

eqz 2

STOWARZYSZENIE NEUROPATOLOGÓW POLSKICH

17.18.

NEUROPATOLOGIA POLSKA

58-
~~Nelko, No~~

TOM XVI

1978

ZESZ. 3

WARSZAWA

NEUROPATHOLOGIA POLSKA

KWARTALNIK

Tom XVI

LIPIEC—WRZESIEŃ

Nr 3

KOMITET REDAKCYJNY

Jerzy Dymecki (Warszawa), *Janusz Groniowski* (Warszawa), *Jerzy Kulczycki* (Warszawa), *Adam Kunicki* (Warszawa), *Tadeusz Majdecki* (Warszawa), *Mirostaw Mossakowski* (Warszawa), *Ewa Osetowska* (Mińsk Mazowiecki), *Mieczysław Śmiątek* (Warszawa), *Mieczysław Wender* (Poznań), *Irmina Zelman* (Warszawa)

PRZY WSPÓŁPRACY

Ludo van Bogaert (Antwerpia), *Werner Jänisch* (Halle), *Igor Klatzo* (Bethesda), *Istvan Környey* (Pecs), *William H. McMenemey* (London), *Jochen Quandt* (Bernburg-Saale), *Franz Seitelberger* (Wiedeń), *Istvan Tariska* (Budapeszt).

REDAKCJA ŚCISŁA

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

REDAKCJA

Redaktor Naczelny: *Irmina Zelman*
Sekretarz Redakcji: *Halina Kroh*

ADRES REDAKCJI

Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej Polskiej Akademii Nauk
ul. Dworkowa 3, 00-784 Warszawa, tel. 49-54-10

Wydawca

PAŃSTWOWY ZAKŁAD WYDAWNICTW LEKARSKICH



EWA OSETOWSKA, ALICJA KOZYRSKA, MARIA AFEK-KAMIŃSKA

PROCESY ZAPALNE „NEURONOBÓJCZE” I NEURONOTROPOWE

Ośrodek Doświadczalny Neurologii Porównawczej Centrum Medycyny
Doświadczalnej i Klinicznej PAN, Mińsk Mazowiecki

Kierownik Ośrodka: prof. dr med. E. Osetowska

Pracownia Anatomii Patologicznej Szpitala Zakaźnego Nr 1, Warszawa
Kierownik Pracowni: dr med. M. Afek-Kamińska

W klasycznej neuropatologii grudka neuronofagiczna stanowiła typowy składnik wirusowego zapalenia mózgu i dowód replikacji wirusa w neuronie. Nowe światło na to zagadnienie rzuciły badania Simona i wsp. (1970). Simon przeprowadzając doświadczenia ze złośliwym, atenuowanym i unieczynnionym wirusem *Polio* stwierdził, że wirus wprawdzie replikuje kosztem neuronu rybonukleinowe genomy i doprowadza do rozpadu komórki z wytworzeniem grudki neuronofagicznej ale cykl replikacyjny kończy się dopiero w makrofagach, w których wirus otrzymuje proteinowy kapsyd, dając silną immunofluorescencję. Niemniej ta wstępna faza replikacji wirusa kończy się zniszczeniem neuronu („cytocide Wirkung”). O wirusach zdążających do neuronów, jako do miejsca nowego cyklu życiowego, mówiło się, że są neurotropowe. Nowe pojęcie neurotropizmu wirusowego pojawiło się wraz z nasileniem badań nad wirusem odry i wirusem *Herpes A hominis* (Valdimarsson i wsp., 1975; Shoji i wsp., 1976; Price i wsp., 1975a). Wirus *Herpes A* może przebywać w neuronach nie powodując ich rozpadu i to zarówno w neuronach ośrodkowego układu nerwowego, jak i w zwojach obwodowych (Günter i wsp., 1973; Baringer, Swoveland, 1974; Layzar, Conant, 1974; Byington, Johnson, 1975; Price i wsp., 1975b). Dopiero dodatkowe choroby zakaźne, urazy, nagłe obniżenie odporności organizmu (Modi, Valaitis, 1974) mogą wywołać bądź to wędrowkę wirusa do określonych okolic skóry, bądź zapalenie mózgu. Utajone przebywanie w neuronach stwierdzono także dla wirusa *Herpes Simiae B* (Fierrer i wsp., 1973 oraz Vizoso, 1975), dla wirusa świnki (Johnson, 1968, 1970), a wybitną bezneuronofagiczną neuronopatię w przebiegu świnki zaobserwował Margolis i wsp. (1974). Wymienione wyżej wirusy,

które zresztą nie wyczerpują listy analogicznych zjawisk, wszyscy wspomniani autorzy uważają za wysoce i specyficznie neurotropowe.

Stajemy zatem wobec pytania w jakich przypadkach i w jakich procesach mamy mówić o wirusach neurotropowych: czy w tych, w których wirus doprowadza do rozpadu neuronu, czy też w tych, w których wirus dąży do neuronu, zamieszkuje go, wpływa nawet na przestrojenie immunologiczne ustroju, ale nie powoduje rozpadu komórki nerwowej, najwyżej (ale nie zawsze) pozostawia swój „bilet wizytowy” w postaci wtrętu. Na pytanie to chciałbyśmy odpowiedzieć na przykładzie dwóch różnych typów zapaleń mózgu. Jedno z nich wywołane zostało wirusem *Herpes A*, zweryfikowanym wirusologicznie. Drugie stanowi zapalenie ARBO, kompleksu TBE, o typowym wywiadzie, przebiegu klinicznym i obrazie neuropatologicznym. Oba te przykłady wraz z ilustracjami przedstawiamy o tyle chętniej, że pomimo liczego występowania obu tych zapaleń w Polsce, nasze piśmiennictwo neuropatologiczne ma za ledwie pojedyncze doniesienia z cząstkową ikonografią zapalenia *Herpes A* i zapalenia ARBO/TBE. Pracę niniejszą ilustrujemy dwoma przypadkami, które pochodzą z Kliniki Chorób Zakaźnych AM w Warszawie (Kierownik: prof. dr B. Kassur).

OPIS PRZYPADKÓW

Przypadek 1. Chora W. W., lat 29 poczuła się źle około 11 listopada 1974 r.; miała bóle głowy, uczucie osłabienia i nudności. Po trzech dniach zgorączkowała z okresowymi utratami przytomności i wymiotami. Miała także prawdopodobnie krótkotrwałe drgawki, ponieważ otoczenie spostrzegало co jakiś czas pianę na ustach chorej. Skarżyła się również na ból i drętwienie lewej ręki. W dniu 6.12.1974 została przewieziona do Szpitala w Żyrardowie, gdzie stwierdzono wybitne objawy oponowe, lewostronny niedowład i powtarzające się krótkie napady epileptyczne. Ciepłota 40°C. Zaburzenia oddechu. Chorą przewieziono do Szpitala Zakaźnego Nr 1 w Warszawie.

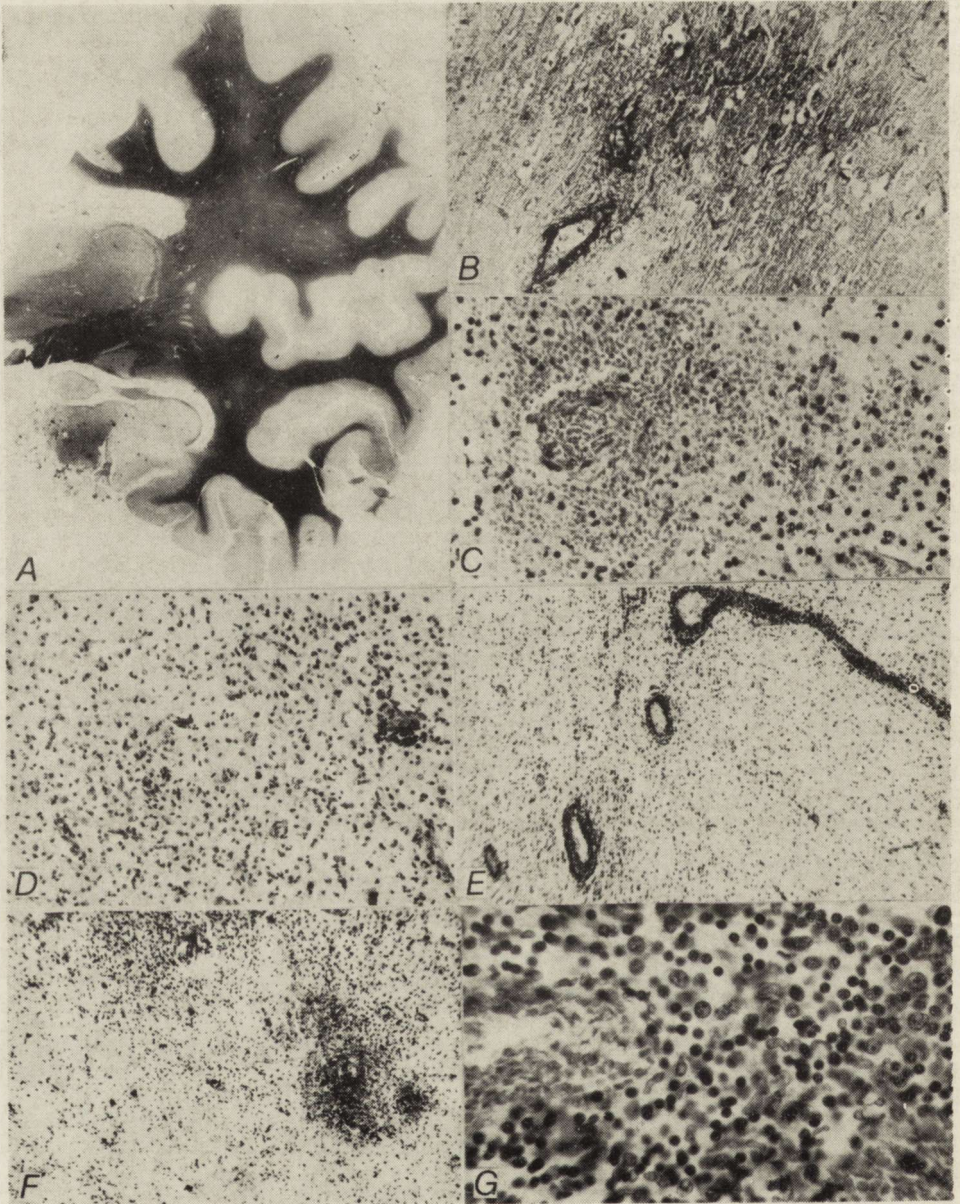
W badaniach dodatkowych stwierdzono: płyn mózgowo-rdzeniowy: cytoza 31 (100% limfocytów), próby Pandy i Nonne Apelt dodatnie, białko 84 mg%, cukier 64 mg%. We krwi leukocytoza 10.000. Tarcze nerwu wzrokowego zatarte. Chora całkowicie nieprzytomna, objawy oponowe słabe. Podłączona do oddechu kontrolowanego zmarła dnia 11.12.74, po 22 dniach choroby. Rozpoznanie kliniczne: *Encephalitis viralis. Insufficiencia respiratoria et circulatoria acuta.*

Rozpoznanie sekcyjne (sekcja w 12 godzin po zgonie): *Dilatatio cordis dex. Atelectasis pulmonum. Intumescencia hepatis et lienis.* Z wycinków mózgu wyizolowano wirusa *Herpes A hominis.*

Do badania neuropatologicznego otrzymano mózg utrwalony w całości w formolu. Stwierdzono wgłobienie migdałków mózdzku oraz zakrętów haka. Rysunek anatomiczny na ogół zachowany. Płaty skroniowe wykazują miękką, rozplywającą się konsystencję oraz zatarcie granic pomiędzy korą i istotą białą.

Do badania mikroskopowego pobrano skrawki półkulowe oraz mózdzek, most i opuszkę, które przeprowadzono do parafiny w sposób typowy. Zastosowane barwienia: H-E, fiolet krezyłu, w/g Heidehaina, Holzera, van Gieson i Holmesa.

Badanie mikroskopowe (PAN, H-7/74): Lokalizację zmian najlepiej można zaobserwować na ryc. 1 A, na której jest widoczna rozpadająca się okolica amonalna oraz rozplywanie się obrzękowe zawojów T1, T2 i T3. Analogiczne obrazy obserwuje się w sąsiednich skrawkach z okolic czołowych i potylicznych. Widoczne jest także spłowienie mieliny w płacie skroniowym, w *centrum semiovale*, w spoidle wielkim oraz w zawoju nadspoidłowym i zawoju okołosrodkowym tylnym. Największe nasilenie zmian dotyczy dość symetrycznie okolicy hipokampa i zawojów skroniowych wyczerpując się stopniowo w przyległych polach. Zmienione okolice przedstawiają częściowo bezodczynową martwicę rozpadowo-krwotoczną (ryc. 1B), w pewnej odległości od największego zniszczenia można już rozpoznać kontury rozpadających się naczyń, zawieszonych w wynaczynieniach krwotocznych (ryc. 1C), nieco dalej całe pole zasłane jest luźno rozrzuconymi komórkami glejowymi i krwiopochodnymi (ryc. 1D). W okolicy retrolentikularnej, w torebce wewnętrznej, w resztkach struktur gałki bladej widoczne są na tle rozlanego zagęszczenia komórkowego mufkowate, częściowo rozpraszające się w otoczeniu nacieki okołonaczyniowe (ryc. 1E) a także mikroglejowo-limfocytarne ławice szerzące się odnaczyniowo. Skład nacieków okołonaczyniowych, w których widać przede wszystkim limfocyty i plazmatocyty, następnie zaś monocyty i makrofagi, ilustruje ryc. 1G. Nacieki o analogicznym składzie występują w oponach, szczególnie płatów skroniowych, skąd przechodzą bezpośrednio na tkankę mózgu. W istocie białej wykazującej rozlane spłowienie mieliny, w powiększeniach mikroskopowych widać gąbczaste przerzedzenia oraz okołonaczyniowe zatoki przesiękowe. Podobne obrazy obserwuje się w istocie białej mózdzku. Kora mózdzku wykazuje demarkację obrzękową. W pniu mózgu nacieki okołonaczyniowe są dużo mniejsze, spotyka się je tylko sporadycznie. W istocie czarnej widoczna jest jedna niezupełnie wykształcona grudka neuronofagiczna; druga przypominająca raczej nasiloną satelitozę w korze bieguna czołowego. Żadna z nich nie odpowiada typowym grudkom neuronofagicznym encefalitów grupy I A (Osetowska, 1974). Na żadnym innym poziomie nie znaleziono grudek. Proces ma cha-



rakter rozlanego zapalenia oponowo-mózgowego, z wybitnym udziałem mechanizmów hemodynamicznych.

Przypadek 2. Chory W. M., lat 22, technik weterynaryjny zatrudniony w dziale profilaktyki i lecznictwa, zachorował około 5 listopada 1974. W ciągu 2 tygodni skarżył się na złe samopoczucie, bóle głowy i dreszcze. Dnia 20.XI. wystąpiły nudności i wymioty. Przy przyjęciu do Szpitala Zakaźnego Nr 1 w Warszawie stan ogólny pacjenta ciężki, objawy oponowe zaznaczone, przytomny. Od 23.XI., głęboko zamroczony, bez kontaktu, sztywność karku na 4 palce, źrenice nie reagują na światło, objawy Babińskiego i Rossolimo dodatnie. W dniu 24.XI. pacjent stracił oddech i został podłączony do respiratora. Zmarł dn. 28.XI.74 wśród objawów niewydolności oddechowej i krążeniowej. Badania dodatkowe: w płynie mózgowo-rdzeniowym cytoza 264 (59 limfocytów, 41 segmentowanych), odczyn białkowe silnie dodatnie, białko 241 mg%, cukier 50 mg%, chlorki 128 mg%, w powtórnym badaniu płynu m.-rdz. w dniu 24.XI. cytoza 35 (limfocytów 99%, segmentowanych 1%). Mocz bez zmian. We krwi leukocytoza 11.800. Rozpoznanie kliniczne: *Encephalitis probabilliter viralis. Intubatio artificialis.* Rozpoznanie anatomo-patologiczne (sekcja w 12 godzin po zgodnie): *Hypertrophia cordis totius, leptomeningitis et oedema cerebri, erosiones haemorrhagicae multiplices ventriculi.*

Ryc. 1A. Przypadek 1. Poziom amonalny. Widoczne rozplywanie się kory i istoty białej i zmiany martwicze w zakresie zawojów T1, T2, T3. Heidenhain. Skrawek wielkości naturalnej.

Fig. 1A. Case 1. Ammonal level. Colliquative necrosis of the Ammon region and the three temporal gyri. Heidenhain. Natural size.

Ryc. 1B. Pole rozpadu w okolicy skroniowej z obrzękiem i wynaczynieniami. Heidenhain. Pow. 150 X

Fig. 1B. Necrotic destruction with edema and perivascular hemorrhagies in the temporal lobe. Heidenhain. X 150

Ryc. 1C. Rozpadające się naczynie zawieszane w ognisku krwotocznym. Fiolet krezyłu. Pow. 200 X

Fig. 1C. Necrotized vessel in hemorrhagic focus. Cresyl violet. X 200

Ryc. 1D. Luźny, rozsiaany naciek glejowo-hematogeny w pobliżu pola największego zniszczenia. Fiolet krezyłu. Pow. 300 X

Fig. 1D. Loose, glio-hematogenous infiltration near to the field of severe tissue destruction. Cresyl violet. X 300

Ryc. 1E. Mufkowane nacieki okołonaczyniowe na tle zagęszczenia gleju. Fiolet krezyłu. Pow. 150 X

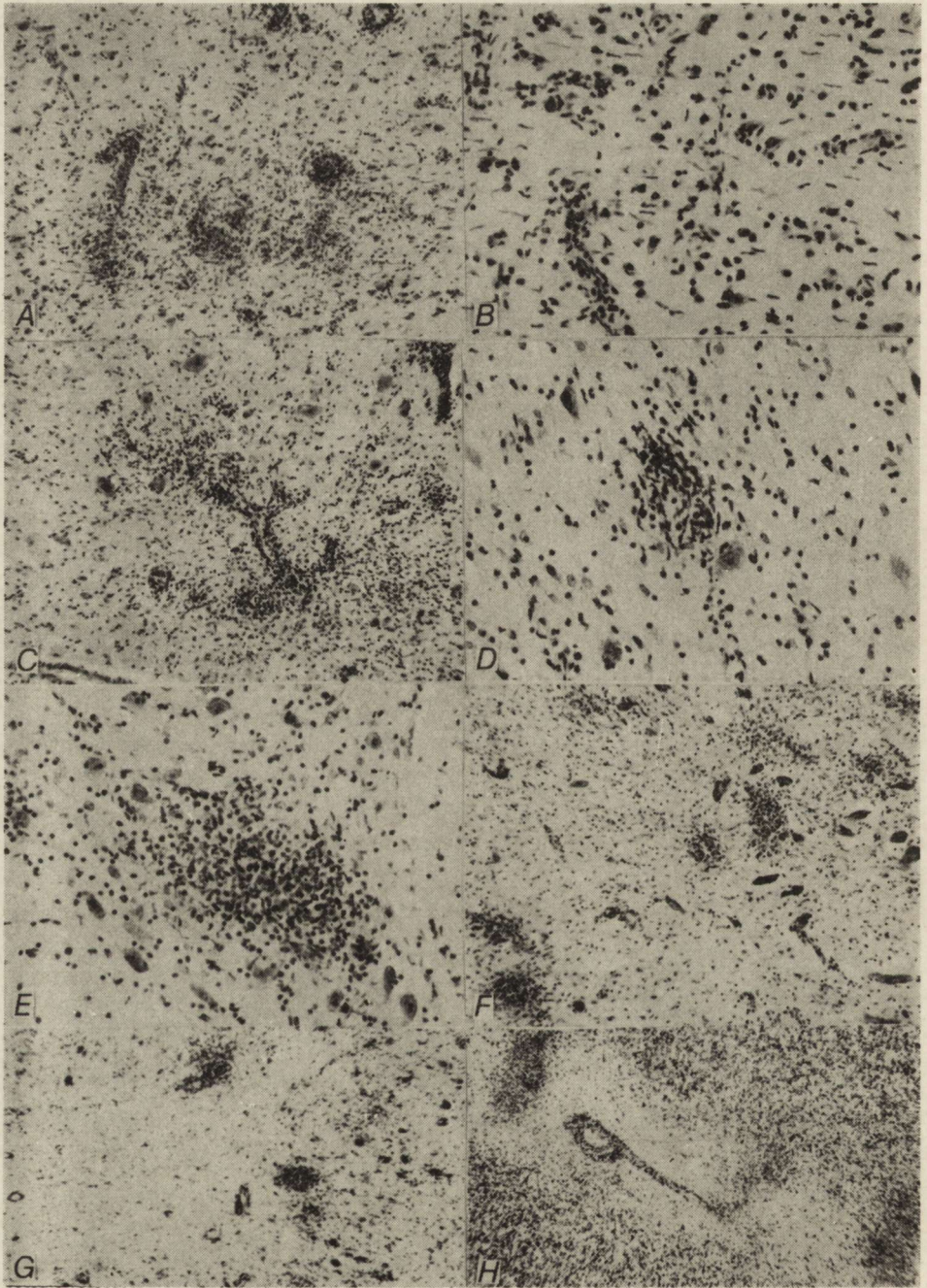
Fig. 1E. Perivascular cuffs against dense glial infiltration. Cresyl violet. X 150

Ryc. 1F. Rozlane nacieki mikroglejowe w pobliżu naczyń w gałce bladej. Fiolet krezyłu. Pow. 150 X.

Fig. 1F. Diffuse perivascular microglial infiltration in the pallidum. Cresyl violet. X 150

Ryc. 1G. Nacieki okołonaczyniowy utworzony z limfocytów, komórek plazmatycznych, monocytów i histiocytów. Fiolet krezyłu. Pow. 450 X.

Fig. 1G. Perivascular infiltration composed of lymphocytes, plasmacytes, monocytes and histiocytes. Cresyl violet. X 450.



Do badania neuropatologicznego otrzymano mózg w całości utrwalony w formolu. Skrawki i technika opracowania materiału takie same jak w 1-szym przypadku.

Protokół mikroskopowy (PAN H-6/74). Przypadek o niespotykanym niemal (poza *encephalitis japonica*) natężeniu zmian zapalnych, przy zachowanej klasycznej topografii *encephalitis ARBO*, kompleks TBE. Uderza przede wszystkim zdecydowane powinowactwo procesu do struktur szarych z dość wyraźnym „plamistym” zagęszczeniem zmian. Cała kora w okolicy przedczołowej do styku ciemieniowo-politycznego usiana jest grudkami neuronofagicznymi oraz naciekami, przechodzącymi w ławice mikroglejowe (ryc. 2A). W polach o mniejszym zagęszczeniu grudek widać obficie rozsiane pałeczki mikroglejowe (ryc. 2B). Zmiany są najsilniej wyrażone w okolicy czołowej i okołosrodkowej, w pozostałych zawojach grudki są nieco mniej liczne ale przemieszane z naciekami okołonaczyniowymi i martwicami z ławicami mikrogleju. Architektura kory jest praktycznie nie do poznania. W istocie białej nacieki są znacznie rzadsze, natomiast uszkodzenie ścian naczyń, przesięki i czasami małe wynacznienia powodują rozlane spłowienie mieliny. W zwojach podstawy, a głównie we wzgórzu, obok kilku okołonaczyniowych nacieków limfocytarnych z domieszką mikrogleju widoczne są niewielkie pola martwic pokryte makrofagami i mikroglejem. Zwraca uwagę uszkodzenie kompleksu jąder okoruchowych z licznymi grudkami neuronofagicznymi, naciekami okołonaczyniowymi i większymi ławicami mikrogleju

Ryc. 2A, B. Przypadek 2. Kora czołowa. Mikrogrudki neuronofagiczne wśród rozlanych ławic mikroglejowych oraz luźno rozsiane pałeczki mikrogleju. Fiolet krezyłu. A. Pow. 150 ×, B. Pow. 300 ×.

Fig. 2A, B. Case 2. Frontal cortex. Microglial nodules among diffuse microglial infiltration and disseminated rod cells. Cresyl violet. A. × 150, B. × 300

Ryc. 2C, D. Kompleks okoruchowy. Liczne grudki neuronofagiczne i obfity, rozlany nacieki mikroglejowy. Duża grudka neuronofagiczna z przeważającymi pałeczkami dookoła jednego z neuronów okoruchowych. Fiolet krezyłu. C. Pow. 150 ×, D. Pow. 300 ×

Fig. 2C, D. Oculomotorius complex. Many neuronophagic nodules and abundant, diffuse microglial infiltration. Large neuronophagic nodule with dominant rod cells destroying one of oculomotor neurons. Cresyl violet. C. × 150, D. × 300

Ryc. 2E. Ławica mikroglejowo-limfocytarna wśród jąder mostu. Fiolet krezyłu. Pow. 300 ×

Fig. 2E. Intrapontine microglia-lymphocytic infiltration. Cresyl violet. × 300

Ryc. 2F. Liczne grudki neuronofagiczne w istocie czarnej; obraz przypominający *encephalitis Economo*. Fiolet krezyłu. Pow. 150 ×

Fig. 2F. Numerous neuronophagic nodules in substantia nigra; the picture imitates *encephalitis Economo*. Cresyl violet. × 150

Ryc. 2G. Grudki neuronofagiczne w oliwie; lokalizacja typowa dla TBE. Fiolet krezyłu. Pow. 150 ×.

Fig. 2G. Neuronophagic nodules in olive; typical TBE localization. Cresyl violet. × 150

Ryc. 2H. Nacieki mikroglejowe i nacieki okołonaczyniowe w zawojach mózdzku. Fiolet krezyłu. Pow. 150 ×.

Fig. 2H. Microglial and perivascular infiltrations in cerebellar gyri. Cresyl violet. × 150

(ryc. 2 C, D). W obrębie jąder mostu spotyka się rozległe nacieki w postaci plak limfocytarno-mikroglejowych (ryc. 2 E). W istocie czarnej grudki są tak liczne i duże, że przypominają najbardziej klasyczne postaci *encephalitis Economo* (ryc. 2 F). Typowe okolice dla *encephalitis TBE*: oliwy (ryc. 2 G), jądro zębate oraz kora mózdzku (ryc. 2 H) wykazują profuzję grudek neuronofagicznych, w korze mózdzku zaś nacieki mikroglejowe zacieraają granice warstwy ziarnistej i istoty białej zawojów mózdzkowych. Naciek w oponach jest limfocytarny, z domieszką monocytów i plazmatocytów, niezbyt obfity i nie ma tendencji do przechodzenia na tkankę mózgu. Wykazuje on nieco większe zagęszczenia okołonaczyniowe i niekiedy wyspowate skupienia. Zarówno w oponach jak i w mózgu nie spotyka się leukocytów.

OMÓWIENIE

Zestawienie w rycinach przedstawionych dwóch typów zapaleń jest dostatecznie wymowne, ażeby wtórnie punktować poszczególne różnice. W przypadku 1 proces w pełnym nasileniu koncentruje się w okolicach skroniowych, do których konsekwentną drogę wykazał w swoim studium Krücke (1965). W przypadku 2-gim źródłem nacieku jest przede wszystkim rozpadający się neuron, a grudka neuronofagiczna charakterystycznym składnikiem procesu zapalnego. Przypomnijmy, że ta ostatnia występuje raczej rzadko także w podostrym zapaleniu mózgu (SSPE), wbrew neurotropowym właściwościom przypisywanym wirusowi odry. Wszelako „neurotropowość” wirusa odry wyjaśniła się, a raczej powikłała dzięki ostatnim odkryciom Halla i ter Meulena (1976): genom RNA odry, przebywający w neuronie stanowi cząsteczkę defektywną, niezdolną do replikacji. Może ulec uzupełnieniu tylko przy pomocy genomu RNA innego wirusa i to nie odry, lecz wirusów z grupy „Rind-Pest”. Wymienieni autorzy tłumaczą tym faktem częstszą zachorowalność na SSPE wśród dzieci pochodzących ze wsi. Na temat dalszego zachowania wirusa w neuronie po tej podwójnej „infection-recombination” niewiele na razie wiadomo i tym samym możemy wyłączyć odry z dalszych rozważań.

Natomiast pojęcie „neurotropizmu” wirusa *Herpes simplex* pozostaje otwarte dla dyskusji. Nie ulega wątpliwości, że wirus ten zdążający do neuronu, zamieszkujący go i urządzający stamtąd „opryszczkowe wycieczki” ma do tegoż neuronu zdecydowane powinowactwo. Ma on jednak powinowactwo także i do szeregu innych komórek jak komórki nabłonkowe, śródbłonkowe, fibroblastyczne (Krücke, 1966). We wszystkich tych komórkach łącznie z neuronami może pozostawiać wtręty lub przebywać we wtrętach, wyjątkowo rzadko ulegając replikacji z pozostawieniem

grudki neuronofagicznej. Nie wiemy zresztą, czy po wywołaniu uszkodzenia skóry wirus ulega rozpadowi jak również czy rozpadowi ulega „zasiedlony” przez niego neuron.

Wirusy ARBO, podobnie jak wirusy *Polio* nie są także ściśle neurotropowe. Namnażają się w węzłach chłonnych i dopiero na drodze wirerii przechodzą do ośrodkowego układu nerwowego. Tu jednak wykazują natychmiastowy i wybiórczy neurotropizm, pociągający za sobą destrukcję neuronu, czy to w postaci typowej grudki neuronofagicznej, czy litycznego rozplywania się w podłożu (Bodian, 1972). Tak więc w sensie „tropos” i wirusy *Herpes simplex* i ARBO i *Polio* są wirusami neurotropowymi. Zachowanie ich jednak w neuronie jest różne i ażeby uniknąć zamieszania terminologicznego trzeba ten ich odrębny tryb współżycia z neuronem odpowiednio podkreślić. Być może najważniejsze będzie utrzymanie ale równocześnie wzmocnienie znaczenia starego pojęcia neuronofagii.

Wirusy ARBO, *Polio* i inne z tej samej grupy doprowadzają do rozpadu i wchłonięcia neuronu. Są to procesy zapalne neuronofagiczne, czyli wyraźnie neuronobójcze. Wirus *Herpes* może przebywać w neuronie nawet z pewną predylekcją do komórki nerwowej, przebywa jednak w ośrodkowym układzie nerwowym także i w innych komórkach, co raczej nie zdarza się (lub tylko wyjątkowo) wirusom ARBO. W zakażeniach wirusem *Herpes* proces replikacyjny, prowadzący do rozpadu neuronu i neuronofagii nie jest cechą charakterystyczną, pojawia się tylko sporadycznie, daleko od pól największego nasilenia procesu zapalnego lub nie pojawia się wcale.

Zachowanie nomenklatury „zapalenie neuronofagiczne” pozwoli skutecznie różnicować już w samym rozpoznaniu obie grupy zapaleń wirusowych mózgu.

E. Осетовска, А. Козырска, М. Афек-Каминьска

НЕЙРОНОЛЕТАЛЬНЫЕ И НЕЙРОНОТРОПИЧЕСКИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ

Резюме

На примере двух типов воспаления мозга: одного, вызванного вирусом *Herpes simplex A hominis* (с вирусологической верификацией), и другого, вызванного вирусом комплекса ТВЕ (воспаление мозга ARBO), — авторы рассматривают понятие нейротропизма и нейронолетальности. Согласно классическим и современным воззрениям, оба случая вызываются нейротропическими вирусами, но отличаются структурой воспалительного процесса.

Вirus *Herpes simplex A* является скрытым вирусом, живущим в нейронах, который редко вызывает их распад и нейронофагию. При воспалении мозга

Herpes simplex A образуется обширный воспалительный инфильтрат и очаги некроза в височных и прилегающих областях. Нейронофаговые бляшки появляются при этом типе воспаления только спорадически, и то в областях, отдаленных от района наибольшего разрушения ткани. При воспалении мозга ТВЕ наблюдается выборочное сходство процесса к серым структурам, а нейронофаговая бляшка является основным элементом структуры этого процесса, представляя собой довод „cytocide Wirkung” (Simon et al., 1970) данного вируса. К настоящему моменту обе группы вирусов считаются нейротропическими.

Чтобы подчеркнуть различие между двумя типами нейротропизма, авторы выделяют нейронофаговое действие одних и скрытый нейротропизм других, выражающиеся отдельными характерными типами воспаления мозга.

E. Osetowska, A. Kozyraska, M. Afek-Kamińska

“NEURONOLETHAL” AND NEURONOTROPIC INFLAMMATORY PROCESSES

Summary

The authors present two cases of encephalitis: the first — Herpes simplex A hominis encephalitis (virologically verified) and the second one — an ARBO encephalitis, TBE complex. According to classical and modern view the neurotropic viruses are responsible for both cases but the difference in the structure of inflammatory processes is striking. Both types of encephalitis serve the authors to discuss the concept of neurotropism. The virus Herpes simplex A is a latent organism living in neurons but rarely leading to their neuronophagic destruction.

Herpes simplex A encephalitis causes total inflammatory infiltration and necrotic foci in temporal and neighbouring regions. Neuronophagic nodules appear in this type of inflammation only sporadically and usually far away from the fields of maximal changes. In contrary, in the TBE-virus encephalitis one observes selective neurotropism to the gray matter in which the neuronophagic nodules are the main features of the process and the proof of their “cytocide Wirkung” (Simon et al. 1970). Till now both virus groups are considered neurotropic.

To stress the difference in two kinds of neurotropism, the authors distinguish the neuronophagic activity of some viruses and the latent neurotropism of the others expressed by distinct, characteristic types of encephalitis.

PIŚMIENNICTWO

1. Baringer J. R., Swoveland P.: Persistent herpes simplex virus infection in rabbit trigeminal ganglia. *Lab. Investig.* 1974, 30, 230—240.
2. Bodian D.: *Poliomyelitis*. W.: Pathology of the nervous system. Ed. J. Minckler, McGraw-Hill, New York, 1972, v. 3, 2323—2343.
3. Byington D. P., Johnson K. P.: Subacute sclerosing panencephalitis virus in immunosuppressed adult hamsters. *Lab. Investig.* 1975, 32, 91—97.
4. Fierrer J., Barley P., Brande A. I.: Herpes B virus encephalomyelitis presenting an ophtalmic zoster. A possible latent infection and reactivation *Ann. Intern. Med.*, 1973, 79, 225—334.

