the rats brain studied at various time intervals following bilateral carotid ligation and anaesthesia

| Wiek użytych zwierząt (tyg.) Age of animals (weeks) | Czas po zabiegu (godz.) Time following experiment (hrs) | Zawartość glikogenu (mg/100 g tkanki) Glycogen content (mg/100 g of tissue) | | | t | p |
|--|--|--|--|------|------------------|---|
| | | zwierzęta operowane operated animals | zwierzęta kontrolne control animals | | | |
| 1 | 6 | 16,2±1,1 (6) | 11,3±2,1 (6) | 5,0 | 0,01 > p > 0,001 | |
| | 12 | 13,6±1,6 (6) | 11,5±1,0 (6) | 2,6 | p > 0,05 | |
| | 24 | 17,5±1,9 (5) | 11,9±0,9 (5) | 5,9 | 0,01 > p > 0,001 | |
| | 48 | 32,2±2,1 (5) | 13,4±0,6 (5) | 19,3 | 0,01 > p > 0,001 | |
| | 72 | 12,3±1,1 (5) | 12,3±0,7 (5) | 0,02 | > 0,9 | |
| | 120 | 12,4±0,6 (4) | 12,4±0,6 (4) | 0,07 | > 0,9 | |
| 2 | 6 | 38,5±1,97 (5) | 36,8±2,3 (5) | 1,3 | 0,3 > p > 0,2 | |
| | 12 | 47,0±2,5 (6) | 34,3±1,0 (6) | 10,5 | < 0,001 | |
| | 24 | 41,1±3,2 (5) | 37,3±2,3 (5) | 2,2 | 0,1 > p > 0,05 | |
| | 48 | 86,4±1,9 (5) | 33,2±0,4 (5) | 15,7 | < 0,001 | |
| | 72 | 45,3±1,3 (6) | 33,4±4,2 (6) | 8,9 | < 0,001 | |
| | 120 | 47,5±2,6 (4) | 44,4±3,5 (4) | 1,4 | 0,3 > p > 0,2 | |
| 3 | 6 | 35,0±1,7 (6) | 33,7±1,1 (6) | 1,6 | 0,2 > p > 0,1 | |
| | 12 | 41,9±2,4 (5) | 29,5±1,3 (5) | 10,0 | < 0,001 | |
| | 24 | 40,0±2,7 (6) | 35,1±6,6 (6) | 1,8 | 0,2 > p > 0,1 | |
| | 48 | 79,4±4,5 (5) | 28,9±1,6 (5) | 23,6 | p < 0,001 | |
| | 72 | 42,0±2,3 (4) | 32,5±1,4 (4) | 6,9 | 0,02 > p > 0,01 | |
| | 120 | 42,4±3,4 (6) | 30,3±0,8 (6) | 8,6 | < 0,001 | |
| 4 | 6 | 39,5±4,1 (5) | 32,9±2,0 (5) | 3,2 | 0,05 > p > 0,02 | |
| | 12 | 40,5±3,7 (6) | 31,1±3,2 (6) | 4,7 | 0,01 > p > 0,001 | |
| | 24 | 64,1±2,8 (5) | 31,9±6,2 (5) | 11,6 | < 0,001 | |
| | 48 | 87,1±13,9 (5) | 34,0±13,3 (5) | 6,2 | 0,01 > p > 0,001 | |
| | 72 | 48,0±12,5 (5) | 24,5±5,3 (5) | 3,9 | 0,02 > p > 0,01 | |
| | 120 | 33,6±1,4 (5) | 34,1±1,3 (5) | 0,06 | > 0,9 | |
| 6 | 6 | 47,4±15,1 (7) | 32,1±2,5 (7) | 2,7 | 0,05 > p > 0,02 | |
| | 12 | 121,1±27,9 (7) | 47,6±4,6 (7) | 6,2 | < 0,001 | |
| | 24 | 84,3±8,9 (5) | 21,2±2,2 (5) | 5,0 | 0,01 > p > 0,001 | |
| | 48 | 77,2±16,7 (7) | 40,2±8,5 (7) | 5,2 | 0,01 > p > 0,001 | |
| | 72 | 75,5±14,2 (6) | 30,4±9,2 (6) | 6,5 | 0,01 > p > 0,001 | |
| | 120 | 67,4±6,5 (4) | 30,8±5,3 (4) | 8,7 | 0,01 > p > 0,001 | |

*) średnia arytmetyczna
arithmetic mean**) odchylenie standardowe
standard deviation***) liczba zwierząt
number of animalst — zmienna losowa testu Studenta
Student's testp — prawdopodobieństwo
significance of difference



Wykres 2. Zmiany w zawartości glikogenu w mózgu szczurów w różnym wieku po obustronnym podwiązaniu tętnic szyjnych i zastosowaniu narkozy. ——— zwierzęta kontrolne (narkoza); — — — — — zwierzęta operowane. Punkty przedstawiają średnie z 4—7 oznaczeń, pionowe linie wyznaczają odchylenia standardowe.

Diagram 2. Changes in glycogen content in the brain of rats at various age after bilateral carotid ligation and anaesthesia. ——— control animals (anaesthetized); — — — — — operated animals. The points present the means of 4—7 animals, verticals bars represent plus and minus one standard deviation.

Zawartość glikogenu w mózgach zwierząt doświadczalnych wzrastała znacznie w porównaniu do zwierząt kontrolnych we wszystkich grupach wieku (tabela 1 i wykres 2). Statystycznie znamienne różnice występowały po 24 godzinach u szczurów 1-tygodniowych, a po 12 godzinach od podwiązania tętnic szyjnych we wszystkich pozostałych grupach wieku. Maksymalny, 100% przyrost glikogenu u zwierząt 1, 2, 3 i 4-tygodniowych przypadał na 48 godzinę doświadczenia, po czym jego poziom spadał i zbliżał się, względnie osiągał poziom grupy kontrolnej w 120 godzinie doświadczenia. Narastanie zawartości glikogenu u zwierząt 1, 2 i 3-tygodniowych przebiegało w sposób ostry i przypadało zasadniczo na okres między 24 a 48 godziną po podwiązaniu tętnic szyj-

nych. Krzywa przyrostu glikogenu u zwierząt 4-tygodniowych miała przebieg łagodniejszy.

U szczurów 6-tygodniowych krzywa zmian zawartości glikogenu w mózgu przebiegała w sposób odmienny. Maksymalny przyrost glikogenu przypadał na 12 godzinę po podwiązaniu tętnic szyjnych, przy czym statystycznie znamienne różnice jego zawartości obserwowano już w 6 godzin po zabiegu. Zawartość glikogenu utrzymywała się na wysokim poziomie przez dalsze godziny doświadczenia i w 120 godzinie różniła się nadal znamienne od wartości grupy kontrolnej. Krzywa zawartości glikogenu w mózgu zwierząt 6-tygodniowych w tym przedziale czasu była podobna do krzywej uzyskiwanej u zwierząt dorosłych (wykres 2)*).

Obraz histologiczny

U większości zwierząt z podwiązanymi tętnicami szyjnymi nie stwierdzono istotnych odchyień od stanu prawidłowego w obrazie histologicznym mózgu. W przeciwieństwie jednak do zwierząt dorosłych, obecna była stosunkowo liczna grupa zwierząt, u których stwierdzono ogniskowe lub rozsiane uszkodzenia mózgu, w tym w 9 na 60 morfologicznie zweryfikowanych przypadków ogniska selektywnej lub całkowitej martwicy. Zwraçała przy tym uwagę większa częstość uszkodzeń morfologicznych w młodszych grupach wieku. Uszkodzenia o charakterze ogniskowej lub selektywnej martwicy położone w obszarze unaczynienia tętnicy środkowej mózgu były obecne wyłącznie u zwierząt 1- i 2-tygodniowych. U zwierząt 3-tygodniowych obserwowano jedynie rozsiane zwyrodnienia neuronalne i rozrzedzenia utkania w korze mózgu. W starszych grupach wieku należały one do rzadkości, a ogniska martwicy nie występowały w ogóle.

Obraz histochemiczny

Nieprawidłowe złoży glikogenowe pojawiały się we wszystkich grupach doświadczalnych po upływie 12 godzin od podwiązania tętnic szyjnych. Od 12 do 48 godziny doświadczenia ilość złoży wzrastała we wszystkich grupach wieku, najwydatniej u zwierząt 4- i 6-tygodniowych. Po upływie 5 dni złoży glikogenowe, poza otoczeniem ognisk martwicy, w przypadkach w których one występowały, obecne były tylko u zwierząt 4- i 6-tygodniowych.

*) Dla porównania wykres 2 zawiera dane z grupy zwierząt 10-tygodniowych, stanowiących przedmiot poprzednio opublikowanego opracowania (Pronaszko-Kurczyńska : wsp. 1971).

Złogi glikogenu miały najczęściej charakter ziarnistości rozszanych luźno w neuropilu, z wyraźną tendencją do zagęszczeń okołonaczyniowych (ryc. 1), wokół jąder gleju (ryc. 2), a rzadziej dookoła komórek nerwowych (ryc. 3). Niekiedy złogi glikogenowe, zgromadzone w cytoplazmie i w wypustkach komórek glejowych, wyznaczały ich pełne zarysy, przypominając obrazy uzyskiwane w barwieniach impregnacyjnych (ryc. 4).

Miejszem predykcynego gromadzenia się glikogenu była kora mózgu. Złogi wielocukru występowały w niej w postaci skupień ogniskowych, warstwowych lub rozlanych (ryc. 5). Korowa lokalizacja złogów była typowa dla wszystkich grup wieku, z wyjątkiem zwierząt 1-tygodniowych, u których gromadziły się one przede wszystkim w istocie białej (ryc. 6), rzadziej w jądrach podstawy (ryc. 7), a tylko wyjątkowo w korze mózgu.

W przypadkach występowania ognisk martwicy, niezależnie od wieku zwierząt, w ich brzegach były obecne obfite złogi glikogenowe, leżące luźno w neuropilu lub w przerosłych astrocytach (ryc. 8).

Obraz mikroskopowo-elektronowy

W obrazie mikroskopowo elektronowym charakterystyczne skupienia złogów glikogenu spostrzegano przede wszystkim w wypustkach astrocytów położonych bezpośrednio przy naczyniach lub w ich otoczeniu (ryc. 9). Nieco mniej obfite gromadzenie się glikogenu obserwowano w części perikarialnej astrocytów i na przebiegu ich wypustek nie wykazujących związku z naczyniami (ryc. 10). U szczurów 4- i 6-tygodniowych obserwowano również niewielkie złogi glikogenu w drobnych wypustkach nerwowych i synapsach (ryc. 11, 12), a sporadycznie także w większych dendrytach (ryc. 13). W pojedynczych przypadkach u zwierząt młodszych (4 tygodnie) poza złogami w astrocytach, obserwowano gromadzenie się glikogenu w perikariach i wypustkach oligodendrogleju istoty białej (ryc. 14).

Odkładaniu się glikogenu towarzyszyły minimalne uszkodzenia ultrastruktury komórek, przede wszystkim w postaci obrzmienia okołonaczyniowych wypustek astrogleju i występowania w nich różnej wielkości ograniczonych pojedynczą błoną wodniczek (ryc. 15).

OMOWIENIE

Wyniki przeprowadzonych doświadczeń wskazują, że gromadzenie się glikogenu w tkance nerwowej w następstwie przejściowego niedokrwienia mózgu, wywołanego obustronnym podwiązaniem tętnic szyjnych

wspólnych (Albrecht 1972) jest niezależne od wieku zwierzęcia i związanego z nim stopnia rozwoju ośrodkowego układu nerwowego. Wzrost zawartości glikogenu w półkulach mózgu obserwowaliśmy we wszystkich grupach doświadczalnych. Mimo zróżnicowanego w zależności od wieku poziomu glikogenu w mózgu u zwierząt kontrolnych, rząd wielkości maksymalnego przyrostu glikogenu w następstwie niedotlenienia był zbliżony we wszystkich grupach.

Stopień dojrzałości układu nerwowego wpływa natomiast zarówno na dynamikę zmian w zawartości glikogenu, jak i na jego śródtkankową i śródkomórkową lokalizację. Uwzględniając dane otrzymane na materiale zwierząt dorosłych (Pronaszko-Kurczyńska i wsp. 1971), wyróżnić można dwa typy dynamiki zmian w zawartości glikogenu w mózgu, w następstwie jego przejściowego niedokrwienia.

Typ „niedojrzały” występujący u zwierząt 1, 2 i 3-tygodniowych charakteryzuje się ostrym wzrostem zawartości glikogenu między 12 (—24) i 48 godziną doświadczenia i jego całkowitym powrotem do wartości kontrolnych po upływie 120 godzin. Podobny charakter przyrostu glikogenu w mózgu noworodków małych w następstwie okołoporodowej asfiksji obserwowali Rivera i wsp. (1970), z tym tylko, że w ich materiale maksymalny poziom wielocukru przypadła na 12 godzinę, podczas gdy w naszej serii na 48 godzinę doświadczeń.

Typ „dojrzały” reprezentuje krzywa przyrostu obserwowana u zwierząt dorosłych, charakteryzująca się łagodniejszym wzrostem poziomu glikogenu w przedziale czasu między 12 a 48 godziną doświadczenia i brakiem powrotu do wartości kontrolnych po upływie 5 dni. Dynamika zmian zawartości wielocukru w mózgach zwierząt 4- i 6-tygodniowych zajmuje pozycję pośrednią między typem dojrzałym i niedojrzałym. Zwierzęta 4-tygodniowe różnią się od młodszych grup wieku łagodniejszym przyrostem glikogenu w okresie między 24 a 48 godziną po niedokrwieniu, a krzywa *uzyskana w grupie zwierząt 6-tygodniowych zbliżona jest do krzywej zwierząt dorosłych, różni się jednak od niej szczytowym przyrostem przypadającym na 12 godzinę po zabiegu i statystycznie znamienne podwyższeniem poziomu wielocukru już w 6 godzinie.

Gromadzenie się glikogenu w następstwie przejściowego, wyrównującego się niedokrwienia mózgu, mimo nie wyjaśnionego w pełni jego mechanizmu stanowi niewątpliwie wykładnik zaburzeń metabolizmu glukozy. Proces dojrzewania ośrodkowego układu nerwowego, zachodzący w przedziale czasu zamkniętym skrajnymi grupami wieku naszych doświadczeń wiąże się z licznymi zmianami metabolizmu tkanki nerwowej (Bernsohn i wsp. 1963, Bass i wsp. 1969, Eto, Suzuki 1972 a, b, Ghosh, Guha 1972, Wilson 1972), w tym również z przejściem przemiany glu-

kozy z toru heksozowo-monofosforanowego, charakterystycznego dla mózgu szczurów w pierwszych tygodniach życia pozamacicznego na tor glikolizy (Winick 1970, Balázs 1970). Na okres ten przypada również proces mielinizacji mózgu szczura, z wszystkimi zmianami metabolizmu tkanki nerwowej i jej składu chemicznego (Bass i wsp. 1968, Eto, Suzuki 1972 a, b). Wydaje się przeto uzasadnione wiązanie zróżnicowania dynamiki zmian w zawartości glikogenu w następstwie niedotlenienia mózgu z wyżej wymienionymi procesami metabolicznymi.

Niski poziom glikogenu w mózgu zdrowych 1-tygodniowych szczurów i opóźniony w czasie, w porównaniu z pozostałymi grupami zwierząt jego przyrost w następstwie niedokrwienia, może zależeć między innymi od niskiej w tym okresie rozwoju aktywności heksokinazy w mózgu. Znaczny przyrost poziomu glikogenu w mózgu zwierząt 2-tygodniowych, jest zgodny w czasie z wydatnym zwiększeniem aktywności heksokinazy (Wilson 1972).

Odrębności dynamiki zmian w zawartości glikogenu w mózgu u zwierząt 6-tygodniowych w następstwie niedokrwienia mogą mieć związek ze zmianami metabolicznymi uwarunkowanymi przypadającym na ten okres zakończeniem procesu biochemicznej mielinizacji. Na zależność gromadzenia się glikogenu w tkance nerwowej od fazy mielinizacji zwracali uwagę Mossakowski i wsp. (1968) na podstawie doświadczeń nad asfiksją okołoporodową u małp. Wskazywać na nią mogą również nasze obserwacje dotyczące różnic w lokalizacji złogów glikogenowych w mózgach zwierząt 1-tygodniowych w porównaniu z pozostałymi grupami wieku. Zwierzęta 1-tygodniowe, których mózg znajduje się w zaawansowanej fazie premielinizacyjnej (Bass i wsp. 1968) reprezentowały jedyną grupę wieku, w której glikogen gromadził się w gleju istoty białej, przy prawie całkowitym jego braku w korze mózgu. Ponadto zwraca uwagę fakt, że zmielinizowane pęczki włókien w zwojach podstawy nie zawierały zupełnie złogów glikogenu, podobnie jak zmielinizowana istota biała mózgow szczurów dorosłych (Ibrahim i wsp. 1970, Pronaszko-Kurczyńska i wsp. 1971).

W pozostałych grupach wieku przeważały złogi glikogenowe w formacjach szarych, a przede wszystkim w korze mózgu. Badanie histochemiczne ujawniło astrocytarną i neuropilową lokalizację złogów glikogenowych. Ta ostatnia, jak wynika z obrazów mikroskopowo-elektronowych, odpowiada również skupieniom wielocukru w obrzmiałych wypustkach astrocytów. W przeciwieństwie do zwierząt dorosłych, u szczurów z dojrzewającym układem nerwowym, złogi glikogenu w stosunkowo niewielkiej ilości gromadzą się również w wypustkach komórek nerwowych i synapsach. Long i wsp. (1972) przypuszczają, że odkładanie się glikogenu zachodzi tylko w tych komórkach nerwowych, które posiadają

niezbędny dla syntezy glikogenu aparat enzymatyczny. Niewielkie skupienia ziarnistości glikogenu występowały również w komórkach gleju skąpowypustkowego. Zjawisko to podobnie jak w materiale Mossakowskiego i wsp. (1968) dotyczyło jedynie aktywnie mielinizujących się obszarów istoty białej półkul mózgu.

W naszym materiale zwraca również uwagę częste występowanie nieodwracalnych uszkodzeń tkanki nerwowej w postaci rozległych pól martwicy zupełnej lub selektywnej oraz zwyrodnień komórek nerwowych, nie spotykanych prawie zupełnie u zwierząt dorosłych. Uszkodzenia te przeważają w najmłodszych spośród badanych grup wieku. Na zależność występowania nieodwracalnych uszkodzeń tkanki nerwowej w następstwie jej niedokrwienia od wieku zwierzęcia w momencie zadziałania czynnika uszkadzającego zwrócił uwagę Myers i wsp. (1969) na materiale noworodków małp, którym w życiu płodowym podwiązano tętnice szyjne. Wydaje się, że zależność tę należy odnieść do niedostatecznie wykształconego układu krążenia obocznego, warunkującego u zwierząt dojrzałych wyrównanie zaburzeń krążenia w przypadku podwiązania tętnic szyjnych.

WNIOSKI

1. Obustronne podwiązanie tętnic szyjnych wspólnych u szczurów wywołujące krótkotrwałe niedokrwienie półkul mózgu, niezależnie od stopnia dojrzałości ośrodkowego układu nerwowego, prowadzi do wzrostu zawartości glikogenu w tkance nerwowej w okresie poniedokrwieniowym. Rząd wielkości maksymalnego przyrostu zawartości glikogenu w mózgu jest jednakowy we wszystkich badanych grupach wieku, podczas gdy zawartość glikogenu w mózgu zwierząt kontrolnych wykazuje wyraźne uwarunkowanie od wieku zwierzęcia.

2. Stopień dojrzałości ośrodkowego układu nerwowego wpływa na dynamikę zmian zawartości glikogenu w mózgu w następstwie podwiązania tętnic szyjnych i na jego rozkład topograficzny.

3. Nieprawidłowe złogi glikogenu, stanowiące wykładnik zaburzeń w metabolizmie glukozy, gromadzą się przede wszystkim w cytoplazmie i wypustkach astrogleju, w mniejszym stopniu w drobnych wypustkach nerwowych i synapsach, a sporadycznie tylko w komórkach gleju skąpowypustkowego.

4. W młodych grupach wieku (1, 2 tygodnie) mechanizmy zabezpieczające wyrównanie zaburzeń w krążeniu w następstwie obustronnego podwiązania tętnic szyjnych są mniej sprawne, czego wyrazem jest powstawanie ogniskowych nieodwracalnych uszkodzeń tkankowych, nie spotykanych u zwierząt z dojrzałym układem nerwowym.

М. Е. Массакowski, А. Пронашко-Курчиньска, Я. Кортхальс, А. Врутняк

ВЛИЯНИЕ УМЕРЕННОЙ АНЕМИЗАЦИИ НА УРОВЕНЬ ГЛИКОГЕНА В МОЗГУ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ЗРЕЛОСТИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Резюме

Авторы исследовали зависимость откладывания гликогена в мозгу вследствие умеренной анемизации от степени зрелости центральной нервной системы. Исследования проводились на крысах обоего пола, которым в возрасте 1, 2, 3, 4 и 6 недель обесторонне подвязывали общие сонные артерии. Животных убивали после 6, 12, 24, 48 и 120 часов от операции и оценивали содержание гликогена в мозгу биохимическими методами, а также при помощи гистохимических и электронномикроскопических исследований определяли его внутритканевую и внутриклеточную локализацию. Эти исследования дополнялись гистологической оценкой степени тканевых повреждений. Животные, подвергнутые исключительно воздействию эфирного наркоза или контрольной операции и не подвергнутые никакой операции были контрольным материалом.

На основании проведенных исследований авторы обнаружили, что независимо от возраста животных экспериментальных вследствие умеренной анемизации имеет место переходящее скопление гликогена в мозгу, подобное как это наблюдалось на материале взрослых животных. Возраст животных, а следовательно и степень зрелости центральной нервной системы, существенным образом влияет на динамику изменений и локализацию гликогеновых отложений.

Были выделены два типа увеличения содержания гликогена, а именно:

- „незрелый” тип, обнаруживающийся у 1, 2, 3-недельных животных, характеризующийся острым, кратковременным ростом уровня гликогена и его возвращением к контрольным величинам спустя 120 часов;
- „зрелый” тип, наблюдающийся у 10-недельных животных, характеризующийся более растянутым во времени приращением уровня полисахарида и отсутствием его возвращения к контрольным величинам спустя 120 часов.

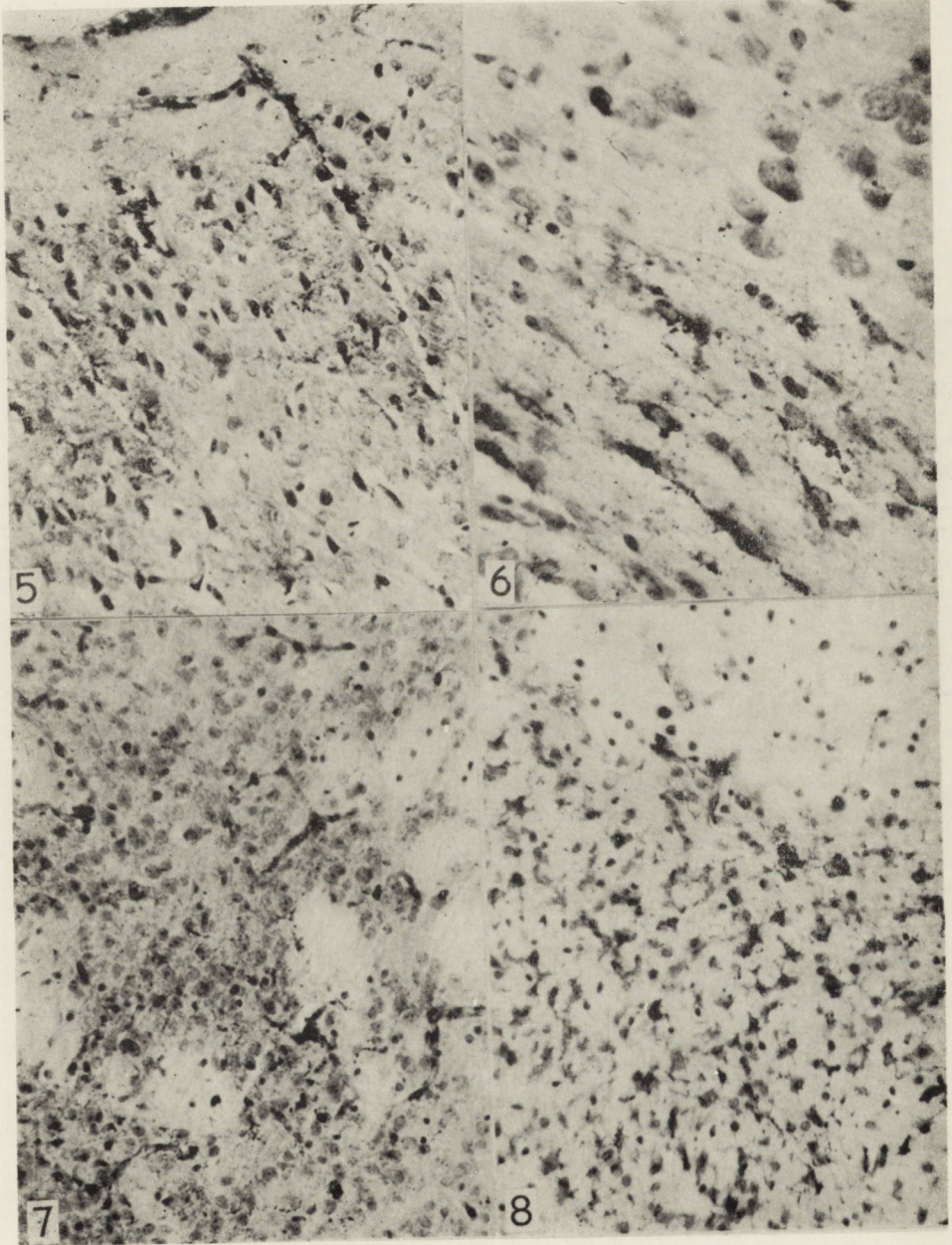
Изменения у 4- и 6-недельных животных представляют переход между „зрелым” и „незрелым” типом, причем однако, что отличительной особенностью 6-недельных животных является достижение максимального приращения гликогена уже спустя 12 часов от подвязки сонных артерий, в то время как у всех остальных возрастных групп оно приходило на 48 час опыта.

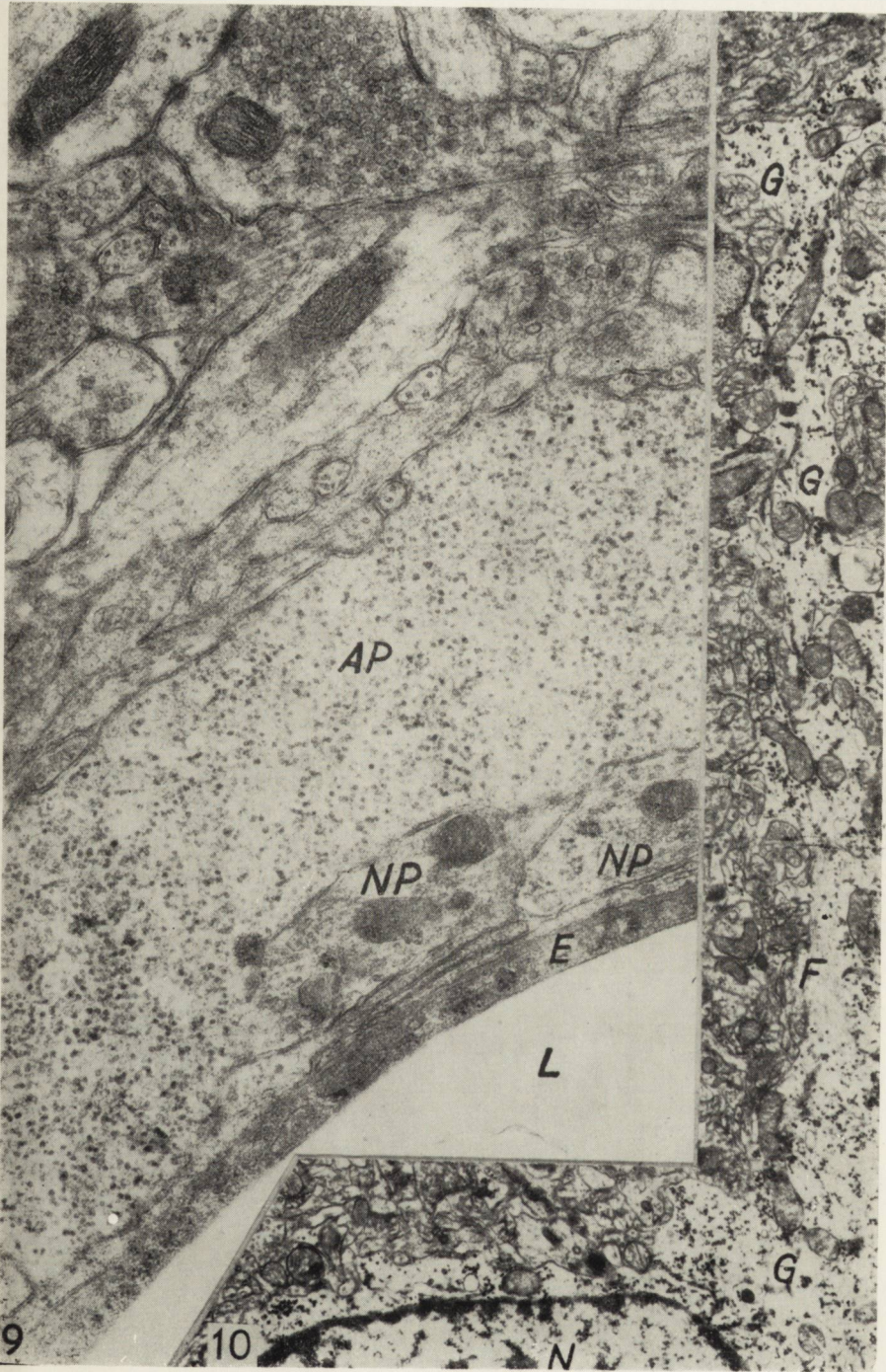
Во всех группах возраста, за исключением 1-недельных животных, гликоген скапливался в мозговой коре. У 1-недельных животных отложения полисахарида имелись почти исключительно в белом веществе и базальных ганглиях.