5. Günter J., Hämmerling T., Masuda T., McDevitt H. O.: Genetic control of the immune response. *J. exp. Med.*, 1973, 137, 1180—1200.
6. Hall W. W., ter Moulen V.: RNA homology between subacute sclerosing pan-encephalitis and measles virus. *Nature*, 1976, 264, 474—477.
7. Johnson R. T.: Mumps virus encephalitis in the hamster. Studies of the inflammatory response and not cytopathic infection of neuron. *J. Neuropath. exp. Neurology*, 1968, 27, 80—95.
8. Johnson R. T.: Virus-host relationships in acute and chronic encephalopathy. W: „Proc. Vith Internat. Congress Neuropath”. Paris, Masson, 1970, 761—779.
9. Krücke W.: Zur pathologische Anatomie und Pathogenese des Herpes Encephalitis. *Neuropat. Pol.*, 1966, 4, Suppl. 487—496.
10. Layzar B. B., Conant M. A.: Neuralgia in recurrent Herpes simplex. *Arch. Neurol.*, 1974, 31, 233—237.
11. Margolis G., Kilham L., Baringer J. R.: A new look at mumps encephalitis. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1974, 33, 13—28.
12. Modi C. M., Valaitis J.: Herpes virus encephalitis and pulmonary sarcoidosis. *Neurology*, 1974, 24, 1096—1101.
13. Osetowska E.: Neuropatologia zapaleń mózgu wirusowych i alergicznych. PZWL, Warszawa 1974.
14. Price R. W., Katz B. J., Notkins A. L.: Latent infection of the peripheral ANS with herpes simplex virus. *Nature*, 1975a, 257, 686—688.
15. Price W., Waltz M. A., Wohlenberg C. H., Notkins A. L.: Latent infection of sensory ganglia with Herpes simplex virus. *Science*, 1975b, 188, 933—940.
16. Simon J., Peters G., Blinzinger K., Boulger L., Magrath D.: Neue Gesichtspunkte zur Frage der Entstehung und der pathogenetische Bedeutung der entzündliche Reaktion bei Virusinfektionen des ZNS. *Arch. Psychiat. Nervenkr.*, 1970, 213, 301—326.
17. Shoji H., Hirose K., Haranaka R., Tsuda J.: A case of femoral neuropathy associated with eczema herpeticum. *J. Neurol.*, 1976, 211, 289—291.
18. Valdimarsson H., Agnarsdottir G., Lachmann P. J.: Measles virus receptor on human T lymphocytes. *Nature*, 1975, 255, 554—556.
19. Vizoso A. D.: Latency of Herpes simiae (B virus) in rabbits. *Br. J. exp. Path.*, 1975, 56, 489—494.

Adres A. Kozyrskiej: Ośrodek Doświadczalny Neurologii Porównawczej CMDiK PAN, ul. Warszawska 126, 05-300 Mińsk Mazowiecki

KOMUNIKATY

W dniach 24—26 listopada 1978 r. odbędzie się w Budapeszcie XI Sympozjum Dunajskie Neurologii, Neuropatologii i Neurologii Dziecięcej z następującą tematyką:

- patofizjologia, anatomia patologiczna, diagnostyka i leczenie wzmożonego ciśnienia śródczaszkowego,
- patologia płynu mózgowo-rdzeniowego,
- tematy wolne.

Zgłoszenia referatów łącznie z krótkim streszczeniem można nadsyłać w terminie do 1 lipca 1978 na adres: prof. E. Csanda, Department of Neurology, Semmelweis Medical University, Balassa ut. 6, H-1083 Budapest.

Informacje można uzyskać u prof. Mieczysława Wendera, Klinika Neurologiczna AM., ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań.

* * *

W dniach 10—11 listopada 1978 r. odbędzie się w Kazimierzu n/Wisłą XIII Dzień Neurochemii Klinicznej zorganizowany przez Komisję Neurochemii Komitetu Nauk Neurologicznych PAN oraz sekcję Neurochemii PTN na temat: „Kliniczne i doświadczalne aspekty mózgowego przepływu krwi”.

Zgłoszenia referatów i doniesień należy kierować na adres: prof. dr Mieczysław Wender, Klinika Neurologiczna AM., ul. Przybyszewskiego 49, 60—355 Poznań.

Zgłoszenie uczestnictwa: dr hab. n. przyr. Jerzy Łazarewicz, Zespół Neurochemii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, ul. Dworkowa 3, 00-784 Warszawa.

JOLANTA BOROWSKA-LEHMAN, BRONISŁAWA KOPACKA,
DANUTA KUKLIŃSKA

ZMIANY MORFOLOGICZNE W OŚRODKOWYM UKŁADZIE
NERWOWYM U MYSZY SZCZEPIONYCH ZAWIESINĄ
BORDETELLA PERTUSSIS

Zakład Anatomii Patologicznej Instytutu Patologii AM w Gdańsku

Kierownik: prof. dr med. E. Boj

Zakład Bakteriologii PZH w Warszawie

Kierownik: prof. dr med. E. Wojciechowski

Neuropatogenna aktywność pałeczki krztuśca *Bordetella pertussis* (Bp) ujawniająca się w przebiegu choroby w postaci powikłań mózgowych (encefalopatii krztuścowej) stanowiła przedmiot wielu obserwacji (Suchariewa 1948, Szczepańska 1961, Arendt 1962, Pittman 1970, Schmidt-Sidor, Garganisz 1973).

Od czasu pierwszych szczepień przeciwkrztuścowych stwierdzono u pewnego odsetka immunizowanych dzieci neurologiczne powikłania poszczepienne o przebiegu podobnym jak w krztuścu. W związku z tym przeprowadzono wiele badań mających na celu ulepszenie szczepionki. Myślą przewodnią tych badań było przygotowanie nowego typu preparatu profilaktycznego przez wyosobnienie z pałeczki krztuśca czynnika pobudzającego odporność a pozbawionego szkodliwych składników komórki bakteryjnej, odpowiedzialnych zwykle za powikłania poszczepienne.

Pomimo licznych obserwacji klinicznych, morfologiczne opracowania zmian w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) u dzieci, zmarłych po immunizacji szczepionką przeciwkrztuścową (którą do tej pory stanowi zawiesina zabitych bakterii), są nadal skąpe i jak dotąd niewiele wiadomo o patomechanizmie tych odczynów. To skłoniło nas do przesłędzenia obrazów morfologicznych w mózgu i narządach wewnętrznych w warunkach doświadczalnych u myszy szczepionych zawiesiną Bp.

MATERIAŁ I METODA

Do badań użyto w trzech powtórzonych doświadczeniach 110 dojrzałych samic myszy Swiss szczepu CPB-S, hodowli PZH, o ciężarze ciała 20—25 g. W każdym doświadczeniu zwierzęta podzielono na cztery grupy: trzy kontrolne i jedną doświadczalną. Zwierzęta grupy kontrolnej I otrzymały dootrzewnowo 0,5 ml roztworu fizjologicznego soli: grupie II wstrzyknięto w objętości 0,5 ml roztworu fizjologicznego soli 6,0 mg dwuchlorowodorku histaminy dootrzewnowo. Grupie III wstrzykiwano dootrzewnowo 0,5 ml zawiesiny zabitych pałeczek Bp w roztworze fizjologicznym soli w ilości 4×10^9 komórek (bez adiuwanta). Grupę IV doświadczalną stanowiły myszy, które otrzymały zawiesinę Bp jak w grupie III a następnie, po czterech dniach w objętości 0,5 ml roztworu fizjologicznego soli 6,0 mg dwuchlorowodorku histaminy.

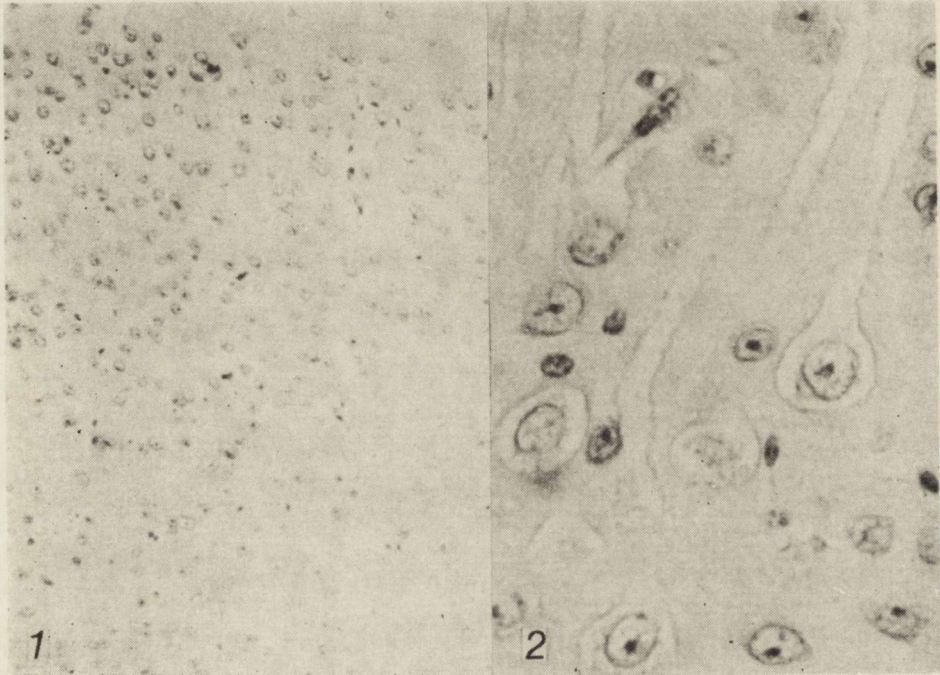
W pierwszym dniu zwierzęta grupy III i IV otrzymały zawiesinę Bp. W czwartym dniu doświadczenia zwierzęta otrzymały: grupa I fizjologiczny roztwór soli, grupa II i IV histaminę. W dwie godziny po podaniu histaminy zwierzęta uśmiercano przez skrwawienie w uśpieniu nembutalem (podanym dootrzewnowo w ilości 2,5 mg/100 g wagi zwierzęcia). Sekcjonowano natychmiast zwierzęta, które padły w trakcie doświadczenia oraz uśmiercano. Do badania pobierano mózg i narządy wewnętrzne (wątrobę, nerki, nadnercza, mięsień sercowy, śledzionę, płuca i trzustkę). Materiał utrwalano w płynie Carnoy'a. Mózgi krojono w płaszczyźnie czołowej na pięć plastrów, zatapiano w parafinie i skrawano na 3—4 μ grubości skrawki. Preparaty barwiono hematoksyliną-eozyną, fioletem krezyłu oraz wykonano odczyn na RNA metodą Bracheta z kontrolnym trawieniem rybonukleazą wg Brandbury (cyt. Zawistowski 1965).

WYNIKI

W grupach I i III kontrolnych nie obserwowano większych odchyleń w zachowaniu i stanie ogólnym zwierzęcia. W grupie II w kilka minut po podaniu histaminy zwierzęta były nieco ociężałe i senne przez okres 30—60 minut od iniekcji, po czym wracały do stanu wyjściowego. W grupie doświadczalnej w 5—10 minut po podaniu histaminy stwierdzono następujące objawy: część zwierząt miała najeżoną sierść, występowały prężenia tułowia, drgawki kończyn, przyspieszenie oddechu a po kilku głębokich wdechach bezdech, zwiotczenie kończyn oraz oziębienie kończyn i ogona. W okresie 15—25 minut po iniekcji część zwierząt ginęła. Zwierzęta, które przeżyły w ciągu następnych 15 minut leżały bez ruchu, nie reagując na dotknięcie i ukłucie.

Nieliczne ginęły jeszcze w tym okresie, reszta z wolna w ciągu 2 godzin wracała do stanu wyjściowego.

Obraz mikroskopowy mózgu: (Grupa IV — doświadczalna). W obrębie kory mózgu w okolicy czołowej, ciemieniowej i potylicznej, głównie w warstwie piramidowej wewnętrznej pojawiały się rozlane lub rozlane obszary, niekiedy zajmujące wszystkie warstwy kory, utworzone z bardzo dużych neuronów, wykazujących cechy ostrego obrzęku (ryc. 1 i 2). Komórki te miały balonowato rozdętą cytoplazmę i wyraźny obrzęk wypustki neuronalnej, z zaznaczonymi konturami błony komórkowej. Niekiedy można było prześledzić wypustkę neuronalną sięgającą do I warstwy kory. Cytoplazma neuronów wybarwiała się bladoróżowo w hematoksylinie-eozynie, była nieomal przezroczysta w barwieniu fioletem krezyłu, z drobnymi skupieniami ziarnistości Nissla. Jądra neuronów były również obrzmiałe z delikatną chromatyną z za-



Ryc. 1. Grupa doświadczalna IV. Kora ciemieniowa. Rozlane uszkodzenie neuronów warstwy wielkich komórek piramidowych. H.-E. Pow. 40 X.

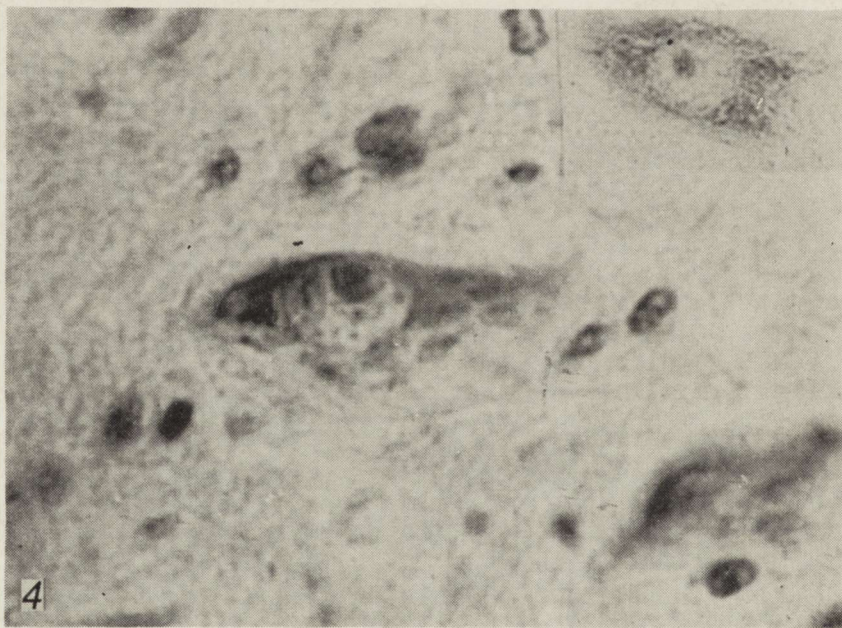
Fig. 1. Experimental group IV. Parietal cortex. Diffuse cellular damage of the large pyramidal neurons layer. H.-E. X 40.

Ryc. 2. Wycinek ryc. 1. Pow. 200 X.

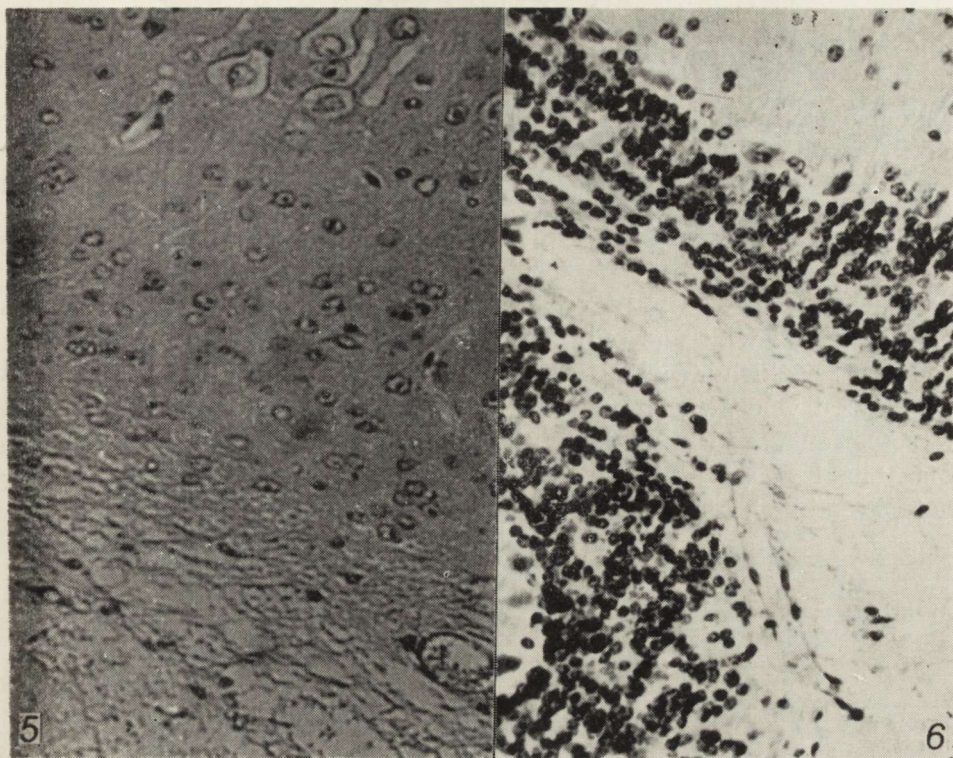
Fig. 2. Sector of Fig. 1. X 200.



Ryc. 3. Grupa doświadczalna IV. Kora ciemieniowa. Neuron o balonowato rozduętej cytoplazmie i wypustce. Obrzęk jądra komórkowego. H.-E. Pow. 400 \times .
Fig. 3. Experimental group IV. Parietal cortex. Neuron with balloon-like distended cytoplasm and process and swollen nucleus. H.-E. \times 400.



Ryc. 4. Grupa doświadczalna IV. Pień mózgu. Dobrze zachowany duży neuron z wyraźnymi ziarnistościami Nissla. Pozostałe neurony z cechami uszkodzenia. H.-E. Pow. 400 \times . W górnym prawym rogu duży neuron zawierający RNA. Brachet. Pow. 400 \times .
Fig. 4. Experimental group IV. Brain stem. Large neuron with distinct Nissl granules is well preserved; other neurons damaged. H.-E. \times 400. In upper right corner a large neuron containing RNA. Brachet. \times 400.



Ryc. 5. Grupa doświadczalna IV. Płat ciemienny. Gąbczaste rozplywanie istoty białej. W lewym górnym rogu balonowate neurony. H.-E. Pow. 200 \times .

Fig. 5. Experimental group IV. Parietal lobe. Spongy liquefaction of the white matter. In left upper corner balloon-like distended neurons. H.-E. \times 200.

Ryc. 6. Grupa doświadczalna IV. Kora mózdzku. Gąbczaste rozrzedzenie istoty białej podkorowej oraz rozluźnienie warstwy ziarnistej. H.-E. Pow. 200 \times .

Fig. 6. Experimental group IV. Cerebellar cortex. Spongy rarefaction of subcortical white matter and loosen granular layer. H.-E. \times 200.

znaczonym jąderkiem (ryc. 3). W odczynie Bracheta wykazano w obrębie cytoplazmy bardzo skąpe, drobne ziarna RNA, zlokalizowane w okolicy wypustki neuronalnej. Znacznie mniej nasilone zmiany spostrzegano w korze amonalnej i w jądrach podstawy. Zwracał uwagę fakt, że duże neurony w obrębie pnia mózgu były dobrze zachowane i wykazywały wysoką aktywność odczynu na RNA (ryc. 4), podobnie jak część komórek Purkiniego mózdzku. Natomiast niektóre małe neurony pnia wykazywały cechy zwyrodnienia.

Naczynia włosowate mózgu, głównie opon i istoty białej były znacznie poszerzone. Niekiedy uwidaczniały się drobne punkcikowate wybro-

czynny. W obrębie istoty białej półkul mózgu i mózdzku obserwowano zblednięcie mieliny i gąbczaste rozplywanie się podłoża, rozluźnienie warstwy ziarnistej mózdzku oraz wypadanie komórek Purkiniego (ryc. 5 i 6). Zmiany komórkowe i naczyniowe, o podobnych cechach co wyżej opisane, jednak o znacznie mniejszym nasileniu i rozległości, obserwowano w pojedynczych przypadkach w grupie kontrolnej II i III. W grupie kontrolnej I żadnych zmian tego typu nie obserwowano.

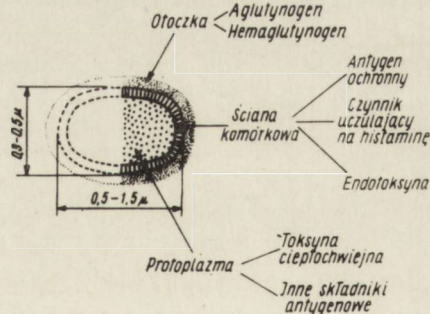
W narządach wewnętrznych w obrębie wątroby, nerek, nadnerczy, płuc i trzustki widoczne były ziarniniaki zapalne. Były one obecne prawie u wszystkich zwierząt, tj. zarówno w grupach kontrolnych (I, II i III) jak i w doświadczalnej (IV). Różniły się tylko ilością i częstością występowania zmian w jednym lub kilku wymienionych narządach. Ziarniniaki te wyraźnie przeważały u zwierząt w grupie doświadczalnej i kontrolnej, która otrzymała zawiesinę Bp.

OMÓWIENIE

Próby wyjaśnienia patogenezы powikłań neuropatologicznych, takich jak encefalopatia krztusćowa, występująca u chorego lub po szczepieniu, opierają się na zdobyczach wiedzy w dziedzinie budowy antygenowej komórki Bp i biologicznych właściwości jej składników, a także na fizjologii i patologii człowieka i zwierzęcia doświadczalnego (Kopacka i Pasek 1970, Gałązka i Andrzejczak-Kardymowicz 1972, Kopacka 1972, Kopacka i Kuklińska-Miszczuk 1972).

Pałeczka Bp ma bardzo złożoną strukturę (Munoz i Bergman 1968 — diagram 1). Powierzchniowo znajdują się składniki komórkowe, od któ-

Składniki komórkowe *Bordetella pertussis* wg Munoz.



rych zależą serologiczne właściwości pałeczki krztuśca u zwierzęcia i człowieka pobudzające do wytwarzania przeciwciał aglutynacyjnych.

W ścianie komórki znajduje się antygen ochronny, odpowiedzialny za wywołanie odporności, oraz czynnik zwiększający wrażliwość na histaminę (HSF — Histamine sensitizing factor) o charakterze lipoproteiny. Drugim składnikiem ściany o dużej aktywności biologicznej jest lipopolisacharyd zwany endotoksyną. W protoplazmie komórki zlokalizowane zostały toksyna ciepłochwiejna i bliżej nie określone składniki antygenowe.

Składnikiem o wielokierunkowej aktywności biologicznej, szkodliwym dla człowieka chorego lub szczepionego jest HSF, który nie oznacza się dużą toksycznością a jego patogenne działanie opiera się na skomplikowanym mechanizmie. Zwiększa on wrażliwość na histaminę (u niektórych gatunków myszy ponad 100-krotnie), bradykininę a także na stresy, anafilaksję i różne zakażenia. Z tą aktywnością łączą się zaburzenia ustrojowe jak hipoglikemia, hipoproteinemia, zwiększenie przepuszczalności naczyń włosowatych oraz wzrost krwinek białych, głównie limfocytów (Gözszy i Kátó 1964, Munoz i Bergman 1968, Munoz i wsp. 1970).

Mysz po podaniu zawiesiny bakteryjnej krztuśca lub preparatu HSF, staje się wrażliwa na histaminę w ciągu 4—5 dni. W tym czasie uczulenie osiąga swój szczyt, który stopniowo obniża się w ciągu 3—4 tygodni. Fakt ten posłużył nam jako punkt wyjścia dla przeprowadzonych doświadczeń, a spostrzeżenia kliniczne a następnie morfologiczne potwierdziły wyraźnie wrażliwość myszy CPB-S, szczepionych zawiesiną Bp na histaminę, jak również wzrost podatności gryzonia na infekcję, o czym świadczą ziarniniaki narządów wewnętrznych.

W zbadanym materiale zwraca uwagę obrzęk komórki nerwowej łącznie z wypustką neuronalną i wyraźnym spadkiem aktywności RNA, z predylekcją zmian do neuronów kory mózgu, z zaoszczędzeniem neurocytów pnia. Widoczne są ponadto cechy znacznego zastoju krwi oraz cechy obrzęku istoty białej mózgu.

Próby wyjaśnienia mechanizmu neuropatogennego działania pałeczki krztuśca u chorego dziecka a także u pewnego odsetka szczepionych dzieci, odnoszą się głównie do aktywności jednego z jej ważnych składników tj czynnika HSF. Proces uczulania na histaminę jest następstwem stanu hipoglikemicznego, zredukowania histaminazy w tkankach zwierząt, traktowanych zawiesiną Bp, wzrostu w tkankach poziomu dekarboksylazy histydyny, a w konsekwencji zwiększanie wytwarzania histaminy. Pełniejszą interpretację działania czynnika HSF przedstawiają poglądy Fishel'a i wsp. (1964, 1970). Uwrażliwienie na histaminę autorzy tłumaczą następstwem zablokowania mechanizmu przeciwdziałającego wstrząsom, związanego z funkcjonowaniem autonomicznego systemu

nerwowego. Bakteryjny komponent Bp łącząc się z jednym z adrenergicznych receptorów hamuje udział receptora w przekazywaniu adrenaliny do komórek, co powoduje zaburzenia metabolizmu komórkowego. Dużą rolę odgrywa tu cykliczny adenozyno-3-5-monofosforan (cAMP) wraz z systemem enzymów komórkowych. Ma to zasadnicze znaczenie dla bardzo wrażliwej na takie zaburzenia tkanki mózgu.

U zwierząt w prawidłowych warunkach istnieje bariera krew—mózg dla histaminy (White 1973). Zmiany obrzękowe w istocie białej mózgu spostrzegane w obecnym doświadczeniu można by odnieść do uszkodzenia bariery krew—mózg w wyniku wstrząsu histaminowego. Rozpatrując złożony patomechanizm obrzęku mózgu w naszym doświadczeniu nie można pominąć możliwości cytotoksycznego działania endotoksyny, drugiego aktywnego biologicznie składnika ściany komórkowej Bp. Być może odgrywa ona rolę w uszkodzeniu błony komórkowej neuronu, co powoduje zakłócenie regulacji osmotycznej komórki i jej nadmierne uwodnienie.

Przedstawiony obraz zmian dowodzi uszkadzającego działania, jakie wywiera pałeczka krztuśca (nawet zabita) na organizm myszy, szczególnie na jej OUN oraz świadczy o indywidualnym i dużym stopniu wrażliwości zwierzęcia, reagującego już na podanie samej zawiesiny Bp.

И. Боровска-Лехман, В. Копачка Д. Куклиньска

MORFOЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ У МЫШЕЙ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ВЗВЕСЬЮ *BORDETELLA PERTUSSIS*

Представлены результаты гистопатологических исследований в центральной нервной системе у мышей, вакцинированных взвесью *Bordetella pertussis* и через 4 дня сенсибилизированных солянокислым гистамином. У животных, умерщвленных через 2 часа после дачи гистамина, изменения заключались в набухании тел и отростков нейронов мозговой коры, отеке белого мозгового вещества, а также застое в области капилляров оболочек и белого вещества.

Авторы обсуждают сложный механизм мозговых осложнений после вакцинации палочкой коклюша и обращают внимание на возможность прерывания гемато-энцефалического барьера фактором сенсибилизирующим к гистамину, а также на цитотоксическое действие эндотоксина, содержащегося в вакцине и повреждающего нейроны мозговой коры.

J. Borowska-Lehman, B. Kopačka, D. Kuklińska

MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM OF MICE INOCULATED WITH A *BORDETELLA PERTUSSIS* SUSPENSION

The study concerns the results obtained in central nervous system of mice vaccinated with a *Bordetella pertussis* suspension and sensitized 4 days later with histamine-HCl.

In animals sacrificed 2 hours after histamine administration the cerebral changes consisted in the swelling of perikaria and processes of cortical neurons, in the edema of white matter and in the stasis in the capillaries of the white matter and meninges.

The authors discuss composite pathomechanism of cerebral complications arising after inoculation with *Bordetella pertussis* and call the attention to the possible damage to the blood-brain barrier by the histamine sensitizing factor and to the cytotoxic action of the endotoxin presented in the vaccine and damaging the cortical neurons.

PIŚMIENNICTWO

1. Arendt A.: Cerebrale Komplikationen bei Keuchhusten. *Virchows Arch. Path. Anat.* 1962, 46, 642—646.
2. Brandbury cyt. Zawistowski S.: W: Technika histologiczna, histologia oraz podstawy histopatologii. Red. R. Wallewein. PZWL Warszawa 1965, 159.
3. Fishel C. W., Szentivanyi A., Talmage D. W.: Adrenergic factors in *Bordetella pertussis*-induced histamine and serotonin hypersensitivity of mice. W: M. Landy, W. Braun (Eds) *Bacterial Endotoxins*. Institute of Microbiology, Rutgers, The State University, New Brunswick, N. Y., 1964, 474—481.
4. Fishel C. W., Cronholm L. S., Keller K. F.: The influence of *B. pertussis* on the adenylyl cyclase and phosphodiesterase enzymes of mouse tissue. W: P. A. van Hemert, J. D. van Ramshorst, R. H. Regamey (Eds) *International Symposium on Pertussis (Bilthoven 1969)*, S. Karger, Basel-München-New York 1970, 13, 190—197.
5. Gałązka A., Andrzejczak-Kardymowicz B.: Powikłania i reakcje po szczepieniu przeciw krztuścowi. *Przeg. Epid.* 1972, 26, 465—477.
6. Gözsy B., Kátó L.: Sensitizing properties of *B. pertussis* in the mouse and rat. *Rev. Can. Biol.* 1964, 23, 427—442.
7. Kopacka B., Pasek J.: Immunologicznie i biologicznie czynne składniki komórkowe *Bordetella pertussis*. *Post. Hig. i Med. Dośw.* 1970, 24, 151—174.
8. Kopacka B.: Immunologiczne właściwości *Bordetella pertussis*. *Ped. Pol.* 1972, 47, 361—370.
9. Kopacka B., Kuklińska-Miszczuk D.: Neuropatogenne działanie pałeczki krztuśca. *Ped. Pol.* 1972, 47, 1289—1296.
10. Munoz J., Bergman R. K.: Histamine-sensitizing factor from microbial agent, with special reference to *Bordetella pertussis*. *Bact. Rev.* 1968, 32, 103—126.
11. Munoz J., Smith R. F., Cole R. L.: Some physical properties of histamine-sensitizing factor. W: P. A. Hemert, J. D. van Ramshorst, R. H. Regamey (Eds) *International Symposium on Pertussis (Bilthoven 1969)*, S. Karger, Basel-München-New York 1970, 13, 265—270.
12. Pittman M.: *Bordetella pertussis*-bacterial and host factors in the pathogenesis and prevention of whooping cough. W: S. Mudd (Ed). *Infectious agents and host reactions*. Saunders Company, Philadelphia—London—Toronto 1970, 239—270.
13. Schmidt-Sidor B., Garganisz J.: Przypadek encefalopatii ksztuścowej. *Neuropat. Pol.* 1973, 11, 167—172.

14. Suchariewa M. E.: Kokliusz. Red. A. J. Dobrochotowa. Medgiz, Moskwa 1948.
15. Szczepańska H.: Krztusiec. Red. J. Winowski, PZWL, Warszawa 1961.
16. White T.: Effects of drugs on brain histamine. W: Sect. ed. M. Schachter. Contr Z. M. Bacq., Histamine and antihistamine. Pergamon Press. Oxford—New York—Toronto—Sydney—Braunschweig 1973, 1, 101—107.

Adres autorów: Instytut Patologii, Zakład Anatomii Patologicznej Akademii Medycznej, ul. Dębinki 7, 80-211 Gdańsk.

MIROSLAW J. MOSSAKOWSKI, MARIA OSTENDA,
ALICJA PRONASZKO-KURCZYŃSKA

OBRAZ MIKROSKOPOWO-ELEKTRONOWY
NACZYŃ WŁOSOWATYCH MÓZGU
W DOŚWIADCZALNEJ ENCEFALOPATII WĄTROBOWEJ

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

Obraz patomorfologiczny klinicznych i doświadczalnych encefalopatii pochodzenia wątrobowego sugeruje obecność zaburzeń przepuszczalności naczyń mózgu, jako istotnego czynnika patogenetycznego, kształtującego zespół uszkodzeń tkankowych (Mossakowski, 1966; Mossakowski i wsp., 1974; Śmiałek, Mossakowski, 1974). W warunkach doświadczalnej encefalopatii wątrobowej Mossakowski i wsp. (1970) wykazali zwiększoną przepuszczalność naczyń mózgu dla soli srebra, przy niezmienionym stanie bariery naczyniowo-mózgowej dla znaczników białkowych (kompleks błękitu Evansa z albuminą bydlęcą), a Ostenda i wsp. (1976) stwierdzili zwiększoną mikropinocytozę w śródbłonkach i poszerzenie złącz międzyśródbłonkowych w kapilarach kory mózgu jako zjawisko towarzyszące charakterystycznym uszkodzeniom astrocytów. Wydawało się przeto uzasadnione przeprowadzenie serii dalszych badań, mających na celu ustalenie w jakiej mierze obserwowane nieprawidłowości obrazu mikroskopowo-elektronowego naczyń włosowatych mózgu wiążą się z zaburzeniami ich przepuszczalności. Badania te obejmowały mikroskopowo-elektronową analizę przepuszczalności naczyń mózgu przy użyciu peroksydazy chrzanowej (Reese, Karnovsky, 1967) oraz ocenę umiejscowienia aktywności fosfataz nukleozydowych w elementach złącza naczyniowo-tkankowego (Torack, Barnett, 1964).

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 3-miesięcznych szczurach szczepu Wistar, samcach, u których wywoływano marskość wątroby przy użyciu czterochlorku węgla (Mossakowski i wsp., 1970). Siedem zwierząt doświadczal-

nych otrzymywało 3 razy w tygodniu podskórnie iniekcje 50% czterochlorku węgla w płynnej parafinie w dawce 0,1 ml CCl_4 na 100 g wagi ciała przez okres 4 miesięcy (3 szczury) i 6 miesięcy (4 szczury). Trzy zwierzęta kontrolne przez taki sam okres czasu otrzymywały podskórnie płynną parafinę, trzech pozostałych nie poddawano żadnym zabiegom.

Ocena obrazu patomorfologicznego wątroby i mózgu, stanowiąca przedmiot poprzednich badań (Mossakowski i wsp., 1970; Ostenda i wsp., 1976) pozwoliła na wybór optymalnego czasu trwania doświadczenia. Badanie stanu przepuszczalności naczyń wykonano u 3 zwierząt doświadczalnych z 4-miesięcznym przeżyciem i u 2 z 6-miesięcznym przeżyciem oraz u 3 zwierząt kontrolnych, w tym u dwóch, którym wstrzykiwano parafinę. Badania histoenzymatyczne wykonano u 2 szczurów doświadczalnych z przeżyciem 6-miesięcznym i 2 zwierząt kontrolnych (1 szczur po iniekcjach parafiny).