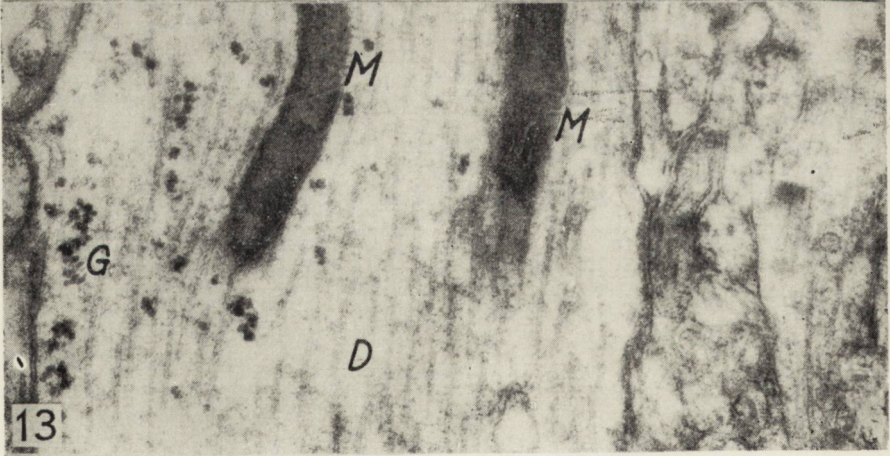
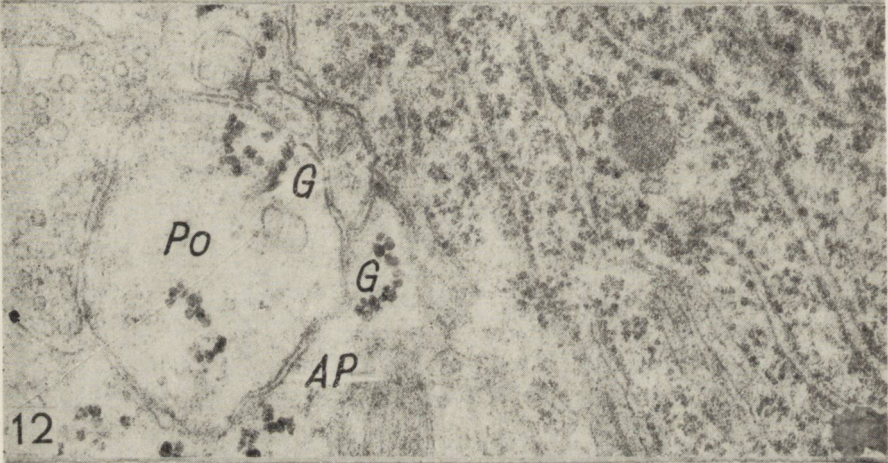
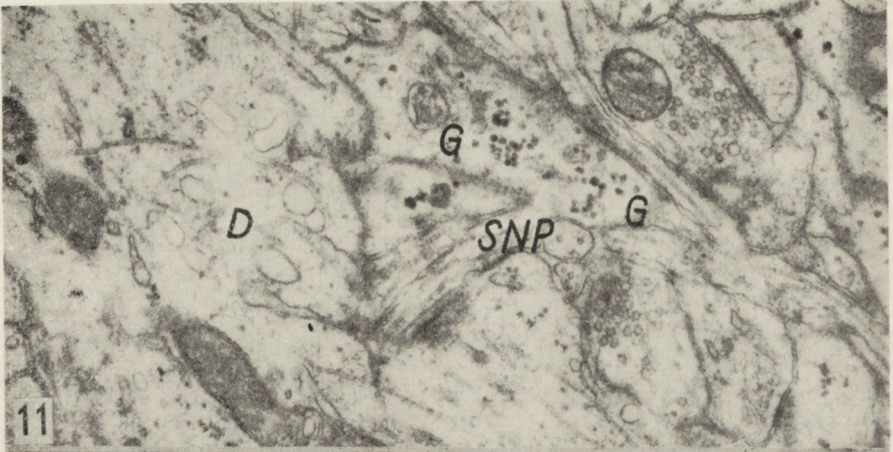
Электронномикроскопическое исследование позволило локализовать отложения прежде всего в клетках астроглии, а в старших возрастных группах кроме того в синапсах и мелких и иногда более крупных дендритах.

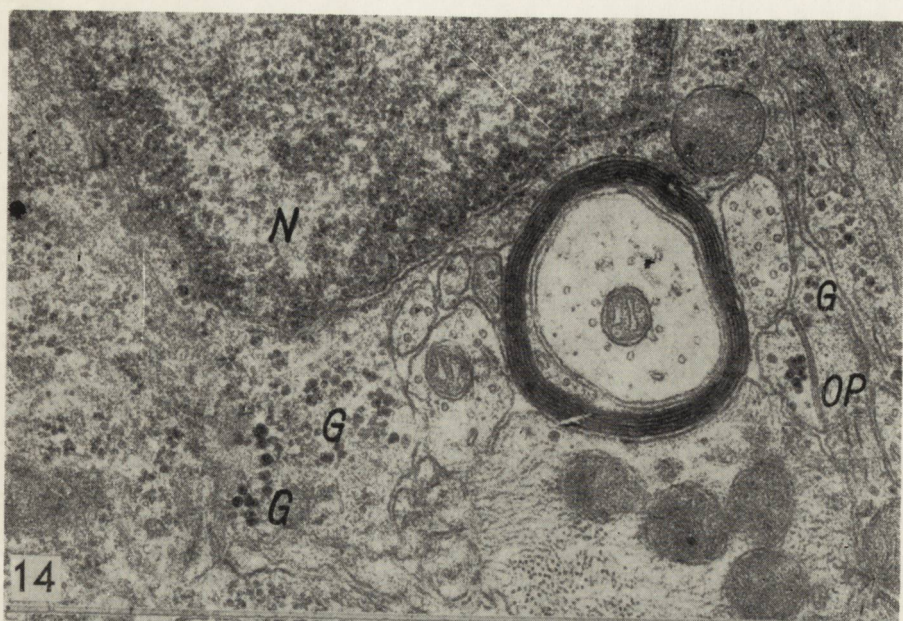
Авторы обращают внимание на частое нахождение очагов некроза в мозгах 1- и 2-недельных животных. Это явление авторы связывают с необразовавшейся к этому времени сетью коллатерального кровообращения, обуславливающей у более старых животных компенсацию нарушения кровообращения после обесторонней подвязки сонных артерий.











M. J. Mossakowski, A. Pronaszko-Kurczyńska, J. Korthals, A. Wrutniak

EFFECT OF MODERATE ISCHEMIA ON THE GLYCOGEN LEVEL IN BRAIN
ACCORDING TO THE DEGREE OF MATURITY OF THE CENTRAL
NERVOUS SYSTEM

Summary

The authors have studied the dependence of glycogen accumulation following moderate ischemia, on the degree of maturity of the central nervous system. The studies were performed on rats of both sexes, which in the age of 1, 2, 3, 4 and 6 weeks were subjected to bilateral ligation of the common carotid arteries. The animals were sacrificed after 6, 12, 24, 48 and 120 hrs following operation. The glycogen content in brain was assayed with biochemical methods and its tissue — and intracellular localization determined by means of histochemical and electron-microscopic examinations. These studies were supplemented with the histological estimation of the degree of tissue impairment. The animals subjected exclusively to anesthesia or sham operation and those not subjected to any operation constituted the control material.

Basing on the experiments performed the authors found that in consequence of moderate ischemia a transient accumulation of glycogen in brain occurs independently of the animals' age, as it was previously observed on the material from the adult rats. However, the age and thus the degree of maturity of the central nervous system, markedly effects both the dynamics of changes and localization of glycogen deposits.

Two types of the increase of the glycogen content in brain were distinguished: 1) "immature" type, occurring in 1-, 2- and 3-weeks-old animals, characterized by a sharp, short-lasting increase of the glycogen level and return to the control values after 120 hrs; 2) "mature" type, occurring in 10-weeks-old animals, characterized by a more stretched in time increase of the polysaccharide content and lack of return to the control values within 120 hrs.

The changes observed in 4-weeks- and 6-weeks-old animals constitute a transition between the "mature" and "immature" type. A distinct feature of 6-week-old animals is that in this group the maximal increase of the glycogen content is reached already within 12 hrs following operation, while in all the other groups it falls on the 48 th hr of the experiment.

In all the age groups but 1-week-old animals, glycogen accumulated in the cerebral cortex. In the latter group, the glycogen, deposits almost exclusively occurred in the white matter and basal ganglia.

The electron-microscopic examination allowed to localize the deposits first of all in the astroglial cells, and in the older groups in addition in synapses and small and then also bigger dendrites.

The authors emphasize a frequent appearance of necrotic foci in the brains of 1- and 2-weeks-old animals. This phenomenon is related to the undeveloped net of collateral circulation, which in the older animals determines the compensation of circulation disturbances following bilateral ligation of the common carotid arteries.

PIŚMIENNICTWO

1. Albrecht J.: Wpływ niedotlenienia i niedokrwienia na biosyntezę białek w mózgu szczura. *Neuropat. Pol.* 1972, X, 457—465.
2. Balázs R.: Carbohydrate metabolism. W *Handbook of Neurochemistry*, ed. Lajtha 1970, Plenum Press, New York, s. 1—29.
3. Bass N. H., Netsky M. G., Young E.: Microchemical studies on postnatal development of rat cerebrum. 2. Formation of myelin. *Neurology*, 1969, 9, 405—414.
4. Bernsohn J., Barron K. D., Hess A. R., Hedrick M. T.: Alteration in properties and isoenzyme patterns of esterases in the developing rat brain. *J. Neurochem.* 1963, 10, 783—794.
5. Bulmer D.: Dimedon as an aldehyde blocking reagent to facilitate the histochemical demonstration of glycogen. *Stain. Tech.* 1959, 34, 95—98.
6. Crowell R. M., Olsson Y., Klatzo I., Ommaya A. K.: Temporary Focal Ischemia in the Monkey. *Transact. Amer. Neurological Assoc.* Vol. 95, 1970, 229—231.
7. Eto Y., Suzuki K.: Cholesterol esters in developing rat brain concentration and fatty acid composition. *J. Neurochem.* 1972a, 19, 109—115.
8. Eto Y., Suzuki K.: Cholesterol esters in developing rat brain enzymes of cholesterol esters metabolism. *J. Neurochem.* 1972b, 19, 117—121.
9. Gosh S. K., Guha S. R.: Oxidation of monoamines in developing rat and guinea pig brain. *J. Neurochem.* 1972, 19, 229—231.
10. Ibrahim M. Z. M., Pascoe E., Alam S., Miquel J.: Glycogen and phosphorylase activity in rat brain during recovery from several forms of hypoxia. *Amer. J. Path.* 1970, 60, 403—415.
11. Long D. M., Mossakowski M. J., Klatzo I.: Glycogen accumulation in spinal cord motor neurons due to partial ischemia. *Acta Neuropath. (Berl.)* 1972, 20, 335—347.
12. Mossakowski M. J., Long D. M., Myers F. E., Rodrigez de Curet H., Klatzo I.: Early histochemical changes in perinatal asphyxia. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1968, 27, 500—516.
13. Mossakowski M. J., Zelman I.: Zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym na skutek niedoboru tlenu w warunkach doświadczalnych. *Postępy Astronautyki*, Supl. 1, 37—50.
14. Myers R. E.: Brain pathology following fetal vascular occlusion. *Investigative ophthalmology*. Vol 8, 1969, II, 41—50.
15. Nelson N.: A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.* 1944, 153, 375—380.
16. Pronaszko-Kurczyk A., Mossakowski M. J., Ostenda M., Korthals J.: Zmiany zawartości glikogenu w mózgu w doświadczalnej ischemii. *Neuropat. Pol.* 1971, IX, 281—296.
17. Rivera A. Jr., Brann A. W. Jr., Myers R. E.: Brain glycogen of the recovering asphyxiated monkey newborn. *Exp. Neurol.* 1970, 26, 309—315.
18. Wilson J. E.: The relationship between glycolytic and mitochondrial enzymes in the developing rat brain. *J. Neurochem.* 1972, 19, 223—227.
19. Winick M.: Nutrition and nerve cell growth. *Fed. Proc.* 1970, 29, 1510—1515.

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

PODPISY POD RYCINY

Ryc. 1. Ziarniste złoży glikogenu rozsiane w neuropilu kory mózgu z wyraźnym zagęszczeniem dookoła naczynia. Szczur 4-tygodniowy, 48 godz. po podwiązaniu tętnic szyjnych. PAS-dimedon. Pow. 200 ×.

Fig. 1. Granular glycogen deposits within cortical neuropil. Perivascular polysaccharide aggregation. 4 week old rat, 48 hrs following bilateral carotid ligation. PAS-dimedon. × 200.

Ryc. 2. Złoży glikogenowe w neuropilu kory mózgu 3-tygodniowego szczura. Widoczne drobne skupienia ziaren glikogenu dookoła jąder astrogleju i wypełniające okołonaczyniowe wypustki astrocytów. 24 godz. po podwiązaniu tętnic szyjnych. PAS-dimedon. Pow. 100 ×.

Fig. 2. Neuropil glycogen deposits within the cerebral cortex of a 3 week old rat, 24 hrs following carotid ligation. Small granular aggregations surrounding astrocytic nuclei and those filling perivascular astrocytic feet are visible. PAS-dimedon. × 100.

Ryc. 3. Okoľoneuronalne złoży glikogenu w korze mózgu szczura 6-tygodniowego, 12 godzin po podwiązaniu tętnic szyjnych. PAS-dimedon. Pow. 400 ×.

Fig. 3. Perineuronal glycogen accumulation within the cortex of a 6-week old rat, 12 hrs following carotid ligation. PAS-dimedon. × 400.

Ryc. 4. Złoży glikogenu wypełniające perikaria i wypustki astrocytów w korze mózgu szczura 4-tygodniowego, 48 godz. po podwiązaniu tętnic szyjnych. PAS-dimedon. Pow. 200 ×.

Fig. 4. Glycogen deposits filling astrocytic perikarya and processes within the cortex of 4 week old rat, 48 hrs following carotid ligation. PAS-dimedon. × 200.

Ryc. 5. Nierównomiernie rozsiane złoży glikogenu w korze mózgu 2-tygodniowego szczura, 24 godz. po podwiązaniu tętnic szyjnych. PAS-dimedon. Pow. 60 ×.

Fig. 5. Pachy distribution of glycogen deposits within the cortical neuropil in a 2 week old rat, 24 hrs following carotid ligation. PAS-dimedon. × 60.

Ryc. 6. Złoży glikogenu ograniczone do gleju istoty białej u 1-tygodniowego szczura w 24 godz. po podwiązaniu tętnic szyjnych. Kora nie zawiera ziarnistości wielocukru. PAS-dimedon. Pow. 200 ×.

Fig. 6. Glycogen deposits limited to the white matter astrocytes and their extensions in a 1 week old rat 24 hrs following carotid ligation. Cortex apparently free of any polysaccharide deposition. PAS-dimedon. × 200.

Ryc. 7. Obfite złoży glikogenu rozsiane w istocie szarej zwojów podstawy u tygodniowego szczura, 48 godz. po podwiązaniu tętnic szyjnych. Pęczki istoty białej wolne od złoży wielocukru. PAS-dimedon. Pow. 60 ×.

Fig. 7. Abundant glycogen deposits within basal ganglia of a 1 week old rat, 48 hrs following carotid ligation. Striopallidal bundles free of glycogen. PAS-dimedon. × 60.

Ryc. 8. Brzeg ogniskā martwicy w korze mózgu 2-tygodniowego szczura z obfitymi złoży glikogenu, leżącymi luźno w tkance i skupionymi w cytoplazmie astrocytów. 120 godz. po podwiązaniu tętnic szyjnych. PAS-dimedon. Pow. 60 ×.

Fig. 8. Margin of necrotic focus within the cortex of a 2 week old rat, 120 hrs following carotid ligation. Abundant glycogen deposits lying free in the tissue and filling cytoplasm of hypertrophied astrocytes are visible. PAS-dimedon. × 60.

Ryc. 9. Przynaczyniowa wypustka astrocytarna (AP) wypełniona licznymi ziarnami glikogenu. L — światło naczynia, E — komórka śródbłónka, NP — wypustka nerwowa. ME. Pow. 28.000 ×.

Fig. 9. Perivascular astrocytic process (AP) filled with numerous glycogen deposits. L — vascular lumen, E — endothelial cell, NP — process of nerve cell. E. M. × 28.000.

Ryc. 10. Liczne ziarna glikogenu (G) rozsiane w cytoplazmie i wypustce astrocytu. N — jądro, F — gliofilamenty. ME. Pow. 7.000 ×.

Fig. 10. Abundant glycogen grains (G) within astrocytic perikaryon and process. N — nucleus, F — gliofilaments. E. M. × 7.000.

Ryc. 11. Ziarna glikogenu (G) w drobnej wypustce nerwowej (SNP). D — dendryt. ME. Pow. 26.000 ×.

Fig. 11. Glycogen grains (G) in a small nerve cell process (SNP). D — dendrite. E. M. × 26.000.

Ryc. 12. Ziarna glikogenu (G) w części postsynaptycznej synapsy (Po) i wypustce astrocytu (AP). ME. Pow. 32.000 ×.

Fig. 12. Glycogen grains (G) in postsynaptic area (Po) and in astrocytic process (AP). E. M. × 32.000.

Ryc. 13. Złogi glikogenowe (G) w dużym dendrycie (D). M — mitochondria. ME. Pow. 31.000 ×.

Fig. 13. Glycogen rosettes (G) in a large dendrite (D). M — mitochondrium. E. M. × 31.000.

Ryc. 14. Złogi glikogenu (G) w cytoplazmie i wypustce (OP) oligodendrocytu istoty białej. N — jądro. ME. Pow. 33.000 ×.

Fig. 14. Glycogen deposition (G) within perikaryon and process (OP) of the white matter oligodendroglial cell. N — nucleus. E. M. × 33.000.

Ryc. 15. Wypustka astrocytu wypełniona licznymi ziarnami glikogenu (G) zawierająca wodniczki otoczone pojedynczą błoną (V). ME. Pow. 12.000 ×.

Fig. 15. Astrocytic process filled with glycogen grains (G) containing single membrane bound vacuoles (V). E. M. × 12.000.

JAN KORTHALS

PRZYPADEK NIETYPOWYCH USZKODZEŃ
ULTRASTRUKTURALNYCH KORY MÓZGU SZCZURA
W PRZEBIEGU DOŚWIADCZALNEGO
NIEDOKRWIENIA MÓZGU *)

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN
Kierownik: prof. dr M. J. Mossakowski

Przedstawiony przypadek pochodzi z serii badań prowadzonych w Zespole Neuropatologii CMDiK PAN, nad doświadczalnym niedokrwieniem mózgu szczurów (Mossakowski i wsp. 1973). O jego wyodrębnieniu zdecydowało przypadkowe stwierdzenie bogatego i nietypowego zespołu zmian ultrastrukturalnych w korze mózgu, stanowiących przyczynek do poznania ultrastruktury zwyrodnienia neuronalnego, przede wszystkim włóknienkowego i neurogenego zwyrodnienia gąbczastego.

OPIS PRZYPADKU

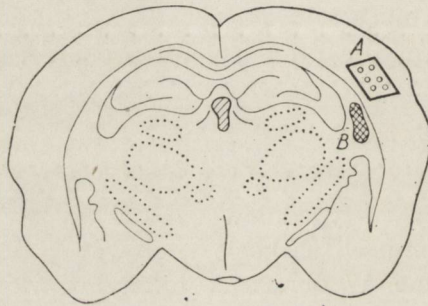
Przypadek dotyczył 4-tygodniowego szczura białego, rasy Wistar, płci żeńskiej, któremu w narkozie eterowej podwiązano obustronnie tętnice szyjne wspólne. W obrazie klinicznym zwierzę nie wykazywało żadnych odchyśleń od normy, poza znacznym obniżeniem ruchliwości bezpośrednio po zabiegu. Po 48 godzinach od podwiązania tętnic szyjnych wykonano przezsercową perfuzję 4% roztworem aldehydu glutarowego w buforze fosforanowym o pH 7,3. W sposób rutynowy pobrano drobne wycinki z kory i istoty białej obu okolic ciemieniowych. Błoczki tkanki utrwalano dodatkowo przez okres 1 godziny w 2% czterotlenku osmu, odwadniano w roztworach etanolu o wzrastających stężeniach, zatapiano w Eponie 812 i skrawano w ultramikrotomie f-my Reichert na skrawki półcienkie o grubości 0,5—1 μ i ultracienkie. Skrawki półcienkie do badań w mikroskopie świetlnym barwiono błękitem toluidyny. Ultracien-

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

kie skrawki podbarwiane cytrynianem ołowiu i octanem uranylu oglądano w mikroskopie elektronowym JEM 7A.

Blok tkanki przechodzący przez obie półkule mózgu, położony stycznie do miejsca pobrania materiału do badań w mikroskopie elektronowym zatopiono w parafinie. Skrawki barwiono hematoksyliną-eozyną i metodą Heidenhaina oraz metodą PAS-dimedon dla wykrycia glikogenu.

W preparatach histologicznych stwierdzono niewielkich rozmiarów ognisko martwicy położone podkorowo w istocie białej półkuli prawej mózgu. Ognisko znajdowało się nieco poniżej tej okolicy kory mózgu, z której pobrano wycinki do badań mikroskopowo-elektronowych (schemat 1). Przy przeglądaniu półcienkich skrawków z kory mózgu napotkano w prawej okolicy ciemieniowej drobne ognisko zgąbczenia. Zrekonstruowany stosunek ogniska martwicy w istocie białej i zgąbczenia w korze przedstawiono na schemacie 1. Poza tym obraz histologiczny mózgu nie wykazywał uszkodzeń. W barwieniu metodą PAS-dimedon stwierdzono ziarniste złogi glikogenu w korze i mniej intensywne w istocie białej, podobnie jak u innych zwierząt tej samej grupy doświadczalnej (Mossakowski i wsp. 1973). Badanie mikroskopowo-elektronowe wykazało astrocytarną lokalizację złogów.



Schemat 1. Stosunek topograficzny zmian gąbczastych w korze do ogniska martwicy w istocie białej. A — wycinek kory z ogniskiem zgąbczenia badanym w mikroskopie elektronowym, B — ognisko martwicy w istocie białej.

Diagram 1. Topographic relation of spongy changes in the cortex to necrotic focus in white matter. A — cortex fragment with focus of spongy degeneration examined in the electron microscope, B — necrotic focus in the white matter.

Na obraz ultrastrukturalny korowego ogniska zgąbczenia składały się liczne, różnej wielkości i typu jamki. Największe jamki o średnicy dochodzącej do 17μ były umiejscowione między nie uszkodzonym lub zwyrodniałym aksonem i nieprzerwaną osłonką mielinową (ryc. 1). Przy dobrze stosunkowo zachowanych osłonkach mielinowych można było stwierdzić, że te jamki powstawały na skutek rozszczepienia dwóch

najbardziej wewnętrznych blaszek mieliny, wzdłuż tzw. interperiod line (ryc. 2), przy czym wypustki cytoplazmatyczne osłonki mielinowej zarówno w odcinku międzywęzłowym, jak i przy przewężeniu Ranviera zachowywały na ogół niezmienną strukturę. Niekiedy tylko spostrzegano obrzmienie wypustki z wytwarzaniem niewielkiej jamki zawierającej ziarnisty materiał, w odróżnieniu od elektronowo pustych jamek powstających w następstwie rozwarstwienia osłonek mielinowych. Rzadko spotykano jamki otoczone wyłącznie uszkodzoną lub stosunkowo dobrze utrzymaną osłonką mielinową.

Najczęściej występowały jamki ograniczone wypustkami nerwowymi lub glejowymi, rzadziej błoną części perikarialnej komórek, lub też oddzielone podwójną błoną od jamek tego samego typu (ryc. 3). Ich średnica dochodziła zazwyczaj do 11μ . Na podstawie obecności pęcherzyków synaptycznych i wyspecjalizowanych błon synaptycznych, możliwe było określenie aksonalnego pochodzenia przynajmniej części z tych jamek. Obserwowano niekiedy jamki powstałe z rozpadu całego pęczka drobnych wypustek aksonalnych (ryc. 4). Spotykano również znacznie obrzmiałe dendryty wypełnione rozrzedzonym, ziarnistym materiałem z zachowanymi pojedynczymi organellami, takimi jak mitochondria, pęcherzyki lub tubule.

Stwierdzono również jamki, których cechy ultrastrukturalne wskazywały na pochodzenie glejowe. Były one położone przy naczyniach o zartartej strukturze ściany. Obrazy takie należały jednak do wyjątków, w całym badanym materiale zwracał bowiem uwagę brak obrzmienia gleju i uszkodzenia ścian naczyniowych, a jamki położone w pobliżu naczyń były oddzielone od ich ścian wąskim pasmem wypustki glejowej i wypustkami nerwowymi.

Najrzadziej spotykano jamki (pęcherze) o średnicy do 3μ otoczone pojedynczą błoną, umiejscowione wewnątrz aksonów lub dendrytów.

Wypustki komórek nerwowych i synapsy zachowane w obrębie ogniska zgałczenia wykazywały szereg nieprawidłowości. Najczęściej dochodziło do wybitnego pomnożenia włókienek o grubości 60Å , układających się w wiązki (ryc. 5). Wewnątrz obrzmiałych wypustek nerwowych i synaps występowały niekiedy owalne, otoczone podwójną błoną twory wypełnione pilśnią, opisanych powyżej włókienek. Czasami spostrzegano w wypustkach pomnożenie morfologicznie niezmiennych włókienek o grubości 100Å . Ponadto w wypustkach nerwowych występowały liczne, ułożone podłużnie, nieprawidłowe struktury włókniste, przypominające tzw. Hirano bodies (ryc. 6 i 7) (Hirano 1968). Analogiczne twory spotykane w zakończeniach presynaptycznych, ułożone zazwyczaj współśrodkowo lub spiralnie miały wygląd tzw. lamellated whorls (ryc. 8), opisanych przez Ramsey (1968). W naszym materiale podstawowa

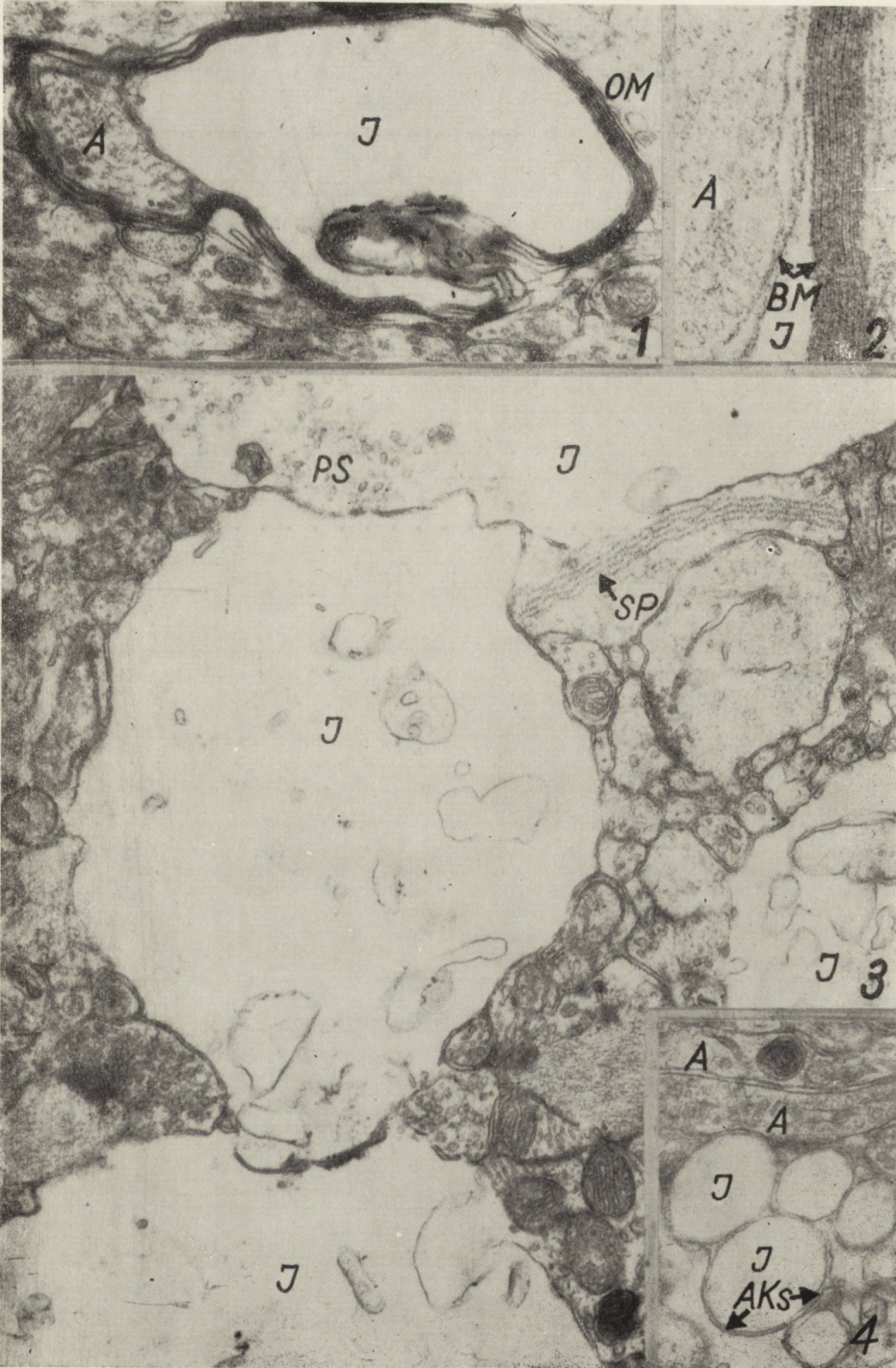
struktura obu tworów była identyczna. Można było wyróżnić w nich elementy blaszkowate o szerokości około 150Å i paciorkowate. Elementy obu typów przechodziły niekiedy w układy pasmowate. Obserwowano również przechodzenie włókienek o regularnej, zbitej, pasemkowej strukturze w luźniej ułożoną pilśń włókienkową (ryc. 9).

W poszerzonych odcinkowo wypustkach nerwowych spotykano często liczne drobne pęcherzyki, otoczone pojedynczą lub podwójną błoną, zazwyczaj elektronowo optycznie puste, rzadziej zawierające w części centralnej elektronowo gęsty, jednorodny materiał (ryc. 7, 10). Pęcherzykom tym towarzyszyły na ogół liczne, krótkie, nieregularnie obrysowane tubule (ryc. 10). Rzadko tylko spotykano rozgałęzione struktury tubularne (ryc. 11). W części wypustek nerwowych występowało pomnożenie mitochondriów przemieszanych często z ciałami gęstymi (ryc. 8). Spostrzegano również tzw. „ciemne profile”, powstające w następstwie zagęszczenia cytoplazmy wypustek nerwowych (ryc. 10). Niekiedy była widoczna wakuolizacja ciemnego neurytu. Czasem był obecny ziarnisty rozpad aksoplazmy.

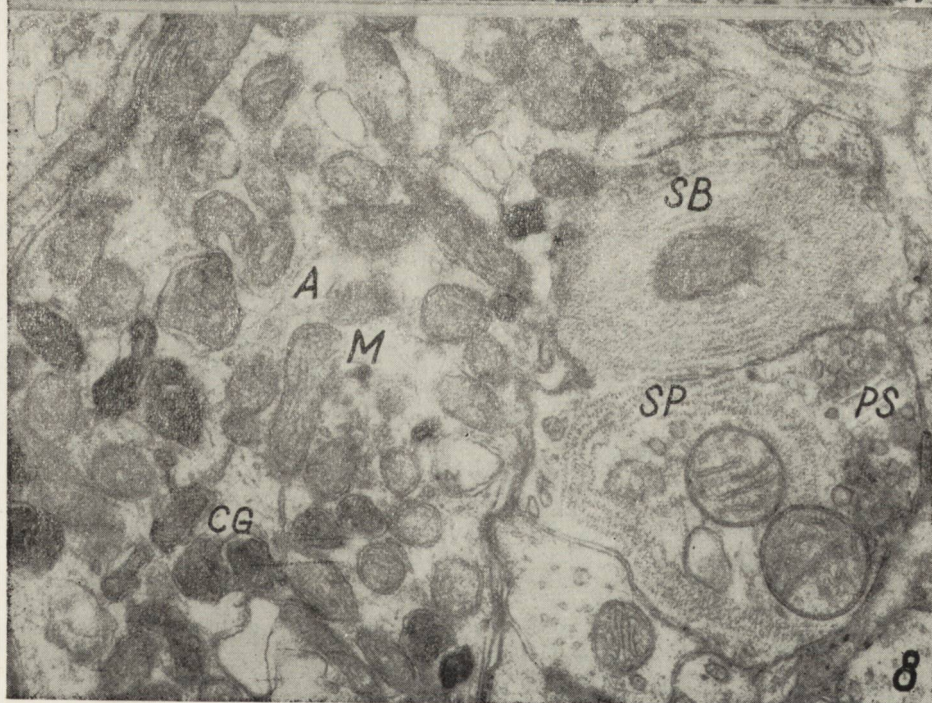
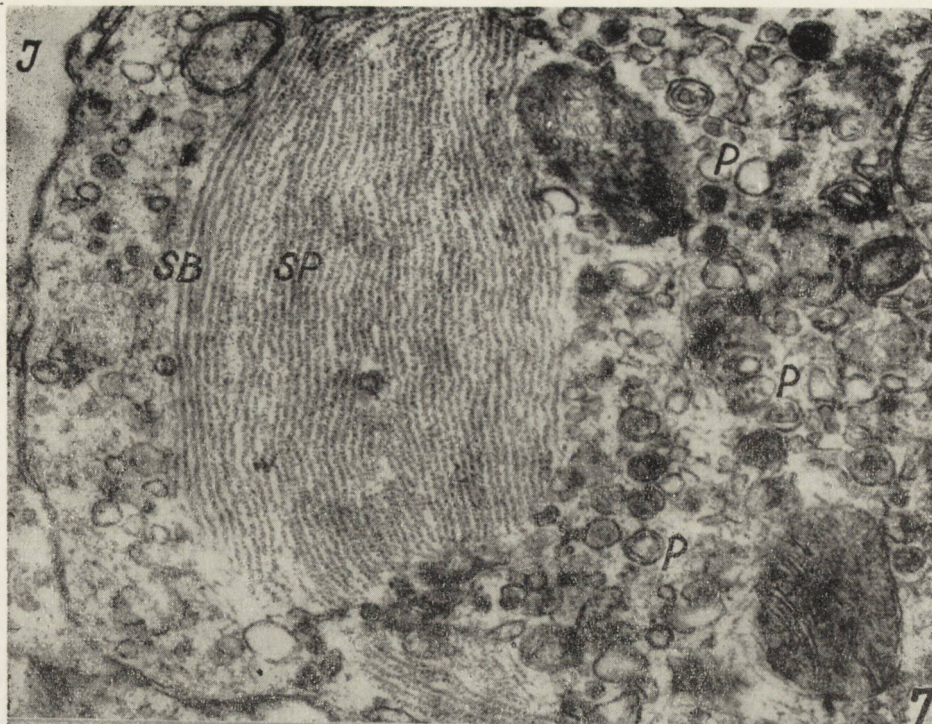
Ze względu na trudności rozróżnienia patologicznie zmienionych aksonów i dendrytów, nie można było wykazać zależności charakteru opisanych zmian od rodzaju wypustki nerwowej. W wypustkach, które można było zakwalifikować jako aksony, występował przede wszystkim rozplem włókienek i struktury blaszkowato-paciorkowate, rzadziej spostrzegano ziarnisty rozpad, niekiedy „ciemne profile” i zagęszczenie mitochondriów oraz ciał gęstych. Tylko sporadycznie spostrzegano obecność pęcherzyków. Dendryty ulegały przede wszystkim zwyrodnieniu pęcherzykowo-tubularnemu. Obserwowano w nich jednak również rozplem włókienek (ryc. 5) i struktury blaszkowato-paciorkowate. Spotykane „ciemne profile” dendrytów nie zawsze ulegały wakuolizacji. W dendrytach o stosunkowo dobrze zachowanej strukturze spotykano bardzo duże mitochondria. Sporadycznie w cytoplazmie dendrytów występowały struktury synapsopodobne.

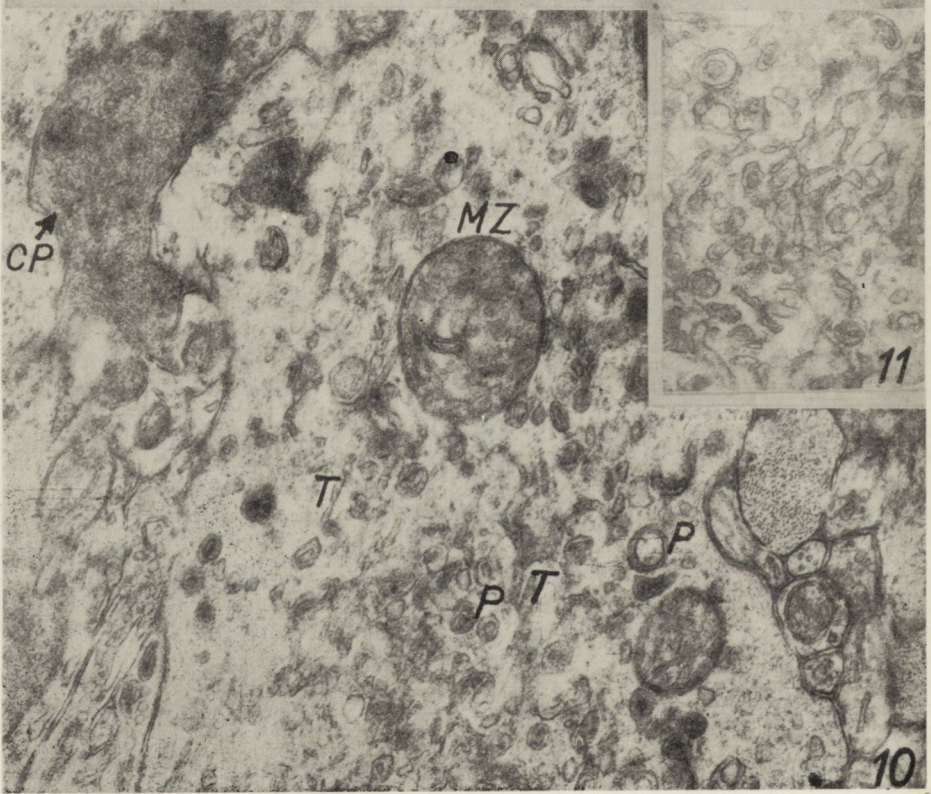
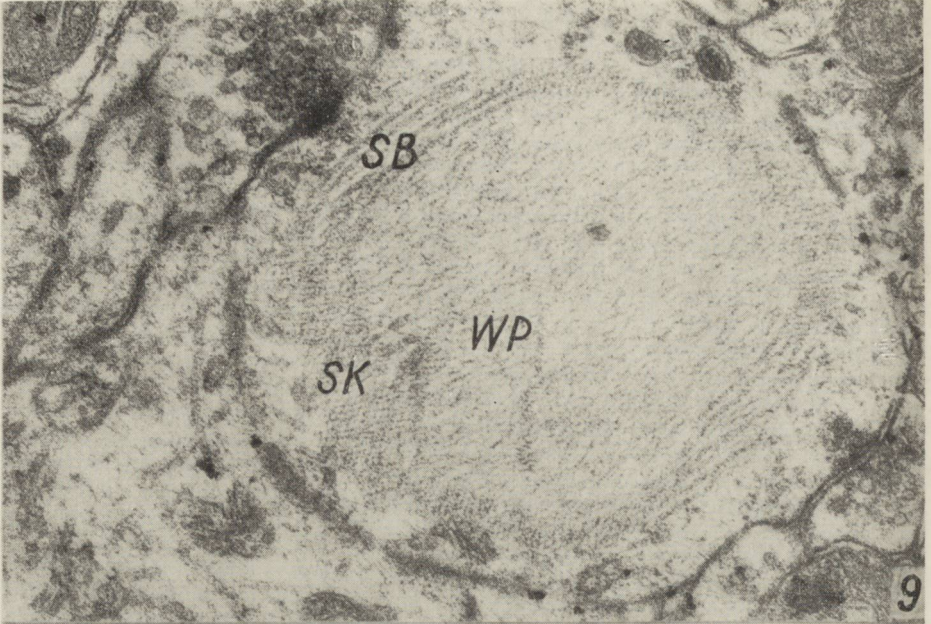
W części perikarialnej neuronów zmiany patologiczne były mniej nasilone niż w wypustkach. Najczęściej obserwowano zanik szorstkiej siatki śródplazmatycznej. W cytoplazmie neuronów były widoczne jedynie nieliczne, krótkie, chaotycznie ułożone jej fragmenty. Zmianom tym towarzyszyło zwykle pofałdowanie błony jądrowej. W pojedynczych neuronach spostrzegano jednak zwiększenie liczby wolnych rybosomów, skupiających się wokół jądra. W niektórych neuronach był obecny wzrost liczby mitochondriów lub ich znaczne powiększenie, prowadzące do powstawania postaci olbrzymich.

Wśród zmienionej patologicznie tkanki nerwowej, występowały liczne makrofagi o ultrastrukturze zbliżonej do obrazu tzw. gleju wielopotem-









cyjnego (Vaughn i wsp. 1970), zwanego również trzecią postacią neurogleju. Charakterystyczną cechą makrofagów była obecność koncentrycznych struktur włóknistych, wykazujących łączność z siatką śródplazmatyczną. W cytoplazmie makrofagów były widoczne liczne twory mielinopodobne, a niekiedy mniejsze jamki, o charakterze opisanym powyżej. Obserwowano również obrazy wskazujące na brak ciągłości błon komórkowych między makrofagami a uszkodzonymi neuronami.

Badania mikroskopowo-elektronowe mózgow szczerów z tego samego miotu i tych samych warunków doświadczalnych wykazało, że zmiany ultrastrukturalne ograniczały się jedynie do obrzmienia wypustek astrocytów i odkładania się w nich złogów glikogenu. Taki sam charakter miały zmiany w korze ciemieniowej lewej półkuli mózgu.

OMÓWIENIE PRZYPADKU

W przeciwieństwie do większości zwierząt stanowiących przedmiot badań nad wpływem obustronnego podwiązania tętnic szyjnych wspólnych na obraz histologiczny, histochemiczny i ultrastrukturalny ośrodkowego układu nerwowego (Mossakowski i wsp. 1973) w przedstawionym przypadku wystąpiło nieodwracalne uszkodzenie tkanki nerwowej w postaci ogniska martwicy w istocie białej. Topograficzny stosunek tego ogniska do zmienionej kory mózgu pozwala przypuszczać, że opisane ultrastrukturalne nieprawidłowości korowe rozwinęły się w następstwie uszkodzenia przebiegających przez nie włókien nerwowych.

O bogactwie i odrębnościach zmian ultrastrukturalnych w korze mózgu zdecydował zapewne fakt uszkodzenia zarówno włókien nerwowych wychodzących z kory, jak i wchodzących do kory oraz zróżnicowanie stopnia uszkodzenia włókien nerwowych przechodzących przez samo ognisko w istocie białej i jego otoczenie. Stan dojrzałości ośrodkowego układu nerwowego (szczur 4-tygodniowy) jak i następstwa przejściowego niedokrwienia kory mózgu, związanego z zabiegiem doświadczalnym mogły również wpływać na kształtowanie się obrazu ultrastrukturalnego. Przeciwno wiązaniu opisanych zmian wyłącznie z wpływem niedokrwienia kory mózgu przemawia obok wspomnianej zależności topograficznej charakter ultrastrukturalnych uszkodzeń, różniący się w sposób zasadniczy od znanych opisów niedokrwienego uszkodzenia tkanki nerwowej. Wykazywał on natomiast szereg elementów typowych dla wtórnego uszkodzenia tkanki, związanego z brakiem ciągłości wypustek nerwowych. Charakterystyczne dla wtórnego zwyrodnienia neuronów były stosunkowo nikle, lecz typowe zmiany w części perikarialnej komórek nerwowych (Cole 1968) przy zaawansowanym rozpadzie włókien nerwowych. Typowe dla wtórnego zwyrodnienia było również zagęszczenie

i ziarnisty rozpad cytoplazmy wypustek nerwowych, zwiększenie ilości mitochondriów i ciał gęstych (Lampert 1967, Guillery 1970). Rozgałęzione struktury tubularne, podobne do spostrzeganych przez nas, opisywano we wczesnym okresie zwyrodnienia Wallera nerwów wzrokowych u świnek morskich (Laatsch 1969). Analogiczne struktury w zakończeniach presynaptycznych spostrzegano w tkance nerwowej otaczającej guzy glejowe (Ramsey 1967) i w neuroaksonalnej dystrofii dziecięcej (Toga i wsp. 1970).

Rozplem prawidłowych włókienek o grubości 100Å, w niektórych strukturach układu nerwowego opisywano zarówno w zwyrodnieniu wstępującym jak i zwyrodnieniu typu Wallera (Walberg, Mugnaini 1969). W naszym przypadku interesujące jest pojawienie się włókien o grubości około 60Å, układających się w wiązki. Podobne do spostrzeganych przez nas owalne struktury, ograniczone podwójną lub pojedynczą błoną, współlistniejące ze skupieniami rozgałęzionych tworów tubularnych opisali Gonatas i wsp. (1967) w aksonach i zakończeniach presynaptycznych u dziecka z opóźnionym rozwojem psychoruchowym.

Do zmian nie opisanych dotychczas we wtórnym zwyrodnieniu, a występujących w naszym przypadku należą zwyrodnienie pęcherzykowo-tubularne, obecność zwyrodniałych struktur włóknistych i nasilony stan gąbczasty. Jednoznaczne wyjaśnienie patomechanizmu tych nieprawidłowości jest trudne. Wydaje się jednak, że pewną rolę w ich ukształtowaniu mogło odgrywać nałożenie się wtórnych zmian, związanych z uszkodzeniem aksonów w istocie białej, na zaburzenia metaboliczne w ośrodkowym układzie nerwowym stanowiące następstwo przejściowego niedokrwienia. Występujące w naszym przypadku obrazy zwyrodnienia pęcherzykowo-tubularnego są zbliżone do zmian opisanych przez wielu autorów w różnych procesach dystroficznych (Lampert 1967, Blakemore, Cavanagh 1967, Toga i wsp. 1970).

Koncentrycznie ułożone struktury blaszkowate „lamellated whorls” zostały opisane przez Ramsey (1967) w korowych zakończeniach presynaptycznych w biopsyjnym materiale ludzkim, obejmującym otoczenie guzów glejowych mózgu. Autorka obserwowała również w synapsach zmiany typowe dla zwyrodnienia Wallera. Nie wiązała jednak występowania samych struktur blaszkowatych z tego typu zwyrodnieniem. W oparciu o nasze spostrzeżenia takie powiązanie przyczynowe wydaje się możliwe, przy uwzględnieniu zaburzeń metabolizmu tkanki nerwowej spowodowanych niedokrwieniem. Analogicznie w materiale Ramsey prawdopodobne jest dwojakiego rodzaju działanie guza, po pierwsze związane z brakiem ciągłości włókien nerwowych, po wtóre zaś upośledzające ukrwienie tkanki w następstwie ucisku wywieranego na naczynia krwionośne okolicy okołoguzowej.

Struktury znane pod nazwą Hirano bodies zostały opisane po raz pierwszy (Hirano i wsp. 1968) w zespole parkinsonizmu-otępienia z wyspy Guam (ALS — PD — complex). W późniejszym okresie zwrócono uwagę na ich występowanie w szeregu innych procesów chorobowych, takich jak stwardnienie zanikowe boczne (Chou i wsp. 1970), otępienie starcze i przestarcze typu Alzheimer'a (Wiśniewski i wsp. 1970), choroba Picka (Rewcastle, Ball 1968, Schochet i wsp. 1968), dziecięca dystrofia neuroaksonalna Seitelbergera (Toga i wsp. 1970, 1971), bliżej nie określona encefalopatia młodzieńcza (Mikol, Brion 1970), pierwotne choroby neuronów ruchowych (Schochet i wsp. 1969), jak również w doświadczalnym kuru u szympanów (Field i wsp. 1969) i scrapie u myszy (David Ferreira i wsp. 1968) oraz u szczurów z przetoką Ecka (Cavanagh i wsp. 1971). Twory te występujące zwykle w neuronach, opisywano również w wewnętrznej i zewnętrznej wypustce cytoplazmatycznej osłonki mielinowej (Cavanagh i wsp. 1971) i w mięśniach (Toga i wsp. 1971).

Występowanie ciał Hirano w procesach chorobowych o różnej etiologii, częściowo znanej, a w większości z przytoczonych powyżej chorób nie znanej, wyłącza ich etiologiczną swoistość. Zróżnicowanie ich lokalizacji (neurony, glej, mięśnie) każe powątpiewać o ich jednorodności patogenetycznej. W znanym piśmiennictwie neuropatologicznym nie opisywano ciał Hirano w doświadczalnych uszkodzeniach włókien nerwowych, dlatego w naszym przypadku trudno jednoznacznie wiązać ich obecność z wstępującym bądź zstępującym typem zwyrodnienia wypustek nerwowych. Nie wyjaniony jest również wpływ ewentualnych niedokrwienych zaburzeń metabolizmu tkanki na powstawanie tych tworów.

W naszym przypadku zwraca uwagę bogactwo różnych form ultrastrukturalnych zwyrodnienia włókienkowego. Często było widoczne bezpośrednie przejście jednej postaci zwyrodnienia w drugą, co przemawia za ich podstawową jednorodnością strukturalną. Bogate zróżnicowanie obrazu ultrastrukturalnego przypuszczalnie zależy w znacznej mierze od odmiennych warunków fizykochemicznych, panujących w różnych strukturach układu nerwowego. Przykładem może być występowanie podłużnych postaci struktur blaszkowatych w wypustkach nerwowych z wyjątkiem zakończeń presynaptycznych, dla których były charakterystyczne postaci ułożone koncentrycznie.

Obraz ultrastrukturalny uszkodzeń kory mózgu wskazuje, że obserwowany stan gąbczasty wiąże się w przedstawionym przypadku z uszkodzeniem włókien nerwowych, przy nieznacznych jedynie zmianach w astrogleju, uznanym za główny element tkankowy, którego uszkodze-

nie leży u podłoża zwyrodnienia gąbczastego innego pochodzenia (Cornog i wsp. 1968).

Dokładniejsza analiza jamek, zlokalizowanych pomiędzy wypustką osiową i względnie mało uszkodzoną osłonką mielinową, wskazuje, że powstają one na skutek gromadzenia się płynu pomiędzy rozszczepionymi, najbardziej wewnętrznymi blaszkami osłonki. Różnią się one od znanych z piśmiennictwa jamek powstających w wyniku uszkodzenia osłonek mielinowych. W zatruciu trójetylkiem cyny, hydrazidem kwasu izonikotynowego lub kuprizonem dochodzi do rozszczepienia blaszek osłonki mielinowej w dowolnym miejscu, zarówno między zewnętrznymi, jak i wewnętrznymi blaszkami (Adornato, Lampert 1971). W zatruciu cyjankami obrzmieniu ulegają wybiórczo wewnętrzne lub zewnętrzne wypustki glejowe osłonki mielinowej (Hirner 1969).

Stosunkowo dobrze zachowana ultrastruktura aksonów w obrębie jamek otoczonych osłonką mielinową sugeruje, że jamki te powstają albo w obrębie wypustek aksonalnych dośrodkowych od miejsca uszkodzenia w istocie białej, albo aksonów obwodowych, ale tylko tych, które w przebiegu przez istotę białą uległy nieznacznemu uszkodzeniu. Obrazy jamek otoczonych wyłącznie osłonką mielinową powstały prawdopodobnie na skutek rozpadu aksonów, względnie są to elektronogramy opisanych wyżej jamek, na których akson nie był umiejscowiony w płaszczyźnie przekroju skrawka. Nie ukończony jeszcze proces mielinizacji w naszym przypadku, prawdopodobnie sprzyja powstawaniu jamek z udziałem osłonki mielinowej.

Я. Кортхальс

ИЗМЕНЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КОРЫ МОЗГА В СЛУЧАЕ СОСУЩЕСТВОВАНИЯ ИСХЕМИИ И ВТОРИЧНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ НЕЙРОНОВ

Резюме

Представлен случай 4-недельной крысы, умерщвленной в 48 часу после подвязки обеих сонных артерий. Микроскопическое исследование обнаружило в правом полушарии мозга очаг некроза в белом веществе, немного выше расположенные над этим очагом мелкие губчатые изменения в коре. Ультраструктурное исследование обнаружило, что губчатые изменения возникли в результате отека и распада цитоплазмы нервных отростков, расцепления обычно двух первых внутренних пластинок миелиновой оболочки и образования внутри нервных отростков вакуолей, окруженных одиночной оболочкой.

В районе очага губчатости встречались разные формы дегенерации нервных отростков главным образом в виде: гиперплазии волоконца, наличия многочисленных пластинчатых и шарообразных структур (тельца Гирано), наличие нерегулярных пузырьков и коротких тубулей, аккумуляции митохондрий и густых телец и сгущения цитоплазмы нервных отростков („темные профили“).

Автор выдвигает следующий механизм изменений. Вследствие анемии образовался очаг некроза в белом веществе. Изменения в коре возникли в результате накладывания двух факторов: повреждения нервных волокон, протекающих через очаг некроза в белом веществе и анемии нервной ткани.

J. KORTHALS

ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN THE BRAIN CORTEX IN CASE
OF COEXISTENCE OF ISCHEMIA AND SECONDARY DEGENERATION
OF NEURONS

Summary

A case is presented of a 4-weeks-old rat, which was sacrificed on the 48th hour after ligation of the common carotid arteries. Microscopic examination revealed in the right cerebral hemisphere a necrotic focus in the white matter and spongy changes in the cortex, situated somewhat higher above the focus. Ultrastructural examination showed that these spongy changes resulted from swelling and desintegration of the cytoplasm of neuronal processes, dissociation of the first two internal lamellas of the myelin sheath and from the formation within the neuronal processes of vacuoles, that were surrounded with a single membrane.

Within the spongy focus, various types of degeneration of nerve cell processes were observed, mainly in the form of proliferation of filaments with bundles formation, the presence of numerous laminar and bead-like structures (Hirano bodies), as well as the presence of irregular vesicles and short tubules, accumulation of mitochondria and dense bodies and condensations of cytoplasm of the neuronal processes („dark profiles”).

The following mechanism of the above changes is suggested. The necrotic focus was formed as a result of ischemia. The changes in the cortex appeared in consequence of the two following factors: impairment of the neuronal fibres that passed through the necrotic focus in the white matter and ischemia of the nervous tissue.

PISMIENICTWO

1. Adornato B., Lampert P.: Status spongiosus tissue. Electron microscopic studies. *Acta Neuropath. (Berl.)* 1971, 19, 271—289.
3. Cavanagh J. B., Blakemore W. F., Kyu Ma Hta: Fibrillary accumulations in experimental „dying back' process in the rat. *Brain* 1969, 92, 789—804
3. Cavanagh J. B., Blakemore W. F., Kyu Ma Hta: Fibrillary accumulations in oligodendroglial processes of rats subjected to portocaval anastomosis. *J. Neurol. Sci.* 1971, 14, 143—152
4. Chou S. M., Martin J. D., Gutrecht J. A., Thompson H. G.: Axonal balloons in subacute motor neuron disease. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1970, 29, 141.
5. Cole M.: Retrograde degeneration of axon and soma in the nervous system. W: „The Structure and Function of Nervous Tissue'. Ed. G. H. Bourne. Acad. Press, New York 1968, 269—300

6. Cornog J. L., Gonatas N. K., Feerman J. R.: Effects of intracerebral injection of ouabain on the fine structure of rat cerebral cortex. *Amer. J. Path.* 1968, 51, 573—590.
7. David-Ferreira J. F., David-Ferreira K. L., Gibbs C. J., Morris J. M.: Scrapie in mice: ultrastructural observations in the cerebral cortex. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1968, 127, 313—320.
8. Field E. J., Mathews J. D., Raine C. S.: Electron microscopic observations on the cerebellar cortex in Kuru. *J. Neurol. Sci.* 1969, 8, 209—224.
9. Garcia J. H., Cox J. V., Hudgins W. R.: Ultrastructure of the microvasculature in experimental cerebral infarction. *Acta Neuropath.* 1971, 18, 273—285.
10. Gonatas N. K., Ewangelista J., Walsh G. O.: Axonic and synaptic changes in a case of psychomotor retardation: an electron microscopic study. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1967, 26, 179—199.
11. Guillery R. W.: Light- and electron-microscopical studies of normal and degenerating axons. W: "Contemporary Research Methods in Neuroanatomy". Ed. W. J. H. Nauta, S. O. E. Ebbesson. Springer-Verlag, Berlin 1970, 77—105.
12. Hirano A., Bembitzer H. M., Kurland L. T., Ziemmerman H. M.: The fine structure of some intraganglionic alterations. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1968, 27, 167—182.
13. Hirner A.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur formalen Genese der Balkenläsionen nach experimenteller Cyanvergiftung. *Acta Neuropath.* 1969, 13, 350—368.
14. Laatsch R. H.: Aggregates of irregular axoplasmic tubules in an early Wallerian degeneration of guinea pig optic nerve. *Brain Res.* 1969, 14, 745—748.
15. Lampert P. W.: A comparative electron microscopic study of reactive, degenerating, regenerating and dystrophic axons. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1967, 26, 345—368.
16. Mikol J., Brion S.: Modifications dans neurofilaments observés au microscope électronique dans une encephalopathie de l'adolescent. W: "Vith International Congress of Neuropathology". Ed. Masson et Cie, Paris 1970, 1057—1059.
17. Mossakowski M. J., Pronaszko-Kurczyńska A., Korthals J., Wrutniak A.: Wpływ umiarkowanego niedokrwienia na poziom glikogenu w mózgu w zależności od stopnia dojrzałości ośrodkowego układu nerwowego. *Neuropat. Pol.* 1973, XI, 1, 53—68.
18. Ramsey H. J.: Altered synaptic terminals in cortex near tumor. *Amer. J. Path.* 1967, 51, 1093—1109.
19. Rewcastle N. B., Ball M. J.: Electron microscopic structure of the "Inclusion bodies" in Pick's disease. *Neurology* 1968, 18, 1205.
20. Schochet S. S. Jr., Hardman J. M., Ladewig P. P., Earle K. M.: Intraneuronal conglomerates in sporadic motor neuron disease. *Arch. Neurol.* 1969, 20, 548—553.
21. Schochet S. S., Lampert P. W., Lindenberg R.: Fine structure of the Pick and Hirano bodies in a case of Pick's disease. *Acta Neuropath.* 1968, 11, 330—337.
22. Toga M., Bérard-Badier M., Gambarelli-Dubois D.: La dystrophie neuroaxonale infantile ou maladie de Seitelberger. *Acta Neuropath.* 1970, 15, 327—350.
23. Toga M., Bérard-Badier M., Gambarelli D., Pinsard N., Hassoun J.: Un cas de dystrophie neuroaxonale infantile ou maladie de Seitelberger. III. Étude ultrastructurale du muscle strié. *Acta Neuropath.* 1971, 18, 327—341.