Metoda badań przepuszczalności naczyń: Peroksydazę chrzanową podawano wg metody Reese'a i Karnovsky'ego (1967) w modyfikacji Westergaarda i Brightmana (1973). Stosowano peroksydazę firmy Sigma, typ II w dawce 100 mg/250 g wagi ciała, którą podawano do żyły ogonowej w 1 ml fizjologicznego roztworu chlorku sodu. Czas krążenia peroksydazy wynosił 5, 30 i 120 min. Zwierzęta zabijano stosując przezsercową perfuzję roztworem zawierającym 60 ml 25% aldehydu glutarowego, 120 ml buforu kakodylowego o pH 7,2 oraz 120 ml wody destylowanej z dodatkiem 1,5 g chlorku wapnia. Pobrany w całości mózg pozostawiono na noc w płynie o powyższym składzie, a następnie dzielono go cięciami prowadzonymi w płaszczyźnie czołowej na płyty grubości 1 mm, które pozostawiono w buforze Tris o pH 7,2 z dodatkiem 0,3 ml sacharozy na 80 ml płynu na okres 1 godziny w temperaturze pokojowej. Po tym czasie płyty tkanki przenoszono na okres 2—3 godzin do płynu inkubacyjnego o składzie: bufor Tris-maleinowy o pH 7,6 — 40 ml, diaminobenzzydina 20 mg, glukoza 14,4 mg. Po inkubacji przeprowadzanej w temp. 4°C, pobierano pod kontrolą lupy skrawki z widocznym odczynem z pogranicza korowo-podkorowego okolicy czołowo-ciemieniowej, które następnie w sposób standardowy opracowywano do badań w mikroskopie elektronowym.

Obserwacje przeprowadzano i zdjęcia wykonywano w mikroskopie elektronowym JEM 7A.

Metoda badań histochemicznych: Zwierzęta zabijano przez dekapitację. Mózg wyjęty z jamy czaszki dzielono cięciami czołowymi na płyty grubości 1 mm, które utrwalano przez 2 godziny w temp. 4°C w 4% roztworze aldehydu glutarowego w 0,2 M buforze kakodylowym, pH

7,2. Bloki tkanki płukano przez noc w 0,3% roztworze sacharozy w buforze kakodylowym, pH 7,2 w temp. 4°C. Następnego dnia pobierano skrawki z pogranicza korowo-podkorowego okolicy czołowo-ciemienniewej, dzielono je na bloczki o wymiarach 1 mm³ i umieszczano w płynie inkubacyjnym o następującym składzie: woda podwójnie destylowana 0,2 ml, 0,2 M bufor Tris-maleinowy, pH 7,2 — 2,0 ml, 25% siarczan magnezu (MgSO₄) — 0,1 ml, 2% azotan ołowiu (Pb/NO₃/₂) — 0,3 ml, odpowiedni substrat w ilości 2,5 mg/2 ml wody. Dla wykrycia aktywności poszczególnych hydrolaz do płynu inkubacyjnego dodawano następujące estry fosforanowe: adenozynotrójfosforan (ATP), guanozynotrójfosforan (GTP), cytydynotrójfosforan (CTP) oraz inozynodwufosforan (IDP) (Torack, Barnett, 1964).

Równocześnie z bloczkami przeznaczonymi do badań w mikroskopie elektronowym inkubowano wolno-pływające kriostatowe skrawki tkanki o grubości 14 μ, w których obserwowano okresowo w mikroskopie świetlnym czas wystąpienia i nasilenia odczynu histoenzymatycznego.

W oparciu o te spostrzeżenia ustalono optymalny czas inkubacji, wynoszący 1 godz. Po inkubacji bloczki płukano w 0,3% roztworze sacharozy, a następnie utrwalano dodatkowo przez kilka sekund w 2% roztworze czterotlenku osmu w buforze kakodylowym o pH 7,2 (Torack, Barnett, 1964). Bloki odwadniano w sposób rutynowy i zatapiano w Eponie 812. Materiał skrawano na ultramikrotomie. Niekontrastowane ultracienkie skrawki oglądano w mikroskopie elektronowym JEM 7A. Skrawki, w których stwierdzono obecność produktu końcowego odczynu histoenzymatycznego kontrastowano octanem uranylu i cytrynianem ołowiu oraz oglądano powtórnie.

WYNIKI

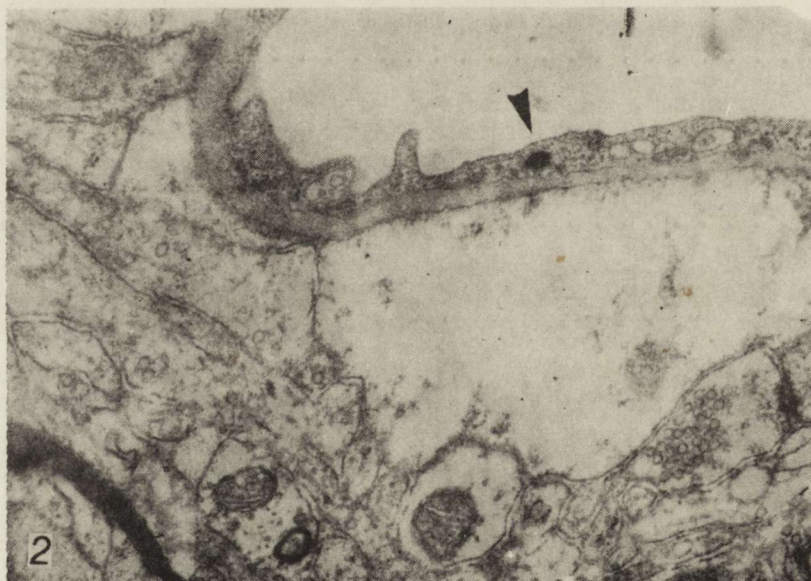
Badanie przepuszczalności naczyń włosowatych

U zwierząt kontrolnych zarówno tych, którym stosowano podskórnie iniekcje płynnej parafiny, jak i u nie poddanych żadnym dodatkowym zabiegom, po upływie 5 i 30 min. krążenia peroksydazy, stwierdzono obecność elektronowo-optycznie gęstych złogów w naczyniach włosowatych mózgu. Znajdowały się one na zwróconej do światła naczynia powierzchni śródbłonek i w drobnych zatokach pinocytarnych (ryc. 1) oraz w pojedynczych pęcherzykach pinocytarnych (ryc. 2). Nie stwierdzono ich w żadnym przypadku w błonie podstawnej naczyń, ani w przestrzeniach międzykomórkowych tkanki otaczającej naczynia.

U zwierząt doświadczalnych obu grup czasowych, zmiany w obrazie mikroskopowo-elektronowym naczyń były identyczne, różniąc się jedy-



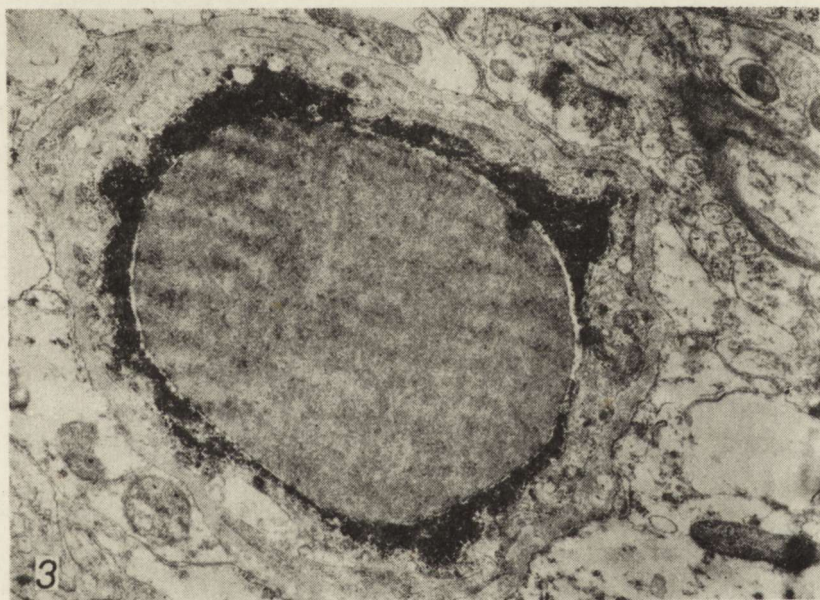
Ryc. 1. Szczur kontrolny, 5 min. krążenia peroksydazy. Optycznie gęste złoże na powierzchni śródbłonka i w zatoce pinocytarnej (strzałka). Pow. 15 000 ×
Fig. 1. Control rat, 5 min. peroxidase circulation. Electron-dense products on the abluminal endothelial membrane and in the pinocytotic pit (arrow). × 15 000



Ryc. 2. Szczur kontrolny, 30 min. krążenia peroksydazy. W śródbłonku pęcherzyk pinocyтары wypełniony optycznie gęstą masą (główka strzałki), przestrzeń międzykomórkowa pusta. Pow. 15 000 ×
Fig. 2. Control rat, 30 min. peroxidase circulation. Pinocytotic vesicle filled with electron-dense product visible in endothelium (arrow head), extracellular space remains empty. × 15 000

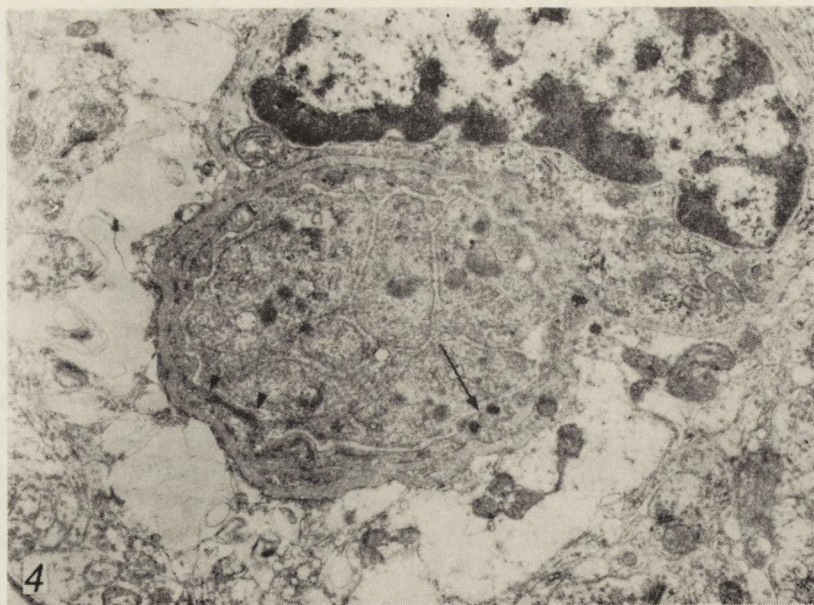
nie intensywnością i częstością występowania. Były one bardziej nasilone i występowały częściej u zwierząt po 6-miesięcznym okresie doświadczenia.

Po 5 minutach krążenia peroksydazy, w świetle drobnych naczyń stwierdzono obecność złożeń gęstego elektronowo-optycznie materiału (ryc. 3). Impregnowały one powierzchnię komórek śródbłonka wnikając na krótkim odcinku do zespołów śródbłonkowych (ryc. 4). Wypełniały również zatoki pinocytarne śródbłonka a rzadko znajdowano je w niezbyt głęboko położonych pęcherzykach mikropinocytarnych. Po 30 min. krążenia peroksydazy gęste elektronowo-optycznie złoże stwierdzono natomiast w licznych pęcherzykach pinocytarnych, a częściowo również w kanałach złącz międzyśródbłonkowych. W tym przypadku pasmo złożeń zatrzymywało się ostro na pewnym odcinku złącza nie wypełniając go na całej długości. W tym czasie pojawiały się również złoże w przestrzeniach międzykomórkowych w tkance otaczającej bezpośrednio naczynie. Po 2 godz. krążenia peroksydazy nie znajdowano elektronowo-optycznie gęstych złożeń w świetle naczyń. Zespolecia międzyśródbłonkowe na krótkim zwykle odcinku, zwróconym do światła naczynia



Ryc. 3. Gliopatia wątrobowa, 4 mies. doświadczenia, 5 min. krążenia peroksydazy. Optycznie gęsta masa widoczna w fałdach i zagłębieniach śródbłonka oraz w pęcherzykach pinocytarnych. Przestrzenie międzykomórkowe puste. Pow. 10 000 \times

Fig. 3. Hepatogenic gliopathy, 4 months of experiment, 5 min. peroxidase circulation. Electron-dense products in endothelial folds saveoles and pinocytic vesicles. Extracellular space remains empty. $\times 10\ 000$



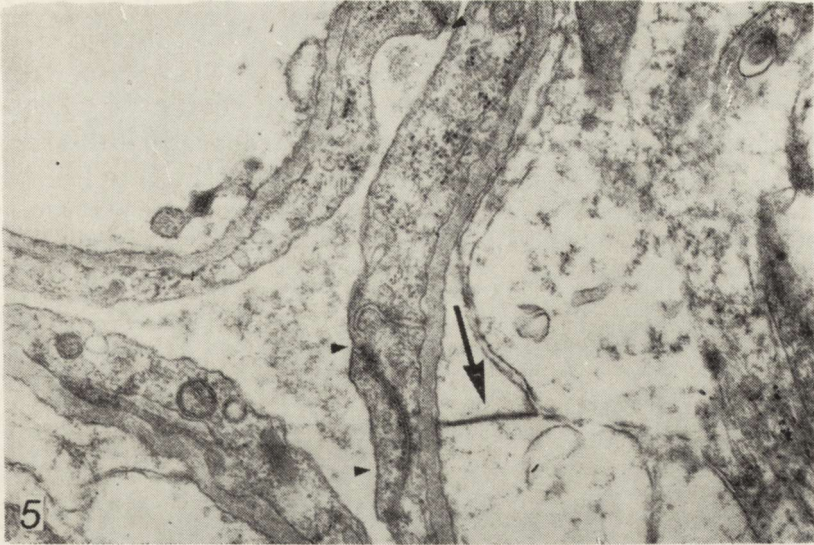
Ryc. 4. Gliopatia wątrobowa, 4 mies. doświadczenia, 5 min. krążenia peroksydazy. Naczynie otoczone przez obrzękłe wypustki astrocytów. Zespolecie międzyśródbłonkowe wypełnione optycznie gęstą masą w ograniczonym odcinku (główki strzałek). Pęcherzyk pinocytarny wypełniony taką samą masą (strzałka).
Pow. 10 000 \times

Fig. 4. Hepatogenic gliopathy, 4 months of experiment, 5 min. peroxidase circulation. The vessel surrounded by swollen astrocytic processes. Short segment of tight junction filled with electron-dense product (arrow heads). The same product inside pinocytotic vesicle (arrow). $\times 10\ 000$

były wypełnione masami produktu reakcji (ryc. 5). Prawie w ogóle nie spotykano ich w pęcherzykach pinocytarnych, obficie gromadziły się natomiast w przestrzeniach międzykomórkowych w otoczeniu naczynia. Ciemne ziarnistości spotykano również w cytoplazmie astrocytów sąsiadujących z naczyniami.

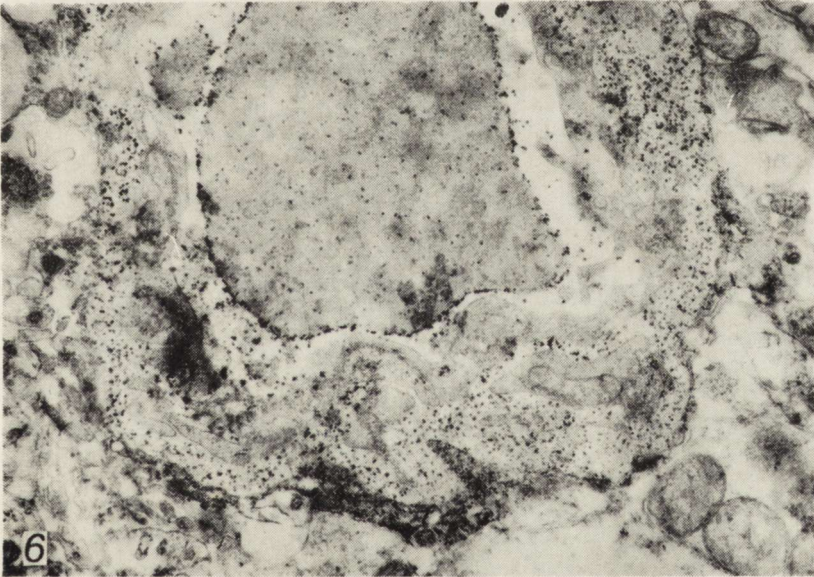
Badania histoenzymatyczne

U zwierząt kontrolnych końcowe produkty reakcji enzymatycznej gromadziły się przede wszystkim w błonie podstawnej naczyń włosowatych (ryc. 6). Ich gromadzenie się w przypadku zastosowania jako substratu ATP i IDP było silniejsze niż przy użyciu GTP i CTP. W tym przypadku obserwowano również odkładanie się produktów reakcji enzymatycznej w błonach otaczających wypustek glejowych. Przy użyciu każdego z substratów stwierdzono ponadto odkładanie się nierównomiernie rozmieszczonych złogów produktu końcowego reakcji na powierzchni błony jądrowej sąsiadujących z naczyniami astrocytów.



Ryc. 5. Gliopatia wątrobowa, 4 mies. doświadczenia, 2 godz. krążenia peroksydazy. Zespolenia międzysródbłonkowe na krótkim odcinku wypełnione produktem reakcji (główki strzałek). Optycznie gęste masy w przestrzeni międzykomórkowej (strzałka). Pow. 15 000 \times

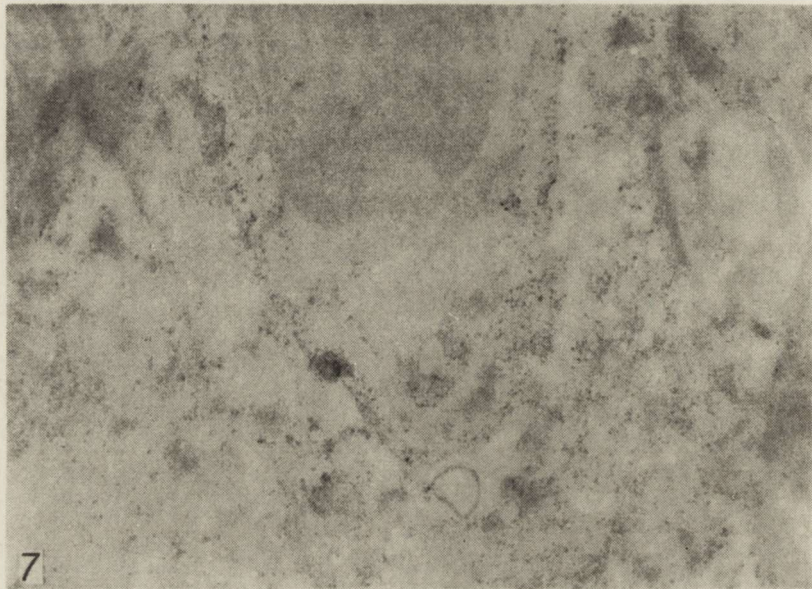
Fig. 5. Hepatogenic gliopathy, 4 months of experiment, 2 h peroxidase circulation. Short segments of tight junctions filled with reaction product (arrow heads). Electron-dense product in extracellular space (arrow). $\times 15\,000$



Ryc. 6. Szczur kontrolny. Produkt reakcji enzymatycznej zlokalizowany głównie w błonie podstawnej naczyń. ATP. Pow. 15 000 \times

Fig. 6. Control rat. Product of enzymic reaction localized mainly in vascular basal lamina. ATP. $\times 15\,000$

U szczurów doświadczalnych, zarówno z 4- jak i 6-miesięcznym przeżyciem stwierdzono zmianę w ultrastrukturalnej lokalizacji produktów reakcji enzymatycznej. Nie spostrzegano ich prawie zupełnie w błonie podstawnej kapilarów, gromadziły się natomiast obficie w śródbłonkach wyściełających naczynie (ryc. 7), nie wykazując uchwytne go zróżnicowania w zależności od zastosowanego substratu. Zwracał równocześnie uwagę fakt, że pęcherzyki mikropinocytarne w każdym przypadku wolne były od produktów reakcji enzymatycznej.



Ryc. 7. Gliopatia wątrobowa, 6 mies. doświadczenia. Produkt reakcji enzymatycznej znajduje się w śródbłonku włosniczki i w przylegającej błonie glejowej. ITP. Preparat niekontrastowany. Pow. 15 000 \times

Fig. 7. Hepatogenic gliopathy, 6 months of experiment. Product of enzymic reaction localized in vascular endothelium and in *membrana limitans gliae*. ITP. Uncontrasted grid. \times 15 000

OMÓWIENIE

W badanym okresie doświadczenia w mózгах zwierząt występuje charakterystyczny zespół zmian tkankowych, składający się na obraz encefalopatii wątrobowej (Mossakowski i wsp., 1970), a w obrazie mikroskopowo-elektronowym dominuje wzmoczona pinocytoza w śródbłonkach kapilarów, poszerzenie złącz międzyśródbłonkowych i typowe uszkodzenie gleju astrocytarnego (Ostenda i wsp., 1976).

Zwiększone jest przenikanie soli srebra do tkanki z ich odkładaniem się w komórkach glejowych i niektórych ugrupowaniach neuronów, przy braku zmian przepuszczalności naczyń dla związków o wysokim

ciężarze cząsteczkowym (Mossakowski i wsp., 1970). Nasze obecne badania wskazują na uszkodzenie mechanizmów naczyniowo-mózgowych układu barierowego, którego wykładnikiem jest przechodzenie peroksydazy chrzanowej poza łożysko naczyniowe i jej gromadzenie w przestrzeniach międzykomórkowych w otoczeniu naczyń. W warunkach prawidłowych peroksydaza chrzanowa podana donaczyniowo nie przechodzi do tkanki nerwowej poza tzw. barierowymi obszarami (Reese, Karnovsky, 1967). Stwierdzone przez Westergaarda i Brightmana (1973) przechodzenie peroksydazy ze światła naczynia poprzez śródbłónki do jego głębszych warstw dotyczyło ograniczonego odsetka większych naczyń. W naszym przypadku zjawisko to występowało w większości naczyń włosowatych. Zwraca jednak uwagę fakt, że funkcja tzw. zespolień ścisłych (tight junctions) jest prawidłowo zachowana (Brightman, Reese, 1970). W żadnym bowiem przypadku nie obserwuje się wypełnienia kanałów złącz międzyśródbłonkowych na całej ich długości. Słup znacznika wypełniającego zespolenie zatrzymuje się na krótszym lub dłuższym odcinku złącza od strony światła naczyniowego. Wydaje się przeto uzasadnione przypuszczenie, że obecność peroksydazy w tkance poza światłem i ścianą naczynia włosowatego wiązać należy z jej transportem drogą pęcherzyków pinocytarnych, których liczba jest wyraźnie zwiększona w stosunku do materiału kontrolnego. Nie wyjaśniona pozostaje sprawa obecności elektronowo-gęstych złogów w cytoplazmie astrocytów otaczających naczynia. Można jedynie przypuszczać, że wobec głębokiego uszkodzenia astrocytów (Ostenda i wsp., 1976) dochodzi do przenikania peroksydazy przez zmienione patologicznie błony komórkowe.

U zwierząt kontrolnych lokalizacja aktywności badanych fosfataz jest identyczna z jej umiejscowieniem opisanym przez Toracka i Barnnetta (1964). Zmieniona lokalizacja aktywności enzymów u zwierząt doświadczalnych upodabnia naczynia kapilarne kory mózgu zwierząt z encefalopatią wątrobową do naczyń występujących w tzw. bezbarierowych obszarach i strukturach ośrodkowego układu nerwowego, takich jak półko krańcowe, splot naczyniówkowy lub szyszynka (Torack, Barnett, 1964). Różnica rozmieszczenia aktywności badanych fosfataz w naczyniach różnych części ośrodkowego układu nerwowego stanowi według wymienionych autorów wykładnik zróżnicowania złącza naczyniowo-mózgowego w strukturach barierowych, związanego z odrębnościami jego funkcji transportowych. Zmiana lokalizacji aktywności badanych hydrolaz, biorących udział w procesach związanych z transportem przez błony biologiczne (Hokin, Hokin, 1961; Skou, 1962) może być traktowana jako wyraz zmian stanowiących podłoże nieprawidłowej przepuszczalności naczyń mózgowych.

Stwierdzone przez nas zaburzenia przepuszczalności naczyń w encefalopatii pochodzenia wątrobowego mogą sprzyjać przechodzeniu do tkanki nerwowej nieprawidłowych produktów przemiany związanych z upośledzeniem czynności wątroby. Mogą być również odpowiedzialne za zwiększone gromadzenie się w mózgu substancji, których stężenie w prawidłowej tkance nerwowej regulowane jest przez wydolne naczyniowo-mózgowe mechanizmy barierowe. Można przypuszczać, że nadmierne gromadzenie się w mózgu miedzi u chorych z ostrym uszkodzeniem wątroby, stwierdzone przez Śmiałka i Mossakowskiego (1974) jest związane z upośledzeniem tych mechanizmów.

М. Я. Моссаковский, М. Остенда, А. Пронашко-Курчиньска

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКАЯ КАРТИНА МОЗГОВЫХ КАПИЛЛЯРОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГЕПАТОГЕННОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ

Резюме

Исследованы изменения ультраструктуры мозговых сосудов при экспериментальной гепатогенной энцефалопатии у крыс. Цирроз печени вызывали путем подавания четыреххлористого углерода. Проницаемость мозговых капилляров исследовали при помощи пероксидазы из хрена. Проводили также оценку локализации активности нуклеозидных фосфатаз в стенке капилляров и их ближайшем окружении (capillary glia unit).

Изменения в мозгу установлены через 6 месяцев переживания. В это время отложения пероксидазы появлялись в межклеточных пространствах, прилегающих к сосудам. В сосудистой стенке пероксидаза находилась в пиноцитарных пузырьках, но не проходила через межэндотелиальные анастомозы. В этой же самой опытной группе установлены изменения локализации гидролаз в сосудистой стенке. Наивысшая их активность у контрольных животных имела место в основной мембране капилляров, а в опытной группе ее установили в эндотелии.

Наблюдавшиеся нами нарушения проницаемости сосудов при гепатогенной энцефалопатии могут быть ответственными за повышение накопления в мозгу неправильных продуктов обмена, образующихся вследствие дефективности функции печени.

M. J. Mossakowski, M. Ostenda, A. Pronaszko-Kurczyńska

ULTRASTRUCTURE OF BRAIN CAPILLARIES IN EXPERIMENTAL HEPATOGENIC ENCEPHALOPATHY

Summary

The alterations in the ultrastructure of cerebral vessels in the course of experimental hepatogenic encephalopathy in rats were studied. Hepatic cirrhosis was produced by the administration of carbon tetrachloride. The permeability of cerebral capillaries was studied by means of horseradish peroxidase. The inve-

stigation concerned also the localization of nucleoside phosphatases in capillary-glia unit.

The changes in the brain were observed in animals after 4 months survival. At this time the presence of horseradish peroxidase was demonstrated in extracellular space adjacent to the vessels. Horseradish peroxidase appeared in pinocytotic vesicles but did not penetrate endothelial tight junctions. In the same experimental group the localization of hydrolytic enzymes in vascular walls changed. The highest enzyme activity in animals of the control group was demonstrated in basal lamina of capillaries whereas in experimental animals it was localized in endothelium.

The observed disturbance in vascular permeability in hepatogenic encephalopathy can be responsible for enhanced accumulation in the brain of abnormal metabolic products resulting from liver disorder.

PIŚMIENNICTWO

1. Brightman M. W., Reese T. S.: Tight junctions, gaps and fenestrae in the endothelium of normal and abnormal vertebrate brains. The Proceedings of a Symposium on the Blood-Brain Barrier. Oxford 1970. Truex Press pp. 5—12.
2. Hokin M. R., Hokin L. E.: Phosphatides and active transport with particular reference to the role of the phosphatidic acid on sodium transport. *Biochem. J.*, 1961, 81, 32.
3. Mossakowski M. J.: Patomorfologia i histochemia spontanicznych i doświadczalnych encefalopatii pochodzenia wątrobowego. *Neuropat. Pol.*, 1966, 4, 231—304.
4. Mossakowski M. J., Śmiałek M., Pronaszko-Kurczyńska A.: Zaburzenia przepuszczalności naczyń krwionośnych mózgu w doświadczalnej encefalopatii wątrobowej. *Neuropat. Pol.*, 1970, 8, 365—374.
5. Mossakowski M. J., Kraśnicka Z., Kassur B., Olejnik Z.: Patomorfologia ośrodkowego układu nerwowego w ostrych uszkodzeniach wątroby. *Neuropat. Pol.*, 1974, 12, 51—62.
6. Ostenda M., Mossakowski M. J., Pronaszko A.: Ultrastructural studies on experimental hepatogenic encephalopathy. *Neuropat. Pol.*, 1976, 14, 347—354.
7. Reese T. S., Karnovsky M. J.: Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. *J. Cell Biol.*, 1967, 34, 207—214.
8. Skou J. C.: Preparations from mammalian brain and kidney of the enzyme system involved in active transport of K^+ and Na^+ . *Biochim. Biophys. Acta*, 1962, 58, 314—320.
9. Śmiałek M., Mossakowski M. J.: Morphological changes and quantitative topography of copper in the brain of patients with hepatic coma, due to acute impairment. *Neuropat. Pol.*, 1974, 12, 259—268.
10. Torack R. M., Barnett R. J.: The fine structural localization of nucleoside phosphatase activity in the blood-brain barrier. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1964, 23, 46—59.
11. Westergaard E., Brightman M. W.: Transport of proteins across normal cerebral arterioles. *J. Comp. Neurol.*, 1973, 152, 17—44.

Adres autorów: Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, ul. Dworkowa 3, 00-784 Warszawa.

MIECZYŚLAW WENDER, ALEKSANDER PIECHOWSKI, JAN SĘDZIK,
OLGA MULAREK, DANUTA TALKOWSKA

MYELIN PROTEINS AFTER TRANSPLACENTAL INTOXICATION WITH ETHYLNITROSOUREA

Department of Neurology, Academy of Medicine, Poznań, Poland
Head: Prof. M. Wender

Our previous studies (Wender et al., 1977b) on the effect of methyl-nitrosourea on the protein and lipid constituents of the myelin sheaths of BD IX rats have shown, that unlike the lipid composition which was considerably affected by this noxious agent, the other structural myelin components i.e. the protein composition remained unaffected. In spite of the apparent lack of any significant response of the myelin proteins to methylnitrosourea intoxication in adult rats we were interested to find out whether the myelin proteins of the developing nervous system will as well remain resistant towards the action of alkylated nitrosourea compounds.

MATERIAL AND METHODS

Pregnant Swiss mice were injected intravenously with a single dose (80 mg/kg of body weight) of ethylnitrosourea (ENU) dissolved in 0.9% saline adjusted with NaH_2PO_4 to pH 4.5. Their offsprings aged 40 and 70 days respectively were used as the source of myelin to be studied. Myelin fractions obtained from aged matched mice served as control preparations.

Biochemical methods. The myelin fraction was isolated from the whole brain after dissection of the cerebellum. Nine brains from the 40 day old mice, and 3 brains from those aged 70 days postnatal were needed for a single isolation procedure.

* This investigation was supported by the Polish Academy of Sciences, 10.4.2.02.3.3.

The myelin fraction was isolated from the brain homogenates by means of discontinuous sucrose gradient centrifugation (0.32 and 0.85 N sucrose solution, at pH 7.0). Centrifugation was performed in a swing-out head, as described by Norton and Poduslo (1973). The myelin fraction was washed three times with distilled water each time followed by centrifugation at $75\,000 \times g$ for 20 minutes. The purity of the obtained myelin fraction was characterized by means of electron microscopy. The total protein content of the myelin fraction was determined using the method of Lowry et al. (1951), with bovine serum albumin as the standard protein.

Polyacrylamide gel electrophoresis. The myelin proteins were extracted by means of 0.4% sodium dodecylsulfate (SDS) in 0.01 M Tris-HCl buffer pH 7.0 (2 ml/mg of myelin proteins). The protein extract was separated from the insoluble residue by means of centrifugation at $100\,000 \times g$ and then subjected to electrophoretic separation on a 12% polyacrylamide gel, prepared immediately before use according to Waehnelde and Mandel (1972).

0.1 ml of the protein solution, containing 30–35 μg of protein was layered on top of the gel. Electrophoresis was starting at a current of 0.1 mA per gel. As soon as the marker dye penetrated the gel, the current was increased stepwise till 2 mA per gel.

The electrophoretic separation was stopped as soon as the marker dye reached the bottom of the gel.

The separated proteins were then stained for 18–24 h by means of Coomassie Brilliant Blue R-250 followed by a thorough rinsing of the gels in 50% methanol alternatively with 10% acetic acid, as described by Agrawal et al. (1972).

The obtained gels were stored in 7% acetic acid until they were scanned by means of densitometry at 570 nm. The obtained electrophoregrams were evaluated by means of a „Vitatron” integrating device and the results expressed in relative percentages.

Identification of the individual protein components were based on criteria described previously (Zgorzalewicz et al., 1974). The following myelin proteins were identified: the small component of basic protein (SBP), the large component of basic protein (LBP), Agrawal protein (AP), the proteolipid Folch-Lees (PLP), the Wolfgram protein (WP) and the protein of higher molecular weight than the Wolfgram protein as HMW (Benjamin et al., 1976).

Histological techniques. Frozen brain sections were stained with the method of Spielmeyer, with H—E, and with Sudan III.

Section embedded in celoidine were stained with the method of Woelcke, Nissl and with H.-E., and those embedded in paraffin with the techniques of Nissl and Klüver-Berrera.

RESULTS

Histology

The intraplacentally intoxicated mice did neither show histopathologically detectable abnormalities, nor did they present any histological signs of a delay in the myelination process. In a number of the experimental animals however some discrete changes of variable nature have been observed.

Some of the 40 day old animals displayed nodular infiltrations of lymphocytes situated as well in the white as in the grey cerebral matter and in the meninges. The cerebral cortex of these animal displayed occasionally glial-mesenchymal nodules, as well as small necrotic fields. In the Ammon's horn there were found groups of hyperchromatic cells distributed randomly without any predilection to definite anatomic regions. In the corpus callosum instead, the staining of myelin was focally diminished and here and there edematous changes were seen as well.

In the group of 70 day old mice intoxicated during their intrauterine life there were single animals which displayed in the corpus callosum minor foci of myelin pallor, sharply demarcated from the surroundings, irregular in shape and lacking the otherwise typical glial reaction and sudanophilic deposits.

Myelin proteins

The electrophoretic profiles of myelin proteins from mice aged 40 and 70 days did not show any notable differences. Instead the percentage composition of myelin proteins from the 40 day old experimental animals varied essentially from that of control, aged matched mice.

The Folch-Lees proteolipid was the only myelin protein, the percentage of which was unchanged in these experimental animals. Instead the relative contents of the Wolfgram protein was several fold lower than in control animals, and the percentage of the small component of basic protein was as well considerably decreased. The other proteins extracted from the 40 day old experimental mice, such as the large component of basic protein and the Agrawal protein contributed a larger proportion to the total myelin proteins.