24. Vaughn J. E., Hinds P. L., Skoff R. P.: Electron microscopic studies of Wallerian degeneration in rat optic nerves. I. The multipotential glia. *J. Comp. Neur.* 1970, 140, 175—205.
25. Walberg F., Mugnaini E.: Distinction of degenerating fibres and boutons of cerebellar and peripheral origin in the Deiters' nucleus of the same animal. *Brain Res.* 1969, 14, 67—75.
26. Wiśniewski H., Terry R. D., Hirano A.: Neurofibrillary pathology. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1970, 29, 163—176.

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

PODPISY POD RYCINY

Ryc. 1. Jamka (J) umiejscowiona między aksonem (A) i osłonką mielinową (OM). ME 25.000 ×.

Fig. 2. Dissociation of the first two internal myelin lamellas (BM). A — axon, EM × 25.000.

Ryc. 2. Rozszczepienie pierwszych dwóch wewnętrznych blaszek mielinowych (BM). A — akson, J — jamka. ME 80.000 ×.

Fig. 2. Dissociation of the first two internal myelin lamellas (BM). A — axon, J — cave. EM × 80.000.

Ryc. 3. Zgąbczenie kory mózgowej. J — jamka, PS — pęcherzyki synaptyczne, SP — struktury paciorkowate. ME 25.000 ×.

Fig. 3. Spongy degeneration of the brain cortex. J — cave, PS — synaptic vesicles, SP — bead-like structures. EM × 25.000.

Ryc. 4. Jamki (J) wytworzone na skutek rozpadu aksoplazmy drobnych wypustek aksonalnych. A — drobny akson z zachowaną aksoplazmą, Aks — aksolemma. ME 25.000 ×.

Fig. 4. Caves (J) formed as a result of desintegration of axoplasm of small axonal processes. A — small axon with preserved axoplasm, Aks — axolemma. EM × 25.000.

Ryc. 5. Rozplem włókienek o układzie pasmowatym. D — dendryt, G — gliokogen, M — mitochondrium, S — synapsa, T — tubule, WA — wypustka astrocytarna, WP — włókienka patologiczne. ME 36.000 ×.

Fig. 5. Proliferation of filaments with bundle arrangements. D — dendrite, G — glycogen, M — mitochondrion, S — synapsis, T — tubules, WA — astrocytic process, WP — pathologic filaments. EM × 36.000.

Ryc. 6. Podłużnie ułożone struktury blaszkowate (SB). T — tubule, WN — włókienka morfologicznie prawidłowe, WP — włókienka patologiczne. ME 27.000 ×.

Fig. 6. Longitudinally arranged lamellar structures (SB). T — tubules, WN — morphologically normal filaments, WP — pathologic filaments. EM × 27.000.

Ryc. 7. Struktury blaszkowate (SB) i paciorkowate (SP) tworzące tzw. ciało Hirano. Liczne pęcherzyki (P) otoczone pojedynczymi lub podwójnymi błonami. J — jamka. ME 28.000 ×.

Fig. 7. Lamellar (SB) and bead-like (SF) structures, forming so-called Hirano body. Numerous vesicles (P), surrounded by single or double membranes. J — cave. EM × 28.000.

Ryc. 8. Koncentrycznie ułożone struktury blaszkowate (SB) i paciorkowate (SP). Zagęszczenie liczby mitochondriów (M) i ciałek gęstych (CG) w zmielinizowanym aksonie (A). PS — pęcherzyki synaptyczne. ME 31.000 ×.

Fig. 8. Concentrically arranged lamellar (SB) and bead-like (SP) structures. Condensation of mitochondria (M) and dense bodies (CG) in myelinated axon (A). PS — synaptic vesicles. EM × 31.000.

Ryc. 9. Zwyródniały twór włóknisty z widoczną ciągłością między strukturami blaszkowatymi (SB), pasmowatymi (SK) i mniej regularnie ukształtowaną siecią włókienek (WP). ME 40.000 ×.

Fig. 9. Degenerated fibrous formation with a continuity visible between the lamellar (SB) and bundle (SK) structures and a less regularly arranged filament net (WP). EM × 40.000.

Ryc. 10. Wypustka nerwowa z licznymi nieregularnie obrysowanymi krótkimi tubulami (T) i pęcherzykami (P). MZ — zwyródniałe mitochondrium, CP — wypustka nerwowa z zagęszczoną cytoplazmą. ME 31.000 ×.

Fig. 10. Neuronal process with numerous irregularly contoured short tubules (T) and vesicles (P). MZ — degenerated mitochondrion, CP — "dark profiles" EM × 31.000.

Ryc. 11. Rozgałęzione struktury tubularne. ME 37.000 ×.

Fig. 11. Branched tubular structures. EM × 37.000.

HALINA WEINRAUDER, MARIA OSTENDA

WŁAŚCIWOŚCI ANTYGENOWE MÓZGU
W OKRESIE MIELINIZACJI WŁÓKIEN NERWOWYCH *)

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN
Kierownik: prof. dr M. J. Mossakowski

Nieliczne, jak dotąd, badania immunologiczne ośrodkowego układu nerwowego sugerują istnienie związku czasowego między postępowaniem mielinizacji a zmianami antygenowymi rozwijającego się mózgu ssaków. Dotyczy to zarówno antygenów, które pojawiają się we wczesnych stadiach rozwoju i następnie „znikają” jak gdyby determinanty antygenowe były maskowane przez całkowicie wykształconą mielinę (Van Alten, La Velle 1966, La Velle, Van Alten 1969) jak i tych, które pojawiają się w późniejszym stadium rozwoju, sugerującym ich związek z procesem mielinizacji, a następnie utrzymują się w mózgu, aż do osiągnięcia stężenia właściwego dla mózgu dojrzałego. Taki antygen opisali Warecka i Bauer (1968) oraz Warecka i Müller (1969), którzy stwierdzili pojawienie się w istocie białej mózgu ludzkiego swoistej α_2 -glikoproteiny, w okresie pojawiania się gleju mielinizacyjnego.

W poprzedniej pracy (Weinrauder 1971) wykazano różnice antygenowe między całkowicie zmielinizowanym mózgiem szczura dorosłego (3 mies.), a niezmielinizowanym mózgiem jednodniowego noworodka. Wyniki tej pracy, jak i spostrzeżenia innych autorów skoniły nas do podjęcia badań na większym materiale, w grupach wieku dobranych pod kątem postępu mielinizacji chemicznej i morfologicznej, przy jednoczesnym zastosowaniu metod immunologicznych i morfologicznych.

Praca niniejsza przedstawia wyniki badań składu antygenowego rozwijającego się mózgu szczura od 18 dnia życia płodowego do wieku 3 miesięcy, przeprowadzonych przy zastosowaniu surowic odpornościowych przeciwko mózgom zmielinizowanym i niezmielinizowanym, w połączeniu z ultrastrukturalną oceną postępu mielinizacji.

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

MATERIAŁ I METODY

Badania immunologiczne przeprowadzono na szczurach szczepu Wistar, obu płci. Mózgi pobierano od zwierząt w następujących okresach życia: 18 dzień życia płodowego, 1, 5, 10, 14, 18, 21, 28 i 42 dni i 3 miesiące.

Badania morfologiczne przeprowadzono na zwierzętach w analogicznych grupach wieku z wyjątkiem noworodków jednodniowych. Każdą grupę wieku reprezentowały po 2 zwierzęta.

Przygotowanie homogenatów

Wszystkie mózgi (z wyjątkiem mózgu płodów) pochodziły od zwierząt perfundowanych roztworem fizjologicznym NaCl, w narkozie eterowej. Perfundowane mózgi natychmiast po wyjęciu zamrażano i do czasu przygotowania homogenatów przechowywano w szczelnie zamkniętych naczyniach szklanych w temp. -20° . Po odmrożeniu mózgi cięto na kawałki i homogenizowano w roztworze fizjologicznym NaCl, w homogenizatorze szklanym. We wszystkich mózgach oznaczono suchą masę przez suszenie do stałej wagi w temp. 60° . Sucha masa stanowiła od 11% mokrej masy u płodów 18-dniowych do 23% u szczurów dorosłych. W każdym mililitrze zhomogenizowanej używanej do testu immunodyfuzji tkanki mózgowej znajdowało się 46 mg suchej masy. Tak przygotowane homogenaty przechowywano w zatopionych szklanych ampulkach w temp. -20° . Wątroby i nerki, z których przygotowywano 20% homogenaty do absorpcji surowic odpornościowych i do kontroli absorpcji pochodziły od tych samych zwierząt.

Otrzymywanie surowic odpornościowych

Króliki samce, albinosy, wagi 2,5—3 kg immunizowano domięśniowo homogenatami nieperfundowanych mózgów szczurów 1- i 5-dniowych oraz perfundowanych mózgów szczurów 3-miesięcznych z dodatkiem niepełnego adjuwantu Freund'a. Jednorazowo każdy królik otrzymywał 2 ml emulsji, na którą składało się 250 mg tkanki mózgowej w 1 ml fizjologicznego roztworu NaCl i 1 ml adjuwantu. Tę ilość zawiesiny wstrzykiwano w 3—4 miejsca w tylną łapę zwierzęcia. Po trzech tygodniach pobierano krew, a w tydzień po pobraniu krwi zwierzęta szczepiono powtórnie w ten sam sposób. Zabieg ten powtarzano kilkakrotnie, aż do uzyskania dobrej surowicy precypitującej co zwykle następowało po 6—7 miesiącach. Po każdym pobraniu krwi wykonywano kontrolne odczyny immunodyfuzji i z kilku surowic pochodzących

od zwierząt immunizowanych mózgiem tego samego wieku wybierano najlepszą, którą potem używano w całym doświadczeniu. Surowice przechowywano w zatopionych ampułkach szklanych w temp. -20° , bez użycia środków konserwujących.

Absorpcje surowic odpornościowych

Surowice odpornościowe absorbowano surowicą normalną szczura oraz homogenatami lub liofilizowanymi proszkami z narządów. Inkubację prowadzono przez 2 godz. w temp. 37° lub przez noc w chłodni. Precypitat odwirowywano, a nadsącz używano do odczynów. Surowice absorbowano kolejnymi porcjami surowicy lub homogenatów, aż do momentu całkowitego zahamowania reakcji na płytkach kontrolnych z antygenami użytymi do absorpcji.

W celu uzyskania surowicy odpornościowej „całkowicie wyabsorbowanej” 1 ml surowicy antymózg noworodka absorbowano 0,05 ml surowicy normalnej, 0,2 ml 20% homogenatu wątroby, 0,2 ml 20% homogenatu nerki, 10 mg rozpuszczalnego, liofilizowanego antygeny z wątroby (otrzymywanie antygenów rozpuszczalnych — Weinrauder 1969) i 10 mg takiegoż antygeny z nerki.

1 ml surowicy antymózg szczura 3-dniowego absorbowano 0,3 ml surowicy normalnej, 0,2 ml homogenatu wątroby i 0,2 ml homogenatu nerki.

1 ml surowicy antymózg szczura 3-miesięcznego absorbowano 0,05 ml surowicy normalnej, 0,2 ml homogenatu wątroby i 0,2 ml homogenatu nerki.

Wykonanie odczynu immunodyfuzji

Odczyn wykonywano wg metody Ouchterlony w sposób opisany poprzednio (Weinrauder 1969) na płytkach szklanych, pokrytych żelem agarowym. Stosowano 1% Agar Noble (Difco) w buforze fosforanowym o pH 7,2 z dodatkiem NaCl i EDTA o następującym składzie: 0,1 M NaCl, 0,03 M K_2HPO_4 , 0,01 M Na_2EDTA . Do agaru dodawano mertiolat w końcowym stężeniu 1 : 10.000. Płytki inkubowano w temperaturze pokojowej. Zdjęcia wykonano po wypłukaniu i zabarwieniu płytek bez wysuszenia żelu.

Badania morfologiczne

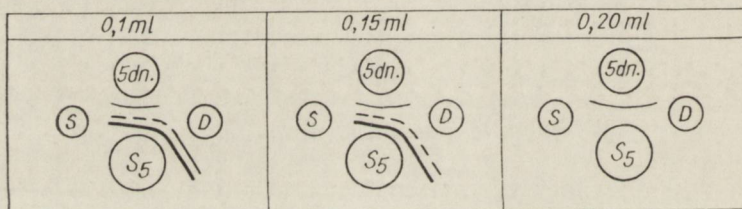
Mózgi perfundowane fizjologicznym roztworem NaCl dzielono cięciem w płaszczyźnie czołowej na poziomie *tuber cinereum*, do badania pobierano spoidło wielkie. Część materiału utrwalano w formolu, zata-

piano w parafinie i wykonywano standardowe barwienia metodą Heidenhain-Woelcke dla obserwacji w mikroskopie świetlnym. Część spoidła wielkiego przeznaczoną do badań ultrastrukturalnych utrwalano w 1,5% aldehydzie glutarowym w buforze Milloniga o pH 7,2, czas utrwalania 90 min. temp. $+4^{\circ}$. Dodatkowo utrwalano w 2% OsO_4 (w buforze Milloniga) przez 90 min. w temp. $+4^{\circ}$. Odwadnianie przeprowadzano w szeregu alkoholi o wzrastającym stężeniu. Skrawki zatapiano w Eponie AB 850, skrawano na ultramikrotomie typu Reichert, kontrastowano cytrynianem ołowiu. Obserwacje przeprowadzano w mikroskopie elektronowym JEM 7 A.

WYNIKI

Badanie immunologiczne

We wszystkich badanych mózgach, które z wyjątkiem mózgow piodów były perfundowane, stwierdza się występowanie antygenów surowicy w reakcji z trzema używanymi do badań nieabsorbowanymi surowicami odpornościowymi. Wyraźne reakcje dają również antygeny tkankowe wspólne z innymi narządami. O nieswoistości narządowej tych antygenów dla mózgu świadczy fakt, że tylko znikoma liczba linii precipitacyjnych występuje w reakcji z surowicami „całkowicie wyabsorbowanymi”.



Schemat 1. Reakcja surowicy odpornościowej przeciwko mózgowi 5-dniowemu, absorbowanej homogenatem mózgu szczura dorosłego z antygenem z mózgu 5-dniowego. S — surowica normalna; S5 — surowica odpornościowa przeciwko mózgowi 5-dniowemu; 5d — mózg szczura 5-dniowego; D — mózg szczura dorosłego.

Diagram 1. Reaction of adult rat brain homogenate absorbed antiserum against 5 days-brain with 5 days-brain antigen. S — normal serum; S5 — antiserum against 5 days-brain; 5d — 5 days-brain of rat; D — adult rat brain.

W reakcjach z trzema surowicami — przeciwko mózgom szczurów 1- i 5-dniowych oraz 3-miesięcznych uzyskuje się różne obrazy. Dotyczy to zarówno liczby systemów antygen-przeciwciała, jak również położenia i intensywności linii precipitacyjnych. Widać to wyraźnie na przykładzie linii najbardziej zbliżonej do zbiorników z antygenami w reakcji z surowicą antymózg szczura 3-miesięcznego, przedstawionej na

ryc. 1 i 2. W reakcji z mózgiem płodu, noworodka, 5, 10 i 14-dniowego szczura linia ta leży bliżej antygenów niż w reakcji z mózgiem szczurów w wieku od 18 do 42 dni.

Oprócz surowicy antymózg szczura dorosłego i noworodka zastosowano w niniejszej pracy także surowicę przeciwko mózgowi szczura 5-dniowego. Kierowano się przy tym sugestiami zawartymi w pracy La Velle'a i Van Altena (1969) oraz tym, że okres między 5 i 10 dniem życia jest okresem „krytycznym” w rozwoju mózgu szczura (Gaitonde, Martenson 1969). Immunizując króliki mózgiem szczura 5-dniowego uzyskano dobre surowice po 5-krotnym szczepieniu i to zarówno domięśniowym jak i podskórnym. Rycina 3 przedstawia reakcję mózgu 5-dniowego z homologicznymi surowicami. W dalszych badaniach stosowano surowicę pochodzącą od królika szczepionego domięśniowo. Obie nieabsorbowane surowice dają w reakcji z antygenem po 5 linii precypitacyjnych.

Różnice w obrazie linii precypitacyjnych, które występują w reakcji z surowicami antymózg 1-dniowego i 3-miesięcznego szczura, występują również w reakcji z surowicą antymózg 5-dniowego szczura (ryc. 4 i 5). Jedna linia precypitacji występuje w reakcji z wszystkimi mózgiem (niektóre linie są słabe i choć widoczne na płytkach świeżych, po zabarwieniu i sfotografowaniu są niezbyt wyraźne), a ponadto charakterystyczne, podwójne, wygięte w stronę zbiorników z antygenami linie są dobrze widoczne w reakcji z mózgiem płodu, noworodka, 5, 10 i 14-dniowego szczura. W reakcji z mózgiem szczura 18-dniowego linie te są słabsze, a nie występują w reakcji z mózgiem szczura dorosłego.

Reakcja z surowicą antymózg noworodka jest przedstawiona na ryc. 6 i 7. Obraz linii precypitacyjnych jest podobny do tego jaki uzyskuje się z surowicą antymózg szczura 5-dniowego. Przy wszystkich antygenach występuje linia tworząca regularny sześciobok, a oprócz niej po kilka linii o różnej intensywności i innym nieco położeniu w stosunku do zbiorników, w zależności od wieku mózgu z jakiego pochodzi antygen. Również widoczna jest charakterystyczna podwójna linia, wygięta w kierunku zbiornika z antygenem. Jest ona bardzo wyraźna w reakcji z mózgiem płodu, noworodka, 5, 10 i 14-dniowego szczura, znacznie słabsza przy antygenach z mózgow szczurów 18 i 21-dniowych. W reakcji z mózgiem 28 i 42-dniowym linia ta jest słabo zaznaczona, a w reakcji z mózgiem dorosłym nie występuje w ogóle.

Po absorpcji surowic odpornościowych surowicą normalną szczura w reakcjach immunodyszfuzji nadal pojawiają się linie precypitacyjne, które odpowiadają antygenom tkankowym występującym w mózgu zwierząt w różnym wieku. Najmniejsze różnice po takiej absorpcji obserwuje się w obrazie linii precypitacyjnych w reakcji z surowicą an-

tymózg dorosły, co jest zrozumiałe ponieważ dorosłe mózgi używane do immunizacji były perfundowane. Wydaje się też, że w reakcji z antygenami z mózgow między 18 i 42 dniem życia szczura linie precypitacyjne są intensywniejsze i mniej z nich po absorpcji znika, co może świadczyć o tym, że część linii precypitacyjnych w reakcji z surowicą nieabsorbowaną i antygenami z mózgow młodszych — są to antygeny surowicy pozostające w tkance mózgowej mimo perfuzji. (Być może ze względów technicznych perfuzja taka jest mniej dokładna u młodych zwierząt). Ponieważ nawet znikoma ilość surowicy pozostającej w mózgu jest bardzo silnym immunogenem należy, jak się wydaje, zawsze absorbować surowice odpornościowe surowicą normalną, choćby mózgi używane do immunizacji były perfundowane.

Reakcje z surowicą antymózg dorosły po absorpcji surowicą normalną przedstawiają ryciny 8 i 9. Obrazy uzyskiwane po wyabsorbowaniu surowicą normalną surowicy antymózg noworodka przedstawiają ryciny 10 i 11. Część linii precypitacyjnych znika, część wydaje się być słabsza, niemniej jednak widoczne jest, że 3 lub więcej pasm odpowiada antygenom tkankowym; przeciwciała skierowane przeciwko nim nie są absorbowane przez normalną surowicę. Na obu rycinach widać, że najintensywniejsza jest reakcja homologiczna z mózgiem noworodka, a najslabsza z mózgiem szczura dorosłego, z którym poza linią reprezentującą jeden antygen wspólny dla mózgow zwierząt we wszystkich badanych grupach wieku, brak jakiegokolwiek reakcji. Wydaje się także, że można mówić o różnicy w stężeniu antygeny wspólnego, tworzącego regularną linię przy antygenach począwszy od płodów do 14 dnia życia (ryc. 10) i słabszą choć jeszcze wyraźną linię przy antygenach od 18 do 42 dnia (ryc. 11). Linia ta nie występuje także w reakcji z mózgiem dorosłym i surowicami nieabsorbowanymi.

Obrazy reakcji uzyskiwanych z surowicą antymózg noworodka przypominają obrazy uzyskane z surowicą antymózg 5-dniowy, co jest szczególnie widoczne przy antygenach pochodzących z mózgow młodszych, od płodów do 14 dnia życia. Potem reakcje te stają się mniej wyraźne — wydaje się, że stężenia różnych antygenów mózgowych zmieniają się wraz z wiekiem.

Chcąc odpowiedzieć na pytanie, jak w badanym okresie rozwoju zachowują się antygeny swoiste dla mózgu wykonano serię badań posługując się wszystkimi wymienionymi surowicami po ich „całkowitej absorpcji” (tzn. po absorpcji surowicą normalną oraz wątrobą i nerką szczura zawierającymi antygeny wspólne z mózgiem).

Surowica antymózg dorosłego szczura po „całkowitej absorpcji” reaguje wyraźnie tylko z mózgiem homologicznym, chociaż i ta reakcja

po wybarwieniu płytek jest bardzo słaba. Dwie delikatne linie swoistego antygeny leżą bardzo blisko siebie, w 1/3 odległości między zbiornikiem antygeny i surowicy. Wskazuje to na to, że szybkość ich dyfuzji nie jest duża, a zatem są to antygeny o dużej cząsteczce. Wynik ten w porównaniu z obrazem reakcji z surowicami nieabsorbowanymi wskazuje także i na to, że większość antygenów reagujących z użytymi przez nas surowicami stanowią antygeny wspólne z innymi narządami, antygeny przeważające zarówno liczbą jak i stężeniem. Należy przypuszczać, że stężenie swoistych antygenów w mózgu jest niewielkie.

Surowica antymózg dorosły po absorpcji nie daje linii precypitacyjnych z mózgiami szczurów aż do 21 dnia życia, kiedy na płycie pojawia się jedno delikatne pasmo, które występuje także przy mózgu 28 i 42-dniowym. Wyniki te znajdują także potwierdzenie w immunoelektroforezie, w której luki precypitacyjne pojawiają się w reakcji z surowicą antymózg dorosły i antygenem z mózgu dorosłego oraz 42-dniowego szczura. Z antygenami z mózgu 28-dniowego reakcja jest znacznie słabsza, a poniżej tego wieku nie udało się uzyskać widocznych reakcji mimo zwiększenia stężeń antygenów i stosowania znacznie zagęszczonych surowic odpornościowych. (Szczegółowe wyniki badań immunoelektroforetycznych stanowią przedmiot odrębnej publikacji).

O ile do wyabsorbowania nieswoistych narządowo przeciwciał z surowicy antymózg dorosły wystarczające jest użycie surowicy homogenatów wątroby i nerki, o tyle do „całkowitego” wyabsorbowania surowicy antymózg noworodka konieczne są absorpcje dodatkowe. Absorpcja homogenatami wymienionych narządów jest niewystarczająca; surowica taka nadal reaguje z antygenami wątroby i nerki, natomiast dalsza absorpcja homogenatami prowadzi do dużego rozcieńczenia surowicy oraz powoduje znaczne trudności przy wypłukiwaniu płytek z niereagującego nadmiaru białka. Dlatego też surowice antymózg noworodka absorbowano dodatkowo liofilizowanymi antygenami rozpuszczalnymi z wątroby i nerki w sposób opisany przy omawianiu stosowanych metod.

„Całkowicie wyabsorbowana” surowica daje jedną linię precypitacji z mózgiem 18-dniowego płodu oraz 1- i 5-dniowego szczura. Na świeżej płycie bez barwienia widoczna jest także jedna linia w reakcji z mózgiem szczura 10-, 14- i 18-dniowego.

„Całkowicie wyabsorbowana” surowica antymózg 5-dniowy (ryc. 12 i 13) daje jedną linię tworzącą regularny sześciobok w reakcji z antygenami ze wszystkich mózgow. Linia ta odpowiada antygenowi swoistemu — nie znika po absorpcji. Pozostałe pasma jedno lub dwa leżące blisko siebie, słabo zarysowane przy zbiorniku z antygenem z mózgu

plodu 18-dniowego, dobrze widoczne przy zbiornikach z antygenami z mózgu 1-, 5- i 10-dniowego występują także pod postacią jednej linii przy mózgu 14- i 18-dniowym. W reakcji z mózgiami 21-, 28-, 42-dniowym i trzymiesięcznym widoczne jest tylko pasmo centralne.

Może to wskazywać na różnice dotyczące występowania antygeny swoistego w mózгах zwierząt w różnym wieku, przynajmniej jeśli chodzi o drugi antygen swoisty, dla którego linia precypitacyjna lokalizuje się bliżej zbiornika z antygenem.

Za różnicami antygenowymi w rozwijającym się mózgu szczura przemawia także reakcja zachodząca po absorpcji surowicy antymózg 5-dniowy kolejnymi porcjami homogenatu mózgu szczura dorosłego (0,1 ml, 0,15 ml i 0,2 ml homogenatu, 46 mg suchej masy/ml). Na schemacie 1 widać, że linia odpowiadająca linii tworzącej sześciobok w układzie z 6 zbiornikami antygeny znika po trzeciej absorpcji mózgiem dorosłym (jest to linia występująca w reakcji z mózgiami wszystkich grup wieku). Po tej absorpcji nie występują również linie precypitacji w reakcji z mózgiem dorosłym, natomiast pozostaje charakterystycznie wygięta w stronę zbiornika z antygenem i blisko przy nim położona linia, której obecność przemawia za odmiennością swoistego antygeny mózgowego w mózgu dorosłym i 5-dniowym.

Wyniki badań morfologicznych

Badania w mikroskopie świetlnym: We wczesnych okresach obserwacji (18 dzień życia płodowego — 10 dzień życia) spoidło wielkie składa się z luźno utkanych włókien, między którymi znajduje się dość duża ilość komórkowych elementów glejowych. Objawy mielinizacji nie występują (ryc. 14 a, b). W 14 dniu życia włókna istoty białej utkane są nieco gęściej i niektóre z nich, na krótkich odcinkach, zabarwione są ciemno, co świadczyłoby o miejscowej mielinizacji (ryc. 14 c). W 21 dniu życia w spoidle wielkim przeważają ciemno zabarwione włókna, co przemawia za zaawansowanymi procesami mielinizacji (ryc. 14 d). Od 28 dnia spoidło wielkie wydaje się całkowicie zmielinizowane. Obraz odpowiada stosunkom spotykanym u zwierząt dorosłych: włókna mielinowe są równomiernie ciemno zabarwione, komórki glejowe ułożone są w pasmach między nimi. Ilość komórek jest znacznie mniejsza niż w okresach wcześniejszych.

Badania w mikroskopie elektronowym: We wczesnych okresach rozwoju (18 dzień życia płodowego, 5 dni po urodzeniu) nie stwierdzono objawów mielinizacji. Obfite nagie aksony zawierają liczne neurotubule, małą ilość rybosomów oraz mitochondria, często bardzo dużych rozmiarów z równolegle ułożonymi grzebieniami (ryc. 15).

Od 10 dnia życia obserwowano obrazy świadczące o wchodzeniu w kontakt z aksonami wypustek gleju mielinizacyjnego (ryc. 16). W okresie tym glej charakteryzował się obecnością obfitego, poszerzonego aparatu Golgiego, oraz znacznej ilości wolnych rybosomów. Od 14 dnia życia pojawiały się charakterystyczne alar processes, utworzone przez wypustki cytoplazmy komórki glejowej, zbliżające się do siebie wzdłuż obwodu włókna osiowego (ryc. 17). Następnie pojawiały się obrazy odpowiadające kolejnym fazom formowania się osłonki mielinowej, takie jak parokrotne zawijanie się osłonki cytoplazmatycznej dookoła włókna osiowego z wytworzeniem wyraźnego zewnętrznego i wewnętrznego mezoaksonu (ryc. 18), włókna osiowe otoczone kilkoma blaszkami mieliny, pomiędzy którymi widoczne były nadal szerokie cytoplazmatyczne wypustki glejowe (ryc. 19), znikanie wypustek cytoplazmatycznych spośród wzrastającej liczby blaszek mielinowych otaczających włókno osiowe, przy czym odległość między period lines była w nich nadal szersza niż w dojrzałych osłonkach mielinowych (ryc. 20, 21). Pierwsze w pełni uformowane osłonki mielinowe, o odległości między period lines wynoszącej od 120—140Å obserwowano u zwierząt 18-dniowych.

W okresie między 21 a 28 dniem życia szczurów spotykano włókna nerwowe we wszystkich stadiach mielinizacji, jednak pojawiała się coraz większa liczba włókien całkowicie zmielinizowanych (ryc. 22). Jeszcze w 28 dniu życia spotykało się włókna nerwowe otoczone przez alar processes. W 42 dniu życia można było również spotkać pojedyncze włókna nerwowe otoczone niedojrzałymi osłonkami mielinowymi.

OMÓWIENIE

Wyniki badań z użyciem surowic odpornościowych przeciwko mózgom w kilku stadiach rozwojowych wskazują, że skład i stężenie antygenów w mózgu zmienia się w zależności od wieku zwierzęcia.

Produkcja swoistych przeciwciał — jako swego rodzaju test biologiczny — jest czulsza niż odczyny serologiczne. Mniej antygeny potrzebują dla wyrażenia jego właściwości immunogennych niż antygenowych. Potwierdzają to w odniesieniu do tkanki mózgowej dane doświadczalne Wareckiej i Müllera (1969). Autorzy ci stwierdzili, że substancja biała z mózgow ludzkich płodów 24—28 tygodniowych ma już zdolność do wywołania przeciwciał przeciwko swoistej glikoproteinie, podczas gdy w teście immunoelektroforezy mózgi ludzkie dają dodatnią reakcję dopiero w 3—4 miesiące po urodzeniu.

W naszych badaniach po immunizacji królików homogenatami zmielinizowanych i niezmielinizowanych mózgow szczura uzyskano dobre su-

rowice precypitujące. Wszystkie te surowice (nawet surowica przeciwko mózgowi dorosłemu, perfundowanemu) reagują z surowicą normalną, wątrobą i nerką dorosłego szczura oraz ze wszystkimi badanymi mózgami.

Obrazy uzyskane w reakcjach z surowicami odpornościowymi przeciwko mózgom zwierząt w różnym wieku nie są jednakowe, a układ i położenie linii precypitacyjnych w stosunku do zbiorników zmienia się w zależności od zastosowanych antygenów i surowic odpornościowych.

Na przykładzie reakcji z surowicą antymózg szczura 3-miesięcznego widać różnice w obrazie linii między płytką, na której znajdują się homogenaty mózgow od 18 dnia życia płodowego do 14 dnia życia po urodzeniu, a tą, na której zbiorniki zawierają homogenaty mózgow 18, 21, 28 i 42-dniowych oraz 3-miesięcznego. Nie ulega też wątpliwości, że reakcje tych samych homogenatów z surowicą antymózg noworodka tworzą odmienny obraz. Większe natomiast podobieństwo występuje w reakcji z surowicami antymózg 1- i 5-dniowy. Tego rodzaju różnice były już stwierdzane (Van Alten i La Velle 1966). Autorzy ci podkreślali zresztą, że aby w pełni móc zanalizować stadia rozwojowe należałoby stosować swoiste surowice przeciwko tkankom ze wszystkich badanych okresów rozwoju.

O zmienności składu antygenowego — co znajduje swoje odbicie w charakterze mózgu jako immunogenu jak i antygeny — świadczą także różne stosunki ilościowe przy absorpcji surowic odpornościowych i to zarówno antygenami o swoistości gatunkowej (wątroba, nerka) jak i antygenami o swoistości narządowej (mózg). Wydaje się, co zresztą sugerowano już poprzednio (Weinrauder 1971), że w niezmielinizowanym mózgu 1-dniowego noworodka szczególnie silnie zaznaczone są antygeny wspólne dla mózgu i innych narządów i one też najżywiej reagują z surowicami odpornościowymi. Rola tych antygenów nie jest znana. La Velle i Van Alten (1969), przy zastosowaniu surowicy przeciwko 5-dniowemu mózgowi chomika, stwierdzili pojawianie się w życiu płodowym antygeny o swoistości gatunkowej, który nie występuje w mózgu zwierzęcia dorosłego, z czego można wysnuć wniosek, że substancje o charakterze antygenowym nieswoiste narządowo mogą odgrywać rolę w różnicowaniu mózgu. Autorzy sądzą, że można wysunąć taką hipotezę jeśli się weźmie pod uwagę ściśle związki metaboliczne między naczyniami, glem i neuronami w tkance nerwowej. Wydaje się, że różnice w antygenach swoistych gatunkowo zachodzące w rozwoju warte są dokładniejszej analizy, choćby w świetle doniesienia Mac Pherson i Shek'a (1970) o roli jaką odgrywają antygeny gatunkowo-swoiste mózgu w procesach uczenia się i pamięci.

Po absorpcji surowic odpornościowych surowicą normalną i homogenatami narządów surowice te reagowały niejednolicie. Otrzymywano całkowite wyabsorbowanie surowicy antymózg dorosły po absorpcji innymi narządami, natomiast surowica antymózg 5-dniowy nigdy nie była całkowicie wyabsorbowana.

Powstaje też problem możliwości nieswoistej absorpcji, zwłaszcza kiedy do tego celu używa się homogenatów, a nie rozpuszczalnych antygenów. O nieswoistej absorpcji narządami, z którymi surowice nie dawały reakcji krzyżowych wspominają La Velle i Van Alten (1969).

W naszych doświadczeniach zarówno surowica antymózg dorosły jak i surowica antymózg 1-dniowy po „absorpcji całkowitej” reagowały bardzo słabo. Surowica antymózg dorosły dawała 2 pasma z antygenem homologicznym, a ponadto z antygenami z mózgu 42, 28 i 21-dniowego.

Wydaje się, że mimo zastosowania dość grubej metody ujednoczenia stężeń homogenatów, polegającej na uwzględnieniu jedynie malejącej zawartości wody w tkance mózgowej w rozwoju, wolno nam mówić o wzrastającym stężeniu tego swoistego narządowo antygeny aż do osiągnięcia wartości właściwych dla mózgu dojrzałego. Interesujące dla nas są jednak głównie zmiany antygenowe zachodzące w okresie postępującej mielinizacji.

Wyniki badań w mikroskopie elektronowym wskazują, że pojawianie się i dojrzewanie mieliny w ośrodkowym układzie nerwowym szczura zachodzi stopniowo: poszczególne okolice dojrzewają w różnych okresach czasu, na ogół w porządku filogenetycznym, a pojedyncze aksony, występujące w obrębie tej samej struktury, mielinizują się z różną szybkością.

W spoidle wielkim mielinizacja dokonuje się późno: pojedyncze włókna zmielinizowane pojawiają się w 12 dniu życia (Duckett i wsp. 1967), a zakończenie procesu mielinizacji uchwytne w mikroskopie świetlnym następuje dopiero po 25 dniu życia (Farkas-Bargeton 1967). Dane te zgodne są zasadniczo z naszymi spostrzeżeniami. W badanych przez nas okresach życia szczura pierwsze objawy mielinizacji w mikroskopie świetlnym stwierdzaliśmy w 14 dniu po urodzeniu. U 28-dniowego szczura mielinizacja spoidła wielkiego wydaje się być zakończona. Wyniki te różnią się jednak od wyników uzyskiwanych przy pomocy czulszych i dokładniejszych metod. W oparciu o biochemicznie stwierdzane różnice w składzie osłonki mielinoj, zależne od stopnia jej dojrzałości wykazano, że u szczura dojrzałość chemiczną mielina osiąga w 40 dniu życia (Bass i wsp. 1969). Podobnie w naszych obserwacjach wykazaliśmy, że w 28 dniu życia spoidło wielkie, przy histologicznych cechach zakończonej mielinizacji, zawiera liczne włókna znajdujące się we wczesnych

stadiach formowania osłonki mielinowej, a nawet w 42 dniu życia występują w nim pojedyncze włókna o niezakończonych mielinizacji.

Ze względu na późne mielinizowanie się spoidła wielkiego, zakończenie w nim tego procesu można z dużym przybliżeniem przyjąć za końcową fazę mielinizacji mózgu. Okolica ta, składająca się wyłącznie z isototy białej wydaje się przy tym szczególnie odpowiednia do badania poszczególnych stadiów tworzenia mieliny, które jak wykazano poprzedzone jest szeregiem wstępnych procesów i składa się z szeregu następujących po sobie faz od tworzenia wypustek cytoplazmatycznych gleju zdążających w kierunku włókna osiowego, aż do uformowania dojrzałej, wieloblaszkowej osłonki mielinowej.

Wyniki naszych doświadczeń immunologicznych i obserwacji mikroskopowo-elektronowych wskazują, że z postępowaniem mielinizacji można łączyć te zmiany antygenowe, które dotyczą reakcji antygeny „podwójnego” z surowicą antymózg szczura 5-dniowego. Występuje on (już jako pojedyncza linia precypitacji) także w reakcji z surowicą antymózg 5-dniowy, „całkowicie wyabsorbowaną”. W reakcji z mózgiem płodów jest bardzo słaby a wyraźnie widoczny od 1 do 18 dnia po urodzeniu. Ponieważ występuje on w reakcji z surowicą po absorpcjach można sądzić, że jest to antygen swoisty dla mózgu. Jest to ten sam antygen, który daje jedną wyraźną linię wygiętą w stronę zbiornika z antygenem w reakcji z surowicą antymózg 5-dniowy wyabsorbowaną trzykrotnie homogenatem mózgu dorosłego szczura. Nasuwa się tu znaczna analogia z wynikami uzyskanymi przez La Velle i Van Altena (1969), którzy z trzech obserwowanych przez siebie linii, zauważyli znikanie dwóch między 15 dniem życia chomika a dojrzałością. Należy tu wspomnieć o sugerowanej przez niektórych autorów możliwości „znikania” pewnych antygenów i występowania antygenów „przejściowych”, właśnie w okresie aktywnej mielinizacji.

Z porównania naszych, wyjątkowo zgodnych w czasie spostrzeżeń morfologicznych i immunochemicznych wynika, że w okresie po 18 dniu życia jeden z antygenów, dla którego przeciwciała znajdują się w surowicy antymózg 5-dniowy znika. Trudno powiedzieć, czy znika on rzeczywiście, czy jest „zamaskowany” przez wykształconą mielinę i dostępny dopiero w określonych warunkach dla reakcji z przeciwciałami. Być może badania przy użyciu surowic skierowanych przeciwko mielinie (szczególnie przeciwko mielinie potraktowanej lecytynazą — Gregson i wsp. 1971) mogłyby dać odpowiedź na to pytanie. Jest także możliwe, że antygeny biorące aktywny udział w procesach mielinizacji zmieniają swoją lokalizację. Kornguth i Anderson (1965) przy pomocy immunofluorescencji stwierdzili występowanie białka zasadowego w zmielinizowanych włóknach a ponadto wokół jąder komórek Purkinjego i niektórych

komórek kory mózgu. W badaniu w mikroskopie elektronowym stwierdzili oni, że utrata integralności mieliny znacznie wzmacnia reakcję antygen-przeciwciało, z czego autorzy wysnuwają wniosek, że białko zasadowe nienaruszonej mieliny ma zablokowane grupy antygenowe. Jest więc możliwe, że stosowana przez nas preparatyka (homogenaty lub wyciągi wodne z tkanek mózgu) nie uwalnia tych antygenów z kompleksu, i wobec tego nie ujawniają się one w reakcjach z mózganymi powyżej 18 dnia życia, kiedy mózg jest już w znacznym stopniu zmielinizowany.

Drugim interesującym nas elementem związku między mielinizacją a antygenowością mózgu jest pojawienie się między 18 i 21 dniem życia szczura antygeny, który reaguje z przeciwciałami zawartymi w surowicy antymózg zwierząt 3-miesięcznych „całkowicie wyabsorbowanej”. Ani w immunodyfuzji ani w immunoelektroforezie nie udało się uzyskać reakcji dodatniej z mózganymi młodszymi niż 18-dniowy. Reakcja z surowicą „całkowicie wyabsorbowaną” upoważnia nas do przypuszczeń, że chodzi o antygen o swoistości narządowej pojawiający się w okresie rozpoczynającej się aktywnej mielinizacji. Pojawianie się takich antygenów było już kilkakrotnie stwierdzane na materiale ludzkim. Warecka i Bauer (1968) oraz Warecka i Müller (1969) stwierdzili pojawianie się swoistej glikoproteiny w rozwoju ontogenetycznym mózgu obserwowane po uprzednim pojawieniu się w mózgu antygenów surowicy i antygenów wspólnych z innymi narządami. W pracy Wareckiej i Müllera stwierdzono zbieżność w czasie pojawiania się tego swoistego antygeny z wystąpieniem gleju mielinizacyjnego. Zuckerman i wsp. (1970) stwierdzili pojawienie się białka S-100 w mózgu 10-tygodniowych płodów ludzkich w filogenetycznie najstarszych obszarach mózgu i nagromadzone się tego swoistego dla układu nerwowego białka w miarę rozwoju, równoległe do dojrzewania morfologicznego i elektrofizjologicznego.

Kornguth i wsp. (1966) wykrywali swoiste zasadowe białko w rdzeniu szczurą w 21 dniu ciąży i co więcej zanikanie reakcji immunologicznej wraz z zakończeniem „gwałtownej” mielinizacji. Białko S-100 pojawia się u szczura w mózgowiu 5 dnia po urodzeniu, a w pniu 2 dnia (Herschman i wsp. 1971).

Z przytoczonego piśmiennictwa wynika, że w wielu przypadkach stwierdza się pojawienie i nagromadzenie swoistych dla centralnego układu nerwowego białek w trakcie rozwoju. Rola tych białek i ich lokalizacja komórkowa nie są znane i dlatego ich udział w procesie aktywnej mielinizacji jest tylko hipotezą. Jednak zbieżność w czasie pojawiania się tych antygenów z procesami różnicowania się komórek w centralnym układzie nerwowym i mielinizacją bardzo taką możliwość sugeruje.

W naszych badaniach z jednej strony stwierdzono pojawienie się nowego antygenu w rozwoju (to co stwierdzali zresztą także inni autorzy, którzy stosowali surowice odpornościowe przeciwko mózgom dojrzałym), z drugiej strony natomiast zbieżne w czasie z mielinizacją „znikanie” antygenu przy użyciu surowic przeciwko mózgom niezmielinizowanym. Dokładna analiza immunochemiczna tych antygenów może wykazać w jakim stopniu różnią się one między sobą i jakiego typu zmiany zachodzą w nich w trakcie dojrzewania mózgu.

Г. Вейнраудер, М. Остенда

АНТИГЕННЫЕ СВОЙСТВА МОЗГА В ПЕРИОД МИЕЛИНИЗАЦИИ

Резюме

Цель представленных исследований — проследить взаимозависимость между формированием миелиновых оболочек в центральной нервной системе и антигенными изменениями в мозгу крысы в период созревания.

Иммунологические исследования, проведенные при использовании иммунных сывороток против мозгов 1- и 5-дневных, а также 3-месячных крыс, обнаружили разницу в характере преципитационных линий, что указывает на антигенные изменения, протекающие в период развития мозга.

Ультраструктурные исследования процесса миелинизации проводились на большой спайке крыс между 18 днем плодовой жизни и 42 днем после рождения. Первые признаки миелинизации наблюдались на 10 день после рождения, появление зрелых миелиновых оболочек на 18 день.

Полученные результаты указывают на возможную связь между антигенными изменениями, протекающими между 5 а 21 днем жизни и параллельно протекающим процессом миелинизации.

H. Weinrauder, M. Ostenda

ANTIGENIC PROPERTIES OF BRAIN IN THE PERIOD OF MYELINATION OF NERVOUS FIBERS

Summary

The present investigations aimed to find out the possible correlation between the formation of myelin sheaths in the central nervous system and the antigenic changes in rat brain in the maturation period.

Immunological studies with application of sera against the brains of 1- and 5 days, and 3 months-old rats revealed differences both in quantity and character of precipitation lines, which were indicative of some antigenic changes occurring in the period of brain development.

Ultrastructural investigations of progressing myelination were carried out on corpus callosum of rats in the period between the 18th day of fetal life and the 42nd day after birth. The first symptoms of myelination were noticed on the 10th day after birth, with compact myelin sheaths appearing on the 18th day.

The results obtained suggest a possible correlation between the antigenic changes occurring between the 5th and 21st day of life and the parallelly occurring process of myelination.

PIŚMIENNICTWO

1. Bass N. H., Netsky M. G., Young E.: Microchemical studies of postnatal development in rat cerebrum. *Neurology* (Minneapolis) 1969, 19, 405—414
2. Duckett S., Blunt M. J.: Sequential appearance of phosphoglycerides and protein in developing myelin. *Nature* 1967, 215, 1192—1193
3. Farkas-Bargeton E., Thieffry J.: Etudes histoenzymologiques de la maturation du cerveau chez le rat. Regional development of the brain in early life. Blackwell, London 1967
4. Field E. J., Hughes D., Raine C. S.: Electron microscopic observations on the development of myelin in cultures of neonatal rat cerebellum. *J. Neurol. Sci.* 1968, 8, 49—60
5. Gregson N. A., Kennedy M. C., Leibowitz S.: Immunological reactions with lysolecithin-solubilized myelin. *Immunology* 1971, 20, 501—512
6. Herschman H. R., Levine L., De Vellis J.: Appearance of a brain specific antigen (S-100 protein) in the developing rat brain. *J. Neurochem.* 1971, 18, 629—634
7. Kornguth S. E., Anderson J. W.: Localization of a basic protein in the myelin of various species with the aid of fluorescence and electron microscopy. *J. Cell Biol.* 1965, 26, 157—166
8. Kornguth S. E., Anderson J. W., Scott G.: Temporal relationship between myelinogenesis and the appearance of a basic protein in the spinal cord of the white rat. *J. Comp. Neurol.* 1966, 127, 1—18.
9. La Velle A., Van Alten P.J.: Antigenic changes in the developing brain of the hamster. *Exp. Neurol.* 1969, 25, 177—189.
10. Mac Pherson C. F. C., Shek R. P. N.: Effect of brain iso-antibodies on learning and memory in the rat. *Exp. Neurol.* 1970, 29, 1—15
11. Van Alten P. J., La Velle A.: Antigenic changes in developing hamster brain using antisera to myelinated and unmyelinated brain. *Exp. Neurol.* 1966, 14, 115—133
12. Warecka K., Bauer H. J.: Untersuchungen über ein hirnspezifisches α_2 -Glykoprotein in der fetalen und postnatalen Lebensperiode beim Menschen. *Dtsch. Zeitschr. f. Nervenheilk.* 1968, 194, 66—75
13. Warecka K., Müller D.: The appearance of human „brain-specific” glycoprotein in ontogenesis. *J. Neurol. Sci.* 1969, 8, 319—345.
14. Weinrauder H.: Studies on cat brain antigens. I. Soluble precipitation protein antigens. *Bull. Acad. Pol. Sci. Cl. VI.* 1969, XVII, 423—426
15. Weinrauder H.: Właściwości antygenowe dojrzewającego mózgu szczura. *Neuropat. Pol.* 1971, IX, 307—321
16. Zuckerman J. E., Herschman H. R., Levine L.: Appearance of a brain specific antigen (the S-100 protein) during human fetal development. *J. Neurochem.* 1970, 17, 247—252.

Adres autorek: Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej PAN, Warszawa, ul. Dworkowa 3.

PODPISY POD RYCINY

Ryciny 1—13: reakcje surowic odpornościowych z antygenami z mózgu szczurów. Oznaczenia zbiorników z antygenami zgodnie z ruchem wskazówek zegara. Strzałka oznacza zbiornik nr 1. Surowica odpornościowa w zbiorniku środkowym.

Figures 1—13: reactions of immune sera with rat brain antigens. Designation of wells with antigens in clockwise order. Arrow indicates well No 1. Antiserum in the center well.

Ryc. 1. 1 — Mózg dorosły, 2 — mózg płodów 18-dniowych, 3 — mózg noworodka, 4 — mózg 5-dniowy, 5 — mózg 10-dniowy, 6 — mózg 14-dniowy. Surowica odpornościowa przeciwko mózgowi szczura dorosłego.

Fig. 1. 1 — Adult brain, 2 — 18 days-fetus brain, 3 — newborn brain, 4 — 5 days-brain, 5 — 10 days-brain, 6 — 14 days-brain. Antiserum against adult rat brain.

Ryc. 2. 1 — Mózg dorosły, 2 — mózg 18-dniowy, 3 — mózg 21-dniowy, 4 — mózg noworodka, 5 — mózg 28-dniowy, 6 — mózg 42-dniowy. Surowica odpornościowa przeciwko mózgowi szczura dorosłego.

Fig. 2. 1 — Adult brain, 2 — 18-days-brain, 3 — 21-days-brain, 4 — newborn brain, 5 — 28-days-brain, 6 — 42 days-brain. Antiserum against adult rat brain.

Ryc. 3. — 1 — Mózg 5-dniowy, 2 — surowica odpornościowa przeciwko mózgowi 5-dniowemu (królik immunizowany podskórnie), 3 — mózg 5-dniowy, 4 — surowica odpornościowa przeciwko mózgowi 5-dniowemu (królik immunizowany domięśniowo).

Fig. 3. 1 — 5 days-brain, 2 — antiserum against 5 days-brain (rabbit immunized subcutaneously), 3 — 5 days-brain, 4 — antiserum against 5 days-brain (rabbit immunized intramuscularly).

Ryc. 4. 1 — Mózg dorosły, 2 — mózg płodów 18-dniowych, 3 — mózg noworodka, 4 — mózg 5-dniowy, 5 — mózg 10-dniowy, 6 — mózg 14-dniowy. Surowica odpornościowa przeciwko mózgowi 5-dniowemu.

Fig. 4. 1 — Adult brain, 2 — 18 days-fetus brain, 3 — newborn brain, 4 — 5 days-brain, 5 — 10 days-brain, 6 — 14 days-brain. Antiserum against 5 days-brain.

Ryc. 5. 1 — Mózg dorosły, 2 — mózg noworodka, 3 — mózg 18-dniowy, 4 — mózg 21-dniowy, 5 — mózg 28-dniowy, 6 — mózg 42-dniowy. Surowica odpornościowa przeciwko mózgowi 5-dniowemu.

Fig. 5. 1 — Adult brain, 2 — newborn brain, 3 — 18 days-brain, 4 — 21 days-brain, 5 — 28 days-brain, 6 — 42 days-brain. Antiserum against 5 days-brain.

Ryc. 6. 1 — Mózg dorosły, 2 — mózg płodów 18-dniowych, 3 — mózg noworodka, 4 — mózg 5-dniowy, 5 — mózg 10-dniowy, 6 — mózg 14-dniowy. Surowica odpornościowa przeciwko mózgowi noworodka.

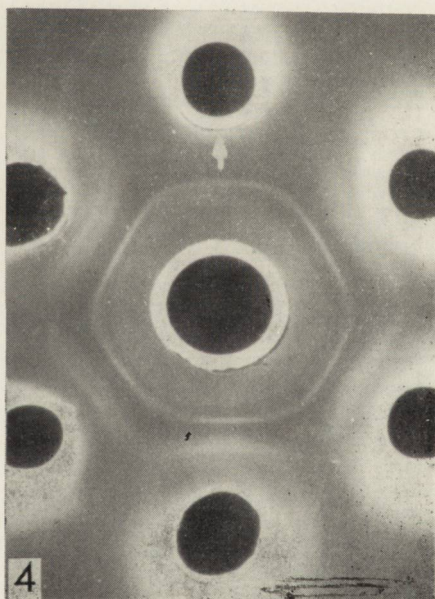
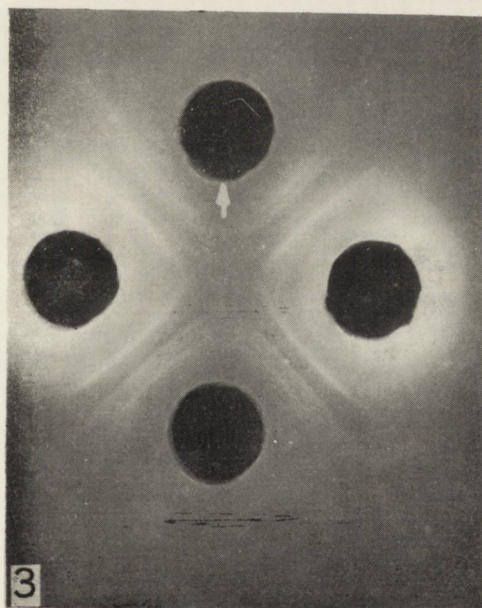
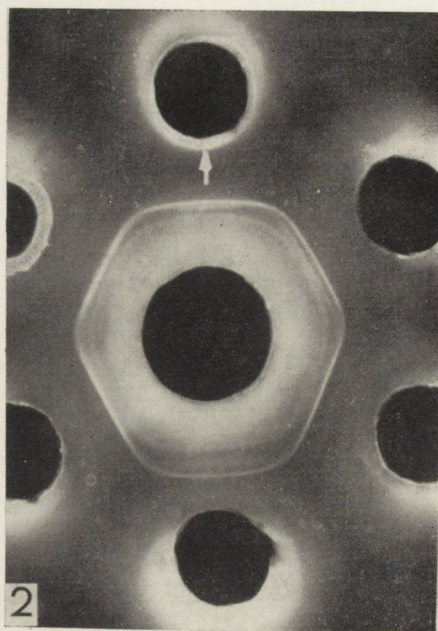
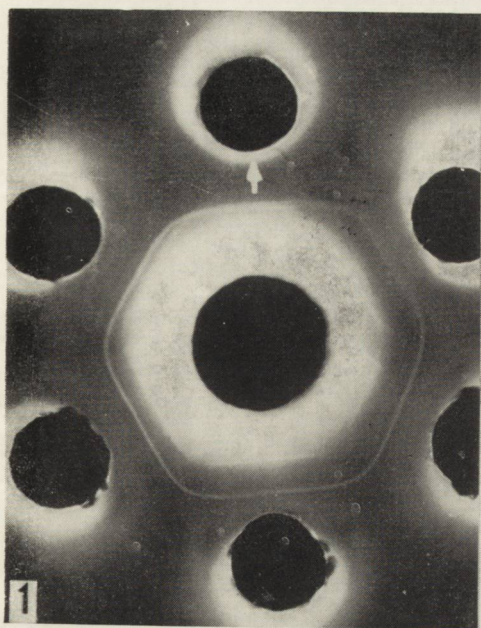
Fig. 6. 1 — Adult brain, 2 — 18 days-fetus brain, 3 — newborn brain, 4 — 5 days-brain, 5 — 10 days-brain, 6 — 14 days-brain. Antiserum against newborn brain.

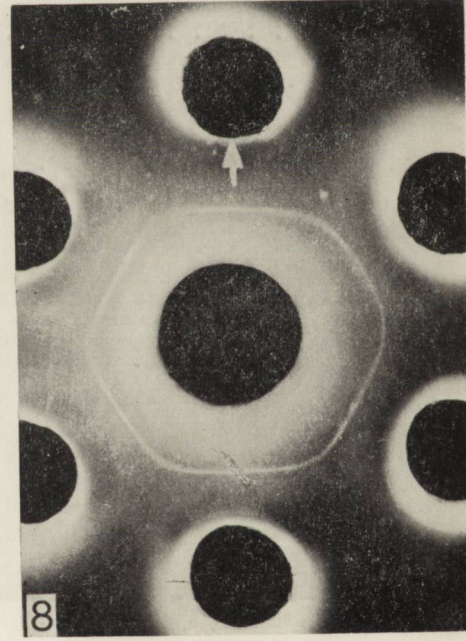
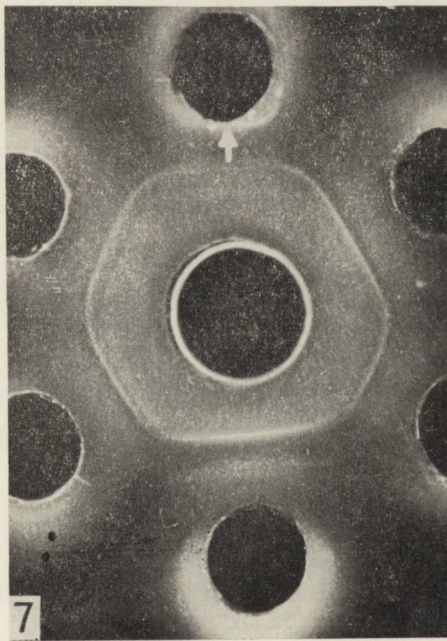
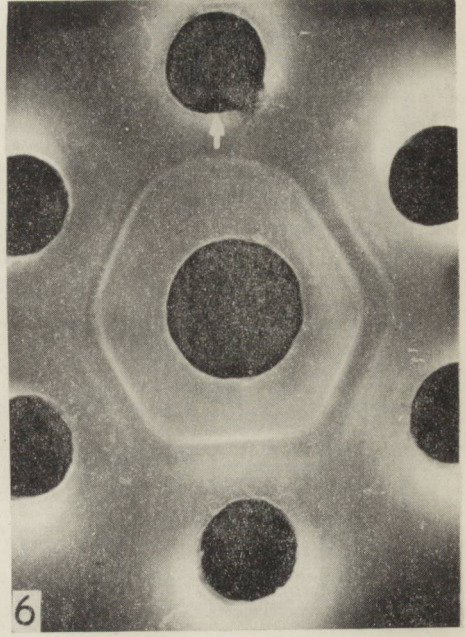
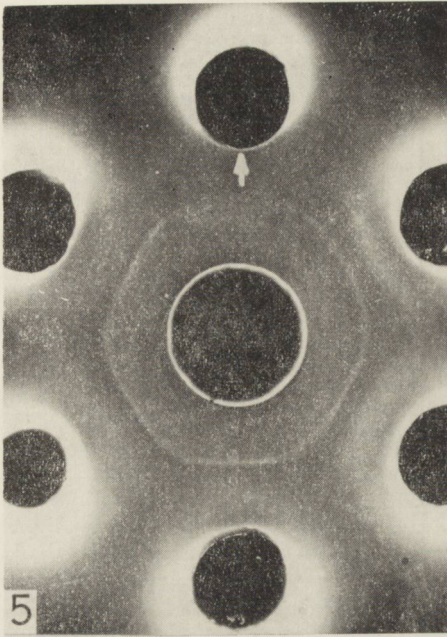
Ryc. 7. 1 — Mózg dorosły, 2 — mózg 18-dniowy, 3 — mózg 21-dniowy, 4 — mózg noworodka, 5 — mózg 28-dniowy, 6 — mózg 42-dniowy. Surowica odpornościowa przeciwko mózgowi noworodka.