Table 1. Protein composition of brain myelin after the transplacental intoxication with ethylnitrosourea (in % of total proteins)
 Tabela 1. Skład białek mieliny po transłożyskowym zatruciu etylnitrozomocznikiem (w procentach całości białek)

Myelin protein fraction Frakcja białkowa mieliny	Age of mice Wiek myszy			
	40 days 40 dni		70 days 70 dni	
	Normal Norma	After ENU intoxication Po zatruciu ENU	Normal Norma	After ENU intoxication Po zatruciu ENU
Small component of basic protein (SBP) Białko zasadowe o niższym c. mol. (SBP)	31.9±1.0	<u>23.3±0.7</u>	31.0±1.0	28.9±1.0
Large component of basic protein (LBP) Białko zasadowe o wyższym c. mol. (LBP)	22.0±2.6	<u>33.2±1.3</u>	23.2±1.2	22.1±2.1
Agrawal protein (AP) Białko Agrawala (AP)	5.7±0.5	<u>14.1±1.2</u>	5.4±0.6	<u>14.3±1.2</u>
Folch-Lees proteolipid (PLP) Proteolipid Folch-Lees (PLP)	28.9±1.6	25.7±2.0	29.0±0.9	27.6±1.7
Wolfgram protein (WP) Białko Wolfgrama (WP)	9.9±1.1	<u>1.6±0.2</u>	9.6±0.9	<u>4.7±0.4</u>
High molecular weight protein (HMW) Białko o wysokim c. mol. (HMW)	1.3±0.2	0.7±0.1	1.6±0.2	3.0±1.2

Values are expressed as the mean ± standard error

Średnia ± średni błąd średniej

Number of experiments in each group: 5.

Liczba doświadczeń w każdej grupie: 5.

Significant differences underlined

Istotne różnice podkreślono

The differences between the myelin protein spectrum of control mice aged 70 days and that of experimental ones of the same aged were less pronounced. Statistically significant differences were seen only with respect to the Wolfgram's protein (decreased percentage) and to Agrawal's protein (increased percentage). The content of other proteins did not vary compared to control proteinograms. The percentage of high molecular weight protein, the origin of which is still disputable (Benjamin et al., 1976) was as well comparable to that seen in the control group.

In Table 1 there are listed detailed numerical data concerning the composition of myelin proteins, and Figure 1 shows the corresponding proteinograms.

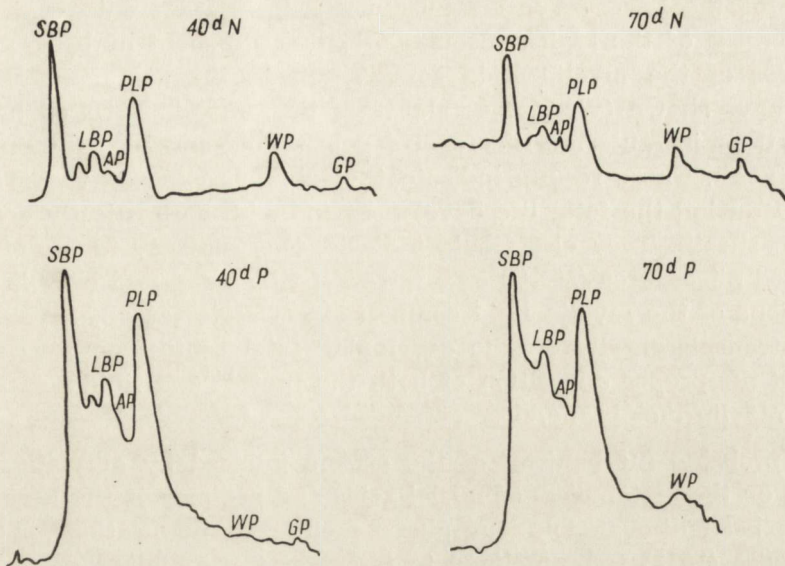


Fig. 1. Densitogram of myelin proteins after transplacental intoxication with ethylnitrosourea. 40 dN — 40 day old, normal mouse; 70 dN — 70 day old, normal mouse; 40 dP — 40 day old, ENU intoxicated mouse; 70 dP — 70 day old, ENU intoxicated mouse; SBP — small component of basic protein; LBP — large component of basic protein; AP — Agrawal protein; PLP — proteolipid Folch-Lees; WP — Wolfgram protein; GP — high molecular weight protein.

Ryc. 1. Denzytogram białek mieliny po transłożyskowym zatruciu etylnitrozomocznikiem. 40 dN — 40 dniowa normalna mysz; 70 dN — 70 dniowa normalna mysz; 40 dP — 40 dniowa mysz zatruta ENU; 70 dP — 70 dniowa mysz zatruta ENU; SBP — białko zasadowe o niższym c. mol.; LBP — białko zasadowe o wyższym c. mol.; AP — białko Agrawala; PLP — proteolipid Folch-Lees; WP — białko Wolfgrama; GP — białko o wysokim c. mol.

DISCUSSION

As was shown by Morell et al. (1972) even after the mouse is relatively mature, myelin continues to accumulate with an increase of 50 per cent in total brain myelin taking place between 45 and 300 days of age. Concomitantly, there have been observed changes in the protein composition of the still developing myelin, in particular an increase in the proteolipid and intermediate protein content.

However, similarly as in our studies these authors were unable to detect any significant changes in the relatively short time of development inbetween the 40th and 70th day of life, in which the histologically recognized myelination is completed. Both groups of our experimental mice intoxicated by ENU during their intrauterine development displayed a considerably deviated spectrum of myelin proteins, particularly those investigated 40 days postnatal. The severely reduced amount of the Wolfgram protein should be pointed out along with the

decline of the lower molecular weight basic protein, with a concomitant increase of the high molecular weight component of basic protein.

Studies of the myelin lipid composition in the same experimental model have shown (Wender et al., 1978) that mice intoxicated by ENU during their intrauterine life form a galactolipid and plasmalogen deficient myelin. These results indicate that animals exposed to the action of ENU during the fetal life develop brains with a chemically defective myelin sheath. They also would indicate, that contrary to the effect of alkylated nitrosourea (MNU) on adult rats, which resulted only in minor alterations of the myelin lipid composition (Wender et al., 1977a), ENU acting transplacentally on the developing fetal central nervous system affected the proper deposition of both the protein and lipid components in the myelin membrane.

The probable mechanisms of the effects induced by alkylating compounds on the metabolism of nuclei acids and proteins of the brain have already been discussed in our above mentioned publications. Kleihues and Magee (1973) were inclined to interpret the inhibited protein synthesis in the liver and brain of the adult animals intoxicated with MNU on protein biosynthesis rather than in terms of undue methylation of ribosomal RNA. In the case of immature nervous system, it could be tentatively assumed that alkylating compounds by causing overalkylation of tRNA could induce a qualitative shift in the phase of specific protein synthesis (Viale, 1972) and thus by disturbing the development of proliferating matrix cells, also of these which differentiate into neuroglial cells forming the myelination gliosis, a deviated formation of the myelin sheath could result.

In spite of the speculative nature of these interpretations, the results presented herewith showing that under the influence of alkylating agents acting during the fetal development a chemically defective myelin is formed, may at least partially explain the occurrence of later morphological alterations in the myelin (demyelination), that have been reported by Kroh (1976 a, b).

CONCLUSIONS

The results obtained lead to the following conclusions:

1. The myelin protein spectrum of transplacentally intoxicated animals aged 40 days postnatal, shows decreased percentages of the Wolfgram protein and of the low molecular weight basic protein, whereas the proportions of the high molecular weight component of the myelin basic protein as well as that of the Agrawal's protein are elevated.

2. The alterations in the profile of myelin proteins obtained from experimental mice aged 70 days postnatal are less severe and consist in a decline of the percentage of Wolfgram's protein and elevation of the Agrawal's protein content.

3. The intraplacental intoxication of mouse fetuses leads to development of animals defective with respect to the protein composition of the central myelin.

M. Wender, A. Piechowski, J. Sędzik, O. Mularek, D. Talkowska

BIAŁKA MIELINY PO TRANSŁOŻYSKOWYM ZATRUCIU ETYLNITROZOMOCZNIKIEM

Streszczenie

Myszom rasy Swiss, podawano w 15 dniu ciąży etylnitrozomocznik w ilości 80 mg/kg wagi ciała. U potomstwa badano w 40 i 70 dniu życia białka mieliny drogą elektroforezy na żelu poliakrylamidowym. Wyniki badań ujęto w następujące wnioski:

1. Białka mieliny zwierząt 40-dniowych zatrutych transłożyskowo etylnitrozomocznikiem wykazują wyraźne obniżenie zawartości odsetkowej białka Wolfgrama oraz białka zasadowego o niskim ciężarze drobinowym przy równoczesnym wzroście odsetka białka zasadowego o wyższym ciężarze drobinowym i białka Agrawala.

2. Zwierzęta 70-dniowe zatrute transłożyskowo etylnitrozomocznikiem wykazują zmiany białka mieliny polegające na obniżeniu odsetka białka Wolfgrama oraz wzroście odsetkowym białka Agrawala.

3. Działanie etylnitrozomocznika w życiu płodowym prowadzi do rozwoju zwierząt posiadających nieprawidłową co do składu białkowego mielinę mózgu.

M. Вендер, А. Пеховски, Я. Сендзик, О. Мулярек, Д. Тальковска

БЕЛКИ МИЕЛИНА ПОСЛЕ ТРАНСПЛАЦЕНТАРНОГО ОТРАВЛЕНИЯ ЭТИЛНИТРОЗОМОЧЕВИНОЙ

Резюме

Мышам породы Swiss давали на 15ый день беременности этилнитрозомочевину в количестве 80 мг/кг веса тела. У потомства на 40ой и 70ый день жизни исследовали белки миеллина путем электрофореза на полиакриламидном геле. Результаты исследований выражаются следующими выводами:

1. Белки миеллина 40-дневных животных, трансплацентарно отравленных этилнитрозомочевинной, обнаруживают отчетливое снижение процентного содержания белка Вольфграма и щелочного белка с низким молекулярным весом при одновременном возрастании процента щелочного белка с более высоким молекулярным весом и белка Агравала.

2. 70-дневные животные, трансплацентарно отравленные этилнитрозомочевинной, обнаруживают изменения белка миелина, основанные на снижении процента белка Вольфграма и возрастании процента белка Агравалья.

3. Действие этилнитрозомочевины в период эмбриональной жизни приводит к развитию животных, имеющих неправильный белковый состав миелина мозга.

REFERENCES

1. Agrawal H., Burton R., Fishman M., Mitchell R., Prensky A.: Partial characterisation of a new myelin protein component. *J. Neurochem.*, 1972, 19, 2083—2089.
2. Benjamins J., Gray M., Morell P.: Metabolic relationship between myelin sub-fractions: entry of proteins. *J. Neurochem.*, 1976, 27, 571—575.
3. Kleihues P., Magee P.: Inhibition of protein synthesis by n-methyl-n-nitrosourea in vivo. *Biochem. J.*, 1973, 126, 303—309.
4. Kroh H.: Demyelination in the mouse brain after transplacental administration of N-methyl-N-nitrosourea (ENU). *Neuropat. Pol.*, 1976a, 14, 115—119.
5. Kroh H.: Multiple demyelinating foci induced with ethylnitrosourea (ENU) in mouse brain. *Internat. Symposium on: "Chemical brain injuries and brain tumors"*, Warsaw. September 23—25, 1976b, Abstracts.
6. Lowry O., Rosenbrough N., Farr A., Randall R.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, 193, 265—275.
7. Morell P., Greenfield S., Costantino-Ceccarini E., Wiśniewski H.: Changes in the protein composition of mouse brain myelin during development. *J. Neurochem.*, 1972, 19, 2545—2554.
8. Norton W., Poduslo S.: Myelination in rat brain: method of myelin isolation. *J. Neurochem.*, 1973, 21, 749—757.
9. Viale G.: Nucleic acid composition and metabolism in brain tumors. In: *Experimental biology of brain tumors*. Eds.: W. Kirsch, E. Grossi-Paoletti, P. Paoletti, Ch. Thomas, Springfield — Illinois, 1972, 357—403.
10. Waehneltd T., Mandel P.: Isolation of rat brain myelin, monitored by polyacrylamide gel electrophoresis of dodecyl sulfate-extracted proteins. *Brain Res.*, 1972, 40, 419—436.
11. Wender M., Adamczewska-Gonczewicz Z., Mularek O., Pankrac J., Sędzik J.: The effect of experimental intoxication with methylnitrosourea on the lipid composition of rat cerebral myelin. *Neuropat. Pol.* 1977a, 15, 219—230.
12. Wender M., Adamczewska-Gonczewicz Z., Mularek O., Sędzik J., Pankrac J.: Myelin lipids in the brain after the transplacental intoxication with alkyl-nitrosourea. *Exper. Path.*, 1978, in press.
13. Zgorzalewicz B., Neuhoff V., Waehneltd T.: Rat myelin proteins. Compositional changes in various regions of the nervous system during ontogenic development. *Neurobiology*, 1974, 4, 264—276.
14. Wender M., Zgorzalewicz B., Sędzik J., Mularek O., Talkowska D.: Myelin proteins in experimental intoxication with methylnitrosourea. *Neuropat. Pol.*, 1977b, 15, 231—237.

Authors' address: Department of Neurology, Academy of Medicine, 49 Przybyszewskiego Str., 60—355 Poznań, Poland.

JÓZEF SZCZECH

ZMIANY MORFOLOGICZNE I HISTOENZYMATYCZNE
W KORZE AMONALNEJ SZCZURA W PRZEBIEGU ZATRUCIA
OCTANEM FENYLORTEĆIOWYM *)

Samodzielna Pracownia Patologii Układu Nerwowego i Narządów Zmysłów AM
w Poznaniu

Kierownik: doc. dr med. Mirosław B. Kozik

Szerokie zastosowanie związków rtęci w przemyśle oraz przypadki sporadycznych i masowych zatruc wywołanych przez te związki powodują, że problem toksycznego działania rtęci i jej związków jest przedmiotem intensywnych badań. Badania te nabierają szczególnego znaczenia z powodu zastosowania związków rtęci w rolnictwie jako środków ochrony roślin, a tym samym możliwości szerokiego oddziaływania biologicznego na populację ludzi, zwierząt i roślin.

Kora amonalna wzbudza zainteresowanie z powodu jej wybiórczej podatności na działanie różnych szkodliwych czynników jak i selektywności uszkodzeń w obrębie poszczególnych pól. Stąd wydaje się uzasadnione prześledzenie zmian morfologicznych i histoenzymatycznych w rogu Amona wywołanych podawaniem pochodnej aryłowej rtęci w postaci octanu fenylortęciowego używanego jako zaprawa nasienna. Wpływ tego związku na obraz morfologiczny i histoenzymatyczny innych struktur mózgu jest przedmiotem osobnych doniesień (Kozik, Wigowska-Sowińska, 1978).

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 37 szczurach rasy Wistar w ciężarze ciała około 190 g, którym podawano dożołądkowo octan fenylortęciowy w postaci zawiesiny wodnej. Grupa I obejmująca 20 zwierząt otrzymywała po 0,1 g preparatu przez 10 dni, a grupa II licząca 17 zwierząt po 0,05 g przez 30 dni. Zwierzęta uśmiercono w narkozie eterowej przez przecięcie serca i wykrwawienie a następnie wyjmowano mózgowie,

*) Praca wykonana w ramach problemu węzłowego Nr 10.4.2.02.

które utrwalano przez 16 godzin w płynie Baker'a w temp. 4°C z przeznaczeniem do badań histopatologicznych bądź histoenzymatycznych. Skrawki parafinowe barwiono hematoksyliną i eozyną, met. Nissla, Klüver-Barrery i Kanzler-Arendta, a ponadto wykonywano reakcję PAS.

Reakcje enzymatyczne przeprowadzono na skrawkach ciętych na mikrotomie mrożeniowym. Badano aktywność następujących fosfataz i esteraz: tiaminowej pyrofosfatazy (E.C.2.5.1.3)* — wg met. Novikoff'a i Goldfischer'a (1961), niespecyficznej esterazy (E.C.3.1.1.1) — wg met. Nachlas'a i Seligmann'a (1949), fosfatazy zasadowej (E.C.3.1.3.1) — wg met. Gomori'ego (1953), acetylocholinesterazy (E.C. 3.1.1.7) — wg met. Koelle w modyfikacji Gerebtzoff'a (1953), cholinesterazy niespecyficznej (E.C.3.1.1.8) — wg met. Koelle w modyfikacji Gerebtzoff'a (1953), fosfatazy kwaśnej (E.C.3.1.1.2) — wg met. Gomori'ego (1953) i adenozynotrójfosfatazy (E.C.3.6.1.3) — wg met. Wachstein'a i Meisel'a (1957).

Grupę kontrolną stanowiły zwierzęta, którym nie podawano octanu fenylortęciowego. Skrawki mózgow z grupy kontrolnej poddawano tej samej procedurze co skrawki mózgowe szczurów doświadczalnych.

WYNIKI

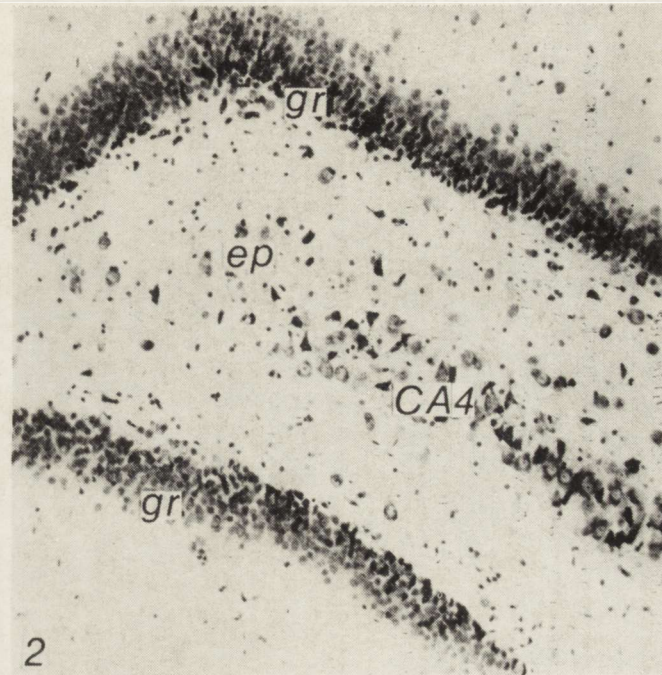
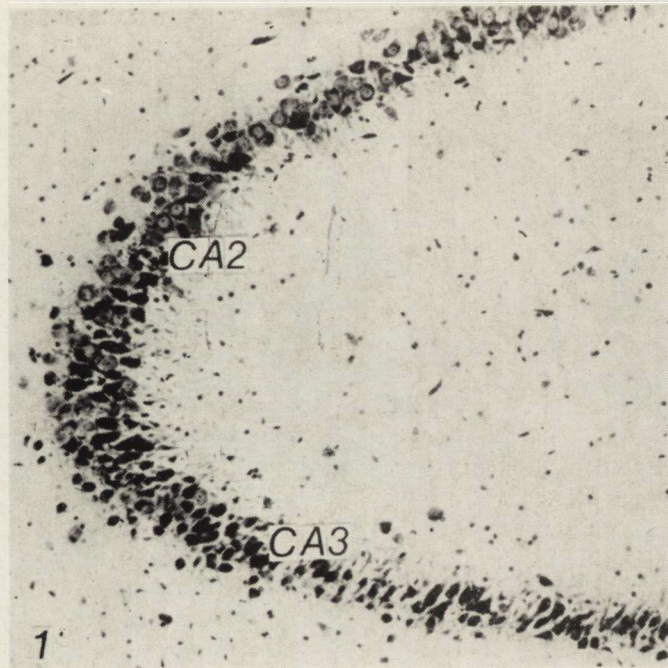
Zmiany morfologiczne

W preparatach barwionych met. Nissla oraz hematoksyliną i eozyną na plan pierwszy wysuwają się zmiany w obrębie naczyń krwionośnych. Manifestują się one przede wszystkim znacznym obrzmieniem komórek śródbłonna naczyń włosowatych, niewyraźnym zarysem błony podstawnej i poszerzeniem przestrzeni okołonaczyniowej. W neurocytach spotyka się różne postaci zmian zwyrodnieniowych, głównie obkurczenie ciała neuronu i wakuolizację cytoplazmy.

W I grupie zwierząt występują w licznych komórkach piramidowych rogu Amona zmiany neuronalne o typie schorzenia przewlekłego (ryc. 1). Zmiany tego typu wykazują liczne neurocyty pól CA2 i CA3 warstwy piramidowej, natomiast w komórkach pola CA1 i CA4 oraz w warstwie ziarnistej zawoju zębatego spotyka się je sporadycznie.

W II grupie doświadczalnej wzrasta liczba neurocytów wykazujących cechy schorzenia przewlekłego. Zmiany te są szczególnie mocno wyrażone w obrębie pola CA2 i CA3 oraz w płycie końcowej pola CA4 (ryc. 2). Neurocyty w zawoju zębatym znajdujące się w środkowym odcinku warstwy ziarnistej wykazują schorzenie przewlekłe. Ulegają również nasileniu zmiany w naczyniach włosowatych i drobnych tętnicach, doprowadzając niekiedy do zamknięcia ich światła.

*) Numer listy enzymów (Florkin, Stotz; 1973).



Ryc. 1. Grupa doświadczalna I. Pole CA2 i CA3 warstwy piramidowej hipokampa. Przewlekłe schorzenie neuronalne. Nissl. Pow. 80×

Fig. 1. Experimental group I. Sector CA2 and CA3 of hippocampal pyramidal cell layer. Chronic neuron disease. Nissl. $\times 80$

Ryc. 2. Grupa doświadczalna II. Pole CA4 i płytka końcowa warstwy komórek piramidowych hipokampa (ep) oraz warstwa komórek ziarnistych zwoju zębatego (gr). Przewlekłe schorzenie neuronalne. Nissl. Pow. 80 ×

Fig. 2. Experimental group II. Sector CA4 and the end-plate of hippocampal pyramidal cell layer (ep), and granular cell layer of gyrus dentatus (gr). Chronic neuron disease. Nissl. $\times 80$

Zmiany histoenzymatyczne

Tiaminowa pyrofosfataza (TPPaza). W rogu Amona zwierząt kontrolnych odczyn enzymatyczny widoczny jest w aparacie Golgi'ego neurocytów i w przynacyniowych wypustkach niektórych komórek glejowych (ryc. 3a).

Po 10-krotnym podaniu dożołądkowym octanu fenylortęciowego obserwuje się znaczny wzrost aktywności TPPazy w neurocytach, komórkach glejowych i w ścianach naczyń krwionośnych (ryc. 3b). W neurocytach warstwy piramidowej hipokampa aktywność jest najwyższa w polu CA2 i CA3, mniejsza natomiast w polu CA4, w płycie końcowej i w komórkach ziarnistych zawoju zębatego. Jednocześnie ulegają zatarciu charakterystyczne blaszkowate struktury aparatu Golgi'ego i odczyn przyjmuje postać dyfuzyjną. W komórkach glejowych rogu Amona szczególnie intensywny wzrost aktywności TPPazy obserwuje się w warstwie zatokowo-drobinowej hipokampa i w warstwie drobinowej zawoju zębatego. Wzrasta też aktywność ścian naczyń krwionośnych.

Długotrwałe zatrucie zwierząt octanem fenylortęciowym prowadzi do dalszego wzrostu aktywności TPPazy. Dotyczy on szczególnie neurocytów pól CA2 i CA3 warstwy piramidowej.

Niespecyficzna esteraza (NsE). U zwierząt kontrolnych silny odczyn enzymatyczny jest widoczny w pericytach naczyń oraz w neurocytach pola CA2 i CA3 warstwy piramidowej (ryc. 4a).

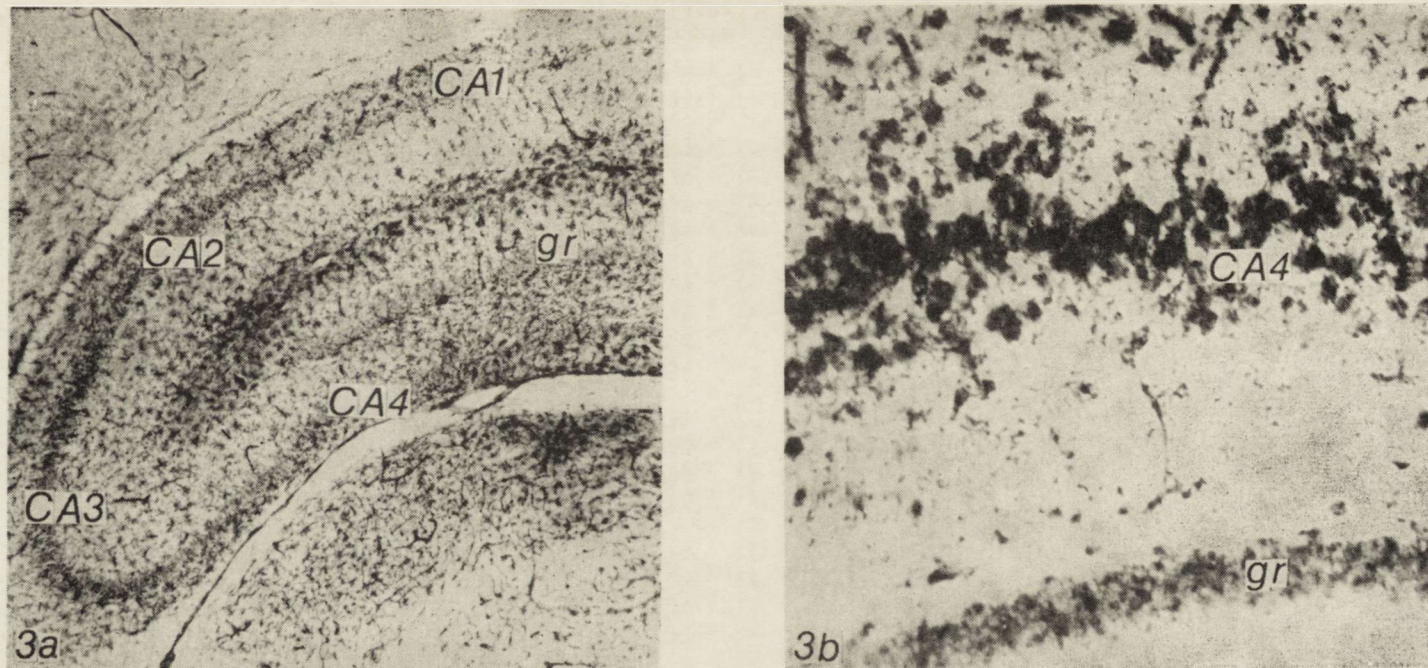
U szczurów I grupy doświadczalnej aktywność NsE wzrasta w komórkach warstwy piramidowej hipokampa, głównie w polu CA2 i CA3 oraz w niektórych neurocytach warstwy polimorficznej. Nasila się również reakcja enzymatyczna w komórkach glejowych strzępka hipokampa. Aktywność NsE w pericytach naczyń nie ulega zmianie.

U szczurów II grupy aktywność NsE spada zarówno w neurocytach jak i w pericytach naczyń (ryc. 4b). Spadek aktywności jest uogólniony i dotyczy całej struktury.

Fosfataza zasadowa (FZ). U zwierząt kontrolnych dyfuzyjny odczyn enzymatyczny widoczny jest w ścianach naczyń krwionośnych i tylko w pojedynczych neurocytach warstwy piramidowej.

W I grupie doświadczalnej pojawia się dyfuzyjny odczyn w licznych neurocytach pól CA1 i CA4 oraz w komórkach nerwowych warstwy ziarnistej zawoju zębatego.

W II grupie zwierząt obserwuje się spadek aktywności FZ zarówno w neurocytach jak i w ścianach naczyń krwionośnych. Pojawia się natomiast słaby odczyn dyfuzyjny we włóknach nerwowych strzępka hipokampa i we włóknach koryta.

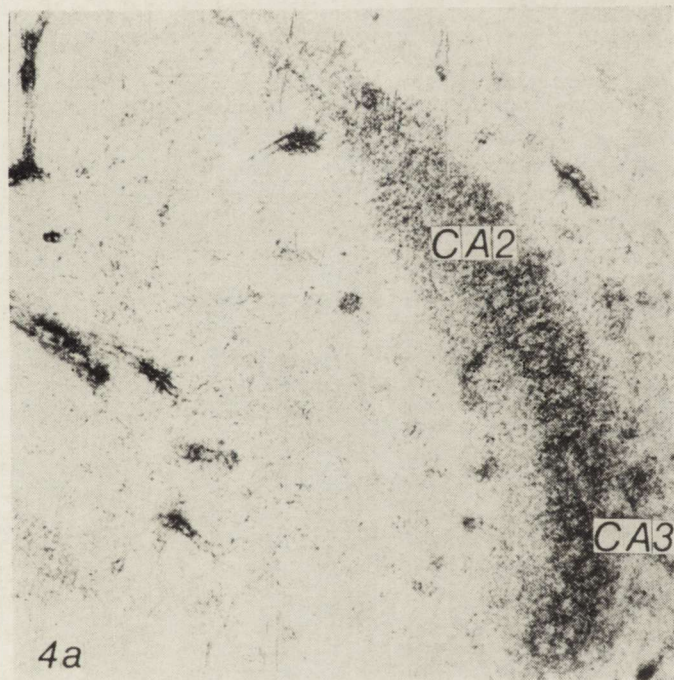


Ryc. 3a. Szczur kontrolny. Aktywność pyrofosfatazy tiaminowej w rogu Amona. Zróżnicowany stopień aktywności w poszczególnych polach warstwy piramidowej (p). Pow. 20 ×

Fig. 3a. Control rat. Tiamine pyrophosphatase activity in Ammon's horn. Enzyme activity varies in individual sectors of pyramidal cell layer. × 20

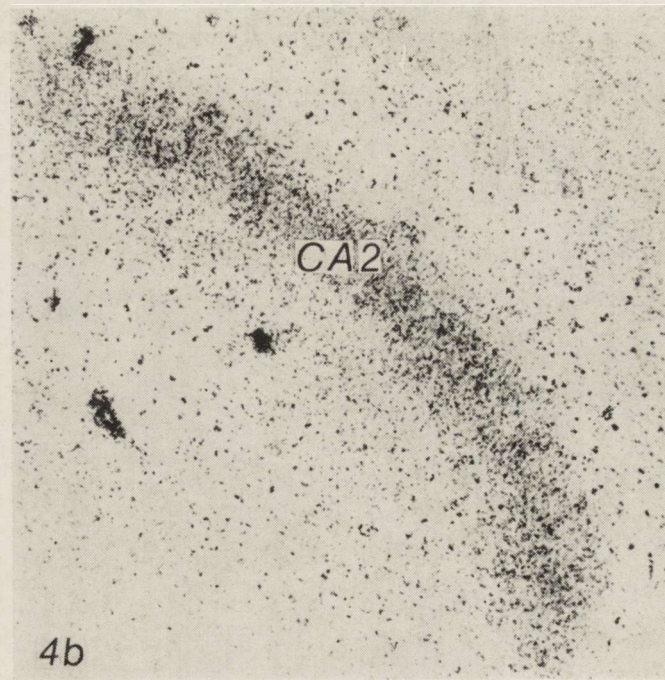
Ryc. 3b. Grupa doświadczalna I. Wzrost aktywności pyrofosfatazy tiaminowej w polu CA4 warstwy piramidowej hipokampa oraz w komórkach ziarnistych zawoju zębatego (gr). Pow. 80 ×

Fig. 3b. Experimental group I. Increase of tiamine pyrophosphate activity in sector CA4 of hippocampal pyramidal cell layer and in the granular cell layer of gyrus dentatus (gr). × 80



Ryc. 4a. Szczur kontrolny. Aktywność esteraży niespecyficznej w polu CA2 i CA3 warstwy piramidowej hipokampa. Pow. 80 ×

Fig. 4a. Activity of nonspecific esterase in sector CA2 and CA3 of hippocampal pyramidal cell layer. × 80



Ryc. 4b. Grupa doświadczalna II. Znaczny spadek aktywności niespecyficznej esteraży w polu CA2 warstwy piramidowej hipokampa. Pow. 80 ×

Fig. 4b. Experimental group II. Marked decrease of nonspecific esterase activity in sector CA2 of hippocampal pyramidal cell layer. × 80

Acetylocholinesteraza (AChE). U zwierząt kontrolnych najintensywniejszy odczyn na AChE występuje w neuropilu po obydwu stronach warstwy piramidowej hipokampa i zawoju zębatego (ryc. 5a). Natomiast dodatnia reakcja w perikarionie jest widoczna tylko w niektórych neurocytach pola CA2, CA3 i CA4.

U szczurów I grupy słaba aktywność AChE pojawia się w perikarionie licznych neurocytów pól CA1, CA2, CA3 i zawoju zębatego. Aktywność AChE w wypustkach neuronalnych ulega obniżeniu szczególnie w warstwie zatokowo-drobinowej i drobinowej. Spadek aktywności AChE widoczny jest także w neurocytach płytki końcowej pola CA4 oraz w oligodendrogleju strzępka hipokampa.

W drugiej grupie doświadczalnej spadek aktywności AChE jest znacznie większy (ryc. 5b).

Cholinesteraza (ChE). W grupie kontrolnej aktywność cholinesterazy widoczna jest w jądrach komórek śródbłonka i w błonie podstawnej naczyń krwionośnych.

U zwierząt zatrutowanych octanem fenylortęciowym reakcja enzymatyczna w naczyniach krwionośnych ulega wyraźnemu osłabieniu i przyjmuje postać dyfuzyjną. Pojawia się też słaba dyfuzyjna aktywność ChE w tkance nerwowej bezpośrednio sąsiadującej z naczyniami (ryc. 6).

Zmiany te są silniej wyrażone po 30 dniach w porównaniu z grupą kontrolną szczurów otrzymujących octan fenylortęciowy przez 10 dni.

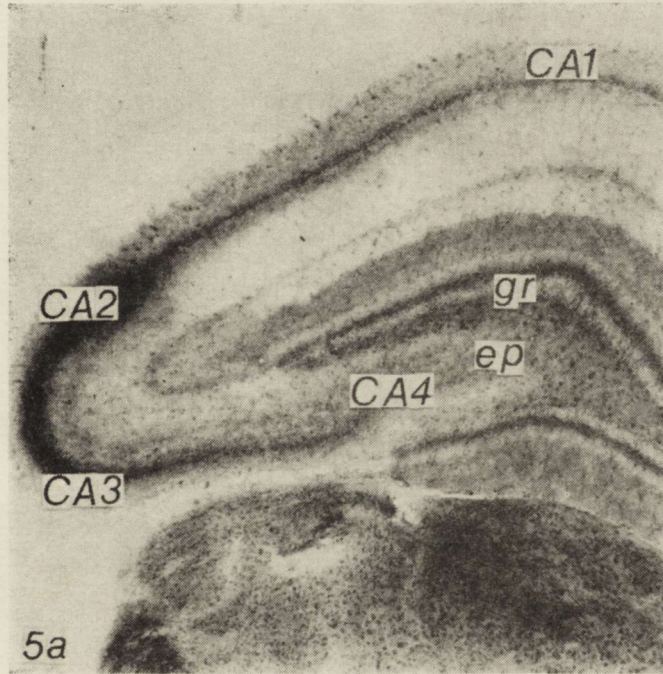
Fosfataza kwaśna (FK). Podawanie octanu fenylortęciowego powoduje znaczny wzrost aktywności enzymu. Reakcja enzymatyczna nasila się w neurocytach wszystkich pól warstwy piramidowej hipokampa i warstwy ziarnistej zawoju zębatego.

Szczególnie wyraźny wzrost aktywności FK widoczny jest w neurocytach pola CA2 i CA3 wykazujących zmiany o typie schorzenia przewlekłego. W płycie końcowej pola CA4 aktywność FK wzrasta tylko w niektórych neurocytach (ryc. 7). Zwraca ponadto uwagę pojawienie się odczynu enzymatycznego w aksonie i to na znacznej długości jego przebiegu. W komórkach ziarnistych zawoju zębatego wzrost aktywności jest znacznie mniejszy niż w komórkach piramidowych hipokampa.

W II grupie doświadczalnej pojawia się ponadto aktywność FK w komórkach glejowych warstwy promienistej, zatokowo-drobinowej i drobinowej oraz w oligodendrogleju strzępka.

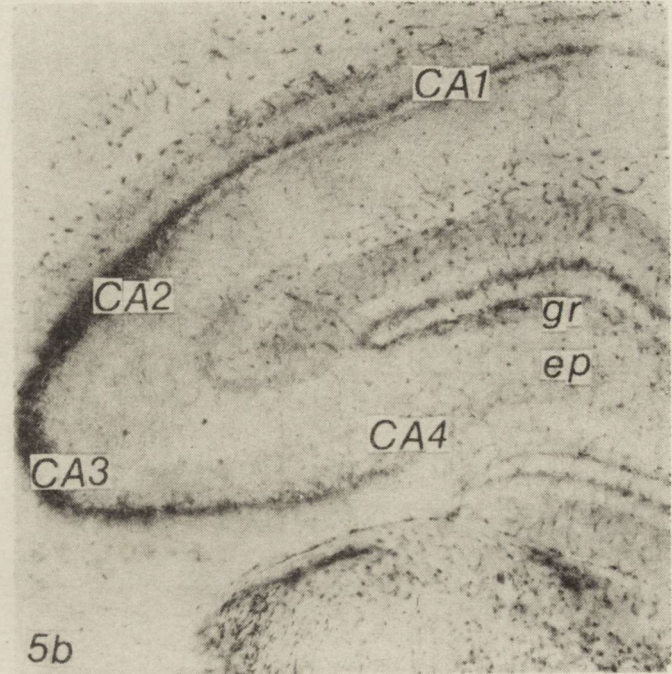
Adenozynotrójfosfataza (ATPaza). U zwierząt kontrolnych silny odczyn na ATPazę występuje w ścianie naczyniowej i przynaczyniowych wypustkach astrogleju (ryc. 8a).

Podawanie szczurom octanu fenylortęciowego prowadzi do znacznych zmian aktywności enzymu. Znacznie słabnie lub całkowicie znika aktyw-



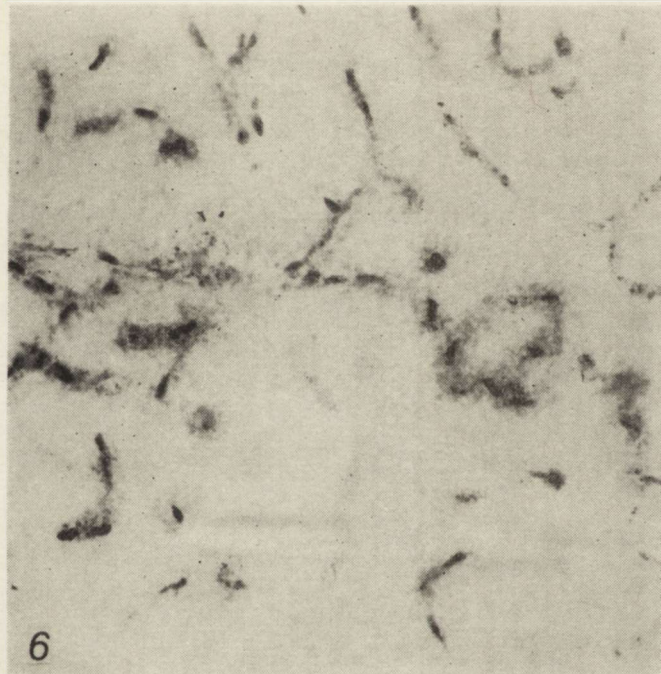
Ryc. 5a. Szczur kontrolny. Aktywność acetylocholinesterazy w rogu Amona. Wyraźne zróżnicowanie nasilenia odczynu enzymatycznego w poszczególnych okolicach hipokampa i zawoju zębatego. Pow. 20 ×

Fig. 5a. Control rat. Acetylcholinesterase activity in Ammon's horn. Distinct difference in enzymatic reaction in individual areas of hippocampus and gyrus dentatus. × 20



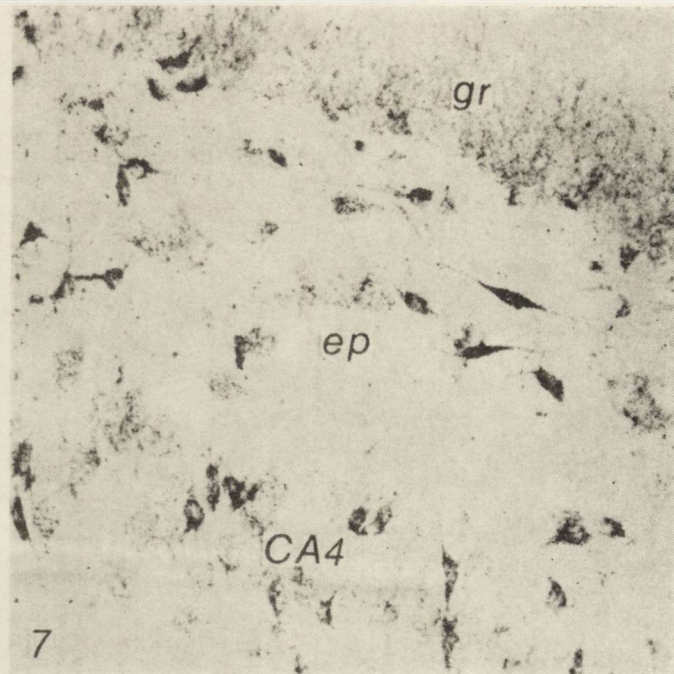
Ryc. 5b. Grupa doświadczalna II. Znaczny spadek aktywności acetylocholinesterazy w neurocytach i w neuropilu rogu Amona. Pow. 20 ×

Fig. 5b. Experimental group II. Marked decrease of acetylcholinesterase activity in neurons and neuropil of Ammon's



Ryc. 6. Grupa doświadczalna II. Aktywność cholinesterazy w ścianach naczyń krwionośnych warstwy zatokowo-drobinowej hipokampa oraz dyfuzyjny odczyn wokół naczyń. Pow. 128 ×

Fig. 6. Experimental group II. Cholinesterase activity in blood vessel walls of hippocampal lacunar molecular layer and perivascular diffusion reaction. × 128



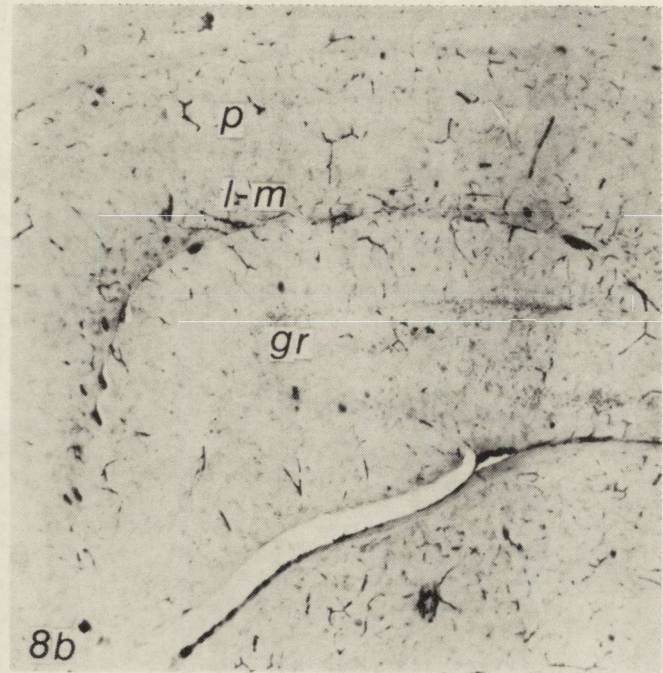
Ryc. 7. Grupa doświadczalna I. Wzrost odczynu enzymatycznego fosfatazy kwaśnej w niektórych neurocytach pola CA4 i płytki końcowej warstwy piramidowej hipokampa (ep). Pow. 128 ×

Fig. 7. Experimental group I. Increase of acid phosphatase activity in some neurons of sector CA4 and in the end-plate of hippocampal pyramidal cell layer (ep). × 128



Ryc. 8a. Szczur kontrolny. Wysoka aktywność adenosynotrójfosfatazy w rogu Amona. Pow. 20 ×

Fig. 8a. Control rat. High adenosinetriphosphatase activity in Ammon's horn. × 20



Ryc. 8b. Grupa doświadczalna I. Znaczny spadek aktywności adenosynotrójfosfatazy w rogu Amona. Pow. 20 ×

Fig. 8b. Experimental group I. Marked decrease of adenosinetriphosphatase activity in Ammon's horn. × 20

ność ATPazy w astrogleju, szczególnie w jego przynacyniowych wypustkach (ryc. 11). Natomiast aktywność ATPazy w ścianach naczyń włosowatych spada wyraźnie tylko w I grupie doświadczalnej (ryc. 8b), zaś w II grupie szczurów można ponownie zaobserwować aktywność ATPazy, jednak o nieco mniejszym nasileniu niż u zwierząt kontrolnych.

OMÓWIENIE

Szczególne właściwości kory amonalnej polegające na wybiórczej wrażliwości poszczególnych jej obszarów na działanie czynników szkodliwych od dawna są przedmiotem zainteresowania (Hassler, 1964). Zaobserwowano, że poszczególne pola warstwy piramidowej hipokampa cechują się różną zawartością cynku (Fleischhauer, 1959), różną aktywnością enzymatyczną (Wender, Kozik, 1968) i niejednorodną reakcją na działanie rozmaitych czynników toksycznych (Hassler, 1964). Przedstawione badania mogą stanowić uzupełnienie tego problemu w odniesieniu do szeroko dyskutowanego oddziaływania związków rtęci na układ nerwowy (Chang, Hartmann, 1972a, b).

Według opinii Garman i wsp. (1975) oraz Ware i wsp. (1974) w okresie ostrego zatrucia przeważa bezpośrednie działanie rtęci uwolnionej z jej związków na układ błon biologicznych. Badania z użyciem znakowanych związków wykazały w encefalopatiach rtęciowych znaczne uszkodzenie bariery naczyniowo-mózgowej (Mukai, 1972; Ware i wsp., 1974).

Wyniki przeprowadzonych badań histoenzymatycznych wydają się zgodne z tymi spostrzeżeniami. W warunkach prawidłowych odczyn na cholinesterazę jest zlokalizowany w ścianie naczyniowej i uważa się go za wyznacznik tej struktury (Joó, Varkonyi, 1969). Obserwowana w niniejszych badaniach wyraźna dyfuzja produktów reakcji enzymatycznej na ChE poza ścianę naczyniową może być wykładnikiem uszkodzenia ściany naczyniowej i równocześnie jej zwiększonej przepuszczalności. Za uszkodzeniem bariery naczyniowej mózgu w przebiegu zatrucia octanem fenylortęciowym może również przemawiać pośrednio spadek aktywności ATPazy w naczyniach włosowatych.

Oddzielnym zagadnieniem zasługującym na uwagę jest wzrost aktywności TPPazy. Wzrost odczynu u zwierząt doświadczalnych może być przejawem zarówno uszkodzenia aparatu Golgi'ego i łatwiejszego kontaktu enzymu z substratem jak i zwiększonej produkcji enzymu. Przekonywujące wyjaśnienie tego spostrzeżenia nie jest łatwe w przypadku zastosowanej metodyki badań, zasługuje jednak na podkreślenie jako

charakterystyczne dla zatruc związkami rtęci (Kozik i wsp., 1977a, b). Zmiany aktywności AChE obserwowane po zatruciu octanem fenylortęciowym mogą być następstwem upośledzonej syntezy tego enzymu lub jego inaktywacji albo też wynikiem uszkodzenia zakończeń synaptycznych. Za tą ostatnią koncepcją mógłby przemawiać zanik kolców dendrytycznych w przebiegu zatrucia octanem fenylortęciowym (Kozik, Grottel, 1978).

Osobnego omówienia wymaga umiejscowienie zmian w rogu Amona. Największe zmiany histopatologiczne i histoenzymatyczne występowały w polu CA3 i CA4. Dopiero w przewlekłym zatruciu octanem fenylortęciowym pojawiły się zmiany zwyrodnieniowe w polu CA1. Dynamika rozwoju obserwowanych zmian i ich histotopograficzne zróżnicowanie nie jest jednak swoista dla zastosowanego pestycydu. Hassler (1964) podkreśla szczególną wrażliwość pola CA3 i CA4 na działanie różnorodnych czynników etiologicznych.

Godna uwagi jest również mała podatność neuronów typu ziarnistego na toksyczne działanie zastosowanego związku rtęci. Zmiany zwyrodnieniowe i wakuolizacja w neurocytach ziarnistych zawoju zębatego widoczne były dopiero po dłuższym podawaniu octanu fenylortęciowego i obejmowały środkowy odcinek zawoju zębatego. Obserwacje te mogą nasuwać przypuszczenie, że neurocyty niektórych odcinków zawoju zębatego mogą mieć różne właściwości biologiczne podobnie jak komórki warstwy piramidowej hipokampa.

WNIOSKI

1. Zatrucie szczurów octanem fenylortęciowym powoduje zmiany w komórkach nerwowych i glejowych oraz w naczyniach krwionośnych rogu Amona.
2. W komórkach nerwowych pojawiają się zmiany zwyrodnieniowe i martwicze, wzrost aktywności TPPazy, NsE i FK i spadek aktywności AChE.
3. W naczyniach krwionośnych zwiększa się aktywność FK, zmniejsza się natomiast aktywność ATPazy, FZ i ChE. Odczyn na ChE charakteryzuje się ponadto dyfuzją produktu reakcji poza ścianę naczyniową.
4. Szczególną wrażliwość na działanie octanu fenylortęciowego wykazują komórki nerwowe pól CA2 i CA3 oraz płytki końcowej rogu Amona. Komórki nerwowe pola CA1 i zawoju zębatego przejawiają małą wrażliwość na toksyczne działanie octanu fenylortęciowego.

Ю. Щех

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИСТОЭНЗИМАТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ
В КОРЕ АММОНОВА РОГА КРЫСЫ
В ПРОЦЕССЕ ОТРАВЛЕНИЯ ОКТАНОМ ФЕНИЛРТУТИ

Резюме

Исследования проводили на 37 крысах. Группа I животных получала внутрь желудка 0.1 г октана фенилртути в течение 10 дней, группа II крыс 0.005 г в день в течение 30 дней.

Наблюдали дегенеративные изменения нейроцитов в секторах CA2, CA3 и в концевой пластинке сектора CA4. В нервных клетках коры аммонова рога показано снижение активности ацетилхолинэстеразы при одновременном увеличении активности тиаминпирофосфатазы, неспецифической эстеразы и кислой фосфатазы. Гистоэнзиматические изменения, также как и гистопатологические изменения, были особенно четкими в нейроцитах секторов CA2 и CA3 пирамидального слоя гиппокампа. В кровеносных сосудах наблюдали снижение активности аденозинтрифосфатазы, щелочной фосфатазы и холинэстеразы, а также повышение активности кислой фосфатазы. У животных группы II интенсивность гистоэнзиматических изменений в общем возрастала, и, кроме того, они появлялись в нейроцитах сектора CA1 и в зернистых клетках зубчатой извилины.

J. Szczech

MORPHOLOGICAL AND HISTOENZYMATIC CHANGES IN RAT AMMONAL
CORTEX AFTER PHENYLMERCURIC ACETATE INTOXICATION

Summary

The study was performed on 37 rats. Some animals (I experimental group) were given through the stomach tube 0.1 g of phenylmercuric acetate for 10 days, the others (II experimental group) the daily dose 0.005 g for 30 days.

The intoxication resulted in degenerative changes in the neurons of the CA2, CA3 sector and of the end-plate CA4. In neurons of ammonal cortex the decrease of acetylcholinesterase activity and simultaneous increase of thiamine pyrophosphatase, nonspecific esterase and acid phosphatase activity was demonstrated. The histoenzymatic and histopathologic changes were particularly evident in neurons of CA2 and CA3 sectors of hippocampal pyramid layer. In blood vessel walls the decrease of adenosinetriphosphatase, alkaline phosphatase, and cholinesterase with concomitant increase of acid phosphatase activity was observed. The animals of the II experimental group exhibited even more intense histoenzymatic changes; they appeared also in the neurons of CA1 sector and in the granular cells of gyrus dentatus.

PIŚMIENICTWO

1. Chang W., Hartmann J. A.: Ultrastructural studies of the nervous system after mercury intoxication. I. Pathological changes in the nerve cell bodies. Acta neuropath. (Berl.), 1972a, 20, 122—138.

2. Chang W., Hartmann H. A.: Ultrastructural studies of the nervous system after mercury intoxication. II. Pathological changes in the nerve fibers. *Acta neuropath. (Berl.)*, 1972b, 20, 316—334.
3. Fleischhauer K.: Zur Chemoarchtekonik der Ammonsformation. *Nervenarzt.*, 1959, 30, 305—309.
4. Florkin M., Stotz E. H.: Enzyme nomenclature. In: *Comprehensive biochemistry*. Elsevier, Amsterdam 1973.
5. Garman H. R., Weiss B., Evans H. L.: Alkylomercurial encephalopathy in the monkey. *Acta neuropath. (Berl.)*, 1975, 32, 61—74.
6. Gerebtzoff M.: Recherches histochimiques sue les acetylcholine et choline esterases. *Acta anat.*, 1953, 19, 336—339.
7. Gomori G.: *Microscopic histochemistry*. The University of Chicago Press. Chicago 1953.
8. Hassler R.: Zur funktionellen Anatomie des limbischen Systems. *Nervenarzt.*, 1964, 9, 386—396.
9. Joó F., Varkonyi T.: Correlation between cholinesterase activity of capillaries and the blood-brain barrier in the rat. *Acta biol. Acad. Sci. Hung.*, 1969, 20, 359—372.
10. Kozik M. B., Grottel K.: Alternations of dendritic spines following intoxication by mercury phenylacetate., 1978 (w druku).
11. Kozik M. B., Sosiński E., Szczech J.: Phosphatases and esterases activity in the brain following an acute sublimate intoxication. *Fol. histochem. et cytochem.*, 1977a, 2, 87—94.
12. Kozik M. B., Szczech J., Sosiński E.: Zmiany histoenzymatyczne w mózgu w przebiegu doświadczalnej intoksykacji kalomelem., *Neuropat. Pol.*, 1977b, 2, 239—253.
13. Kozik M. B., Wigowska-Sowińska J.: Zmiany mózgowe w przebiegu intoksykacji octanem fenylortęciowym. *Folia histochem. et cytochem.*, 1978, w druku.
14. Mukai N.: An experimental study of alkylmercurial encephalopathy. *Acta neuropath. (Berl.)*, 1972, 22, 102—109.
15. Nachlas M., Seligmann A.: The histochemical demonstration of esterases. *J. nat. Cancer Inst.*, 1949, 9, 415—425.
16. Novikoff A., Goldfischer B. S.: Nucleoside diphosphatase activity in the Golgi apparatus and its usefulness for cytological studies. *Proc. nar. Acad. Sci.*, 1961, 47, 802—810.
17. Wachstein M., Meisel E.: Histochemistry of hepatic phosphatases of a physiologic pH with special reference to the demonstration of bile canaliculi. *Amer. J. Clin. Path.*, 1957, 27, 13—23.
18. Ware A. R., Chang L. W., Burkholder P. M.: An ultrastructural study on the blood-brain barrier dysfunction following mercury intoxication. *Acta neuropath. (Berl.)*, 1974, 30, 211—224.
19. Wender M., Kozik M. B.: Zur Chemoarchtekonik des Ammons Gebietes während der Entwicklung des Mausehirns. *Acta histochem.* 1968, 31, 166—170.
20. Wender M., Kozik M. B.: Studies of histoenzymatic architecture of the Ammons horn in the developing rabbit brain. *Acta anat.*, 1970, 25, 248—262.

Adres autora: Samodzielna Pracownia Patologii Układu Nerwowego i Narządów Zmysłów AM w Poznaniu, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań.

MIROŚLAW BESKID, ANNA KOELICHEN, JOLANTA KWIATKOWSKA

ULTRASTRUKTURALNA OCENA KOMÓREK KORY MÓZGOWEJ SZCZURA W TOKU SKOJARZONEGO STOSOWANIA ETANOLU Z PIRAZOLEM

Pracownia Histochemiczna Zakładu Patofizjologii Komórki Centrum Medycznego
Kształcenia Podyplomowego
Kierownik: prof. dr hab. M. Beskid

W piśmiennictwie, zwłaszcza ostatnich lat, wiele miejsca zajmują pozycje, w których omówiono reakcje wzajemnego oddziaływania etanolu z lekiem. W pracach tych opisano ocenę wpływu etanolu na przemianę leku oraz leku na metabolizm etanolu. Do substancji, które w wyraźny sposób zaburzają utlenianie etanolu należy pirazol i jego pochodne. Zaburzają one przemianę etanolu przez hamowanie enzymatycznych układów odpowiedzialnych za jego utlenianie. Stwierdzono, iż pirazol jest inhibitorem alkoholowej dehydrogenazy (ADH) oraz mikrosomalnego układu utleniającego etanol (MEOS — microsomal ethanol oxidizing system), a także katalazy (Lieber i wsp., 1970).

Nie znaleziono prac opisujących ultrastrukturę komórek nerwowych kory mózgowej w toku stosowania etanolu z pirazolem. Wydało się przeto uzasadnione przeprowadzić takie badania, tym bardziej, że mogą one mieć nie tylko teoretyczne, ale i praktyczne wartości. Pirazol stanowi podstawową substancję dla syntezy wielu środków leczniczych o przeciwgorączkowym, przeciwbólowym i przeciwreumatycznym działaniu. Ze względu na to, że leki pochodne pirazolu są łatwo dostępne, a więc szeroko stosowane, mogą one wpływać na metabolizm etanolu poprzez potęgowanie jego toksycznego działania.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenia przeprowadzono na szczurach, samcach szczepu Wistar, o wadze 200—220 g. Podczas doświadczeń zwierzęta otrzymywały standardowe granulowane pożywienie oraz wodę do picia *ad libitum*. Pira-

*) Praca wykonana w ramach problemu węzłowego 10.4. koordynowanego przez Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN.

zol i etanol podawano zwierzętom zgłębnikiem do żołądka. Pirazol stosowano w dawce 37 mg/kg ciężaru ciała, etanol w dawce 8,0 g/kg ciężaru ciała w postaci 40% alkoholu.

Doświadczenia prowadzono w 5 grupach (po 10 szczurów w grupie). Pierwszej grupie zwierząt podawano raz dziennie pirazol a po 30 minutach etanol, drugiej grupie zwierząt podawano pirazol a następnie etanol — dwa razy dziennie, w trzeciej grupie stosowano tylko etanol, w czwartej grupie tylko pirazol. Piątą grupę stanowiły zwierzęta kontrolne.

Czas trwania doświadczenia wynosił 30 dni. Ostatniego dnia doświadczenia z kory mózgowej pobierano tkankę i umieszczano ją w zbuforowanym roztworze aldehydu glutarowego, następnie krojono na drobne fragmenty i utrwalano w 2,5% roztworze aldehydu glutarowego w temp. 4°C, potem umieszczano w 1% roztworze czterotlenku osmu. Po odwodnieniu materiał zatapiano w Eponie 812. Ultracienkie skrawki barwiono cytrynianem ołowiu i octanem uranylu i oglądano w mikroskopie elektronowym JEM 7 A i Tesla BS 500.

WYNIKI

Podanie samego etanolu wywołuje niewielkie zmiany w komórkach nerwowych i astrocytach kory mózgu. Mikroskopowo elektronowa ocena tych komórek ujawniła różnice obrazów siatki śródplazmatycznej i mitochondriów w porównaniu do kontroli.

W komórkach nerwowych często spostrzegano nieregularne rozszerzenie struktur siatki śródplazmatycznej, przy czym w poszczególnych komórkach miało ono rozmaite nasilenie. W różnych miejscach cytoplazmy komórek nerwowych były widoczne struktury złożone z błon gładkich. Były one zazwyczaj wyraźnie rozdęte. Mitochondria były zwykle obrzmiałe, pojedyncze przybierały nieregularny kształt, czasem były monstrialne. Strefa aparatu Golgiego była silniej rozwinięta niż w normalnych komórkach. W pojedynczych neuronach, w okolicy przyjądrowej obserwowano ubywanie rybosomów, o różnym nasileniu w poszczególnych komórkach. Astrocyty były z reguły obrzmiałe. Cytoplazma ich była opustoszała, w jej obrębie spotykano pojedyncze mitochondria i drobne struktury siatki śródplazmatycznej szorstkiej i gładkiej, czasem lizosomy.

Stosowanie samego pirazolu powoduje nieznaczne uszkodzenie struktury komórek nerwowych i astrocytów. W komórkach nerwowych stwierdzono wyraźnie zaznaczone ubywanie rybosomów, wzrost ilości błon gładkich i uszkodzenie struktury pojedynczych mitochondriów. Struktury siatki śródplazmatycznej były rozdęte, a aparat Golgiego za-

zwyczaj silnie rozwinięty (ryc. 1). Mitochondria były obrzmiałe, pojedyncze, nieregularne, o zacierającym się rysunku grzebieni (ryc. 2). Astrocyty były obrzmiałe i cechowało je opustoszenie cytoplazmy.

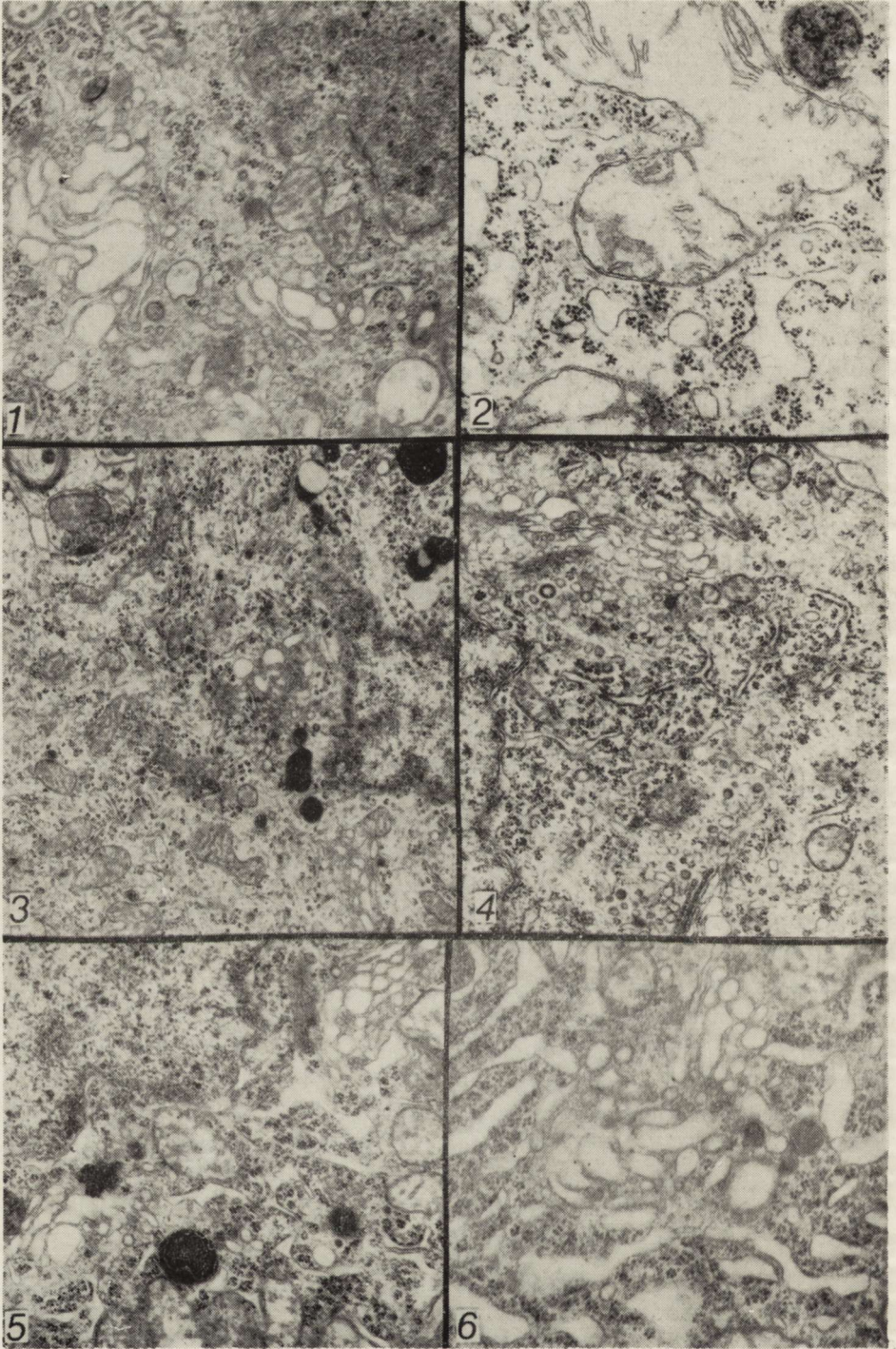
Skojarzone podanie etanolu z pirazolem, zwłaszcza gdy obie te substancje stosowano dwa razy na dobę, odznaczało się silnym uszkadzającym działaniem na korę mózgową. W tych przypadkach stwierdzono zmiany struktury komórek nerwowych i astrocytów, którym towarzyszył wzrost liczby komórek fagocytyujących.

W komórkach nerwowych stwierdzono ubywanie wolno leżących rybosomów i siatki śródplazmatycznej szorstkiej, a jednocześnie wzrost elementów złożonych z błon gładkich (ryc. 3). Pasma siatki śródplazmatycznej szorstkiej były nieregularne (ryc. 4), często rozszerzone a nawet rozdęte. Struktury złożone z błon gładkich miały postać pęcherzyków, czasem cystern. Mitochondria były obrzmiałe, często przybierały nieregularny kształt, niejednokrotnie leżały obok siebie i często łączyły się ze sobą tworząc nieregularne konglomeraty (ryc. 5 i 6). Błony mitochondrialne wówczas pękały. Rysunek grzebieni poszczególnych mitochondriów był rozmaicie zachowany. W jednych komórkach grzebienie mitochondrialne były wyraźnie zaznaczone (ryc. 3), w innych natomiast ulegały fragmentacji i zacieraniu (ryc. 5, 6).

Z reguły w komórkach nerwowych obserwowano silnie rozwinięty aparat Golgiego, w którego bliskim sąsiedztwie były widoczne liczne lizosomy (ryc. 7). Astrocyty były zazwyczaj obrzmiałe, przybierały one wówczas postać tzw. komórek wodnistych ("watery cells") (ryc. 8). W ich cytoplazmie było widać pojedyncze mitochondria, pojedyncze, rozproszone profile siatki śródplazmatycznej szorstkiej i gładkiej oraz lizosomy. W korze mózgowej w bliskim sąsiedztwie naczyń krwionośnych stwierdzano obecność licznych komórek o różnym wyglądzie (ryc. 9). Jądra jednych komórek były bogate w chromatynę, inne natomiast ubogie. Chromatyna była równomiernie rozproszona albo skupiała się nieregularnie wzdłuż wewnętrznej powierzchni błony jądrowej. Komórki te charakteryzowała obecność wypustek cytoplazmatycznych (pseudopodia) oraz liczne lizosomy różnej wielkości i kształtu (ryc. 10). Często przylegały one ściśle do komórek nerwowych (ryc. 11), wyraźnie uszkodzonych, z cytoplazmą ubogą w rybosomy i struktury siatki śródplazmatycznej szorstkiej. W tych komórkach obserwowano liczne profile złożone z błon gładkich, mitochondria o zacierającym się lub zatartym rysunku grzebieni oraz liczne lizosomy i silnie rozwinięty aparat Golgiego.

OMÓWIENIE

Wykonane doświadczenia wskazują, iż etanol w połączeniu z pirazolem odznacza się silnym działaniem toksycznym na komórki kory mózgu.



Podanie samego etanolu wywołuje niewielkie zmiany; nieznaczne uszkodzenie powoduje również sam pirazol. Mikroskopowo elektronowym przejawem skojarzonego działania etanolu z pirazolem było uszkodzenie komórek nerwowych i astrocytów, połączone z obecnością dużej liczby komórek fagocytujących.

Za uszkodzeniem komórek nerwowych przemawia stwierdzenie w ich cytoplazmie silnie zmienionych i rozpadających się mitochondriów, ubywanie rybosomów oraz obecność znacznie rozwiniętego aparatu Golgiego i lizosomów. Opustoszenie cytoplazmy astrocytów z organeli może być ultrastrukturalnym wykładnikiem niekorzystnego działania etanolu z pirazolem na te komórki.