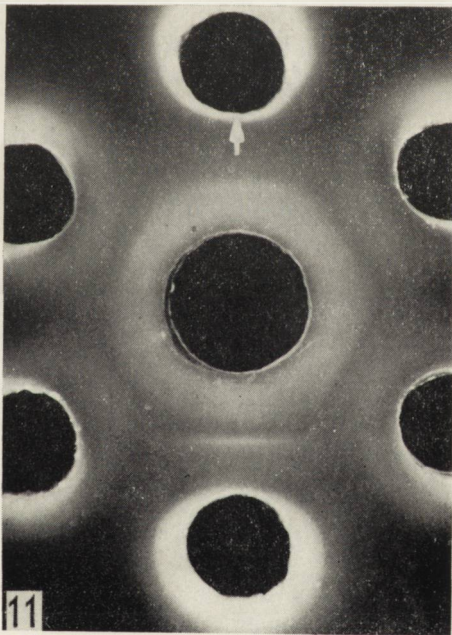
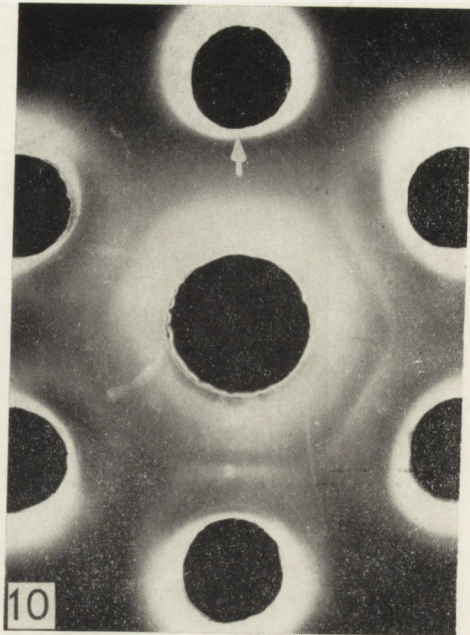
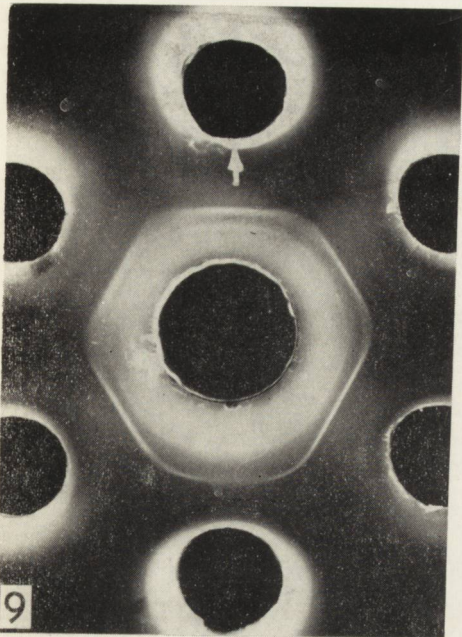
Fig. 7. 1 — Adult brain, 2 — 18 days-brain, 3 — 21 days-brain 4 — newborn brain, 5 — 28 days-brain, 6 — 42 days-brain. Antiserum against newborn brain.

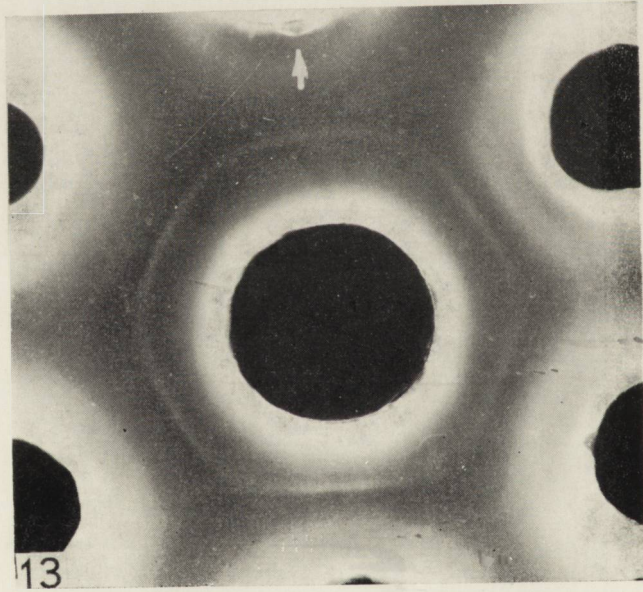
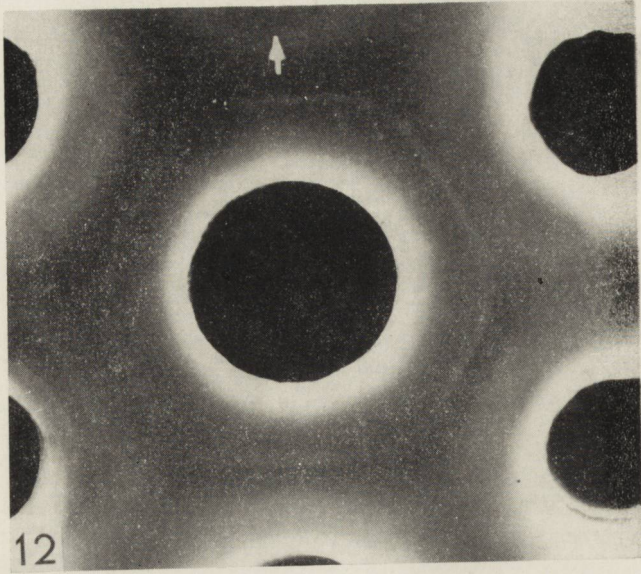
Ryc. 8. 1 — Mózg dorosły, 2 — mózg płodów 18-dniowych, 3 — mózg noworodka, 4 — mózg 5-dniowy, 5 — mózg 10-dniowy, 6 — mózg 14-dniowy. Surowica odpornościowa przeciwko mózgowi dorosłemu absorbowana normalną surowicą szczura.

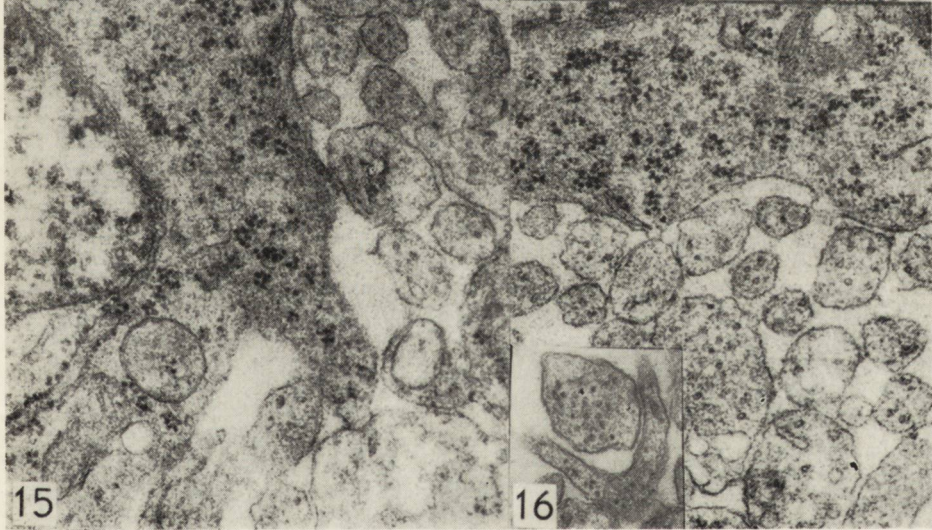
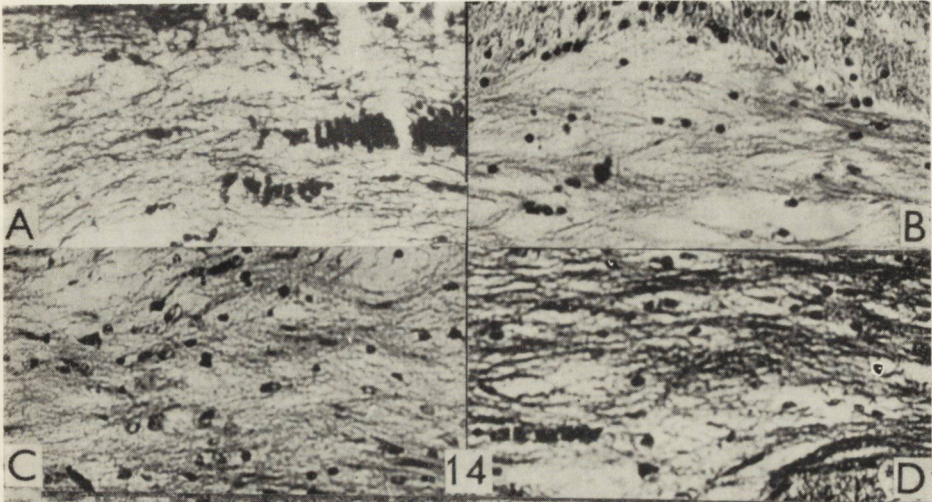
Fig. 8. 1 — Adult brain, 2 — 18 days-fetus brain, 3 — newborn brain, 4 — 5 days-brain, 5 — 10 days-brain, 6 — 14 days-brain. Antiserum against adult brain absorbed with normal rat serum.

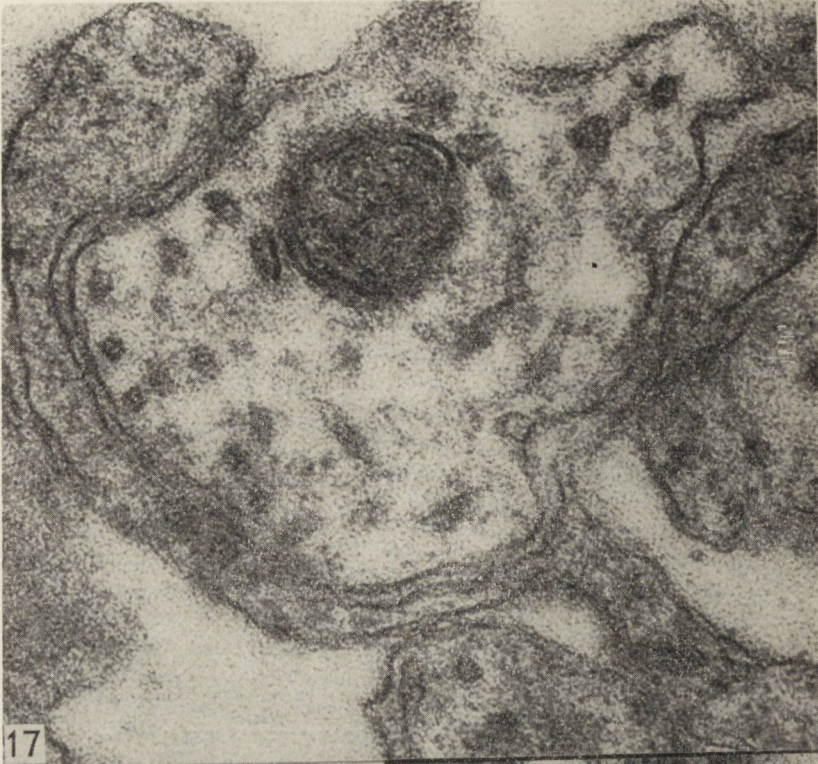




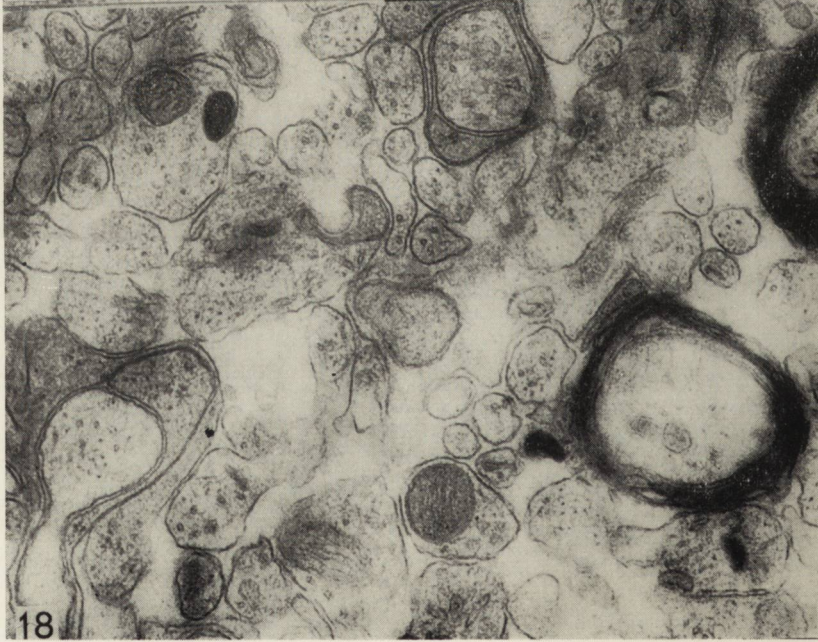




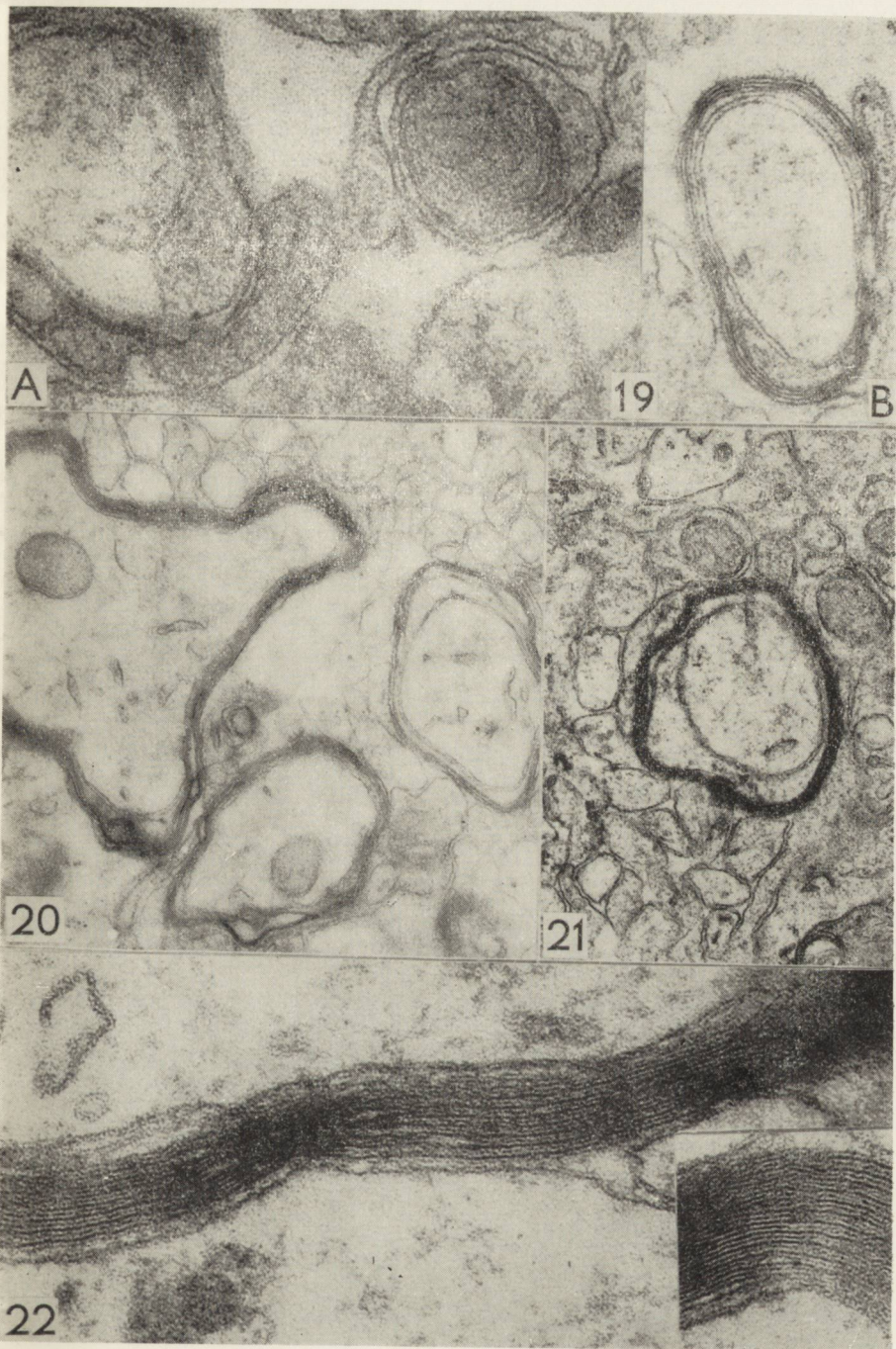




17



18



Ryc. 9. 1 — Mózg dorosły, 2 — mózg 18-dniowy, 3 — mózg 21-dniowy, 4 — mózg noworodka, 5 — mózg 28-dniowy, 6 — mózg 42-dniowy. Surowica odpornościowa przeciwko mózgowi dorosłemu absorbowana surowicą normalną szczura.

Fig. 9. 1 — Adult brain, 2 — 18 days-brain, 3 — 21 days-brain, 4 — newborn brain, 5 — 28 days-brain, 6 — 42 days-brain. Antiserum against adult brain absorbed with normal rat serum.

Ryc. 10. 1 — Mózg dorosły, 2 — mózg płodów 18-dniowych, 3 — mózg noworodka, 4 — mózg 5-dniowy, 5 — mózg 10-dniowy, 6 — mózg 14-dniowy. Surowica odpornościowa przeciwko mózgowi dorosłemu absorbowana surowicą normalną szczura.

Fig. 10. 1 — Adult brain, 2 — 18 days-fetus brain, 3 — newborn brain, 4 — 5 days-brain, 5 — 10 days-brain, 6 — 14 days-brain. Antiserum against newborn brain absorbed with normal rat serum.

Ryc. 11. 1 — Mózg dorosły, 2 — mózg 18-dniowy, 3 — mózg 21-dniowy, 4 — mózg noworodka, 5 — mózg 28-dniowy, 6 — mózg 42-dniowy. Surowica odpornościowa przeciwko mózgowi noworodka absorbowana surowicą normalną szczura.

Fig. 11. 1 — Adult brain, 2 — 18 days-brain, 3 — 21 days-brain, 4 — newborn brain, 5 — 28 days-brain, 6 — 42 days-brain. Antiserum against newborn brain absorbed with normal rat serum.

Ryc. 12. 1 — Mózg dorosły, 2 — mózg płodów 18-dniowych, 3 — mózg noworodka, 4 — mózg 5-dniowy, 5 — mózg 10-dniowy, 6 — mózg 14-dniowy. Surowica odpornościowa przeciwko mózgowi 5-dniowemu absorbowana surowicą normalną, homogenatami wątroby i nerki („całkowicie wyabsorbowana”).

Fig. 12. 1 — Adult brain, 2 — 18-days-fetus brain, 3 — newborn brain, 4 — 5 days-brain, 5 — 10 days-brain, 6 — 14 days-brain. Antiserum against 5 days-brain absorbed with normal serum, and liver and kidney homogenates (“completely absorbed”).

Ryc. 13. 1 — Mózg dorosły, 2 — mózg noworodka, 3 — mózg 18-dniowy, 4 — mózg 21-dniowy, 5 — mózg 28-dniowy, 6 — mózg 42-dniowy. Surowica odpornościowa przeciwko mózgowi 5-dniowemu absorbowana surowicą normalną i homogenatami wątroby i nerki („całkowicie wyabsorbowana”).

Fig. 13. 1 — Adult brain, 2 — newborn brain, 3 — 18 days-brain, 4 — 21 days-brain, 5 — 28 days-brain, 6 — 42 days-brain. Antiserum against 5 days-brain absorbed with normal serum, and liver and kidney homogenates (“completely absorbed”).

Ryc. 14. Spoidło wielkie szczura w różnych okresach rozwoju. a) 18 dzień życia płodowego. Luźne utkanie włókien nie wykazujących objawów mielinizacji, liniowy układ dość obfitych elementów komórkowych, b) 10 dzień życia. Luźne utkanie włókien niezmielinizowanych. c) 14 dni życia. Odcinki niektórych włókien są ciemno zabarwione, co może przemawiać za rozpoczynającym się procesem mielinizacji. d) 21 dni życia. Włókna ciemno zabarwione wydają się całkowicie zmielinizowane, jedynie w środkowej części spoidła wielkiego ich utkanie jest luźne. Metoda Heidenhain-Woelcke. Pow. 200 ×.

Fig. 14. Corpus callosum of rat in various periods of development. a) 18th day of fetal life. Loose texture of fibres showing no symptoms of myelination. Linear set of abundant cellular elements. b) 10th day of life. Loose texture of non-myelinated fibres. c) 14th day of life. Segments of some fibres stained darkly, which may indicate the initiating process of myelination. d) 21st day of life. Darkly stained fibres seem to be completely myelinated, their texture being loose only on the middle part of corpus callosum. Heidenhain-Woelcke method. × 200.

Ryc. 15. Spoidło wielkie płodu szczura w 18 dniu życia płodowego. Nagie aksony, otoczone jedynie aksolemą, zawierające neurotubule przylegające do komórek. Pow. 30.000 ×.

Fig. 15. Corpus callosum of rat fetus in the 18 th day of fetal life. Naked axons, surrounded only by axolemma containing neurotubules adhering to the cells. × 30,000.

Ryc. 16. Spoidło wielkie szczura 10-dniowego. Wypustki niezróżnicowanych komórek wykazują tendencję do wchodzenia w kontakt z włóknami osiowymi (inset). Pow. 48.000; Inset 25.000 ×.

Fig. 16. Corpus callosum of 10 days-rat. Processes of non-differentiated cells show the tendency to get in contact with axons (inset). × 48.000; Inset × 25.000.

Ryc. 17. Spoidło wielkie szczura 14-dniowego. Wypustki komórkowe otaczają włókno osiowe dążąc do zamknięcia się na jego obwodzie. Pow. 102.000 ×.

Fig. 17. Corpus callosum of 14 days-rat. Cellular processes surround the axon tending to close themselves on its periphery. × 102.000.

Ryc. 18. Spoidło wielkie szczura 18-dniowego. Obok wczesnych stadiów tworzenia osłonek mielinowych, składających się z 2—3 blaszek przedzielonych wypustkami cytoplazmy, występują dojrzałe osłonki mielinowe „compact myelin”. Pow. 27.600 ×.

Fig. 18. Corpus callosum of 18 days-rat. Beside the early stages of the formation of myelin sheath, consisting of 2—3 lamellas divided by cytoplasmic processes, compact myelin occurs. × 27.600.

Ryc. 19. Spoidło wielkie szczura 21-dniowego. a) Wypustka komórkowa owija się dookoła włókna osiowego tworząc mezakson zewnętrzny i wewnętrzny. b) Osłonka mielinowa jest uformowana z niewielu blaszek, przestrzenie między nimi pozostają szerokie, wyraźny mezakson zewnętrzny i wewnętrzny. Pow. 49.000 ×.

Fig. 19. Corpus callosum of 21 days-rat. a) Cellular process coils itself round the axon, forming the internal and external mesaxon. b) Myelin sheath is formed, of a small number of lamellas the interspaces remaining broad. Distinct external and internal mesaxon. × 49.000.

Ryc. 20. Spoidło wielkie szczura 28-dniowego. Pasma osłonek mielinowych dojrzałych, wśród których można stwierdzić wcześniejsze stadia dojrzewania. Pow. 20.400 ×.

Fig. 20. Corpus callosum of 28 days-rat. Strand of compact myelin sheaths, among them earlier stages of maturation. × 20.400.

Ryc. 21. Spoidło wielkie szczura 42-dniowego. Włókno osiowe zmielinizowane, między aksolemą i osłonką mielinową znajduje się szeroka wypustka cytoplazmatyczna, szerokość przestrzeni międzyblaszkowych oraz mała ilość blaszek świadczą o niepełnym zakończeniu procesów mielinizacji. Obrazy takie można spotkać również w mózgach dojrzałych. Pow. 25.500 ×.

Fig. 21. Corpus callosum of 42 days-rat. Myelinated axon. Broad cytoplasmic process between axolemma and myelin sheath. With of the intralaminar spaces and small number of lamellas point to the incomplete termination of myelination processes. Such pictures may also be found in mature brains. × 25.500.

Ryc. 22. Spoidło wielkie szczura 3-miesięcznego. Dojrzała osłonka mielinowa. Wewnętrzna blaszka przylega bezpośrednio do aksolemmy, do zewnętrznej blaszki przylegają błony sąsiadujących wypustek komórkowych, odległość między blaszkami wynosi ok. 120 Å, widoczne są intraperiod lines. Pow. 93.000 ×.

Fig. 22. Corpus callosum of 3 months-rat. Compact myelin sheath. Internal lamella adheres directly to axolemma. Membranes of the adjoining cellular processes adhere to the external lamella. The distance between the lamellas is 120 Å, intraperiod lines are visible. × 93.000.

JÓZEF KARKOS, JAN SIKORA

ZMIANY NEUROPATHOLOGICZNE
W PRZEBIEGU DOŚWIADCZALNEGO ZATRUCIA
BENZYNĄ ETYLIZOWANĄ

Zakład Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego w Pruszkowie
Kierownik: doc. dr J. Dymecki
Pracownia Histopatologiczna Szpitala Miejskiego im. Dr T. Chałubińskiego
w Częstochowie
Kierownik: dr J. Sikora

Benzyna jest substancją posiadającą olbrzymie znaczenie dla rozwoju współczesnej cywilizacji. Jej różnorodne zastosowanie i stale rosnące zużycie spowodowało, że znalazła się ona w rzędzie najczęściej spotykanych trucizn przemysłowych.

Z chemicznego punktu widzenia benzyna jest mieszaniną węglowodorów nasyconych, w mniejszej ilości nienasyconych i aromatycznych; większa zawartość tych ostatnich podnosi znacznie jej toksyczność.

W celu poprawienia właściwości benzyny jako materiału pędnego dodaje się do niej tzw. fluidu etylowego, który jest mieszaniną czteroetyliku ołowiu z chlorowcowymi pochodnymi etanu (Schwanecke 1968). Benzyna z tymi dodatkami nosi nazwę benzyny etylizowanej.

W dostępnym piśmiennictwie nie napotkaliśmy pracy uwzględniającej morfologiczne aspekty przewlekłego działania benzyny etylizowanej na ośrodkowy układ nerwowy. Fakt ten, jak również kliniczna ranga problemu w związku z częstością zatruc, występujących u osób narażonych na działanie par benzyny etylizowanej przy codziennej pracy zawodowej, skłoniły nas do przeprowadzenia doświadczeń, których celem było wykazanie ewentualnych zmian morfologicznych w ośrodkowym układzie nerwowym szczurów poddanych przewlekłemu działaniu pary benzyny etylizowanej.

MATERIAŁ I METODA

Do doświadczenia użyto 24 szczury rasy Wistar, płci żeńskiej, wagi 250 g, poddając je w komorze działaniu par benzyny etylizowanej po 6 godzin dziennie, przez 6 dni w tygodniu. Stężenie węglowodorów ben-

zyny wynosiło przeciętnie 10 mg/l powietrza, a stężenie czteroetylku ołowiu 0,000025 mg/ml powietrza w przeliczeniu na ołów (oznaczenia wykonano w Instytucie Medycyny Pracy; dyrektor: prof. dr J. Nofer). Grupę kontrolną stanowiło 6 szczurów. Zwierzęta karmione były standardową mieszanką LSM i roślinami okopowymi. Co miesiąc zabijano przez dekapitację 6 szczurów, tworząc w ten sposób 4 grupy, które przebywały w parach benzyny etylizowanej odpowiednio 1, 2, 3 i 4 miesiące. Określono je jako grupy I, II, III i IV. Głowę zwierzęcia w całości umieszczano w formalinie. Po dwóch dniach wydobywano mózg z czaszki i dokonywano sekcji, wykonując pięć cięć w płaszczyźnie czołowej, a uzyskane wycinki zatapiało w parafinie. Skrawki barwiono hematoksyliną-eozyną, metodą Nissla, Weila, Cajala (w modyfikacji Naoumenko i Feigina 1961), Kanzler-Arendta i van Gieson.

WYNIKI

Oceniając obraz morfologiczny mózgu zwierząt poddanych przewlekłemu działaniu benzyny etylizowanej można zauważyć, że chociaż zmiany morfologiczne nie wykazują cech swoistych dla tego rodzaju zatrucia, to występują one w określonych strukturach anatomo-fizjologicznych szczególnie często i osiągają zawsze wybitne nasilenie. Strukturami tymi są: wężomózgowie, podwzgórze, istota siatkowata oraz niektóre okolice *neocortex*.

W pozostałych strukturach ośrodkowego układu nerwowego zmiany morfologiczne występują w sposób rozsiany, nie osiągając nigdy dużego nasilenia i można je wykazać tylko u pojedynczych zwierząt z poszczególnych grup.

Uszkodzenie elementów histologicznych wężomózgowia obserwuje się zarówno w części pierwotnie wężowej, jak też w płacie limbicznym. Płat limbiczny wykazuje zmiany morfologiczne we wszystkich częściach strukturalnych: korowej, podkorowej i łączących je drogach.

Szczególne nasilenie zmian występuje w *paleocortex* (ryc. 1 i ryc. 2), a w mniejszym stopniu w *mesocortex* i *archicortex* (ryc. 3). Zaródź komórek zwojowych tych okolic obkurcza się, a tigroid ulega zbrylaniu. U zwierząt grupy III i IV często spotykano korkociągowate wypustki, a niekiedy nawet zwapnienie neurocytów. Do stałych cech obrazu mikroskopowego należą ogniskowe ubytki komórek zwojowych. Rzadziej spotyka się komórki wykazujące tigrolizę oraz nadmierną barwliwość jąder komórkowych.

Uszkodzenie jąder podkorowych płata limbicznego obejmuje ich wszystkie grupy, a więc jądra przegrodowe i zespół jąder migdałowatych, z przewagą zmian w jądrze migdałowatym korowym i środkowym

W tych ośrodkach istoty szarej najczęściej spotyka się sklerotyzację neurocytów oraz ogniskowe ubytki komórkowe.

Zmiany morfologiczne występują również w okolicach podwzgórza, związanych czynnościowo z płatem limbicznym (jądro przykomorowe, jądro brzuszno-przyśrodkowe, jądro grzbietowo-przyśrodkowe), w ciałkach suteczkowatych oraz we wzgórzu (jądra przednie).

Zmiany morfologiczne w neurocytach istoty siateczkowatej obserwuje się na wszystkich jej poziomach, przy czym w komórkach większych są one bardziej nasilone. Uszkodzenie neurocytów *neocortex* należy do stałych cech obrazu mikroskopowego u zwierząt wszystkich grup (ryc. 4) i jest szczególnie wyraźne w sąsiedztwie z *mesocortex*, rzadko osiągając dobrzuszenie rowek węchowy.