Ryc. 1. Fragment neuronu kory mózgu szczura traktowanego pirazolem. Silnie rozwinięty aparat Golgiego. Nieregularne poszerzenia i rozdęcia siatki śródplazmatycznej gładkiej. Pow. 12 000 ×

Fig. 1. Fragment of cerebral cortex neuron of the rat treated with pyrazole. Golgi apparatus strongly developed. Irregular widening and distention of smooth endoplasmic reticulum. × 12 000

Ryc. 2. Fragment neuronu kory mózgu szczura traktowanego pirazolem. Pojedyncze mitochondria o nieregularnym kształcie i zatartym rysunku grzebieni. Pow. 48 000 ×

Fig. 2. Fragment of cerebral cortex neuron of the rat treated with pyrazole. Few mitochondria of irregular shape with blurred design of crests. × 48 000

Ryc. 3. Fragment neuronu kory mózgu szczura traktowanego etanolem i pirazolem dwa razy na dobę. Wzrost liczby elementów złożonych z błon gładkich. Nieregularne pasma siatki śródplazmatycznej szorstkiej, dobrze rozwinięty aparat Golgiego oraz liczne lizosomy. Pow. 16 800 ×

Fig. 3. Fragment of cerebral cortex neuron of the rat treated both with ethanol and pyrazole twice in 24 h. Increased number of elements composed of smooth membranes. Irregular strands of rough endoplasmic reticulum, well developed Golgi apparatus and numerous lysosomes. × 16 800

Ryc. 4. Fragment neuronu kory mózgu szczura traktowanego etanolem i pirazolem dwa razy na dobę. Rozszerzone pasma siatki śródplazmatycznej szorstkiej. Wzrost elementów złożonych z błon gładkich. Silnie rozwinięty aparat Golgiego. Pow. 31 500 ×

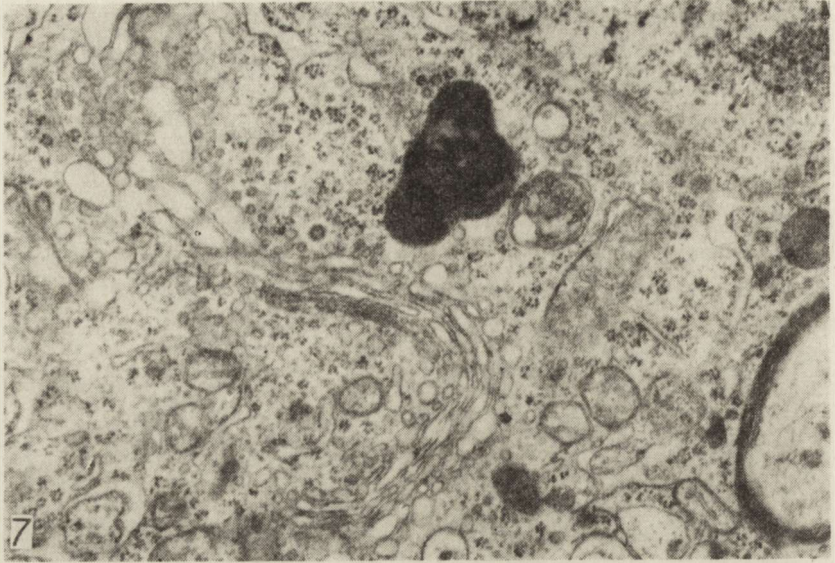
Fig. 4. Fragment of cerebral cortex neuron of the rat treated both with ethanol and pyrazole twice in 24 h. Distended strands of rough endoplasmic reticulum. Increase of elements composed of smooth membranes. Golgi apparatus well developed. × 31 500

Ryc. 5. Fragment neuronu kory mózgu szczura traktowanego etanolem i pirazolem dwa razy na dobę. Mitochondria zlewają się tworząc konglomeraty. Pęknięcia błon mitochondrialnych, fragmentacja i zacieranie się grzebieni. Silnie rozwinięty aparat Golgiego. Pow. 31 500 ×

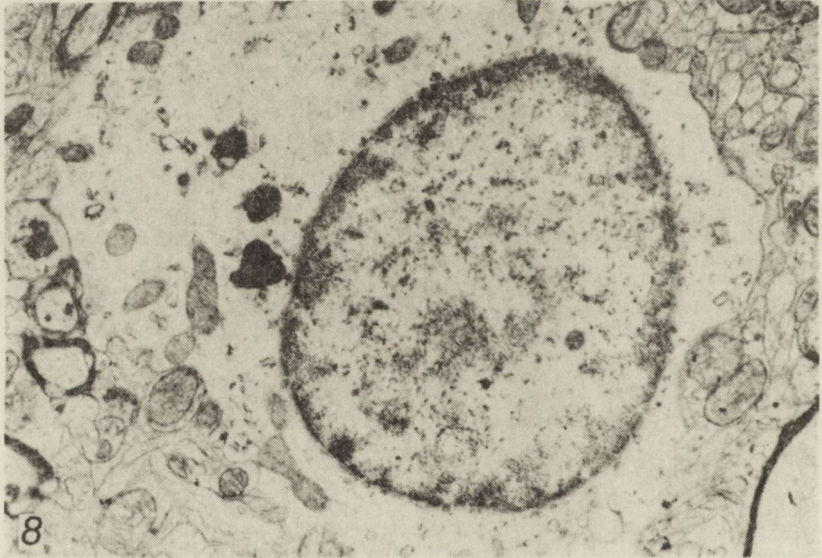
Fig. 5. Fragment of cerebral cortex neuron of the rat treated with both ethanol and pyrazole twice in 24 h. Mitochondria merge forming conglomerations. Splits in mitochondrial membranes with fragmentation and blurring of crests. Strongly developed Golgi apparatus. × 31 500

Ryc. 6. Fragment neuronu kory mózgu szczura traktowanego etanolem i pirazolem dwa razy na dobę. Silnie rozwinięty aparat Golgiego. Poszerzenie elementów siatki śródplazmatycznej szorstkiej. Nieliczne mitochondria o zatartym rysunku grzebieni. Pow. 56 000 ×

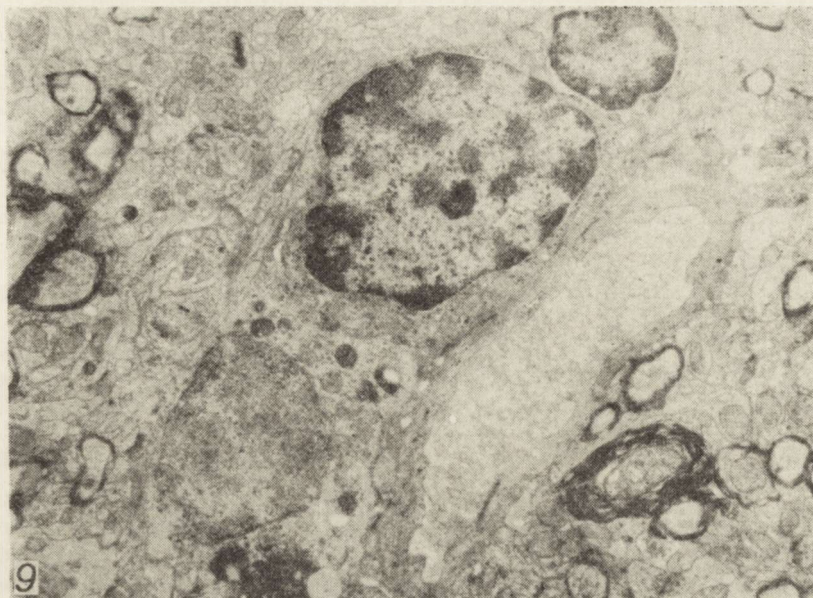
Fig. 6. Fragment of cerebral cortex neuron of the rat treated with both ethanol and pyrazole twice in 24 h. Strongly developed Golgi apparatus. Distention of rough endoplasmic reticulum elements. Few mitochondria with blurred design of crests. × 56 000



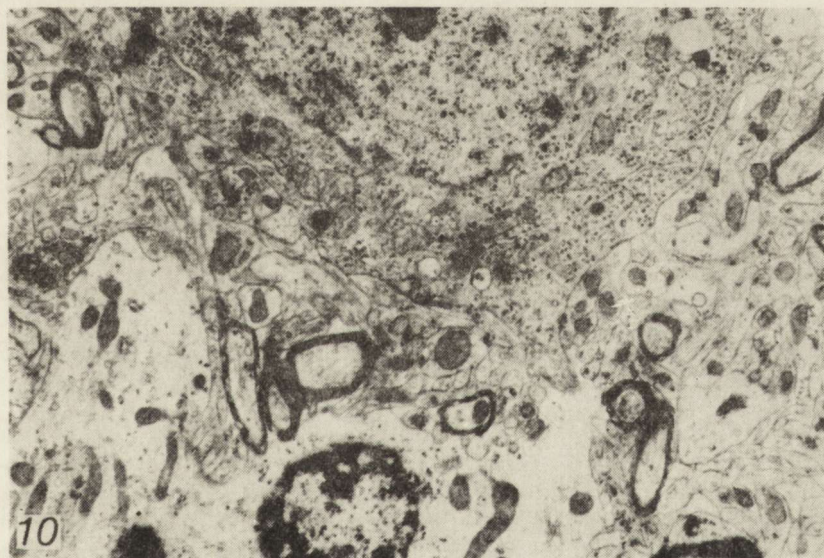
Ryc. 7. Fragment neuronu kory mózgu szczura traktowanego etanolem i pirazolem dwa razy na dobę. Silnie rozwinięty aparat Golgiego. Pow. 77 000 ×
Fig. 7. Fragment of cerebral cortex neuron of the rat treated with both ethanol and pyrazole twice in 24 h. Golgi apparatus strongly developed. × 77 000



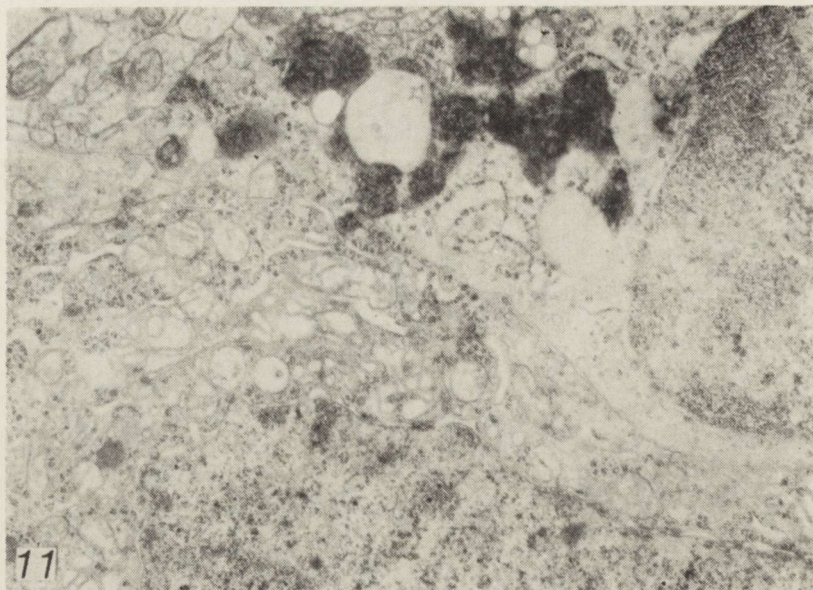
Ryc. 8. Astrocyt kory mózgu szczura traktowanego etanolem i pirazolem dwa razy na dobę. Obrzmienie komórki, która przybiera postać komórki „wodnistej”. Pojedyncze mitochondria i lizosomy. Nieliczne, rozproszone elementy siatki szorstkiej i gładkiej. Pow. 24 500 ×
Fig. 8. Astrocyte of cerebral cortex of the rat treated both with ethanol and pyrazole twice in 24 h. Swelling of astrocyte which assumes the form of „watery” cell. Few mitochondria and lysosomes. Scanty, dispersed elements of rough and smooth endoplasmic reticulum. × 24 500



Ryc. 9. Fragment kory mózgu szczura traktowanego etanolem i pirazolem dwa razy na dobę. Komórki fagocytyczne obok naczynia krwionośnego. Pow. 14 000 ×
Fig. 9. Fragment of cerebral cortex of the rat treated with both ethanol and pyrazole twice in 24 h. Phagocytic cells near the blood vessel. × 14 000



Ryc. 10. Fragment komórki fagocytycznej kory mózgu szczura traktowanego etanolem i pirazolem dwa razy na dobę. Widoczne wypustki cytoplazmy oraz lizosomy o różnej wielkości i kształcie. Pow. 15 000 ×
Fig. 10. Fragment of phagocytic cell of cerebral cortex of the rat treated both with ethanol and pyrazole twice in 24 h. Evident cytoplasmic pseudopodia and lysosomes of various size and shape. × 15 000



Ryc. 11. Fragment neuronu i komórki fagocytydującej kory mózgu szczura traktowanego etanolem i pirazolem dwa razy na dobę. W cytoplazmie neuronu liczne elementy siatki śródplazmatycznej gładkiej, mało elementów siatki śródplazmatycznej szorstkiej i wolnych rybosomów. Mitochondria o zacierającym się lub zatartym rysunku grzebieni. W cytoplazmie komórki fagocytydującej liczne lizosomy. Pow. 31 000 \times

Fig. 11. Fragment of neuron and of phagocytic cell of cerebral cortex of the rat treated with both ethanol and pyrazole twice in 24 h. In the cytoplasm of neuron numerous elements of smooth endoplasmic reticulum, whereas the rough endoplasmic reticulum and free ribosomes are poorly represented. Mitochondria with blurring or obliterated pattern of crests. Numerous lysosomes in the cytoplasm of phagocytic cells. $\times 31\ 000$

W korze mózgowej zwierząt poddanych skojarzonemu działaniu etanolu z pirazolem stwierdzono obecność dużej liczby komórek, które dla podkreślenia ich biologicznych właściwości określono mianem fagocytydujących. Tego typu komórki występowały w skupieniach z reguły w bliskim sąsiedztwie naczyń krwionośnych i często ściśle przylegały do uszkodzonych komórek nerwowych. W ich cytoplazmie wykrywano liczne lizosomy. Obecność wypustek cytoplazmatycznych (pseudopodia), dużej liczby lizosomów oraz występowanie w bliskim sąsiedztwie naczyń krwionośnych nasuwa podejrzenie, iż te komórki spełniają rolę makrofagów. Strukturalnie odpowiadają one komórkom, których obecność w tkance mózgowej stwierdzili liczni autorzy różnie je określając, a mianowicie jako tzw. fagocytarne komórki glejowe (Hirsch i Fedorko, 1970; Nichols i wsp., 1971; Kitamura i wsp., 1972; Wong-Riley 1972), wielopotencjalne komórki glejowe (Vaughn i wsp., 1970), mikroglejowe ko-

mórki (Blizinger i Hager, 1962; Blizinger i Kreutzberg, 1968; Bignami i Ralston, 1969) oraz jako tzw. trzeci typ komórek glejowych (Vaughn i Peters, 1968).

W wykonanych doświadczeniach w komórkach nerwowych kory mózgu stwierdzono wyraźną reakcję siatki śródplazmatycznej, której ultrastrukturalnym przejawem był wzrost liczby struktur złożonych z błon gładkich i poszerzenie światła siatki śródplazmatycznej szorstkiej. Tego typu obrazy spostrzegano zarówno po podaniu etanolu z pirazolem, jak i w czasie stosowania samego etanolu a także samego pirazolu. Spostrzeżenia te nabierają wartości ze względu na znaczenie siatki śródplazmatycznej, zwłaszcza błon gładkich, dla przemiany śródkomórkowej. Jest faktem dowiedzionym, iż siatka śródplazmatyczna jest siedliskiem nieswoistych enzymów, które uczestniczą w przemianie leków (Meldolesi, 1967), substancji trujących (Conney, 1967), używek (Lane i Lieber, 1967) itd. Udowodniono, iż substancje metabolizowane w obrębie siatki śródplazmatycznej prowadzą do wzrostu aktywności mikrosomalnych enzymów przemiany leku (microsomal drug-metabolizing enzymes system), z towarzyszącym zwiększeniem ilości gładkiej siatki śródplazmatycznej (Rubin i Lieber, 1968; Ariyoshi i wsp., 1970; Carulli i wsp., 1971; Misra i wsp., 1971; Joly i wsp., 1973, Składziński, 1976). Charakterystyczną cechą dla etanolu jak i pirazolu jest to, iż ich przemiana odbywa się w obrębie siatki śródplazmatycznej gładkiej (Iseri i wsp., 1966; Rubin i Lieber, 1967; Rubin i wsp., 1970; Składziński, 1976). Fakt, iż zarówno etanol jak i pirazol prowadzą do wyraźnej reakcji siatki śródplazmatycznej może być pośrednim dowodem obecności w tych komórkach mikrosomalnego układu enzymatycznego przemiany leku. Można tym samym przypuszczać, iż komórka nerwowa odznacza się obecnością mikrosomalnego układu utleniającego etanol (MEOS — microsomal ethanol oxidizing system), tym bardziej, iż tego typu układ wykryto w tkance mózgowej (Lieber i DeCarli, 1968).

Z drugiej strony spostrzeżenia histochemiczne ujawniły w komórkach kory mózgu obecność alkoholowej dehydrogenazy (Koelichen i wsp., w druku). Fakty te pomagają w zrozumieniu zmian powstałych w komórkach nerwowych w toku wykonanych doświadczeń.

Zastosowanie pirazolu, w toku podawania etanolu, prowadzi do hamowania utleniania etanolu, przedłużenia czasu jego eliminacji z krwi (Goldberg i Rydberg, 1969; Reynier, 1969; Składziński, 1976), a więc do spotęgowania jego toksycznego wpływu na komórkę. Stąd w niniejszych badaniach stwierdzono obecność uszkodzonych komórek nerwowych i reakcję ze strony komórek fagocytujących, jako przejaw toksycznego uszkodzenia kory mózgu w toku skojarzonego podawania etanolu z pi-

razolem. Wykazano, że skojarzone działanie etanolu z pirazolem powoduje rozległą martwicę wątroby (Lelbach, 1971; Składziński, 1976).

Z badań Składzińskiego wynika, iż podawanie zwierzętom pirazolu w dawce podobnej do stosowanej w naszych doświadczeniach prowadzi do obniżenia eliminacji etanolu z krwi o 61%. W rozważaniach należy uwzględnić jeszcze fakt, iż sam pirazol zaburza przemianę zarówno komórek kory mózgu (Koelichen i wsp., w druku), jak i komórek wątroby (Składziński, 1976). W toku utleniania etanolu wzrasta stężenie zredukowanej formy NAD, a niedostatek utlenionego NAD w komórce prowadzi do zaburzenia NAD-zależnych dehydrogenaz. Utlenienie zredukowanej formy NAD odbywa się głównie w mitochondriach (Grunnet, 1970; 1973; Grunnet i wsp., 1973). Sumowanie się więc niekorzystnego metabolicznego wpływu samego pirazolu i samego etanolu na mitochondria prowadzi do zaburzenia ich czynności, które znajduje wykładnik w odczynach histochemicznych (Koelichen i wsp., 1978), a także w zmianach ultrastrukturalnych mitochondriów, stwierdzanych w naszych badaniach. Można więc przyjąć, iż uszkodzenie komórek kory mózgu, spostrzegane w naszych doświadczeniach, było wynikiem sumowania się czynności uszkadzającej pirazolu spotęgowanej toksycznym działaniem etanolu.

Uzupełniającego naświetlenia wymaga jeszcze zachowanie się siatki śródplazmatycznej w przedstawionym materiale doświadczalnym. Udo wodniono, jak już wspomniano, iż stosowaniu rozmaitych leków towarzyszy rozplem błon gładkich siatki śródplazmatycznej w komórce wątrobowej, z równoczesnym wzrostem mikrosomalnych enzymów (Rubin i Lieber, 1968; Ariyoshi i wsp., 1970, Carolli i wsp., 1971; Misra i wsp., 1971; Joly i wsp., 1973). Wzrost ten określany jest mianem indukcji metabolicznej (Conney, 1967) i jest wyrazem adaptacji enzymatycznej komórki. Uwzględniając przeto przedstawione fakty można przypuszczać, iż w następstwie stosowania etanolu przy zaburzeniu jego utleniania pirazolem rozwijają się w komórce nerwowej procesy adaptacyjne, których przejawem była reakcja siatki śródplazmatycznej. Wydaje się, iż etanol w toku zaburzonego jego utleniania pirazolem prowadzi do uszkodzenia, a równocześnie do rozwoju procesów adaptacyjnych w komórkach nerwowych kory mózgu.

M. Бескид, А. Коелихен, И. Квятковска

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОЦЕНКА КЛЕТОК МОЗГОВОЙ КОРЫ КРЫСЫ
В ХОДЕ СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЭТАНОЛА С ПИРАЗОЛОМ

Резюме

Целью работы была оценка поведения клеток мозговой коры, главным образом нейронов, в ходе применения этанола при одновременном нарушении

его окисления пиразолом. Животным давали этанол в дозе 8.0 г/кг веса тела, пиразол в дозе 37 мг/кг веса тела животного в течение 30 дней, или оба средства совместно. Установлено, что сам этанол вызывает в клетках мозговой коры небольшие изменения. Незначительное повреждение вызывается самим пиразолом.

Совместное применение этанола с пиразолом, особенно дважды в сутки, оказывает на клетки мозговой коры сильное токсическое действие. В нервных клетках признаком повреждения было: двное убывание свободно дежащих рибосом и шероховатой эндоплазматической сети с одновременным возрастанием элементов, состоящих из гладких мембран, повреждение структуры митохондрий и сильное расширение зоны аппарата Гольджи. В мозговой коре вблизи кровеносных сосудов обнаружены многочисленные клетки, которые названы фагоцитирующими.

M. Beskid, A. Koelichen, J. Kwiatkowska

ULTRASTRUCTURAL EVALUATION OF RAT BRAIN CORTICAL NEURONS IN THE COURSE OF JOINT ETHANOL AND PYRAZOLE ADMINISTRATION

Summary

The aim of the study was the evaluation of the effect of ethanol administration on the cellular elements, particularly the neurons of cerebral cortex, aggravated by pyrazole influencing the ethanol oxidation. The animals were given either ethanol in a dose of 8.0 g/kg of body weight or pyrazole in a dose of 37 mg/kg of body weight for a period of 30 days, or both together. It was found that ethanol alone provokes but slight changes in the cells of cerebral cortex. Pyrazole alone provokes also slight changes.

However, ethanol coupled with pyrazole and especially when administered twice in 24 h induces strong toxic effect on the cells of cerebral cortex. The symptoms of the damage to the nerve cells were following: distinct decrease in the number of free ribosomes and rough endoplasmic reticulum with a simultaneous increase of elements composed of smooth membranes, damage to mitochondrial structures and strong development of the Golgi apparatus. In the cerebral cortex close to the blood vessels numerous cells defined as phagocytizing cells were present.

PIŚMIENNICTWO

1. Ariyoshi T., Takabatake E., Remmer H.: Drug metabolism in ethanol induced fatty liver. *Life Sci.* 1970, 9, 361—369.
2. Bignami A., Ralston H. J.: The cellular reaction to Wallerian degeneration in the central nervous system of the cat. *Brain Res.* 1969, 13, 444—461.
3. Blinzinger K., Hager H.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Feinstruktur ruhender und progressiver Mikrogliazellen im Säugetiergehirn. *Beitr. Path. Anat.* 1962, 127, 176—192.
4. Blinzinger K., Kreutzberg G.: Displacement of synaptic terminals from regenerative motoneurons by microglial cells. *Z. Zellforsch.* 1968, 85, 145—157.

5. Carulli N., Manenti F., Gallo M., Salvioli G. F.: Alcohol-drugs interaction in man: alcohol and tolbutamide. *Europ. J. Clin. Invest.* 1971, 1, 421—424.
6. Conney A. H.: Pharmacological implications of microsomal enzyme induction. *Pharmacol. Rev.* 1967, 19, 317—366.
7. Goldberg L., Rydberg U.: Inhibition of ethanol metabolism in vivo by administration pyrazole. *Biochem. Pharmacol.* 1969, 18, 1749—1762.
8. Grunnet N.: Oxidation of extramitochondrial NADH by rat liver mitochondria. Possible role of acyl-S-CoA elongation enzymes. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1970, 41, 909—917.
9. Grunnet N.: Oxidation of acetaldehyde by rat liver mitochondria in relation to ethanol oxidation and the transport of reducing equivalents across the mitochondrial membrane. *Europ. J. Biochem.* 1973, 35, 236—243.
10. Grunnet N., Quistorff B., Thieden H. J.: Rate-limiting factors in ethanol oxidation by isolated rat liver parenchymal cells. *Europ. J. Biochem.* 1973, 40, 275—282.
11. Hirsch J. G., Fedorko M. E.: Morphology of mouse mononuclear phagocytes. W: *Mononuclear Phagocytes*. R. von Furth, Ed. F. A. Davis, Philadelphia, 1970, 7—28.
12. Iseri O. A., Lieber C. S., Gottlieb L. S.: The ultrastructure of fatty liver induced by prolonged ethanol ingestion. *Am. J. Path.* 1966, 48, 535—555.
13. Joly J. G., Ischii H., Teschke R., Hasumura Y., Lieber C. S.: Effect of chronic ethanol feeding on the activity and submicrosomal distribution of reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) cytochrome P-450-reductase and the demethylases for aminopyrine and methylmorphine. *Biochem. Pharmacol.* 1973, 22, 1532—1535.
14. Kitamura T., Hattori H., Fujita S.: Autoradiographic studies of histogenesis of brain macrophages in the mouse. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1972, 21, 502—518.
15. Koelichen A., Kwiatkowska J., Beskid M.: Histochemiczna ocena komórek kory mózgowej szczura w toku skojarzonego stosowania etanolu z pirazolem. *Neuropat. Pol.*, 1978, 16.
16. Lane B. P., Lieber C. S.: Effects of butylated hydroxytoluene on the ultrastructure of rat hepatocytes. *Lab. Invest.* 1967, 16, 342—348.
17. Lelbach W. K.: Experimental hepatocellular necrosis induced by ethanol after partial inhibition of liver alcohol dehydrogenase. W: *Metabolic changes induced by alcohol*. Springer, 1971, 62—69.
18. Lieber C. S., DeCarli L. M.: Ethanol oxidation by hepatic microsomes: adaptive increase after ethanol feeding. *Science*, 1968, 162, 917—918.
19. Lieber C. S., Rubin E., DeCarli L. M., Misra P., Gang H.: Effects of pyrazole on hepatic function and structure. *Lab. Invest.* 1970, 6, 615—621.
20. Meldolesi J.: On the significance of the hypertrophy on the smooth endoplasmic reticulum in liver cells after administration of drugs. *Biochem. Pharmacol.* 1967, 16, 125—129.
21. Misra P. S., Lefevre A., Ischii H., Rubin E., Lieber C. S.: Increase of ethanol meprobamate and pentobarbital metabolism after chronic ethanol administration in man and in rats. *Am. J. Med.* 1971, 51, 346—351.
22. Nichols B. A., Bainton D. F., Farquar M. G.: Differentiation of monocytes origin, nature, and fate of their azurophilic granules. *J. Cell. Biol.* 1971, 50, 498—515.
23. Reynier M.: Pyrazole inhibition and kinetic studies of ethanol and retinol

- oxidation catalyzed by rat liver alcohol dehydrogenase. *Acta Chem. Scand.* 1969, 23, 1119—1129.
24. Rubin E., Lieber C. S.: Early fine structural changes induced by alcohol. *Gastroenterol.*, 1967, 52, 1—13.
 25. Rubin E., Hutterer F., Lieber C. S.: Ethanol increases hepatic smooth endoplasmic reticulum and drug metabolizing enzymes. *Science*, 1968, 159, 1469—1470.
 26. Rubin E., Lieber C. S.: Hepatic microsomal enzymes in man and rat: Induction and inhibition by ethanol. *Science*. 1968, 162, 690—691.
 27. Rubin E., Bacchin P., Gang H., Lieber C. S.: Induction and inhibition of hepatic microsomal and mitochondrial enzymes by ethanol. *Lab. Invest.* 1970, 22, 569—580.
 28. Składziński J.: Combined action of pyrazole and ethanol on rat liver: morphological, histochemical and ultrastructural study. *Zeszyty Naukowe ASW, Supl.*, 1976, 14, 1—52.
 29. Vaughn J. E., Peters A.: A third neuroglial cell type. An electron microscope study. *J. comp. Neurol.*, 1968, 133, 269—288.
 30. Vaughn J. E., Hinds P. H., Skoff R. P.: Electron microscopic studies of Wallerian degeneration in rat optic nerves. I. The multipotential glia. *J. comp. Neurol.*, 1970, 140, 175—206.
 31. Wong-Riley M. T. T.: Terminal degeneration and glial reactions in the lateral geniculate nucleus of the squirrel monkey after eye removal. *J. comp. Neurol.*, 1972, 144, 61—92.

Adres autorów: Pracownia Histochemiczna Zakładu Patofizjologii Komórki, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, ul. Marymoncka 99, 01-813 Warszawa.

W. LESSEL, K. DIETZMANN

UNTERSUCHUNGEN AM MONOAMINERGEN
BLUTHIRNSCHRANKENMECHANISMUS
MIT DER FALCK—HILLARP- UND DER GLYOXYLSÄUREMETHODE.
EIN METHODENVERGLEICH

Es ist eine allgemein anerkannte Tatsache, dass neben vielen anderen Stoffen auch die wichtigsten biogenen Amine des Säugers Dopamin (DA), Noradrenalin (NA), Adrenalin (A) und 5-Hydroxytryptophan (5-HT) aus dem Blut ins periphere Gewebe, nicht aber in das Zentralnervensystem eindringen und somit die Bluthirnschranke (BHS) nicht passieren (Weil-Malherbe et al., 1961). Lediglich einige Gebiete des Hirnes liegen ausserhalb der BHS, so dass *in vivo* Studien zum Beispiel mit L-Dopa möglich sind (Fuxe, Hillarp, 1964).

Sowohl mit der Formaldehyd (FA) — Technik (Falck-Hillarp-Methode), als auch mit der Glyoxylsäure (GA) — Methode sind hochempfindliche und spezifische Methoden zum Nachweis von Monoaminen gegeben. In zahlreichen Arbeiten ist über den chemischen Hintergrund, Empfindlichkeit, Spezifität und Quantitation der Falck—Hillarp—Methode (Literaturübersicht bei Hillarp et al., 1966; Corrodi, Jonsson, 1967; Hamberger, 1967; Björklund et al., 1972, 1973; Fuxe, Jonsson, 1973) und der GA-Methode (Axelsson et al., 1973; Lindvall, Björklund, 1974; Lindvall et al., 1975; Bloom, Battenberg, 1976) berichtet worden. Mehrere der letztgenannten Autoren beschrieben dabei eine höhere Kapazität der GA-Methode zur Bildung von Fluorophoren.

In der vorliegenden Arbeit soll neben der Darstellung des monoaminergen BHS-Mechanismus der Leistungsfähigkeit und Anwendbarkeit beider Methoden aus der Sicht eines nicht hochspezialisierten Labors nachgegangen werden.

MATERIAL UND METHODE

Männliche Wistar-Ratten wurden in zwei Versuchsgruppen: nicht perfundierte Tiere und mit 2%iger GA-Krebs-Ringer-Lösung perfundierte Tiere nach folgendem Schema behandelt:

Tabelle 1. Pharmakologische Behandlung
 Tabela 1. Sposób zastosowania środków farmakologicznych

Vorbehandlung Premedykacja	Dosis in mg/kg Dawka w mg/kg	Zeit (Stunden) Czas (godz)	Behandlung Użyty lek	Dosis in mg/kg Dawka w mg/kg	Zeit (Stunden) Czas (godz)
Nialamid			Kontrollgruppe Grupa kontrolna		
Nialamid	100	2	0	0	0
Reserpin	5	2	0	0	0
kecine	0	0	L-Dopa	50—400	0,5—8
Reserpin	5	2	L-Dopa	50—400	1
Nialamid	100	2	L-Dopa	50—400	1
Reserpin, Nialamid	5+100	2	L-Dopa	50—400	1
m-Hydroxybenzylhydrazin	100	1	L-Dopa	50—400	1

Die rechte Hirnhemisphäre eines jeden Tieres wurde für die FA-Methode, die linke Hemisphäre für die GA-Methode verwendet.

Falck-Hillarp-Methode: Zur Anwendung kam die Standard-Technik (Björklund et al., 1972) mit raschem Tieffrieren der Gewebeproben in Isopentan, gekühlt mit flüssigem Stickstoff. Gefriertrocknung in einer Gefriertrockenanlage Typ L 2 von Phywe für 3 Tage bei min. 45—40°C und 10⁻⁴ Torr. Temperatur-Angleich, Vakuum-Kammer-Belüftung mit trockener Luft. FA-Gasbehandlung bei 80°C mit 6 g vorbehandeltem Paraformaldehyd für 1—2 Stunden. Infiltration der Gewebstücke mit Paraffin im Vakuum. Eindecken der 7 µ Schnitte in Entellan/Xylol (9:1). Einige Schnittserien wurden auch in Paraffinum liquidum eingedeckt.

GA-Methode: (Lindvall, Björklund, 1974): Perfusion mit eiskalter gepufferter 2%iger GA-Krebs-Ringer-Lösung (Perfusionsmenge = Gewicht des Tieres) über den linken Ventrikel. Herstellen möglichst dünner Gewebsschnitte mit einem Sorvall-Gewebeschnneider TC 2 auf vorgekühltem Metallblock in eiskalter gepufferter Krebs-Ringer-Lösung. Nach 2minütiger Immersion der Schnitte in 2%iger GA-Krebs-Ringer-Lösung Aufziehen der Schnitte, Föhntrocknung sowie Trocknung über Nacht im Dunklen über Phosphorpentoxyd. GA-Behandlung für 3 Minuten bei 300 Torr, Eindecken meist in Paraffinum liquidum.

Spezifitätsteste (0,02% NaBH₄ in 90%igem Isopropylalkohol nach Corrodi et al., 1964) sowie Kontrollschnitte wurden angefertigt. Untersuchung mit einem Auflichtfluoreszenzmikroskop „Fluoval“ (C. Zeiss, Jena). Fluoreszenzintensitätsmessungen mit einem Reichert Mikrophotometer. Anregungsfilter B 223 g (maximale Transmission bei 405) bzw. B 224 g und einem Sperrfilter G 247. Seltener wurde U 204 g (max. Transmission bei 366) und G 245 als Sperrfilter verwendet.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Normale Tiere: sowohl mit der FA-Technik, als auch der GA-Methode stellten sich gelbgrün-fluoreszierende Varikositäten und Nervenzellkörper dar, deren Klassifikation auf dem fundamentalen Werk von Dahlenström und Fuxe (1964) basiert. Die chemische Basis der Monoaminfluoreszenzreaktion ist bei beiden Methoden gut bekannt, so dass bei entsprechendem Ausfall der Spezifitätskontrollen und Überprüfung der Fluoreszenzmaxima geschlussfolgert werden kann, dass die gelbgrüne Fluoreszenz in Fasern und Zellen in den untersuchten A-Gruppen durch Katecholamin (DA oder NA) bedingt ist. Zahl und Fluoreszenzintensität der Fasern und Zellen variieren von Region zu Region.

Während die FA-Methode innerhalb einer Versuchsreihe erhebliche Streubreiten aufwies, waren die Ergebnisse mit der GA-Methode konstanter. Die bessere Reproduzierbarkeit und geringere Variation ist sicher auch bedingt durch die wenig feuchtigkeitsabhängige Fluorophorenbildung im Gegensatz zur FA-Methode mit ihrem bekannten Einfluss von Wasser auf die Fluoreszenzausbeute (Lindvall et al., 1974; Waris, Partanen, 1975). Weitere kritische Schritte der FA-Methode; das Einfrieren und Trocknen des Gewebes ohne Diffusionserscheinungen, entfallen ausserdem.

In der vorliegenden Form basiert die GA-Methode auf dem Schneiden frischen Gewebes bei niedriger Temperatur mit einem Gewebeschnيدر, meist einem „Vibrator“ (Übersicht bei Lindvall et al, 1973; Lindvall, Björklund, 1974). Der von uns benutzte Sorvall-Gewebeschnيدر TC 2 — für den Einsatz bei Schnellschnitten gedacht — ermöglicht prinzipiell gleichartiges Vorgehen. Während an nicht perfundierten Tieren Hirnschnitte ausreichender Qualität bis 40 μ als geringste Dicke hergestellt werden konnten, gelangen nach Perfusion an Hirnen mit erheblich festerer Konsistenz Gewebeschnitte guter Qualität von 25—30 μ . Dabei ist es jedoch problematisch, Serien gleicher Schnittdicke herzustellen, verschiedene Hirnregionen (besonders Ventrikelbereiche) konnten nicht so erfolgreich geschnitten werden. Ausserdem ist die Gewebsblöckchengrösse begrenzt.

Diesen Problemen gehen mehrere Autoren mit guten Ergebnissen durch Modifikationen wie Stretchpräparatverwendung (Waris, Partanen, 1975), Kryostatschnitten (Battenberg, Bloom, 1975; de la Torre, Surgeon, 1976) und anderen mehr aus dem Wege.

Aber auch in der von uns angewandten Weise konnte das zentrale Katecholamin-haltige Neuron mit grösserer Empfindlichkeit demonstriert werden. Dabei zeigten nicht nur das terminale Axon und der Zellkörper, sondern auch nicht terminale Axonanteile Fluoreszenz (Abb. 1).

Die Fluoreszenz ist deutlich und ohne Zeichen der Diffusion. Dank der höheren Empfindlichkeit der GA-Methode sind von Lindvall et al. (1973, 1974, 1975) und Lindvall and Björklund (1974) nicht nur präterminale Neuronanteile, sondern mehrere bis dahin unbekannte Fasersysteme gefunden worden.

Ein weiterer Vorteil der GA-Methode ist in der Verwendungsfähigkeit frischer Schnitte für andere histochemische Methoden zu sehen.

Pharmakologisch behandelte Tiere:

Zusammenfassende Darstellung in Tabelle 2.

Table 2. Übersicht der fluoreszenzoptischen Ergebnisse
Tabela 2. Natężenie fluorescencji w elementach morfologicznych w różnych grupach doświadczalnych

Behandlung Użyty lek	FA-Methode Metoda formaldehydowa			GA-Methode Metoda glioksalowa		
	Zellen Komórki	Terminals Zakończenia nerwowe	Gefässwall Ściany naczyń	Zellen Komórki	Terminals Zakończenia nerwowe	Gefässwall Ściany naczyń
Kontrollgruppe Grupa kontrolna	(+)	(+)	0	(+)	+	0
Nialamid	(+)	(+)	0	(+)	+	0
Reserpin	0	0	0	0	0	0
L-Dopa	(+)	+	++	+	+	++
Reserpin+L-Dopa	(+)	(+)	++	(+)	(+)	++
Nialamid—L-Dopa	+	+	+++	++	++	++++
Nialamid, Reserpin, L-Dopa	+	+	+++	++	++	++++
m-Hydroxybenzyl- hydrazin+ L-Dopa	nicht sicher beurteilbar ocena niepełna		+	nicht sicher beurteilbar ocena niepełna		+

O: negatyl, ujemne; (+): gering, sładowe; +: leicht, słabe; ++: mittel, średnie; +++: stark, silne; ++++: sehr stark, bardzo silne.

Die Auswirkungen von Reserpin, Nialamid, bzw. die Kombination dieser Pharmaka sind so gut bekannt, dass auf die Übersichtsarbeiten von Dahlström und Fuxe (1964), Fuxe und Hökfelt (1969) verwiesen werden soll.

Applikation von L-Dopa ergaben in Übereinstimmung mit den Befunden von Björklund et al. (1969) und Bertler et al. (1966) mit beiden Methoden eine kräftige Fluoreszenz im Zytoplasma und Nukleus von Endothelien wie Perithelien der Hirnkapillaren. Das Parenchym im Bereich innerhalb der BHS war nur mässig stärker fluoreszierend als bei den Kontrolltieren. In den Bereichen, die ausserhalb der BHS liegen, speziell *Area postrema* und *Eminentia mediana*, war nach Zufuhr hoher Dosen L-Dopa eine Penetration deutlichen Ausmasses durch den Gefässwall zu beobachten. Bereits wenige Stunden nach Applikation lässt

die Fluoreszenz der Kapillaren infolge Dekarboxylierung der L-Dopa nach. Quantitative Studien (Bertler et al., 1966; Hornykiewicz, 1972) ergaben nach L-Dopa-Applikation einen Anstieg von DA im Hirn, jedoch nicht eindeutig von NA. Trotzdem ist nach Hornykiewicz der metabolische Weg von exogenem L-Dopa zu NA nicht komplett ignorierbar.

Die Rate des Verschwindens der Kapillarfluoreszenz konnte durch vorherige Gaben von Nialamid reduziert werden, da die Monoaminoxidase die im Kapillarwall gebildeten Amine aktiv abbaut. Nicht nur die Kapillaren, die sich als dreidimensionales Netzwerk darstellen (Abb. 2 und 3), sondern auch der *Plexus chorioideus* fluoreszierten stärker, als nach alleiniger Dopaapplikation. Die Hirnkapillaren waren über weite Strecken verfolgbar, oft bis zu abrupten Übergängen nicht fluoreszierender Arteriolen und Venolen. Ebenfalls keine Fluoreszenz wiesen die Kapillaren mituntersuchter peripherer Organe auf.

Im Gegensatz zu den sonst stark fluoreszierenden Kapillaren des übrigen Hirnes, stellten sich in der *Eminentia mediana* nur wenige Kapillarendothelien dar. Stärker mit der GA-Methode, als mit der FA-Methode zeigte sich ein dichtes Netz feiner Katecholamin-Terminals (Abb. 4). Die Fluoreszenzintensität war deutlich höher als normal, oft von mehr gelblichem als gelbgrünem Farbton. Ähnliche Ergebnisse berichtete Bertler et al. (1966).

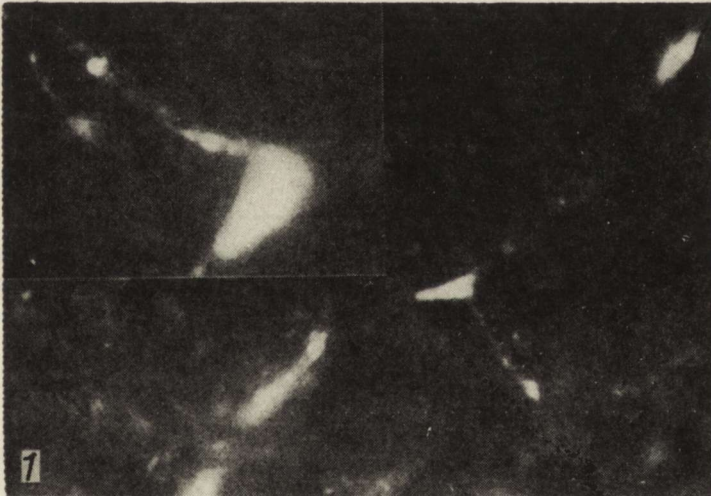


Abb. 1. Normale Ratte. GA-Methode. Multipolare Zellen im kaudalen Thalamus mit präterminalen Fasern. $\times 200$ und 400

Ryc. 1. Szczur prawidłowy. Metoda glioksalowa. Wielobiegunowe komórki w tylnej części wzgórza z włóknami preterminalnymi. Pow. $200 \times$ i $400 \times$

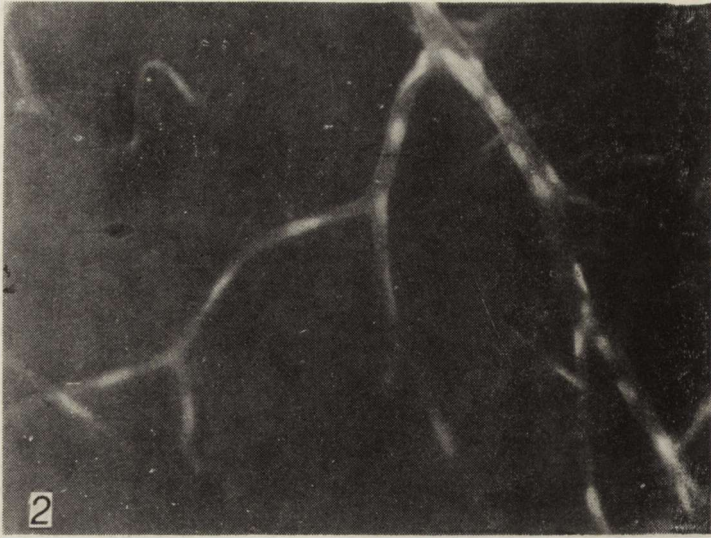


Abb. 2. L-Dopa. GA-Methode. Stark fluoreszierende Endothelien und Perithelien am dreidimensionalen Netzwerk. $\times 400$

Ryc. 2. L-Dopa. Metoda glioksalowa. Silna fluorescencja komórek śródbłonna i pericytów w trójwymiarowej sieci naczyń. Pow. $400 \times$

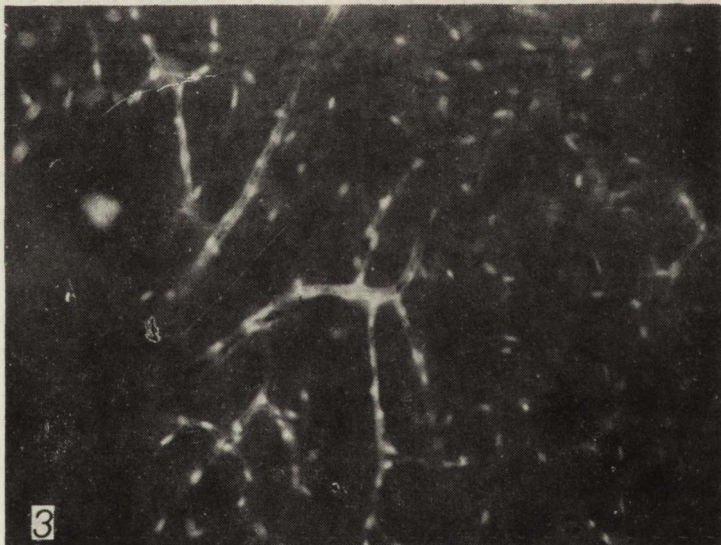


Abb. 3. Nialamid, L-Dopa. Falck-Hillarp Methode. Dreidimensionales Netzwerk fluoreszierender Kapillaren. $\times 200$

Ryc. 3. Nialamid, L-Dopa. Metoda Falck-Hillarp. Fluoryzująca, trójwymiarowa sieć włosniczek. Pow. $200 \times$

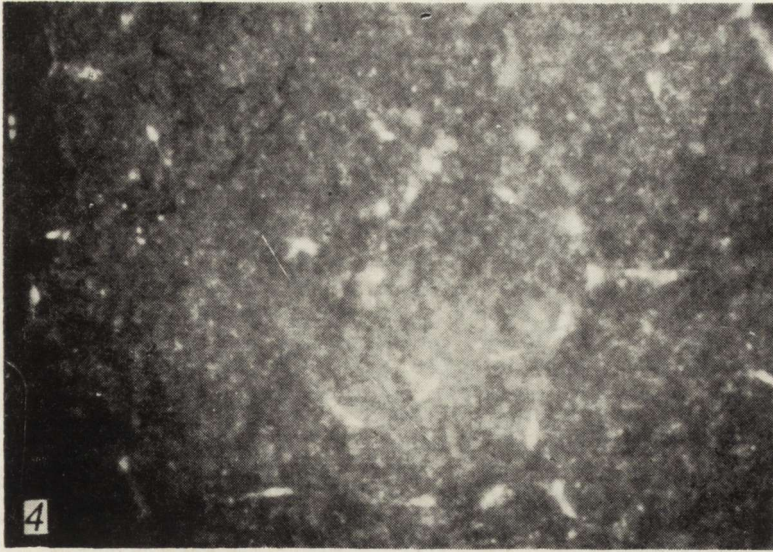


Abb. 4. Nialamid, L-Dopa. GA-Methode. Eminentia mediana mit zahllosen dichtgepackten feinen Terminals. Nur relative wenige fluoreszierende Endothelien.
× 250

Ryc. 4. Nialamid, L-Dopa. Metoda glioksalowa. Wyniosłość pośrodkowa z niezliczonymi, gęsto ułożonymi cienkimi zakończeniami nerwowymi. Tylko nieliczne komórki śródbłonna wykazują fluorescencję. Pow. 250 ×

Nicht nur L-Dopa, sondern auch NA (Fuxe, Hillarp, 1964) und 5-HT (Lichtensteiger et al., 1967) sind nach Nialamidvordbehandlung im Bereich der *Area postrema*, *Eminentia mediana* u.a. zuführbar. In den übrigen Bereichen des Hirnes ist für Aufnahmestudien von Katecholaminen die Umgehung der BHS z.B. durch intraventrikuläre Injektionen, direkte Applikation ins Hirn, *in vitro* Studien, oder die Schädigung der BHS z.B. durch Kälte, Quecksilberchlorid (Hamberger and Hamberger, 1966) bzw. Dekarboxylasehemmer notwendig.

Die Kapillarfluoreszenz ist bei gleicher L-Dopa-Dosis und Dekarboxylasehemmervorbehandlung erheblich geringer, die Hintergrundfluoreszenz im gesamten Hirnparenchym so verstärkt, dass besonders in den dickeren GA-Schnitten spezifische Katecholamin-Strukturen nicht klar abgegrenzt werden konnten. Dabei war insgesamt die stärkste Fluoreszenz im Bereich des Striatum nachweisbar.

Diese Befunde gehen konform mit denen von Bertler et al. (1966) und unterstützen mit dem indirekten Nachweis von Monoaminoxidase und Dopadecarboxylase die These, dass die Zellen des kapillären Endothelwalles im Hirn eine Rolle im Transfer von Katecholamin zwischen Blut und Hirn spielen und folglich einen Teil der BHS ausmachen.

W. Lessel, K. Dietzmann

BADANIA MONOAMINOWEGO MECHANIZMU BARIERY KREW—MÓZG PRZY
POMOCY METODY FALCK-HILLARP I METODY GLIOKSALOWEJ.
BADANIA PORÓWNAWCZE

Streszczenie

Obydwie metody stosowane do wykazania śródneuronalnej lokalizacji substancji przekaźnikowych tj. metoda Falck-Hillarp i z użyciem kwasu glioksalowego charakteryzują się czułością i łatwością wykonania. Metoda z kwasem glioksalowym jest efektywniejsza, prostsza, szybsza, wolna od artefaktów wywołanych zamrażaniem tkanki i nie powoduje dyfuzji. Te zalety mają znaczenie zwłaszcza w przeciętnie wyposażonych laboratoriach. Zastosowany sposób krojenia powoduje następujące niedogodności: zwiększenie grubości skrawków, trudności w uzyskaniu skrawków seryjnych i skrawaniu niektórych okolic mózgu oraz ograniczona wielkość krojonych bloczków.

Wyniki uzyskane przy pomocy obydwu zastosowanych metod zgodnie wskazują na enzymatyczny mechanizm działania bariery krew-mózg u zwierząt prawidłowych. Po zastosowaniu inhibitorów MAO lub dekarboksylazy zwiększa się przenikanie L-Dopa przez ścianę włosniczek.

В. Лессел, К. Дитцманн

ИССЛЕДОВАНИЯ МОНОАМИНОВОГО МЕХАНИЗМА
ГЕМАТО-ЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА
ПРИ ПОМОЩИ МЕТОДА ФАЛЬКА-ХИЛЛАРПА
И ГЛИОКСАЛЕВОГО МЕТОДА. СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Резюме

Оба метода, использованные для выявления внутринейронной локализации передаточных веществ, то есть метод Фалька-Хилларпа и с использованием глиоксалевого метода, характеризуются чувствительностью и легкостью исполнения. Метод с глиоксалевой кислотой является более эффективным, простым и быстрым, свободным от артефактов, вызванных замораживанием ткани, и не вызывает диффузии. Эти достоинства особенно имеют значение в средне оборудованных лабораториях. Примененный способ резки вызывает следующие неудобства: увеличение толщины срезов, трудности в получении серийных срезов и при резании некоторых областей мозга, а также ограниченную величину нарезанных блоков.

Результаты, полученные при помощи обоих использованных методов, согласно указывают на ферментативный механизм действия гемато-энцефалического барьера у нормальных животных. После применения ингибиторов MAO или декарбоксилазы увеличивается проникание L-Dopa через стенку капилляров.

LITERATUR

1. Axelsson S., Björklund A., Falck B., Lindvall O., Svensson L. A.: Glyoxylic acid condensation: A new fluorescence method for the histochemical demonstration of biogenic monoamines. *Acta physiol. scand.*, 1973, 87, 57—62.
2. Battenberg E. L. F., Bloom F. E.: A rapid, simple and more sensitive method for the demonstration of central catecholamine — neurons and axons

- by glyoxylic acid induced fluorescence. I. Specificity. *Psychopharmacol. Comm.*, 1975, 1, 3—13.
3. Bertler A., Falck B., Owman Ch., Rosengrenn E.: The localization of monoaminergic blood-brain barrier mechanisms. *Pharm. Rev.*, 1966, 18, 369—385.
 4. Björklund A., Falck B., Hromek F., Owman Ch.: An enzymatic barrier mechanism for monoamine precursors in the newly-forming brain capillaries following electrolytic or mechanical lesions. *J. Neurochem.*, 1969, 16, 1605—1608.
 5. Björklund A., Falck B., Lindvall O., Svensson L. A.: New aspects on reaction mechanisms in the formaldehyde histofluorescence method for monoamines. *J. Histochem. Cytochem.*, 1973, 21, 17—25.
 6. Björklund A., Falck B., Owman Ch.: Fluorescence microscopic and microspectrofluorometric techniques for the cellular localization and characterization of biogenic amines. *Methods in investigative and diagnostic endocrinology*, Eds.: J. E. Rall, J. Kopin. Vol. 1: The thyroid and catecholamines. North-Holland Publ. C. Amsterdam 1972.
 7. Bloom P. E., Battenberg E. L. F.: A rapid, simple and sensitive method for the demonstration of central catecholamine-containing neurons and axons by glyoxylic acid-induced fluorescence. II. A detailed description of methodology. *J. Histochem. Cytochem.*, 1976, 24, 561—571.
 8. Corrodi H., Hillarp N. A., Jonsson G.: Fluorescence methods for the histochemical demonstration of monoamines. 3. Sodium borohydride reduction of the fluorescent compounds as a specificity test. *J. Histochem. Cytochem.*, 1964, 12, 582—586.
 9. Corrodi H., Jonsson G.: The formaldehyde fluorescence method for the histochemical demonstration of biogenic monoamines. A review on the methodology. *J. Histochem. Cytochem.*, 1967, 15, 65—78.
 10. Dahlström A., Fuxe K.: Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons. *Acta physiol. scand.*, 1964, 62, Suppl. 232, 1—55.
 11. Fuxe K., Hillarp N. A.: Uptake of 1-Dopa and noradrenaline by central catecholamine neurons. *Life Sci.*, 1964, 3, 1403—1406.
 12. Fuxe K., Hökfelt T.: Catecholamines in the hypothalamus and the pituitary gland. In: *Frontiers in neuroendocrinology*. Eds.: W. F. Ganong, L. Martini, New York — London — Toronto. University Press, 1969.
 13. Fuxe K., Jonsson G.: The histochemical fluorescence method for the demonstration of catecholamines. Theory, practice, applications. *J. Histochem. Cytochem.* 1973, 21, 293—311.
 14. Hamberger B.: Reserpin-resistant uptake of catecholamines in isolated tissues of the rat. *Acta physiol. scand.*, 1967, Suppl. 295, 1—56.
 15. Hamberger A., Hamberger B.: Uptake of catecholamines and penetration of trypan blue after blood-brain barrier lesion. *Z. Zellforsch.*, 1966, 70, 386—392.
 16. Hillarp N. A., Fuxe K., Dahlström A.: Central monoamine neurons. Mechanisms of release of biogenic amines. Eds.: U. S. von Euler, S. Rosell. B. Uvnäs. Pergamon Press, Oxford 1966, 31—57.
 17. Hornykiewicz O.: Dopamin and its physiological significance in brain function. In: *The structure and function of nervous tissue*. Ed: G. H. Bourne. Academic Press, New York, London, 1972, Vol. II, 367—415.
 18. Lichtensteiger W., Mutzner U., Langemann H.: Uptake of 5-hydroxytrypta-

- mine and 5-hydroxytryptophan by neurons of the central nervous system normally containing catecholamines. *J. Neurochem.*, 1967, 14, 489—497.
19. Lindvall O., Björklund A.: The glyoxylic acid fluorescence histochemical method: a detailed account of the methodology for the visualization of central catecholamine neurons. *Histochemistry* 1974, 39, 97—127.
 20. Lindvall O., Björklund A., Falck B., Svensson L. A.: Combined formaldehyde and glyoxylic acid reactions. I. New possibilities for microspectrofluorometric differentiation between phenylethylamines, indolethylamines and their precursor amino acids. *Histochemistry* 1975, 46, 27—52.
 21. Lindvall O., Björklund A., Hökfelt T., Ljungdahl A.: Application for the glyoxylic acid method to vibratome sections for the improved visualization of central catecholamines neurons. *Histochemistry* 1973, 35, 31—38.
 22. Lindvall O., Björklund A., Svensson L. A.: Fluorophore formation from catecholamines and related compounds in the glyoxylic acid fluorescence histochemical method. *Histochemistry* 1974, 39, 197—227.
 23. Torre de la J. C., Surgeon J. W.: A methodological approach to rapid and sensitive monoamine histofluorescence using a modified glyoxylic acid technique: the SPG method. *Histochemistry* 1976, 49, 81—93.
 24. Waris T., Partanen S.: Demonstration of catecholamines in peripheral adrenergic nerves in stretch preparations with fluorescence induced by aqueous solution of glyoxylic acid. *Histochemistry*. 1975, 41, 369—372.
 25. Weil-Malherbe H., Whitby G., Axelrod J.: The uptake of circulating (³H)no-repinephrine by the pituitary gland and various areas of the brain. *J. Neurochem.*, 1961, 8, 55—64.

Anschrift der Verfasser: Institut für Pathologie, Medizinische Akademie Magdeburg, Leipziger Str. 44, 301 Magdeburg, DDR

ROMAN GADAMSKI

OBRAZ WŁÓKIEN ADRENERGICZNYCH W OPONIE MIĘKKIEJ
SZCZURA I CHOMIKA MONGOLSKIEGO
W NIEDOTLENIENIU HIPOKSYJNYM, NIEDOKRWIENIU
I ODNERWIENIU

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

Mechanizm regulacji światła naczyń krwionośnych zaopatrujących ośrodkowy układ nerwowy (OUN) stanowił przedmiot licznych badań. Dotyczyły one zarówno głównych pni tętniczych jak również drobnych naczyń opony miękkiej mózgu. Mchedlishvili (1960, 1967) oraz Mchedlishvili i Nikolaishvili (1970) wykazali, że ściany tętnicy szyjnej wewnętrznej, tętnicy podstawnej i tętnic kręgowych znajdują się pod stałą kontrolą wegetatywnego układu nerwowego. W regulacji światła tych naczyń istotną rolę odgrywają również biologicznie czynne substancje osocza krwi.

Mimo znacznego nagromadzenia informacji dotyczących unerwienia wegetatywnego poszczególnych tętnic zaopatrujących ośrodkowy układ nerwowy (Owman i wsp. 1965, Nielsen, Owman 1967, Falck i wsp. 1963, Krokhina i wsp. 1970), mechanizmy odpowiedzialne za regulację przepływu mózgowego nie zostały dotychczas w pełni wyjaśnione. Problem ten jest jeszcze znacznie mniej poznany w odniesieniu do naczyń opony miękkiej. Światło zawartych w niej naczyń zmienia się głównie pod wpływem wahań obwodowego ciśnienia tętniczego, podczas gdy rola unerwienia wegetatywnego w tym procesie jest nieznana lub kontrowersyjna.

Celem pracy było prześledzenie metodą histochemiczno-fluorescencyjną zachowania się amin katecholowych w oponie miękkiej szczura i chomika mongolskiego w warunkach niedotlenienia, niedokrwienia i odnerwienia.

MATERIAŁ I METODA

Fluorescencję amin katecholowych w oponie miękkiej mózgu badano w warunkach doświadczalnego niedotlenienia i niedokrwienia OUN. Wpływ niedotlenienia na obraz fluorescencyjny katecholamin przebadano na 6 tygodniowych szczurach szczepu Wistar, obu płci. Zwierzęta

podzielono na dwie grupy obejmujące po 18 szczurów. Szczury umieszczano (po dwa jednocześnie) w komorze hipoksyjnej o pojemności 3.5 l, przez którą przepuszczano mieszaninę gazową o zmiennej zawartości O₂ i N₂. Procentową zawartość tlenu i azotu ustalano przy użyciu przepływomierza gazowego oraz sprawdzano w analizatorze O₂. Zwierzęta grupy I poddawano 30 min. ekspozycji w mieszaninie gazowej zawierającej 4% O₂ i 96% N₂. Po wyjęciu z komory zwierzęta pozostawiano w standardowych warunkach zwierzętarnianych. Szczury dekapitowano w podgrupach złożonych z 3 zwierząt, bezpośrednio po niedotlenieniu (czas „0'”) oraz po 2, 4, 6, 24 i 48 godz. od momentu wyjęcia z komory hipoksyjnej. Identycznie postępowano ze zwierzętami grupy II poddanymi 30 min. ekspozycji w mieszaninie gazowej zawierającej 8% O₂ i 92% N₂.

Wpływ niedokrwienia na fluorescencję amin katecholowych przebadano na 36 chomikach mongolskich, którym w narkozie eterowej zaciskano lewą tętnicę szyjną wspólną na okres 15 min. Do badań pozostawiano wyłącznie te osobniki, które wykonywały przymusowe ruchy obrotowe w tę stronę, po której był założony zacisk. Tak wyselekcjonowane chomiki mongolskie dekapitowano bezpośrednio po niedokrwieniu (czas „0'”) oraz po przeżyciu 2, 4, 6, 24 i 48 godz.

Po uśmierceniu zwierząt poddanych niedotlenieniu i niedokrwieniu szybko usuwano pokrywę kostną czaszki i oponę twardą a następnie, posługując się mikroskopem operacyjnym zdejmowano małe wycinki opony miękkiej z płata czołowego kory obu półkul mózgu. Wycinki przenoszono na szkiełka podstawowe i zanurzano trzykrotnie w płynie inkubacyjnym przygotowanym wg metody Torre i Surgeona (1976). Łączny czas inkubacji wynosił około 3 sek. Po usunięciu nadmiaru płynu ze szkiełek podstawowych suszono je 3 do 5 min. w strumieniu chłodnego powietrza. Wysuszone preparaty wkładano na okres 5 min. do pieca utrzymującego stałą temperaturę 80°C ($\pm 1^\circ$). Po zamknięciu w oleju parafinowym preparaty oglądano w mikroskopie fluorescencyjnym f-my Zeiss wyposażonym w lampę rtęciową HBO 200 oraz filtry BG 12/4 (wzbudzający) i OG 1 (barierowy). Fluorescencję amin katecholowych utrwalano na filmie NP 27. Materiał kontrolny stanowiły wycinki opony miękkiej z mózgow trzech szczurów nie poddanych żadnym zabiegom oraz trzech chomików mongolskich dekapitowanych po upływie 15 min. od momentu wykonania w narkozie eterowej zabiegu odsłonięcia tętnicy szyjnej wspólnej bez założenia zacisku.

U 6 szczurów i 6 chomików mongolskich wykonano zabieg operacyjny polegający na jedno lub obustronnym usunięciu zwoju szyjnego górnego wraz z krótkimi odcinkami przed i zazwojowego pnia nerwowego. Zabieg przeprowadzono w głębokiej narkozie eterowej z miejscowym znieczuleniem odsłoniętych nerwów i naczyń, przy zachowaniu aseptyki

i zaopatrzeniu rany pooperacyjnej zasypką z penicyliny prokainowej. Czas przeżycia zwierząt po zabiegu wynosił od 25 dni do 2 miesięcy.

Przygotowanie materiału kontrolnego do badań w mikroskopie fluorescencyjnym przebiegało wg zasad stosowanych u zwierząt doświadczalnych.

WYNIKI

Obserwacje kliniczne

Grupa I. Przez pierwsze 5 do 10 min. przebywania w komorze hipoksyjnej, szczury wykazywały pobudzenie ruchowe oraz przyspieszenie czynności serca i oddechu ustępujące w ciągu następnych kilku minut. Od tego momentu obserwowano całkowite spowolnienie ruchowe, zwolnienie czynności oddechowej oraz bradykardię. Po otwarciu komory zaburzenia te stopniowo ustępowały i po około 5 min. normalizowała się czynność serca i rytm oddechowy. Spowolnienie ruchowe ustępowało dopiero po upływie następnych kilku minut.

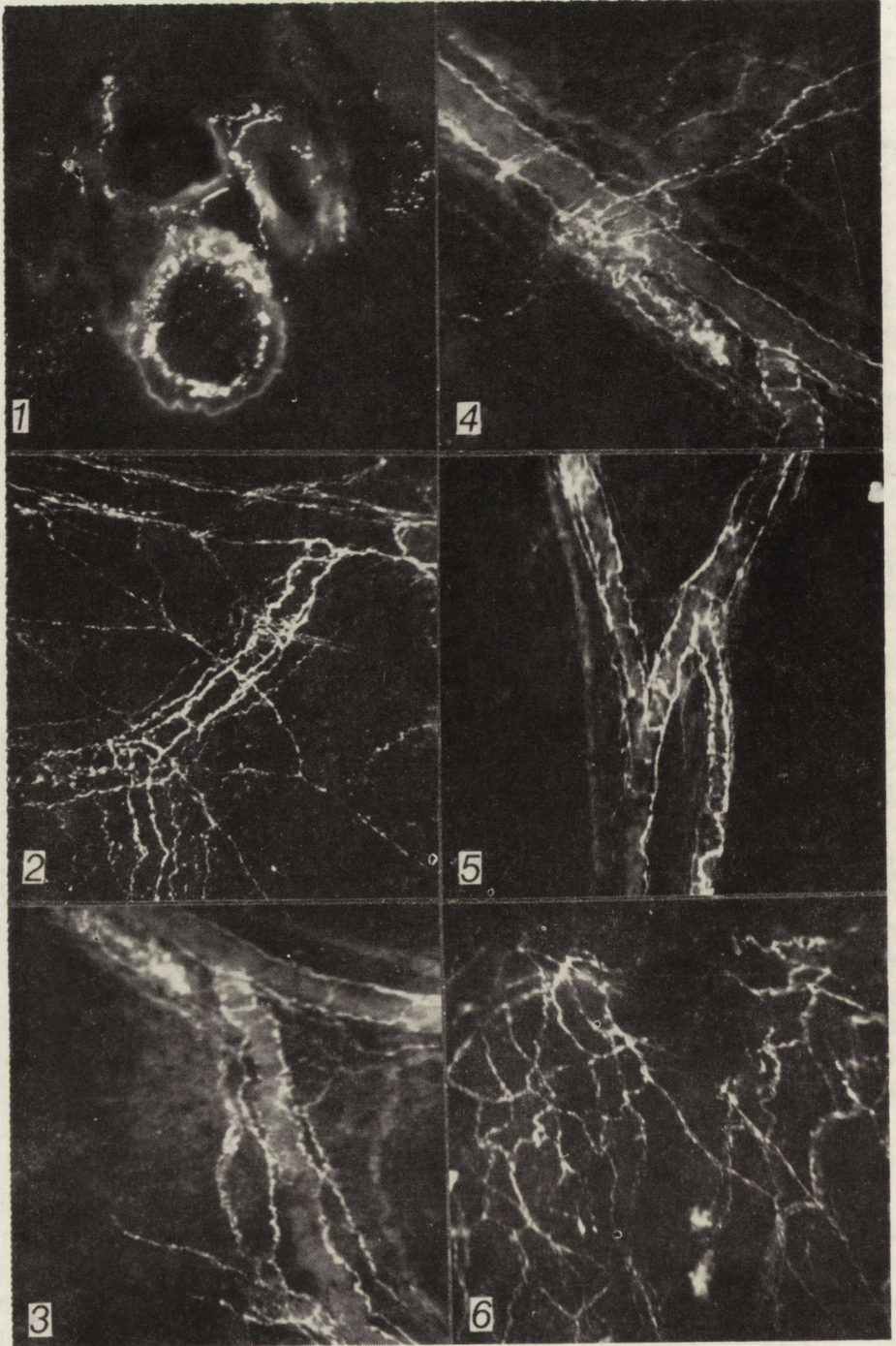
Szczury grupy II (8% O₂ i 92% N₂) w trakcie doświadczenia wykazywały podobne, aczkolwiek mniej nasilone objawy kliniczne, które ustępowały prawie natychmiast po otwarciu komory hipoksyjnej.

W grupie zwierząt poddanych doświadczalnemu niedokrwieniu lewej półkuli mózgu, jedynym objawem klinicznym obserwowanym bezpośrednio po zdjęciu zacisku z tętnicy szyjnej wspólnej były krótkotrwałe, przymusowe ruchy obrotowe wokół osi ciała lub po obwodzie koła o średnicy nie przekraczającej 30 cm. Ruchy te występowały u około 30% chomików mongolskich poddanych doświadczeniu.

Jedno i obustronne wycięcie zwoju szyjnego górnego. Zabieg, trwający około 10 min., był znoszony dobrze pod warunkiem, że znieczulenie miejscowe było odpowiednio głębokie. Śmiertelność w trakcie zabiegu wynosiła około 11%, natomiast w okresie pooperacyjnym nie przekraczała 8,3%. Z objawów klinicznych występujących w okresie pooperacyjnym należy wymienić długotrwałe wybudzenie się z narkozy wynoszące około 25 min. oraz jedno lub obustronne zwężenie szpary powiekowej i źrenicy. Zaburzenia te charakterystyczne dla zespołu Hornera ustępowały w ciągu pierwszych kilku godzin po operacji.