W mózdku, elementem komórkowym ulegającym w sposób wybiórczy uszkodzeniom, przy najkrótszej ekspozycji na działanie par benzyny etylizowanej, są komórki Purkiniego (ryc. 5). Ulegają one najczęściej homogenizacji, zmianom ischemicznym i zanikają niejednokrotnie na obszarze całego listka.

Komórki zwojowe jąder ruchowych nerwów czaszkowych są na ogół bardziej uszkodzone, niż komórki jąder czuciowych.

Uszkodzenie osłonek mielinowych obserwuje się już u zwierząt narażonych przez 1 miesiąc na działanie czynnika toksycznego, przy czym narasta ono w miarę trwania doświadczenia. W preparatach barwionych metodą Heidenhaina jest widoczne rozlane zblednięcie mieliny, a w dużych powiększeniach nierównomierna barwliwość, zacieranie się granic i rozpad osłonek z powstawaniem wrzecionowatych i paciorkowatych rozdęć. Zmiany te są szczególnie wyraźne we włóknach spoidłowych *neocortex*, nieco słabiej w *meso-* i *paleocortex*, najslabiej w *archicortex*. Znacznie mniejsze zmiany zauważa się we włóknach kojarzeniowych, najmniejsze w rzutowych. Uszkodzenie mieliny jest silniejsze w obszarach obrzękłej istoty białej, niż w korze mózgowej i jądrach podkorowych, gdzie obrzęk jest stosunkowo niewielki.

We wszystkich grupach zwierząt obserwuje się uogólniony rozplem gleju komórkowego, przy czym u zwierząt dłużej narażonych na działanie czynnika toksycznego spotyka się formy regresywne. Gliozą jest szczególnie wyraźna w obrębie dróg spoidłowych, zwłaszcza w ciele modelowatym, natomiast w korze mózgowej jest niewielka, a w obszarach szczególnie nasilonych zmian, w komórkach zwojowych nie spotyka się jej w ogóle. W części promienistości ciała modelowatego, przyległej do sklerotycznie zmienionych komórek zwojowych *neocortex* występują w dużej ilości pałeczki Nissla. Gliozą włókienkowa jest nieznaczna i występuje w obrębie dróg spoidłowych oraz wokół naczyń pod postacią delikatnej siateczki włókien okołowośniczkowych.

Oceniając zmiany glejowe należy podkreślić znaczną dysproporcję między stosunkowo obfitym rozplemem komórek glejowych, a skąpą gliozą włóknistą.

U zwierząt wszystkich grup występują zmiany morfologiczne w ścianach naczyń mózgu. Włośniczki, jak również naczynia większego kalibru są na ogół poszerzone i szczelnie wypełnione krwinkami. Śródbłonki naczyńniowe często są obrzmiałe i stłuszczałe, niekiedy jest widoczna homogenizacja i obrzęk ściany naczynia (ryc. 6). Uszkodzenie ściany naczyniowej przyczynia się do krwinkotoków i wybroczyn śródmiąższowych, a niekiedy spotyka się także krwinkotoki podoponowe i dokomorowe. Sploty naczyniaste wykazują znaczne przekrwienie, a ich zrąb łącznotkankowy jest często zgrubiały. Wyściółka komór w miejscach sąsiadujących z polami obrzękłej tkanki nerwowej wykazuje ogniskowe odwarstwienia.

Cechą znaną obrazu morfologicznego jest dużego stopnia obrzęk tkanki nerwowej, widoczny u zwierząt wszystkich grup doświadczalnych. Znaczne rozluźnienie struktury, zgąbczenie, poszerzenie przestrzeni wokół większych naczyń spotyka się na ogół częściej w istocie białej, zwłaszcza przykomorowo, niż w korze. Porozsuwane przez płyn obrzękowy komórki zwojowe warstwy ziarnistej mózdzku oraz warstwy ziarnistej opuszki węchowej, a także niektórych jąder podkorowych, np. jąder uzdeczki, dają obrazy podobne do przerzedzeń komórkowych. Naczynia krwionośne opon miękkich są silniej ukrwione, a między beleczkami opon, a rzadziej w przestrzeni podoponowej spotyka się krwinkotoki. U zwierząt grupy III i IV zrąb łącznotkankowy opon jest pogrubiały.

U zwierząt grupy kontrolnej nie znaleziono zmian morfologicznych w żadnej z badanych struktur.

Poza predylekcją trucizny do określonych struktur anatomofizjologicznych ośrodkowego układu nerwowego, na uwagę zasługuje również dynamika rozwoju uszkodzeń poszczególnych elementów morfologicznych. Już po 1 miesiącu poddawania zwierząt działaniu par benzyny etylizowanej można znaleźć zmiany morfologiczne w *neo-* i *archicortex*, w strukturach podkorowych płata limbicznego i w mózdzku. Zmiany osłonek mielinowych wykazują na ogół nasilenie proporcjonalne do stopnia i rozległości uszkodzeń komórek nerwowych w danej okolicy. Są one jednak bardziej nasilone w polach obrzęku tkanki, wskazując na udział tego czynnika w patogenezie uszkodzenia mieliny.

Reakcja gleju komórkowego, głównie astrogleju, występuje już we wczesnym okresie doświadczeń, a u zwierząt dłużej narażonych na działanie tej trucizny można wykazać formy regresywne. Toksycznemu wpływowi trucizny na astroglej można prawdopodobnie przypisać brak

gliozy włóknistej w obszarach uszkodzenia osłonek mielinowych, nawet u zwierząt dłużej narażonych na jej działanie.

U zwierząt najdłużej narażonych na działanie trucizny można wykazać rozplem elementów łącznotkankowych opon miękkich.

Przedstawiony obraz morfologiczny ośrodkowego układu nerwowego zwierząt narażonych na przewlekłe działanie par benzyny etylizowanej wskazuje na udział w nim przede wszystkim elementów parenchymalnych tkanki nerwowej. Uszkodzenie elementów mezenchymalnych, chociaż dużego stopnia, ma charakter zmian wstecznych; nie obserwuje się morfologicznych cech odczynu zapalnego. Opisany obraz odpowiada zatem encefalopatii toksycznej.

DYSKUSJA

W zatruciu benzyną etylizowaną ośrodkowy układ nerwowy jest narażony na toksyczne działanie dwóch jej zasadniczych składników, tj. węglowodorów benzyny oraz czteroetylku ołowiu. Piśmiennictwo dotyczące aspektów klinicznych, toksykologicznych i morfologicznych każdego z tych składników jest dość obszerne (Davis i wsp. 1963, Corsi, Picotti 1965, Karkos 1967, Sikora 1968, Karkos, Sikora 1969, Stasik i wsp. 1969).

W zatruciu benzyną bez dodatku fluidu etylowego w obrazie makroskopowym zwraca uwagę wybitne przekrwienie oraz obrzęk opon i mózgu. W obrazie mikroskopowym mózgu charakterystyczne są rozsiane zmiany zwyrodnieniowe w komórkach zwojowych oraz w ich wypustkach. Osłonki mielinowe ulegają rozpadowi do stadium tłuszczów sudanofilnych, które skupiają się w przestrzeniach okołonaczyniowych. Toksyczność benzyny uwarunkowana jest jej zdolnością do rozpuszczania się w lipidowych składnikach neuronów, przy czym pozostaje ona w prostym stosunku do stopnia rozpuszczalności (Cremer 1959, Schwanncke 1968).

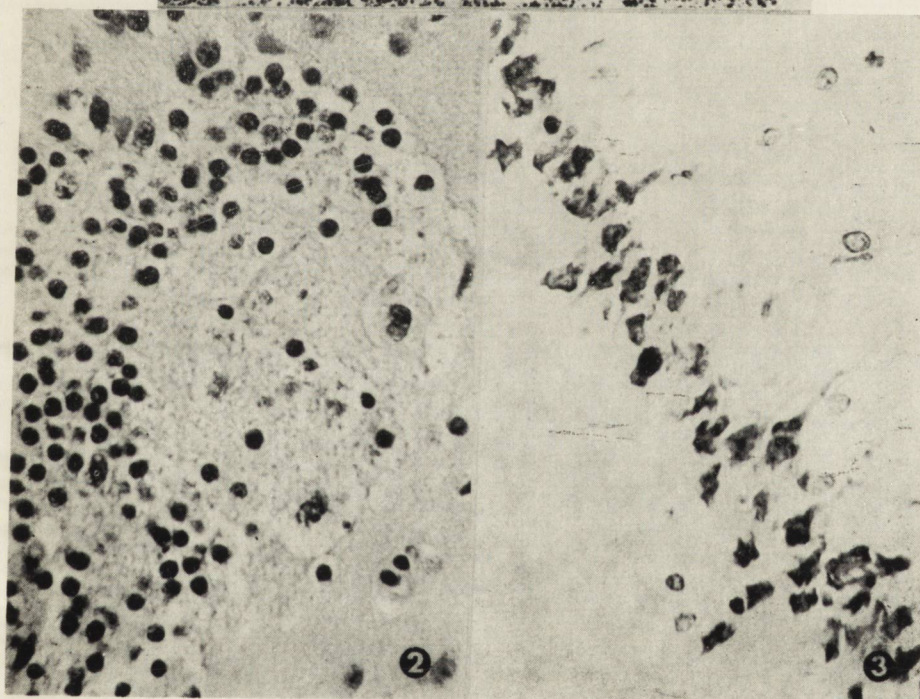
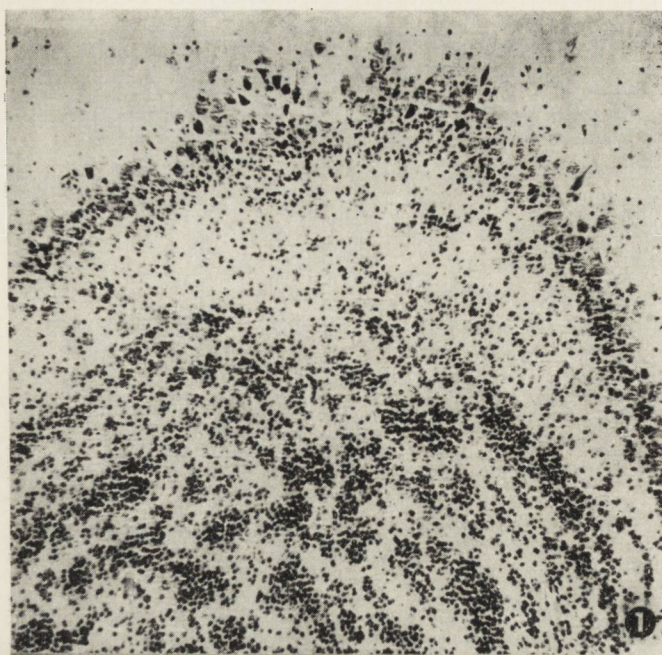
W zatruciu czteroetylkami ołowiu makroskopowo można znaleźć zmiany podobne, jak w zatruciu benzyną (Karkos, Sikora 1969, Stasik i wsp. 1969). W obrazie mikroskopowym obserwowano zmiany zwyrodnieniowe dwojakiego charakteru: rozsiane zmiany w neurocytach, głównie kory mózgu i mózdzku oraz zmiany ogniskowe w ciałkach suteczkowatych, a w znacznie mniejszym stopniu także w ciałkach czworaczych i w dnie komory IV (Bini, Bollea 1947). Zwraca uwagę znaczne nasilenie uszkodzenia komórek zwojowych ciałek suteczkowatych i obecność towarzyszącego mu odczynu proliferacyjnego gleju, głównie mikrogleju. Obecny jest także rozrost naczyń włosowatych z drobnookrągłomórkowymi naciekami okołonaczyniowymi. Toksyczność czteroetylku ołowiu jest zwią-

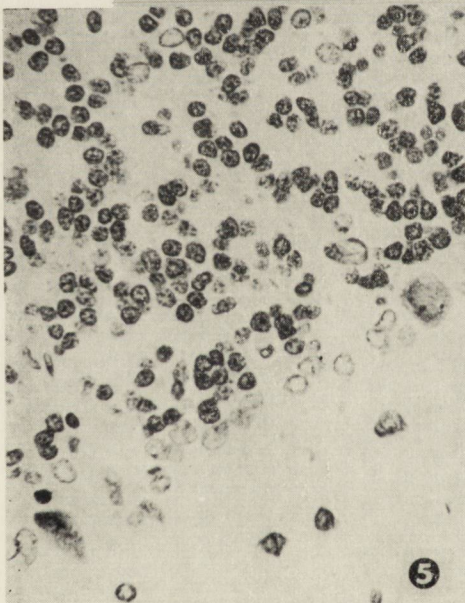
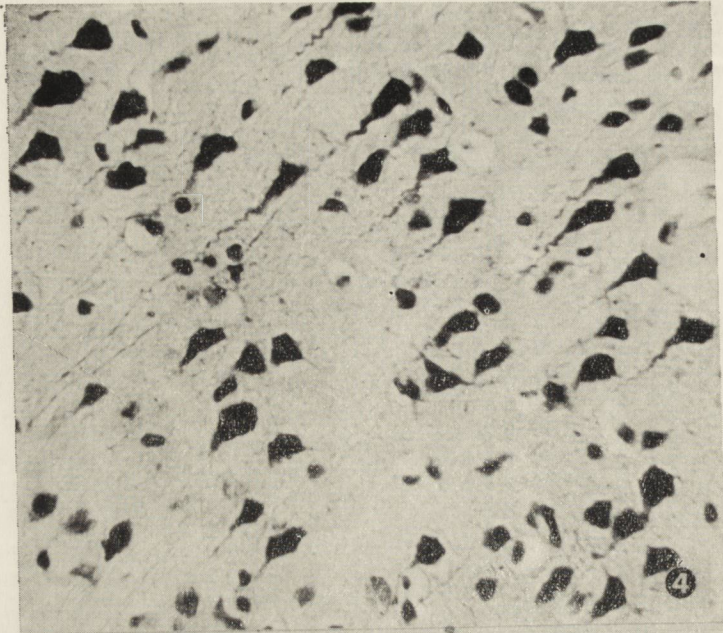
zana z działaniem produktów jego enzymatycznego rozkładu, zachodzącego w wątrobie, w szczególności zaś z wpływem trójetylku ołowiu (Stevens i wsp. 1960, Bolańska i wsp. 1967). Metabolit ten z łatwością przechodzi przez barierę krew-mózg (Cremer 1959, Stasik i wsp. 1969). W zatruciu czteroetylkem ołowiu przepuszczalność naczyń włosowatych mózgu jest zwiększona, za czym przemawia między innymi spadek w ich ścianach aktywności fosfatazy zasadowej (Stasik i wsp. 1969). Badania biochemiczne i histochemiczne tkanki nerwowej zwierząt poddanych działaniu dużych stężeń benzyny etylizowanej (310 mg/l) wykazały spadek aktywności dehydrogenazy bursztynianowej, DPN-diaforazy, ATP-azy oraz 5-nukleotydu. Wykazano także zmniejszenie zawartości jonów sodu i magnezu, natomiast poziom wapnia był prawidłowy (Przybyłowski 1969). W zatruciu czteroetylkem ołowiu dochodzi do upośledzenia utleniania glukozy, co klinicznie manifestuje się kwasicą metaboliczną (Stasik i wsp. 1969). Stopień zaburzenia metabolizmu glukozy jest proporcjonalny do miejscowego stężenia trójetylku (Cremer 1959). Magistretti i wsp. (1961) wykazali ponadto, że w warunkach *in vitro* czteroetylek ołowiu hamuje aktywność monoaminooksydazy.

Udział ołowiu w patogenezie obserwowanych w zatruciu benzyną etylizowaną zmian morfologicznych w ośrodkowym układzie nerwowym jest niejasny. Istotny element obrazu patomorfologicznego stanowi uszkodzenie elementów mezenchymalnych, natomiast zmiany neuronalne mają charakter drugoplanowy i są nietypowe (Ambrosi, Secchi 1968, Osetowska 1971). W zatruciu czteroetylkem ołowiu nie wykryto tego związku w tkance nerwowej (Bini, Bollea 1947).

Porównanie obrazu morfologicznego ośrodkowego układu nerwowego w zatruciu benzyną oraz w zatruciu czteroetylkem ołowiu z wynikami naszych badań, uzyskanymi w doświadczalnym zatruciu parami benzyny etylizowanej wykazuje, że toksyczne działanie benzyny etylizowanej nie jest wynikiem prostego sumowania się właściwości toksycznych jej poszczególnych składników, lecz że w rezultacie dodania do benzyny czteroetylku ołowiu otrzymujemy substancję o szczególnej toksyczności dla tkanki nerwowej.

W doświadczalnym zatruciu parami benzyny etylizowanej widoczna jest predylekcja pewnych struktur anatomo-fizjologicznych, w których zmiany występują już po krótkim czasie narażenia na działanie czynnika toksycznego osiągając zawsze wybitne nasilenie. Strukturami tymi są: węchomózgowie, podwzgórze, istota siatkowata oraz pewne okolice *neocortex*. Ważnym czynnikiem patogenetycznym, biorącym udział w powstawaniu zmian morfologicznych jest również znaczny obrzęk tkanki nerwowej w wyniku uszkodzenia bariery krew-mózg.





WNIOSKI

1. Obraz morfologiczny ośrodkowego układu nerwowego szczurów narażonych na przewlekłe działanie par benzyny etylizowanej wskazuje, że ten rodzaj trucizny przemysłowej cechuje się dużym powinowactwem do tkanki nerwowej.

2. Benzyna etylizowana uszkadza elementy parenchymalne, jak również mezenchymalne tkanki nerwowej, przy czym obserwuje się wyraźną predylekcję do występowania zmian w węchomózgowiu, podwzgórzu, istocie siatkowatej i pewnych okolicach *neocortex*.

3. Z punktu widzenia neuropatologicznego obserwowany proces chorobowy ma charakter nieswoisty dla tego typu zatrucia i odpowiada encefalopatii toksycznej.

Autorzy gorąco dziękują Pani dr W. Bolańskiej z Instytutu Medycyny Pracy w Łodzi za oznaczenie stężeń par benzyny etylizowanej i czteroetylku ołowiu, oraz Pani A. Małekkiej za przygotowanie preparatów histologicznych.

Ю. Каркос, Я. Сикора

НЕЙРОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВО ВРЕМЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОТРАВЛЕНИЯ ЭТИЛИЗИРОВАННЫМ БЕНЗИНОМ

Резюме

Авторы представили морфологический анализ характера, локализации и интенсивности изменений в мозгу, вызванных токсическим действием паров этилизованного бензина.

Опыты проводились на крысах расы Вистар, которые подвергались воздействию паров этилизованного бензина в течение 1, 2, 3 и 4 месяцев (концентрация углеводов бензина составляла 10 мг/л воздуха, а концентрация свинец-тетрадила — 0,000025 мг/л воздуха в пересчете на свинец).

В исследованном материале были видны диффузные дегенеративные изменения в нейронах всех структур центральной нервной системы, особенно однако выраженные в районе обонятельного мозга, гипоталамуса, ретикулярной формации и некоторых районов коры.

Реакция клеточной глии выражалась в ее гиперплазии, а у животных дольше экспонированных часто встречались регрессивные виды. Фиброзный глиоз был выражен незначительно. Повреждение миелинизированных оболочек было в общем пропорционально дегенеративным изменениям в центральных волокнах. Характерным свойством микроскопической картины были частые и тяжелые повреждения сосудистой стенки и ангиогенные изменения: диапеды и стек, локализованный главным образом в белом веществе.

Сравнивая морфологическую картину центральной нервной системы при отравлении бензином и свинецтетрадилом, авторы обнаруживают, что в результате добавки к бензину свинецтетрадила возникает смесь с большей токсичностью для нервной ткани, чем это могло бы возникать из простого суммирования токсического действия этих двух ее основных компонентов.

NEUROPATHOLOGICAL CHANGES IN THE COURSE OF EXPERIMENTAL
POISONING WITH ETHYL GASOLINE

Summary

The authors give a morphological analysis of the nature, localisation and degree of changes in the brain caused by the toxic action of ethyl gasoline vapour.

The experiments were made with Wistar rats exposed to ethyl gasoline vapour for a period of 1, 2, 3 and 4 months (concentration of gasoline carbohydrates was 10 mg/l of air and the concentration of tetraethyllead 0.000025 mg/l of air as converted to lead).

In the material investigated disseminated degenerative changes were visible in the neurons of all the structures of the central nervous system, particularly pronounced within the rhinencephalon, hypothalamus, the reticular formation and certain areas of the neocortex. The reaction of glia cells consisted in proliferation, and in animals exposed for a longer time regressive forms were frequent. Fibrous gliosis was but little pronounced. Lesions of the myelin sheaths were as a rule proportional to the degenerative changes in the axons. A characteristic feature of the microscopic picture was a frequent lesion of the vascular wall and vasculogenic changes localised mainly in the white matter.

If we compare the morphological picture of the central nervous system after poisoning with gasoline and tetraethyl lead described in the literature with the author's own results, it may be concluded that, when tetraethyl lead is added to gasoline, a mixture arises with a higher toxicity for the nervous tissue than could be expected from a simple summation of the toxic action of the two basic components.

PIŚMIENNICTWO

1. Ambrosi L., Secchi G. C.: Il sistema nervoso centrale e periferico nel saturnismo, *Med. Lavoro*, 1968, 59, 265—280.
2. Bini L., Bollea G.: Fatal Poisoning by Lead — benzene. A Clinico — pathologic Study, *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1947, 6, 271—278.
3. Bolańska W., Piotrowski J., Garczyński M.: Triethyllead in the biological Material in Cases of Acute Tetraethyllead Poisoning, *Arch. Tokiol.* 1967, 22, 278—282.
4. Corsi G. C., Picotti G.: Analisi Clinica su una Casistica di intossicati da piombo tetraetile, *Folia Medica*, 1965, 48, 856—887.
5. Cremer J. E.: Biochemical studies on the toxicity of tetraethyllead and other organo — lead compounds, *Brit. J. Industr. Med.*, 1959, 16, 191—199.
6. Davis R. K., Horton A. W., Larson W. E., Stemmer K. L.: Inhalation of tetraethyllead and tetramethyllead, *Arch. environm. Hlth*, 1963, 6, 473—480.
7. Karkos J.: Choroby wywołane przez eter naftowy i benzynę, *Ochrona Pracy*, 1967, 22, 4—6.

8. Karkos J., Sikora J.: Zaburzenia neuro-psychiczne wywołane zatruciem czteretylką ołowiu, *Neurol. Neurochir. Pol.*, 1969, 3, 61—66.
9. Magistretti M., Petrone M., Majoni A.: Azione in vitro del piombo — tetraetile sulla monoaminoossidasi cerebrale, *Med. Lavoro*, 1961, 52, 498—505.
10. Osetowska E.: Intoxications (Metals). W książce: *Pathology of the Nervous System*, Ed. J. Minckler, The Blakiston Division, McGraw — Hill Book Company, London 1971.
11. Przybyłowski J.: Einige Aspekte der Pathogenese der experimentellen akuten Vergiftung mit Autobenzindämpfen (Bleibenzin 78), *Int. Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg.*, 1969, 25, 219—231.
12. Schwanecke R.: Unfall- und Gesundheitsgefahren durch Antiklopfmittel auf der Basis bleiorganischer Verbindungen, *Zbl. Arbeitsmed.*, 1968, 18, 69—78.
13. Sikora J.: Zmiany patomorfotyczne w narządach wewnętrznych szczurów narażonych na działanie par benzyny etylizowanej, *Praca doktorska*. Katowice 1968.
14. Stasik M., Byczkowska Z., Szendzikowski S., Fiodorczuk Z.: Acute Tetraethyllead Poisoning, *Arch. Toxikol.*, 1969, 24, 283—291.
15. Stevens Ch. D., Feldhake Ch. J., Kehoe R. D.: Isolation of Triethyllead Ion from Liver After Inhalation of Tetraethyllead, *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 1960, 128, 90—94.

Adres: Pruszków, ul. Partyzantów 2/4, Instytut Psychoneurologiczny.

PODPISY POD RYCINY

Ryc. 1. Bulbus olfactorius. Rozlane ubytki oraz zmiany przewlekłe i homogenizacyjne w dużych komórkach mitralnych, prawie całkowity zanik małych komórek mitralnych. Komórki warstwy ziarnistej wewnętrznej znacznie przerzedzone i obkurczone. Fiolet krezyłu. Pow. 60 ×.

Fig. 1. Bulbus olfactorius. Noteworthy are the diffuse defects, chronic changes and homogenisation in large mitral cells as well as the complete atrophy of small mitral cells. The cells of the inner granular layer are rarefied and shrunken. Cresyl violet. × 60.

Ryc. 2. Tuberculum olfactorium. Plackowaty ubytek komórek wyspy Calleja. Obrzęk znacznego stopnia. Fiolet krezyłu. Pow. 200 ×.

Fig. 2. Tuberculum olfactorium. Patchy loss of Calleja's islets cells. High degree of oedema. Cresyl violet. × 200.

Ryc. 3. Fascia dentata. Różne stadia schorzenia przewlekłego oraz ubytki, zwłaszcza komórek piramidowych. Fiolet krezyłu. Pow. 200 ×.

Fig. 3. Fascia dentata. Various stages of the chronic disease and defects particularly of the pyramidal cells. Cresyl violet. × 200.

Ryc. 4. Neocortex. Schorzenie przewlekłe i sklerotyzacja, ubytki komórek zwojowych kory. Fiolet krezyłu. Pow. 200 ×.

Fig. 4. Neocortex. Chronic disease, sclerotisation and loss of cortical nerve cells. Cresyl violet. × 200.

Ryc. 5. Mózdzek. Ubytki i zmiany homogenizacyjne w komórkach Purkiniego. Astrocyty Bergmanna obrzękłe. Komórki warstwy ziarnistej przerzedzone, barwią się nierównomiernie. Fiolet krezyłu. Pow. 200 ×.

Fig. 5. Cerebellum. Note the loss and homogenisation of the Purkinje cells. Bergmann's astrocytes swollen. The cells of the granular layer are rarefied and stain nonuniformly. Cresyl violet. $\times 200$.

Ryc. 6. Naczynia tętnicze szczeliny międzypółkulowej. Rozrosłe elementy ściany naczyniowej uległy homogenizacji. Poszerzone przestrzenie okołonaczyniowe wypełnione płynem obrzękowym. H-E. Pow. 200 \times .

Fig. 6. Arterial vessels of the fissura interhemispherica. The elements of the vascular wall have undergone homogenisation. The widened perivascular spaces are filled with oedematous fluid. H-E. $\times 200$.

MARIAN SOŚNIERZ, CZESŁAWA WAŻNA-BOGUŃSKA, ZBIGNIEW SZCZUREK

ZMIANY NEUROPATHOLOGICZNE U SZCZURÓW ZATRUWANYCH PRZĘDZIORKOFOSEM *)

Katedra i Zakład Anatomii Patologicznej Śl. AM w Katowicach
Kierownik: prof. dr W. Niepołomski

Przędziorkofos należy do pestycydów fosforoorganicznych o szerokim spektrum działania (Geigy 1962). Stosowany jest do ochrony upraw agrarnych przed szkodnikami. Śladowa reszta preparatu przenikając wraz ze spożywanymi produktami do ustroju stwarza potencjalne niebezpieczeństwo zatrucia.

W poprzednich pracach (Sośnierz i wsp. 1968a, 1968b) dokonano toksykologicznej oceny przędziorkofosu oraz przeprowadzono patomorfologiczną analizę zmian w narządach wewnętrznych wywołanych jego stosowaniem. Niniejsza praca poświęcona jest omówieniu obrazu neuropatologicznego ostrego, podostrego i przewlekłego zatrucia szczurów przędziorkofosem.

MATERIAŁ I METODA

Doświadczenie przeprowadzono na szczurach rasy Wistar, obojga płci, w wieku około 3 miesięcy i średniej masie wyjściowej 200—270 g. Toksyczność preparatu oznaczono wg wielkości dawki na kilogram masy i czasu ekspozycji zwierząt. W pierwszej grupie zastosowano 5 wzrastających dawek o mnożniku 1,5 od 20 mg/kg do 100 mg/kg przez 14 dni. W drugiej grupie użyto 6 wzrastających dawek o mnożniku 2 od 1 mg/kg do 32 mg/kg, również przez 14 dni. Zwierzęta trzeciej grupy otrzymały 5 wzrastających dawek o mnożniku 2 od 1,5 mg/kg do 24 mg/kg przez 90 dni. Zwierzęta pierwszej grupy zabito bezpośrednio po zakończeniu zatrucia, drugiej — po miesięcznej przerwie, a trzeciej — podzielonej na dwie podgrupy, w 3 tygodnie i w 2 miesiące po zakończeniu doświadczenia. Czwartą grupę stanowiły zwierzęta kontrolne uszerego-

*) 30% roztwór pestycydu fosforoorganicznego o składzie chemicznym 0,0-dwuetyl-2,5-dwuchlorofenylomerkaptometylodwutiofosforanu w solwentnawie z dodatkiem emulgatora. Odpowiednikiem zagranicznym preparatu krajowego jest „Phenkapton”.

wane w cztery podgrupy odpowiednio do grup doświadczalnych. Do badania mikroskopowego wybrano losowo 4 szczury z pierwszej, 24 — z drugiej oraz wszystkie (90 sztuk) z trzeciej grupy. Skrawki parafinowe mózgu barwiono hematoksyliną-eozyną oraz fioletem krezyłu.

Selekcję materiału przeprowadzono na podstawie założeń metodologicznych opartych na własnych obserwacjach. Wysokie dawki przedziorkofosu oddziałują ogólnotoksycznie i powodują powstanie zmian organicznych w wielu narządach. Może to wpływać w sposób istotny na obraz morfologiczny mózgu, uniemożliwiając interpretację zmian chorobowych i ustalenie ich etiopatogenezy. Natomiast małe dawki przedziorkofosu nie powodują na ogół uszkodzeń w narządach wewnętrznych. Stąd też pojawienie się w ośrodkowym układzie nerwowym zmian patologicznych o cechach zwyrodnienia i nekrobiozy u szczurów traktowanych subtoksycznymi dawkami można wiązać z działaniem przedziorkofosu.

WYNIKI

Materiał analizowano pod kątem struktury i topografii uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego. Ocenę oparto wyłącznie na podstawie obserwacji mikroskopowych. Zmiany neuropatologiczne występowały na ogół selektywnie, nie spostrzegano rozlanych postaci uszkodzeń obejmujących większe obszary cytoarchitektoniczne mózgu.

Grupa I. Ostre zatrucie. U niektórych zwierząt kontrolnych stwierdzono przekrwienie, drobne krwinkotoki oraz neurony wykazywały cechy schorzenia ischemicznego.

U zwierząt doświadczalnych nasilenie zmian morfologicznych było większe niż w grupie kontrolnej. Oznaki zaburzeń w krążeniu stwierdzono zarówno w korze mózgowej, w pniu mózgu, jak i w mózdzku u wszystkich badanych szczurów. Natomiast zanik tigroidu i zeszkliwienie cytoplazmy, charakterystyczne dla schorzenia ischemicznego obserwowano w neuronach kory mózgowej (ryc. 1) i kory amonalnej. W tych samych okolicach jednak w mniejszej ilości występowały również neurony z cechami schorzenia przewlekłego (ryc. 2). Neurony z uszkodzeniami typu ciężkiego schorzenia obserwowano zarówno w korze mózgowej (ryc. 3), jak i w pniu mózgu. We wszystkich badanych przypadkach komórki Purkinjego wykazywały cechy schorzenia homogenizacyjnego. Ogniska opustoszeń komórkowych spotykano w korze mózgowej, w pniu mózgu i w mózdzku. Nekrobioza neuronów indukowała rozplem gleju, który gromadził się krzaczkowato w miejscach ubytków komórkowych.

Grupa II. Zatrucie podostre. Charakter i umiejscowienie zmian morfologicznych w drugiej grupie kontrolnej był podobny do stwierdzonych w pierwszej grupie kontrolnej.

Wystąpiły natomiast różnice u zwierząt doświadczalnych. Zwiększyła się ilość struktur cytoarchitektonicznych wykazujących uszkodzenia tkankowe. Zmiany świadczące o zaburzeniach w krążeniu spotykano już nie tylko w zakresie kory mózgowej i amonalnej, w pniu i mózdku, lecz także w jądrze ogoniastym, w skorupie, we wzgórzu oraz w jądrze przykomorowym. We wszystkich przypadkach występowały w korze mózgowej i w pniu mózgu komórki nerwowe z cechami schorzenia ischemicznego.

Częstość zmian w korze amonalnej i w mózdku była mniejsza. Zmiany o cechach schorzenia przewlekłego obserwowane równie często jak schorzenie ischemiczne. Schorzenie ciężkie dotyczyło neuronów kory mózgowej i pnia mózgu oraz wzgórza i jądra przykomorowego. Szczególnie często zmiany o tym charakterze występowały w pniu mózgowym i dotyczyły wszystkich badanych przypadków. Natomiast w korze zdarzały się rzadziej, obserwowano je tylko w połowie badanych przypadków. We wzgórzu i jądrze przykomorowym komórki nerwowe z ciężkim schorzeniem występowały tylko pojedynczo. Zwraçała uwagę częstość uszkodzeń komórkowych o typie schorzenia homogenizacyjnego. U wszystkich badanych zwierząt obserwowano zmiany homogenizacyjne w komórkach Purkiniego. Rozwój nekrobiozy powodował rozległe ubytki neuronów. U wszystkich badanych zwierząt stwierdzono ogniska opustoszeń komórkowych. Występowały one w korze mózgowej, w pniu mózgu i mózdku, a w pojedynczych przypadkach także w korze amonalnej (ryc. 4). Rozplem gleju stwierdzono w korze mózgowej i w pniu mózgu (ryc. 5), a sporadycznie w mózdku. W podostrym zatruciu stwierdzano ponadto zmiany w naczyniach sieci terminalnej w postaci zgrubienia i zeszkliwienia ściany naczyniowej. Uszkodzenia tego typu obserwowano w korze i w pniu mózgu oraz niekiedy także w korze amonalnej, jądrze ogoniastym, w skorupie i w oponach miękkich (ryc. 6).

Grupa III. Zatrucie przewlekłe z 3-tygodniowym przeżyciem. Obraz morfologiczny mózgu zwierząt kontrolnych nie różnił się od obrazu spostrzeganego w poprzednich grupach kontrolnych.

U zwierząt doświadczalnych stwierdzono natomiast wzrost częstości i rozległości zmian patologicznych. U wszystkich badanych zwierząt w korze mózgu i w mózdku stwierdzano przekrwienia i krwinkotoki. W tych samych strukturach występowały neurony z cechami schorzenia ischemicznego, znacznie rzadziej spotykane w korze amonalnej. Podobnie zlokalizowane były uszkodzenia o typie schorzenia przewlekłego. W połowie badanych przypadków stwierdzono w neuronach kory zmiany o cechach schorzenia ciężkiego. W pojedynczych przypadkach były one obecne w podwzgórzu i w jądrze nadwzrokowym. Homogenizacyjne zwyrodnienie neuronów występowało jako zjawisko powszechne we

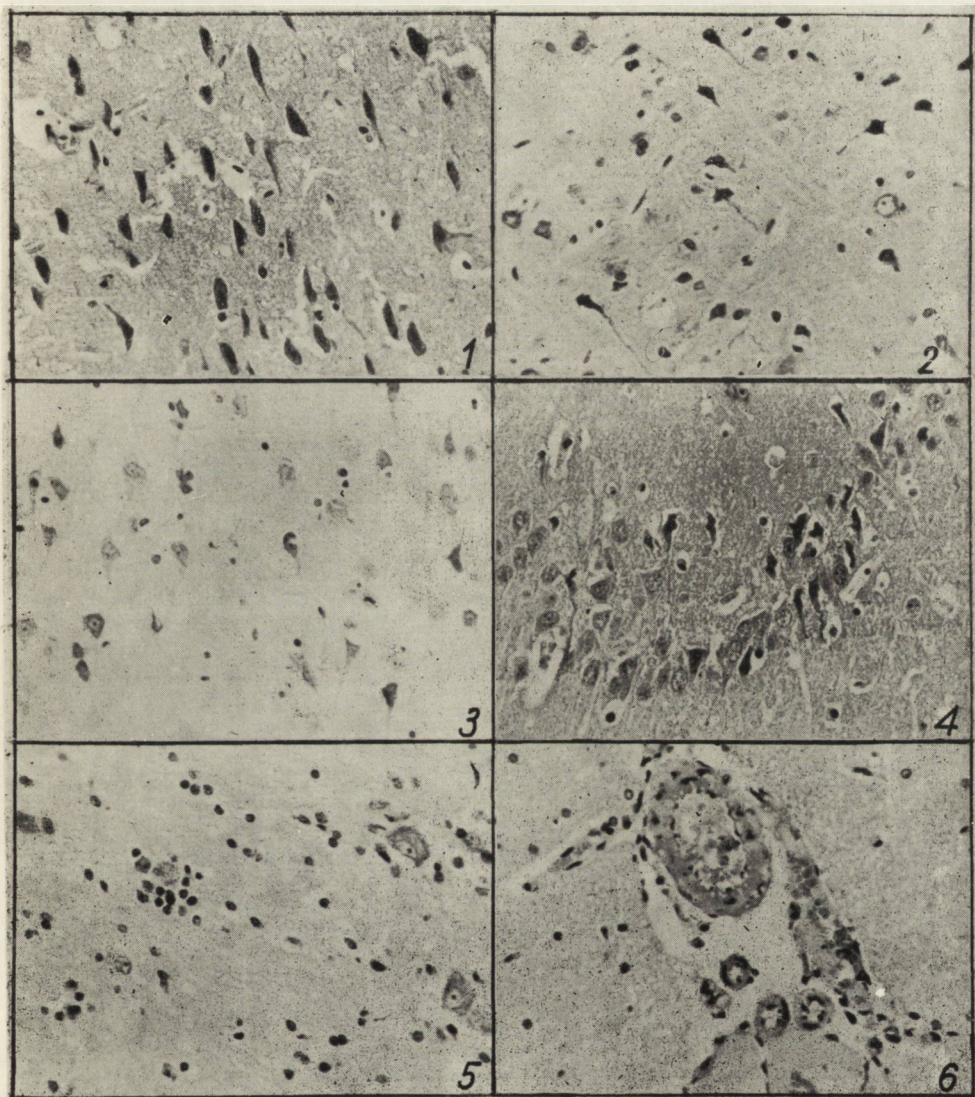
wszystkich przypadkach. W korze mózgowej i w korze amonalnej, w pniu mózgu i mózdzku spotkano ogniska opustoszeń komórkowych. Zróżnicowana była natomiast częstość zmian w poszczególnych strukturach. W korze mózgu występowały one we wszystkich przypadkach, natomiast w korze amonalnej tylko w pojedynczych. Rozplem gleju był zjawiskiem charakterystycznym dla opisywanej grupy doświadczalnej. Krzaczkę glejową wykryto w korze mózgowej i w pniu mózgu u wszystkich badanych zwierząt. W pojedynczych przypadkach znaleziono je także w podwzgórzu, w jądrze nadwzrokowym i przykomorowym (ryc. 7) oraz w mózdzku (ryc. 8). Obrzmienie i zwyrodnienie szkliste naczyń występowało typowo w korze mózgowej. W pojedynczych przypadkach stwierdzano je również w jądrze ogoniastym i w skorupie.

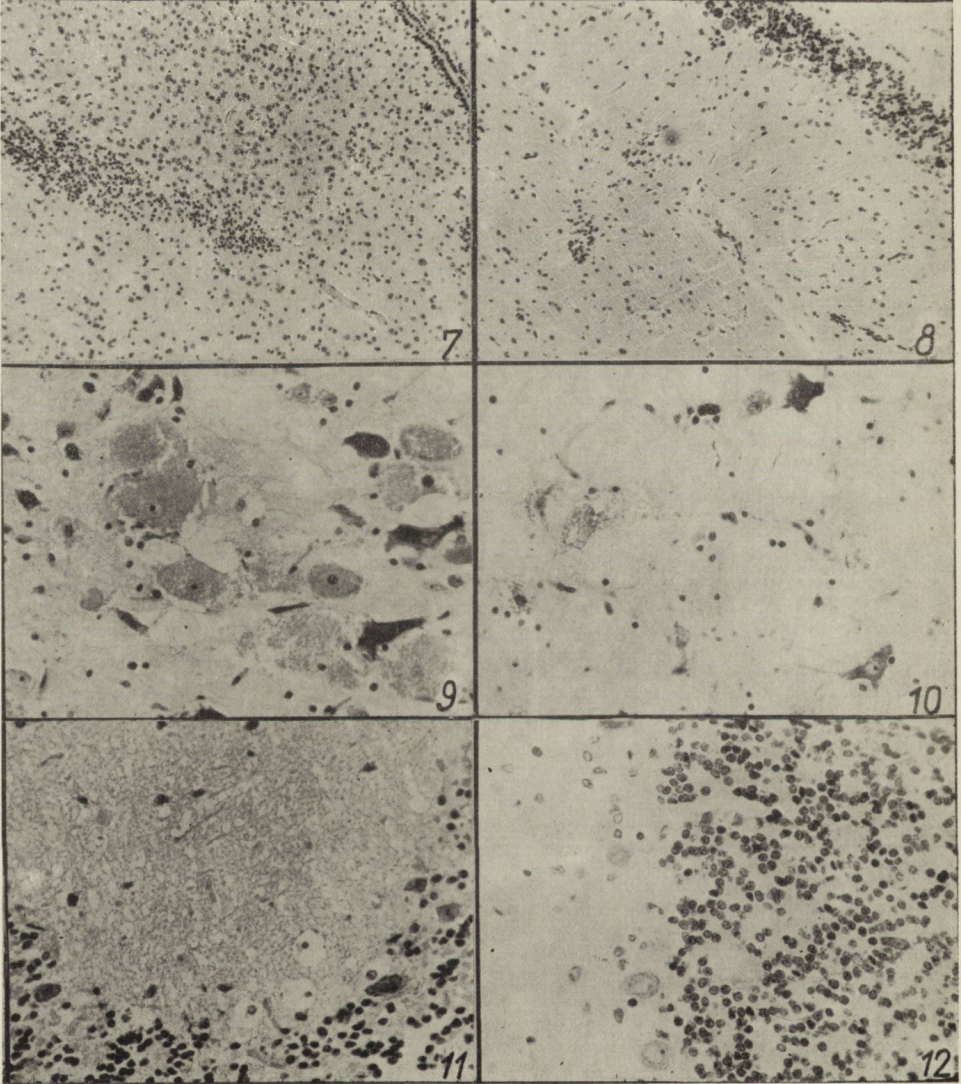
Grupa III. Zatrucie przewlekłe z 2-miesięcznym przeżyciem. Obraz patomorfologiczny mózgu zwierząt kontrolnych był podobny jak w innych grupach kontrolnych.

Objawy zaburzeń w krążeniu występowały u zwierząt doświadczalnych w korze mózgowej, w pniu mózgu i w mózdzku, przy czym w dwóch pierwszych lokalizacjach obecne były we wszystkich przypadkach. Schorzeniem ischemicznym i przewlekłym były dotknięte szczególnie często neurony kory mózgowej i pnia mózgu. W pojedynczych przypadkach zmiany te zdarzały się w korze amonalnej. W badanej grupie nastąpił wyraźny wzrost częstości ciężkiego schorzenia neuronów. Wystąpiło ono u wszystkich zwierząt w korze mózgowej i w pniu mózgu (ryc. 9) oraz także w pojedynczych przypadkach w neuronach wzgórza, podwzgórza i jądra nadwzrokowego. Ogniska opustoszenia komórkowego występowały u wszystkich zwierząt w korze mózgowej i w pniu mózgu (ryc. 10) oraz w mózdzku (ryc. 11). We wszystkich przypadkach była również obecna homogenizacja komórek Purkiniego (ryc. 12). Rozrost gleju obserwowano w różnych układach cytoarchitektonicznych, ale tylko w obrębie kory mózgowej i pnia mózgu, rozrost ten występował u wszystkich badanych zwierząt. Nasilenie zmian patomorfotycznych w naczyniach sieci terminalnej było większe niż w innych badanych grupach. W korze mózgowej i w pniu mózgu znaleziono zeszkliwiałe naczynia we wszystkich przypadkach, w pojedynczych w jądrze ogoniastym, w skorupie i w mózdzku.

OMÓWIENIE

Przedziorkofos działa toksycznie na ośrodkowy układ nerwowy. Przyczynia się do tego hamowanie acetylocholinesterazy u zwierząt zatrutych preparatami fosforoorganicznymi (Ladell 1961, Hobbinger 1961). W badanym materiale spotykano różne postaci zmian zwyrodnienio-





wych, które wiodły do śmierci komórek nerwowych. Obumarłe neurony były na ogół szybko uprzątane, a pola opustoszeń uzupełniał rozrastający się odczynowo glej. Szczególnie wrażliwe na działanie przedziorkofosu okazały się neurony kory mózgowej, pnia mózgu oraz komórki Purkiniego. Inne umiejscowienie zmian nie było charakterystyczne i dotyczyło w zasadzie tylko pojedynczych przypadków.

Nasilenie zmian chorobowych było podobne we wszystkich badanych grupach. Różnice dotyczyły tylko liczby, a nie odsetka przypadków. Ze spostrzeżenia tego wynika, że wielkość dawki przedziorkofosu nie determinowała powstania i rozwoju zmian nekrobiotycznych. Dla neuronów okazały się szkodliwe nie tylko duże dawki, silnie ogólnotoksyczne, lecz również małe dawki, nie oddziałujące uszkodzająco na inne narządy. Może to być związane z trwałym uszkodzeniem organelli cytoplazmatycznych zawierających enzymy, których aktywacja wiodła do śmierci komórek. W tych warunkach przerwanie zatruwania nie mogło już zahamować zmian nekrobiotycznych. Stąd też może wynikać duża różnorodność rozwojowa i brak regresji zmian chorobowych po zakończeniu doświadczenia.

Przedziorkofos działa także uszkodzająco na terminalną sieć naczyniową. Zmienione ściany naczyń utrudniały dyfuzję płynów i zaopatrzenie mózgu w tlen. Mogło to też wpłynąć na utrwalenie się zmian w neuronach.

Wpływ przedziorkofosu na neurony miał charakter selektywny. Stąd zasięg zmian neuropatologicznych był ograniczony i dotyczył w zasadzie pojedynczych komórek. Jednak spostrzegane zmiany nakazują ostrożność w praktycznym zastosowaniu przedziorkofosu. Należałoby też zweryfikować, względnie uzupełnić ocenę tego preparatu, opartą dotychczas tylko na badaniu narządów wewnętrznych, w których na ogół nie wykryto zmian organicznych upośledzających stan biologiczny organizmu (Sośnierz i wsp. 1968a, 1969b). Wydaje się też wskazane włączyć mózg do narządów, na których oznacza się patogenne działanie pestycydów przed ich praktycznym wykorzystaniem.

WNIOSKI

1. Zatrucie szczurów przedziorkofosem powoduje powstanie zmian morfologicznych w ośrodkowym układzie nerwowym.
2. Występowanie zmian w mózgu jest częstsze niż w narządach wewnętrznych.
3. Przedziorkofos oddziałuje selektywnie na neurony, wywołując powstanie ognisk opustoszeń komórkowych.

4. Szczególnie wrażliwe na działanie przedziorkofosu są neurony kory mózgowej, pnia mózgu i mózdzku.
5. Wielkość dawki nie jest determinantem uszkadzającego działania przedziorkofosu.
6. Zakończenie zatruwania nie zatrzymuje rozwoju zmian nekrobiotycznych w neuronach.

M. Сосьнеж, Ц. Важна-Богуньска, З. Щурек

НЕЙРОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У КРЫС ОТРАВЛИВАЕМЫХ
ПЖЕНДЗИОРКОФОСОМ (ПЕСТИЦИД)

Резюме

Авторы исследовали действие пжендзиоркофоса на центральную нервную систему крысы. Животных отравляли разными дозами препарата в течение 14 дней и 3 месяцев, убивали в группах в разное время после интоксикации. Для микроскопической оценки брали мозг вместе со стволом и мозжечком. Препараты окрашивали гематоксилином-эозином и крезилвиолетом. Полученные результаты свидетельствуют, что пжендзиоркофос действует токсически на нейроны центральной нервной системы крысы, при чем особенно чувствительны нейроны мозговой коры, мозгового ствола и мозжечка. Повреждения и исчезновение нейронов обнаруживалось не только при применении больших доз с сильным общетоксическим действием, но также при использовании малых доз, не вызывающих болезненных изменений в других органах. Авторы внушают, что оценка токсичности пестицидов и их патогенного действия должна дополняться результатами нейропатологических исследований.

M. Sośnierz, C. Ważna-Boguńska, Z. Szczurek

NEUROPATHOLOGICAL CHANGES IN THE RAT BRAIN AFTER
PRZĘDZIORKOFOS INTOXICATION

Summary

The authors studied the influence of Przędziorkofos (Pesticid) intoxication on the rat brain. Experimental animals were intoxicated for 14 days and 3 months with various doses of Przędziorkofos and sacrificed in groups at various intervals after intoxication. Microscopical studies were performed on brain sections stained with hematoxylin-eosin and cresyl violet.

It was shown that Przędziorkofos poisoning caused in the rat brain degeneration of nerve cells. The neurons of cerebral cortex, brain stem and cerebellum were particularly susceptible to the drug action. The neuronal damage and nerve cells loss was stated not only with large doses of high general toxicity, but also with the small ones which do not cause pathological changes in other organs.

In the authors opinion it is necessary to complete the evaluation of pesticid toxicity with neuropathological studies.

PISMIENNICTWO

1. Geigy J. R.: Toksykologia Phenkaptonu. J. R. Geigy, A. G., Basel 1962.
2. Hobbiger F.: The inhibition of acetylcholinesterase by organophosphorus compounds and its reversal. *Proceed. Roy Soc. Med.* 1961, 54, 403—404.
3. Ladell W. S.: Physiological and clinical effects of organophosphorus compounds. *Proceed Roy Soc. Med.* 1961, 54, 405—407.
4. Sońnierz M., Szczurek Z., Knapiek R., Kołodziejczyk A.: Ocena toksyczności ostrej i podostrej przedziorkofosu u szczurów na podstawie badań morfotycznych. *Patol. Pol.* 1968a, 19, 415—422.
5. Sońnierz M., Szczurek Z., Knapiek R., Kołodziejczyk A.: Ocena toksyczności przewlekłej przedziorkofosu u szczurów na podstawie badań morfotycznych. *Patol. Pol.* 1968b, 19, 423—427.

Adres autorów: Zakład Anatomii Patologicznej Śl. A. M., Katowice, ul. Damrota 22.

PODPISY POD RYCINY

Ryc. 1. Schorzenie ischemiczne komórek nerwowych kory mózgu. H-E. Pow. ok. 400 ×.

Fig. 1. Ischemic nerve cells disease in the cerebral cortex. H-E. Ca × 400.

Ryc. 2. Schorzenie przewlekłe komórek nerwowych kory mózgu. Fiolet krezyłu. Pow. ok. 400 ×.

Fig. 2. Chronic nerve cells disease in the cerebral cortex. Cresyl violet. Ca × 400.

Ryc. 3. Schorzenie ciężkie komórek nerwowych kory mózgowej z towarzyszącym odczynem głąju. Fiolet krezyłu. Pow. ok. 400 ×.

Fig. 3. Severe nerve cells disease in the cerebral cortex with concomitant glial reaction. Cresyl violet. Ca × 400.

Ryc. 4. Opustoszenia komórkowe w korze amonalnej. H-E. Pow. ok. 400 ×.

Fig. 4. Nerve cells loss in the amonal cortex. H-E. Ca × 400.

Ryc. 5. Satelitoza okołokomórkowa w pniu mózgu. Fiolet krezyłu. Pow. ok. 400 ×.

Fig. 5. Perineuronal satellitosis in the brain stem. Cresyl violet. Ca × 400.

Ryc. 6. Zgrubienie ścian drobnych naczyń krwionośnych w oponach miękkich. H-E. Pow. ok. 400 ×.

Fig. 6. Thickening of the vessel walls in the pia mater. H-E. Ca × 400.

Ryc. 7. Skupienia komórek głąjowych w pobliżu komory mózgu. H-E. Pow. ok. 160 ×.

Fig. 7. Agglomeration of glial cells in the vicinity of cerebral ventricle. H-E. Ca × 160.

Ryc. 8. Grudki głąjowe w mózdzku. Fiolet krezyłu. Pow. ok. 160 ×.

Fig. 8. Microglial nodules in the cerebellum. Cresyl violet. Ca × 160.

Ryc. 9. Schorzenie ciężkie komórek nerwowych pnia mózgowego. Fiolet krezyłu. Pow. ok. 400 ×.

Fig. 9. Severe nerve cells disease in the brain stem. Cresyl violet. Ca × 400.

Ryc. 10. Ubytki komórkowe w pniu mózgu. Fiolet krezyłu. Pow. ok. 400 ×.

Fig. 10. Nerve cells loss in the brain stem. Cresyl violet. Ca × 400.

Ryc. 11. Ubytki komórek Purkinjego w mózdzku. H-E. Pow. ok. 400 ×.

Fig. 11. Loss of Purkinje cells. H-E. Ca × 400.

Ryc. 12. Schorzenie homogenizacyjne komórek Purkinjego. Fiolet krezyłu. Pow. ok. 400 ×.

Fig. 12. Homogenising Purkinje cells changes. Cresyl violet. Ca × 400.

TREŚĆ

| | |
|--|-----|
| M. J. Mossakowski: Andrzej Głuszc | 1 |
| V. W. D. Schenk: Wspomnienie o Andrzeju Głuszczu | 9 |
| [A. Głuszc] , J. Alwasiak, W. Papierz, B. Lach: Obserwacje morfologiczne glików w przebiegu wielokrotnego przeszczepiania na świnki morskie | 11 |
| E. Sosiński: Zmiany w tkance nerwowej w otoczeniu pierwotnych i wtórnych nowotworów mózgu | 23 |
| M. Rossowska, A. Gromek: Wpływ niedotlenienia na procesy oksydacyjnej fosforylacji i przemianę kwasu glutaminowego w mózdku świnek morskich | 41 |
| M. J. Mossakowski, A. Pronaszko-Kurczyńska, J. Korthals, A. Wrutniak: Wpływ umiarkowanego niedokrwienia na poziom glikogenu w mózgu w zależności od stopnia dojrzałości ośrodkowego układu nerwowego | 53 |
| J. Korthals: Przypadek nietypowych uszkodzeń ultrastrukturalnych kory mózgu szczura w przebiegu doświadczalnego niedokrwienia mózgu | 69 |
| H. Weinrauder, M. Ostenda: Właściwości antygenowe mózgu w okresie mielinizacji włókien nerwowych | 81 |
| J. Karkos, J. Sikora: Zmiany neuropatologiczne w przebiegu doświadczalnego zatrucia benzyną etylizowaną | 99 |
| M. Sośnierz, C. Ważna-Boguńska, Z. Szczurek: Zmiany neuropatologiczne u szczurów zatrutowanych przedziorkofosem | 109 |

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|---|-----|
| M. E. Моссаковский: Анджей Глуц | 1 |
| B. B. Д. Шенк: К памяти Анджея Глуца | 9 |
| [A. Глуц] , Я. Альвасяк, В. Папез, Б. Лях: Морфологические наблюдения глимом в процессе многократной прививки на морские свинки | 11 |
| Э. Сосиньски: Изменения в нервной ткани вблизи первичных и вторичных опухолей мозга | 23 |
| M. Россовска, А. Громек: Влияние гипоксии на процессы оксидативной фосфорилиции и обмен глутаминовой кислоты в мозжечке морских свинок | 41 |
| M. E. Моссаковский, А. Пронашко-Курчиньска, Я. Кортхальс, А. Врутняк: Влияние умеренной анемизации на уровень гликогена в мозгу в зависимости от степени зрелости центральной нервной системы | 53 |
| Я. Кортхальс: Изменения ультраструктуры коры мозга в случае сосуществования ишемии и вторичной дегенерации нейронов | 69 |
| Г. Вейнраудер, М. Остенда: Антигенные свойства мозга в период миелинизации | 81 |
| Ю. Каркос, Я. Сикора: Нейропатологические изменения во время экспериментального отравления этилизованным бензином | 99 |
| M. Сосьнеж, Ц. Важна-Богуньска, З. Шурек: Нейропатологические изменения у крыс отравляемых пжендзиоркофосом (пестицид) | 109 |

CONTENTS

| | |
|--|-----|
| M. J. Mossakowski: Andrzej Głuszc | 1 |
| V. W. D. Schenk: In memory of Andrzej Głuszc | 9 |
| A. Głuszc , J. Alwasiak, W. Papierz, B. Lach: Morphological observations of gliomas in the course of repeated transplantations on guinea pigs . | 11 |
| E. Sosiński: Changes in the nervous tissue in the surrounding of primary and secondary brain tumours | 23 |
| M. Rossowska, A. Gromek: Effect of hypoxia on oxidative phosphorylation and glutamic acid metabolism in guinea pig cerebellum | 41 |
| M. J. Mossakowski, A. Pronaszko-Kurczyńska, J. Korthals, A. Wrutniak: Effect of moderate ischemia on the glycogen level in brain according to the degree of maturity of the central nervous system | 53 |
| J. Korthals: Ultrastructural changes in the brain cortex in case of coexistence of ischemia and secondary degeneration of neurons | 69 |
| H. Weinrauder, M. Ostenda: Antigenic properties of brain in the period of myelination of nervous f.bres | 81 |
| J. Karkos, J. Sikora: Neuropathological changes in the course of experimental poisoning with ethyl gasoline | 99 |
| M. Sośnierz, C. Ważna-Boguńska, Z. Szczurek: Neuropathological changes in the rats brain after Frzedziorkofos intoxication | 109 |

WARUNKI PRENUMERATY

Cena prenumeraty krajowej:

rocznie — zł 100.—

półrocznie — zł 50.—

Instytucje państwowe i społeczne, zakłady pracy, szkoły itp. mogą zamawiać prenumeratę wyłącznie w miejscowych Oddziałach i Delegaturach Przedsiębiorstw Upowszechnienia Prasy i Książki „Ruch”, w terminie do 25 listopada na rok następny.

Prenumeratory indywidualni w terminie do 10 dnia miesiąca poprzedzającego okres prenumeraty mogą opłacać prenumeratę w urzędach pocztowych i u listonoszy, lub dokonywać wpłat na konto PKO Nr 1-6-100020 — Centrala Kolportażu Prasy i Wydawnictw „Ruch”, Warszawa, ul. Towarowa 28.

Prenumeratę ze zleceniem wysyłki za granicę, która jest o 40% droższa od prenumeraty krajowej, przyjmuje Biuro Kolportażu Wydawnictw Zagranicznych „Ruch”, Warszawa, ul. Wronia 23, konto PKO Nr 1-6-100024.

Sprzedaż egzemplarzy numerów zdezaktualizowanych, na uprzednie pisemne zamówienia, prowadzi Centrala Kolportażu Prasy i Wydawnictw „Ruch” Warszawa, ul. Towarowa 28.

*

Quarterly "Neuropatologia Polska" appearing since 1963, as an official Journal of Polish Association of Neuropathologists publishes papers in the field of: Clinical and Experimental Neuropathology, Neurooncology, Neurochemistry and Neuroanatomy.

Yearly subscription US \$ 12.— (prices in other currencies are the effective exchange rates in relation to the currency quoted above). Subscriptions from abroad should be paid to Ars Polona-Ruch account No 1595-006-71000 through the Bank Handlowy S.A. Warsaw, Poland.

Indeks 36910

Zakł. Graf. „Tamka”. Z. 2. Zam. 667. Pap. ilustr. kl. III. 80 g. B1.
Nakład 442+23 egz. Ark. druk. 7,25+2,0. R-30.