Obserwacje histochemiczno-fluorescencyjne

W oponie miękkiej zwierząt kontrolnych obserwowano zróżnicowany obraz włókien adrenergicznych, wśród których można było wyróżnić włókna związane ściśle z naczyniami krwionośnymi, towarzyszące naczyniom oraz tworzące sploty nerwowe. Na przekrojach poprzecznych tętnic były one widoczne w postaci ziarnistości o różnej średnicy lub krótkich, nitkowatych tworów (ryc. 1). W ścianach naczyń o podłużnym



przebiegu włókna układały się w postaci pojedynczych pasm lub też tworzyły utkanie złożone z włókien o przebiegu podłużnym i okrężnym. Widoczne były również różnice w bogactwie sieci nerwowej. W naczyniach o przebiegu „magistralnym” obserwowano najczęściej pojedyncze włókna o umiarkowanej intensywności fluorescencji w przeciwieństwie do ich odgałęzień, których ściany były zwykle bogato unerwione lub też wspomagane włóknami towarzyszącymi naczyniom (ryc. 2, 3). W sąsiedztwie rozgałęzień naczyniowych spotykano często kłębkowate twory złożone z silnie fluoryzujących włókien o nie uporządkowanym przebiegu. Do tworów tych docierały włókna, które ze względu na paciorkowaty układ materiału fluorescencyjnego można uznać za preterminalne zakończenia aksonów adrenergicznych, pochodzących ze splotów nerwowych (ryc. 4). W materiale kontrolnym spotykano układ włókien nerwowych związanych wyłącznie ze ścianami naczyń. W takich przypadkach mimo braku włókien towarzyszących lub pochodzących ze splotów, miejsca rozgałęzień wykazywały intensywniejszą fluorescencję w porównaniu z przylegającymi do nich odcinkami naczyń o prostym przebiegu (ryc. 5). Sploty nerwowe złożone były zwykle z gęstej sieci włókien nerwowych, w przebiegu których obserwowano dość wyraźne, paciorkowato rozmieszczone ziarnistości wykazujące intensywniejszą fluorescencję (ryc. 6).

Ryc. 1. Przekrój poprzeczny naczyń podstawy mózgu. Fluorescencja amin katecholowych w ścianie naczyń. Szczur kontrolny. Pow. 100 ×

Fig. 1. Transverse section of the vessels at the base of the brain. Fluorescence of catecholamines in vascular walls. Control rat. × 100

Ryc. 2. Opona miękka. Bogate unerwienie adrenergiczne odgałęziającego się naczynia oraz znacznie uboższe unerwienie naczynia o „magistralnym” charakterze. Widoczne zakończenia włókien adrenergicznych pochodzących ze splotów nerwowych w ścianach naczyń. Szczur kontrolny. Pow. 100 ×

Fig. 2. Pia mater. Rich adrenergic innervation of a branching vessel comparing to poorer innervation of a main blood vessel. Nerve endings of adrenergic fibers originating in nerve plexuses of vascular walls. Control rat. × 100

Ryc. 3. Opona miękka. Zakończenia włókien towarzyszących w ścianie początkowego odcinka odgałęziającego się naczynia. Chomik kontrolny. Pow. 100 ×

Fig. 3. Pia mater. Nerve endings of accompanying fibers in a wall of initial segment of a branching vessel. Control gerbil. × 100

Ryc. 4. Opona miękka. Kłębek silnie fluoryzujących włókien o nie uporządkowanym przebiegu przylega do ściany naczynia. Zakończenia aksonów adrenergicznych ze splotów nerwowych docierają do kłębka. Chomik kontrolny. Pow. 100 ×

Fig. 4. Pia mater. Bundle of strongly fluorescent, disorderly packed fibers adheres to the vascular wall. The endings of adrenergic axons from nerve plexuses reach the bundle of adrenergic fibres. Control gerbil. × 100

Ryc. 5. Opona miękka. Fluorescencja włókien przebiegających z naczyniami krwionośnymi. W miejscu rozgałęzień widoczna większa fluorescencja w porównaniu z fluorescencją naczyń o prostym przebiegu. Szczur kontrolny. Pow. 100 ×

Fig. 5. Pia mater. Fluorescence of fibers running together with blood vessels. At the branching of the vessels an increased fluorescence as compared with that of the vessels running straight. Control rat × 100

Ryc. 6. Opona miękka. Intensywna fluorescencja gęstej sieci włókien adrenergicznych tworzących sploty. Chomik kontrolny. Pow. 100 ×

Fig. 6. Pia mater. Intense fluorescence of the dense net of adrenergic fibers forming plexuses. Control gerbil. × 100

U szczurów przetrzymywanych przez 30 min. w atmosferze 4% O₂ (grupa I) zwracało uwagę znaczne osłabienie intensywności fluorescencji widoczne już w czasie „0” i nasilające się w 2 godz. przeżycia po niedotlenieniu. Dotyczyło ono głównie włókien tworzących spłoty nerwowe oraz włókien towarzyszących naczyniom krwionośnym (ryc. 7, 8, 9). Słabiej widoczne było również unerwienie ścian naczyń, jednakże i w tych przypadkach miejsca rozgałęzień zachowywały stosunkowo wyższą intensywność fluorescencji w porównaniu z przylegającymi do nich odcinkami naczyń o prostym przebiegu (ryc. 9). Zwracało również uwagę odmienne niż w kontroli rozmieszczenie materiału fluorescencyjnego. Równomiernie ułożone ziarnistości obserwowane w przebiegu włókien nerwowych zwierząt nie poddawanych żadnym zabiegom u zwierząt poddanych niedotlenieniu układały się bądź w krótkie gęsto utkane odcinki bądź też ich liczba ulegała wyraźnemu zmniejszeniu. Podobny obraz mikroskopowy obserwowano w 4 godz. przeżycia, jednakże w tym czasie zaznaczała się wyraźna tendencja powrotu do normy. W 6, 24 i 48 godz. po hipoksji intensywność i rozmieszczenie fluorescencji amin katecholowych nie różniły się od spotykanego w materiale kontrolnym. Taki sam charakter nieprawidłowości w obrazie mi-

Ryc. 7. Opona miękka. Wyraźny spadek natężenia fluorescencji we włóknach spłotu nerwowego u szczura dekapitowanego w czasie „0” po 30 min ekspozycji w atmosferze 4% O₂. Pow. 100 ×

Fig. 7. Pia mater. Evident decrease of fluorescence intensity in fibers of nerve plexuses. Rat decapitated in "0" time, after 30 min exposure to 4% O₂. × 100

Ryc. 8. Opona miękka szczura. Pogłębiający się spadek fluorescencji amin katecholowych we włóknach adrenergicznych tworzących spłoty. Dwie godziny przeżycia po 30 min niedotlenienia w atmosferze 4% O₂. Pow. 100 ×

Fig. 8. Pia mater of a rat. Deepen decrease of catecholamines fluorescence in adrenergic fibers forming plexuses. Two hours survival after 30 min exposure to 4% O₂. × 100

Ryc. 9. Opona miękka szczura. Dwie godziny przeżycia po hipoksji w atmosferze 4% O₂. Słabo widoczna fluorescencja włókien towarzyszących naczyniom. Obniżenie fluorescencji w ścianie naczyń, zwłaszcza w miejscu ich rozgałęzień, znacznie mniej wyraźne. Pow. 100 ×

Fig. 9. Pia mater of a rat. Two hours survival after hypoxia in 4% O₂. Slight fluorescence of the fibers accompanying blood vessels. Less evident decrease of the fluorescence in vascular walls particularly at their branching. × 100

Ryc. 10. Opona miękka chomika w 2 godz. po niedokrwieniu półkuli mózgu. Obok włókien o obniżonej fluorescencji widoczne włókna, w których natężenie i rozmieszczenie fluorescencji przypomina obrazy kontrolne. Pow. 100 ×

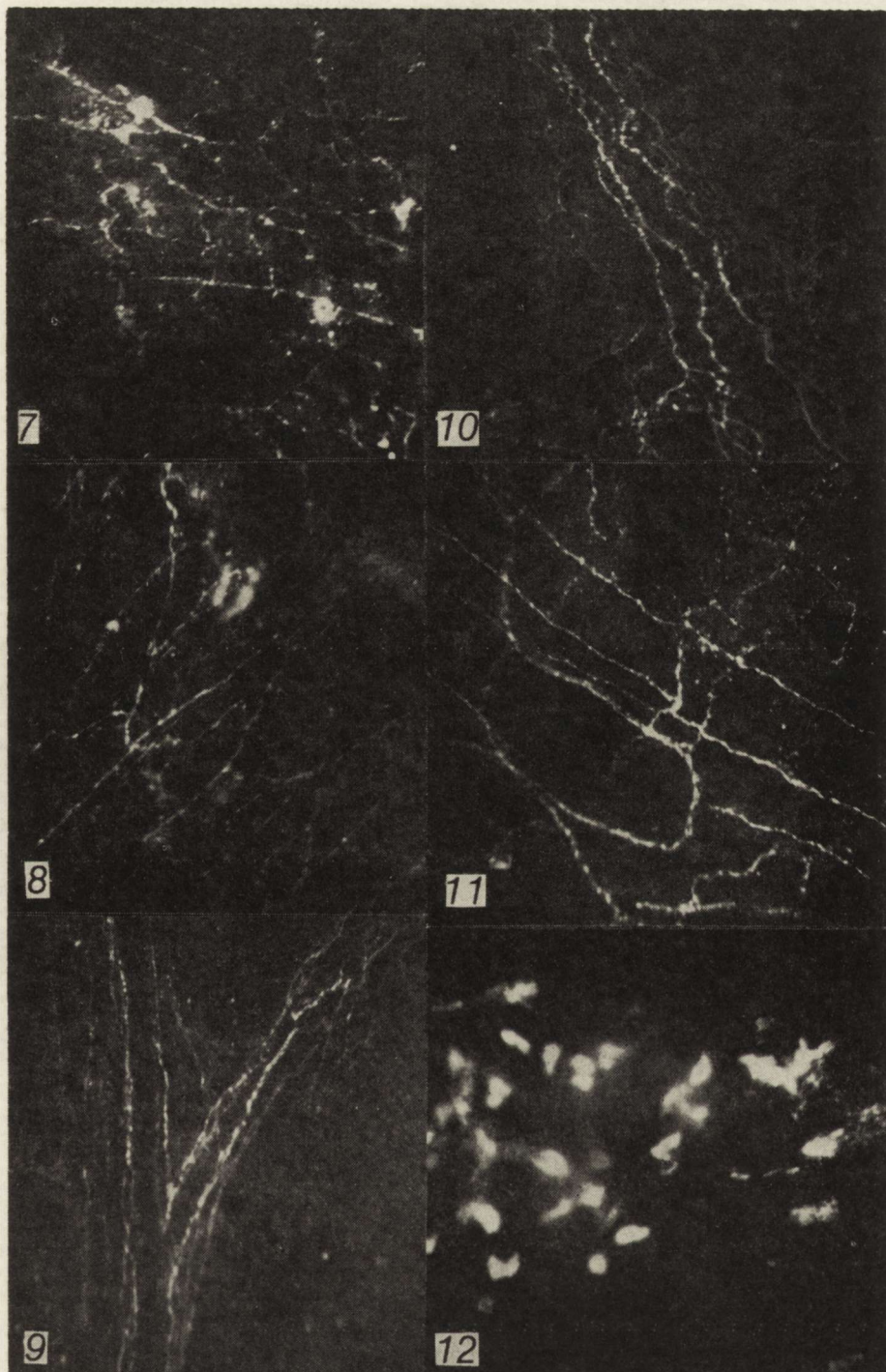
Fig. 10. Pia mater of a gerbil 2 hours after ischemia of cerebral hemisphere. Next to the fibers of decreased fluorescence there are fibers in which intensity and localization of fluorescence is similar to that of the control. × 100

Ryc. 11. Opona miękka chomika w 24 godz. po niedokrwieniu. Fluorescencja włókien nerwowych podobna do występującej w kontroli. Pow. 100 ×

Fig. 11. Pia mater of a gerbil 24 hours after ischemia. Fluorescence of nerve fibers similar to that of control material. × 100

Ryc. 12. Skupienie silnie fluoryzujących tworów w oponie miękkiej szczura po obustronnym usunięciu zwojów szyjnych górnych. Czas przeżycia 2 miesiące. Pow. 100 ×

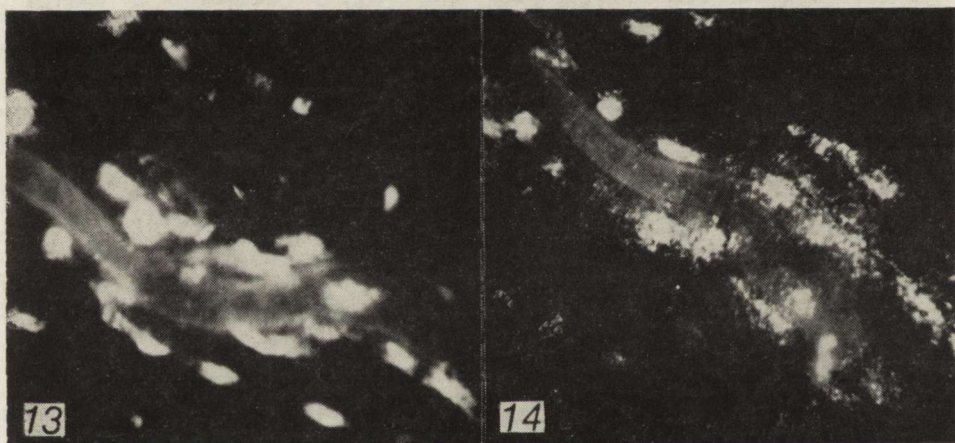
Fig. 12. Accumulation of strongly fluorescent material in pia mater of a rat after bilateral extirpation of upper cervical ganglia. Survival time 2 months. × 100



kroskopowym stwierdzono u zwierząt grupy II (30 min. w atmosferze 8% O₂) z tą różnicą, że były one słabiej zaznaczone i występowały wyłącznie w czasie „0”.

U chomików mongolskich poddanych niedokrwieniu zmiany w obrazie fluorescencyjnym występowały w wycinkach opony miękkiej lewej półkuli mózgu. Polegały one, podobnie jak w niedotlenieniu, na wyraźnym obniżeniu intensywności fluorescencji w większości włókien nerwowych. Ponadto w ścianach naczyń krwionośnych i splotach nerwowych spotykano włókna, w których zarówno rozmieszczenie materiału fluorescencyjnego jak i jej intensywność przypominały obrazy kontrolne (ryc. 10). Zmiany te były wyraźnie zaznaczone u zwierząt dekapitowanych w czasie „0” oraz w 2 godz. po niedokrwieniu. W kolejnych badanych czasach przeżycia fluorescencja amin katecholowych nie wykazywała żadnych odchyleń (ryc. 11).

Jednostronne usunięcie zwoju szyjnego górnego powodowało stopniowo narastające odnerwienie opony miękkiej po stronie homolateralnej oraz nieznaczne zmniejszenie gęstości utkania splotów nerwowych po stronie kontralateralnej. Obrazy te, charakterystyczne dla zwierząt z 25



Ryc. 13. Opona miękka szczura w 2 miesiące po obu stronnym usunięciu zwojów szyjnych. Fluoryzujące twory przylegają do nieznacznie poszerzonego odcinka naczynia. Pow. 100 ×

Fig. 13. Pia mater of a rat, 2 months after bilateral extirpation of cervical ganglia. Fluorescent material adheres to slightly dilated vessel. × 100

Ryc. 14. Zmieniony wygląd silnie fluoryzujących tworów w miejscu ich przylegania do silnie poszerzonego naczynia. Opona miękka szczura w 2 miesiące po usunięciu zwojów szyjnych. Pow. 100 ×

Fig. 14. Changed appearance of intensely fluorescent material at place of its adherence to dilated blood vessel. Pia mater of a rat, 2 months after extirpation of cervical ganglia. × 100

dniowym przeżyciem po zabiegu operacyjnym, występowały również po obustronnym wycięciu zwojów. Pełne odnerwienie adrenergiczne lub jego jednostronną znaczną redukcję (w zależności od usunięcia jednego lub obu zwojów) obserwowano u zwierząt z 2 miesięcznym przeżyciem po zabiegu. Należy zaznaczyć, że postępujące odnerwienie obejmowało w pierwszym rzędzie włókna towarzyszące naczyniom i tworzące spłoty nerwowe a dopiero w późniejszych okresach dotyczyło unerwienia naczyń krwionośnych. Charakterystycznym zjawiskiem występującym po obustronnym usunięciu zwojów było pojawienie się w oponie miękkiej dużych, owalnych tworów wzbudzających intensywną, zieloną fluorescencję. Układały się one w skupienia (ryc. 12) lub towarzyszyły niektórym naczyniom. Zwraçało uwagę większe zagęszczenie tych tworów w miejscu rozszerzenia światła (ryc. 13) lub też zmiana ich kształtu w przypadku przylegania do silnie rozdętych odcinków naczyń krwionośnych (ryc. 14).

OMÓWIENIE

Przeprowadzone badania wykazały obecność adrenergicznych włókien nerwowych w oponie miękkiej obu badanych gatunków zwierząt. Na podstawie obserwowanych obrazów histochemiczno-fluorescencyjnych można je podzielić w zależności od umiejscowienia na włókna występujące w ścianach naczyń krwionośnych, towarzyszące przebiegowi naczyń oraz tworzące gęste sieci spłotów nerwowych. W materiale kontrolnym zwracały uwagę znaczne różnice w bogactwie sieci włókien nerwowych małych tętniczek. Ściany naczyń o przebiegu „magistralnym” zawierały niewielką liczbę aksonów adrenergicznych, podczas gdy ich odgałęzienia, zwłaszcza w odcinku początkowym były zazwyczaj bogato unerwione. Włókna towarzyszące przebiegały w bliskim sąsiedztwie ścian tętniczek i kończyły się podobnie jak i niektóre aksony pochodzące ze spłotów w odgałęzieniach odchodzących od naczyń „magistralnych” lub w przylegających do nich, bliżej nie określonych kłębkowatych tworach. Lokalizacja tych tworów może sugerować ich udział w regulacji przepływu krwi w oponie miękkiej.

Bogate unerwienie wegetatywne naczyń zaopatrujących OUN, w tym również naczyń opony miękkiej opisali Falck i wsp. (1965), Nielsen, Owman (1967), Borodulya, Pletchkova (1973), Iwayama i wsp. (1970), jednakże jego rola w mechanizmie autoregulacji przepływu krwi jest dotychczas niejasna a częstokroć sporna. Pierwsze doniesienia z lat 20 i 30 bieżącego stulecia wskazywały na wpływ drażnienia szyjnego pnia sympatycznego na zwężenie średnicy tętnicy opony miękkiej. Wpływ pobudzenia tego układu na regulację przepływu krwi w tętnicy szyjnej

wewnętrznej opisali Meyer i wsp. (1967) oraz Krog (1964). Gillespie i Rae (1970) zwracają uwagę na zależność stopnia zwężenia tętnic od grubości ich ścian oraz od bogactwa ich adrenergicznego unerwienia. Powyższe doniesienia udowadniają istotną rolę układu vegetatywnego w mechanizmie autoregulacji zaopatrywania OUN w krew, zwłaszcza w odniesieniu do głównych pni naczyniowych takich jak tętnica szyjna wewnętrzna i jej zewnątrzmożgowe odgałęzienia, tętnice kręgowie oraz tętnica podstawna mózgu. Zdolność regulacji światła tych naczyń na drodze odruchów nerwowych łącznie z innymi parametrami określającymi stan krążenia (pojemność minutowa serca, oraz obwodowe ciśnienie tętnicze) zabezpieczają prawidłowy przepływ mózgowy ale mają ograniczony wpływ na mikrokrażenie w strukturach mózgowych.

W stanach patologicznych, bez względu na rodzaj wywołującego je czynnika, zaburzenia w mikrokrazeniu mózgowym mają zawsze charakter ogniskowy i dotyczą tylko niektórych obszarów OUN (Mossakowski 1974, 1975, Wierzba 1977). Pojawienie się tych nieprawidłowości musi więc być uwarunkowane istnieniem lokalnych mechanizmów naczynioruchowych, w których unerwienie vegetatywne nie odgrywa żadnej, bądź wyraźnie ograniczoną rolę. Przemawia za tym nieznaczna ilość lub całkowity brak aksonów adrenergicznych i cholinergicznym w wewnątrzmożgowych naczyniach krwionośnych. Na podstawie licznych badań nad czynnikami regulującymi krążenie w ośrodkowym układzie nerwowym można przyjąć istnienie dwóch mechanizmów autoregulacji. Jeden z nich działa prawdopodobnie na zasadzie impulsów nerwowych przekazywanych do mięśni gładkich ściany naczyniowej i w zależności od pobudzonej komponenty układu vegetatywnego może wpływać na zwężenie lub rozszerzenie światła tętnic i żył. Drugi, dotyczący regulacji przepływu przez naczynia wewnątrzmożgowe oparty jest na zasadzie miejscowego działania czynników humoralnych i tkankowych. Istotniejszą rolę wydają się tu odgrywać czynniki humoralne obecne w krwi krążącej w stanach prawidłowych i podlegające zmianom ilościowym w warunkach patologicznych (acetylocholina i adrenalina) oraz czynniki pojawiające się wyłącznie w patologii, spośród których należy wymienić obniżenie pO_2 i podwyższenie pCO_2 krwi tętniczej. Czynniki tkankowe, np. zmiany pH mogą ewentualnie ujawniać swój wpływ dopiero po wystąpieniu zaburzeń metabolizmu w ścianach naczyń oraz w przylegającej do nich tkance nerwowej. Oba opisane mechanizmy autoregulacji krążenia mózgowego odnoszą się do naczyń opony miękkiej. Reagują one zmianą światła pod wpływem pobudzenia układu vegetatywnego ale zdolności tej nie tracą po odnerwieniu cholinergicznym i adrenergicznym (Fog 1938). Obserwowany spadek intensywności fluorescencji w warunkach doświadczalnego niedokrwienia i niedotlenienia wska-

zuje na obniżenie zawartości amin katecholowych w adrenergicznych włóknach opony miękkiej. Na podkreślenie zasługuje fakt najwyraźniejszego i najwcześniej pojawiającego się spadku intensywności fluorescencji we włóknach towarzyszących naczyniom oraz tworzących spłoty nerwowe, podczas gdy unerwienie ściany naczyń było stosunkowo najmniej zmienione, zwłaszcza w miejscu ich rozgałęzień.

Obniżenie puli amin katecholowych w warunkach przeprowadzonych badań jest trudne do wytłumaczenia. Wiązać je zapewne należy z osłabieniem szybkości syntezy amin katecholowych spowodowanym niedostatkami tlenu w modelu niedotlenienia hipoksyjnego i niedokrwienia. Niedostatek tlenu wpływa hamująco na syntezę tych mediatorów przez obniżenie aktywności enzymów syntetyzujących ich prekursorów takich jak hydroksylaza 1-tyrozyny i beta-hydroksylaza tryptofanu (Davis, Carlsson 1973) oraz przez aktywację MAO (Brown i wsp. 1974). Niedotlenienie prowadzące do obniżenia zasobów wysokoenergetycznych fosforanów może prowadzić również do zaburzenia mechanizmów magazynowania noradrenaliny (Euler, Lishajko 1969) i do przeciekania neurotransmiterów przez błony komórkowe (Brown i wsp. 1974). Z drugiej strony obniżenie zawartości amin katecholowych w układzie adrenergicznym może prowadzić (pod warunkiem prawidłowej syntezy acetylocholiny) do przewagi układu parasympatycznego a w następstwie do rozszerzenia naczyń krwionośnych. Wydaje się to logiczne zwłaszcza w warunkach niedotlenienia, w którym dzięki mechanizmom autoregulacji krążenia, przepływ mózgowy zwiększa się wielokrotnie.

Nierównomierny spadek intensywności fluorescencji w adrenergicznych włóknach spłotów nerwowych, jako następstwo niedotlenienia lewej półkuli mózgu, może sugerować możliwość ich krzyżowania się. Przemawia za tym brak całkowitego odnerwienia opony miękkiej nad homolateralną półkulą mózgu w stosunku do jednostronnie usuniętego zwoju szyjnego górnego. Istotnym spostrzeżeniem przeprowadzonych badań jest stwierdzenie przynacyniowego pojawienia się silnie fluoryzujących tworów, zwłaszcza w odcinkach wykazujących poszerzenie światła. Wyjaśnienie tego zjawiska charakterystycznego dla zwierząt z obustronnie usuniętymi zwojami wymaga dodatkowych badań.

Р. Гадамски

АДРЕНЭРГИЧЕСКИЕ ВОЛОКНА В МЯГКОЙ ОБОЛОЧКЕ КРЫСЫ
И МОНГОЛЬСКОГО ХОМЯКА ПРИ ГИПОКСИИ, ИШЕМИИ И ДЕНЕРВАЦИИ

Резюме

Исследовали флуоресценцию катехоламинов в мягкой мозговой оболочке животных при экспериментальной гипоксии, ишемии и денервации. Влияние

гипоксии исследовали на крысах, которых подвергали 30-минутной экспозиции в газовой смеси, содержащей 4% O₂ (I опытная группа) и 8% O₂ (II группа). Крыс обезглавливали непосредственно после экспозиции и через 2, 4, 6, 24 и 48 часов после гипоксии. Влияние ишемии исследовали у монгольских хомяков, которым зажимали левую общую сонную артерию на 15 мин, а потом обезглавливали в те же самые сроки, что и животных, подвергнутых гипоксии. У 12 животных (6 хомяков и 6 крыс) удаляли один или с обеих сторон верхний шейный ганглий. Высечки мягкой оболочки приготавливали для исследований в флуоресцентном микроскопе по методу Торре и Сургеона (1976).

В оболочке контрольных животных наблюдали адренэргические волокна в стенках кровеносных сосудов, сопровождающие сосуды, а также волокна, образующие нервные сплетения. У животных, подвергнутых гипоксии, в I группе наблюдали снижение интенсивности флуоресценции, наиболее выраженное через 2 часа и сохраняющееся до 4 часов после гипоксии. В группе II и у монгольских хомяков, подвергнутых ишемии, значительное ослабление флуоресценции наступало только непосредственно после ишемии или гипоксии.

Удаление верхних шейных ганглиев приводило к частичной или полной адренэргической денервации мягкой оболочки.

R. Gadamski

ADRENERGIC FIBERS IN THE RAT AND MONGOLIAN GERBIL PIA MATER IN HYPOXIC HYPOXIA, ISCHEMIA, AND DENERVATION

Summary

The catecholamines fluorescence in the brain pia mater in experimental hypoxia, ischemia and denervation was investigated. The effect of hypoxia was studied in rats which were exposed for 30 min to gas mixture containing 4% of O₂ (I experimental group) or 8% of O₂ (II experimental group). Rats were decapitated immediately after exposure, and 2, 4, 6, 24 and 48 h after hypoxia. The effect of ischemia was investigated in Mongolian gerbils in which left common carotid artery was clamped for 15 min. The animals were decapitated in the same time settings as the animals after hypoxia. In 12 animals (6 gerbils and 6 rats) superior cervical ganglion was removed uni- or bilaterally. The pia mater sections for the fluorescence microscopic studies were prepared according to the method of Torre and Surgeon (1976).

In pia mater of control animals adrenergic fibers were observed in the walls of blood vessels, accompanying the vessels and in the fibers forming neural plexuses. In animals subjected to hypoxia (I group) the most marked decrease of fluorescence intensity was observed in the 2nd h, lasting till the 4th h after hypoxia. In the II group of rats and in the Mongolian gerbils subjected to ischemia significant decrease of catecholamines fluorescence appeared exclusively immediately after ischemia or hypoxia.

Extirpation of the superior cervical ganglia resulted in partial or complete adrenergic denervation of pia mater.

PIŚMIENNICTWO

1. Boroddulya A. V., Pletchkova E. K.: Distribution of cholinergic and adrenergic nerves in the internal carotid artery. *Acta anat.* 1973, 86, 410—425.
2. Brown R. M., Carlsson A., Ljunggren B., Siesjö B. K., Snider S. R.: Effect of ischemia on monoamine metabolism in the brain. *Acta physiol. scand.* 1974, 90, 789—791.
3. Davis J. N., Carlsson A.: The effect of hypoxia on monoamine synthesis levels and metabolism in rat brain. *J. Neurochem.* 1973, 21, 783—790.
4. Euler U. S., Lishajko F.: Effects of some metabolic co-factors and inhibitors on transmitter release and uptake in isolated adrenergic nerve granules. *Acta physiol. scand.* 1969, 77, 298—307.
5. Falck B., Mchedlishvili G. I., Owman C.: Histochemical demonstration of adrenergic nerves in cortex-pia of rabbit. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 1965, 23, 133—142.
6. Falck B., Nielsen K. S., Owman C.: Adrenergic innervation of the pial circulation. *Scand. J. Lab. Clin. Invest.* 1968, 22 Suppl. 102, VI/B.
7. Fog M.: The relationship between the blood pressure and the fonic regulation of the pial arteries. *J. Neurol. Psychiat.* 1938, 1, 187—197.
8. Gilleseppe J. S., Rae R. M.: The response of arteries to nerve stimulation and to noradrenaline and relationship of this to innervation density and wall thickness. *J. Physiol.* 1970, 208, 60—61.
9. Iwayama T., Furness J. B., Burnstock G.: Dual adrenergic and cholinergic innervation of the cerebral arteries of the rat. An ultrastructural study. *Circ. Res.* 1970, 26, 635—646.
10. Krog J.: Anatomic nervous control of the cerebral blood flow in man. *J. Oslo City Hosp.* 1964, 38, 14—25.
11. Krokhhina E. M., Borodulya A. V., Pletchkova E. K.: Cholinergic and adrenergic nerve fibers of terminal plexuses in viscera and blood vessels. Neuro-muscular synapse of vegetative nerves. Theses of reports Int. Congr. Anatomists, Leningrad 1970, p. 103.
12. Mchedlishvili G. I.: Resistography of the isolated internal carotid artery. *Bull. exp. Biol. Med.* 1967, 64, 3—6.
13. Mchedlishvili G. I.: Effect of adrenalin on regional cerebral arteries. *Bull. exp. Biol. Med.* 1960, 49, 10—15.
14. Mchedlishvili G. I., Nikolayshvili L. S.: Cholinergic mechanism of autoregulatory vasodilatation in brain. *Symp. Mechanisms of Neurohumoral Regulation of Vegetative Functions, Leningrad, 1970*, pp. 52—57.
15. Meyer J. S., Gotoh F., Akiyama M. et al.: Monitoring cerebral blood flow, oxygen and glucose metabolism. Analysis of cerebral metabolic disorder in stroke and some therapeutic trials in human volunteers. *Circulation* 1967, 36, 197—211.

16. Mossakowski M. J.: Cerebral microcirculation disorders in experimental circulatory hypoxia. *Neuropat. Pol.* 1974, 12, 573—581.
17. Mossakowski M. J.: Zaburzenia ukrwienia mózgu w ostrym zatruciu tlenkiem węgla. *Neuropat. Pol.* 1975, 13, 241—248.
18. Nielsen K. C., Owman C.: Adrenergic innervation of pial arteries related to the circle of Willis in the cat. *Brain Res.* 1967, 6, 773—776.
19. Owman C., Falck B., Mchedlishvili G. I.: Adrenergic structures of pial arteries and their connections with the brain cortex. *Bull. exp. Biol. Med.* 1965, 59, 98—101.
20. Torre J. C., Surgeon J. W.: A methodological approach to rapid and sensitive monoamine histofluorescence using a modified glyoxylic acid technique. The SPG method. *Histochemistry* 1976, 49, 81—93.
21. Wierzba T.: Wpływ niedotlenienia na mikrokrażenie w mózgu szczura. *Neuropat. Pol.* 1977, 15, 183—191.

Adres autora: Zespół Neuropatologii, Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, ul. Dworkowa 3, 00-784 Warszawa.

EUGENIA TARNOWSKA-DZIDUSZKO, DANUTA MARKIEWICZ,
LUCYNA SZEMIS

MORFOLOGIA ŚRÓDMIAŻSZOWYCH NACZYŃ KRWIONOŚNYCH MÓZGU W PRZEWLEKŁYM ALKOHOLIZMIE

Zakład Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego, Warszawa
Kierownik: doc. dr med. J. Dymecki

W pracach morfologicznych i doświadczalnych od dawna dyskutuje się wpływ alkoholu i/lub jego produktów przemiany na rozwój zmian zwyrodnieniowych w ścianie naczyniowej. Do 1904 roku panowało przekonanie, że długotrwały alkoholizm przyczynia się do rozwoju stwardnienia tętnic i miażdżycy dużych naczyń (Pentschew 1958). Punktem zwrotnym stała się praca Cabota (1904), który doniósł, że zmiany te nie występują częściej u alkoholików niż u abstynentów. Wyniki późniejszych prac (Neubürger 1931, Hunter 1932, Raab i Friedmann 1936 i inni), jak i badania własne pozwoliły Aschoffowi (1939) na twierdzenie, że alkohol wręcz przeciwdziała wystąpieniu zmian miażdżycowych. Znane są również prace, w których podkreśla się zarówno uszkodzenie śródbłonna jak i przerost elementów włóknistych w ścianie naczyniowej (Okhuma 1930, Wichert i Dreszer 1931, Malamud i Skillicorn 1956, Neubürger 1957, Seitelberger i Gross 1962, Majdecki 1964). Znając zaś szybkie przechodzenie alkoholu przez ścianę naczyniową (Gabryel 1963) wydaje się, że jego wpływ toksyczny nie powinien budzić wątpliwości. Zmienność poglądów na rolę alkoholu i/lub jego produktów przemiany w pojawianiu się zmian zwyrodnieniowych w ścianie naczyń mózgowych skłoniła nas do podjęcia odpowiednich badań.

Celem pracy była ocena nasilenia zmian zwyrodnieniowych w ścianie tętnic śródmiaższowych u przewlekłych alkoholików dla ustalenia ewentualnego toksycznego wpływu alkoholu na rozwój tych zmian.

MATERIAŁ I METODY

Materiał pochodzi ze zbiorów Zakładu Neuropatologii I. P. i obejmuje 36 przypadków sekcyjnych chorych nadużywających przewlekłe alkoholu, zmarłych w różnych szpitalach psychiatrycznych. Grupa kontrolna

*) Praca finansowana w ramach Funduszu Celowego dla Badań nad Alkoholizmem.

składa się również z 36 przypadków chorych w tym samym przedziale wieku nie nadużywających alkoholu. W obu grupach z badań wyłącznie przypadki ze współistnieniem nadciśnienia tętniczego krwi bądź cukrzycy, w celu wyeliminowania wpływu tych schorzeń na rozwój zmian zwyrodnieniowych w ścianie naczyń.

W oparciu o znane z piśmienictwa wyniki badań dotyczących nasilenia i rozpowszechnienia zmian stwardnieniowych w naczyniach śródmiąższowych mózgu (Baker i Jannone 1959, Baker i wsp. 1961, Dąbaska i wsp. 1963), postanowiono przeprowadzić badanie w 2 grupach wieku: od 30 do 50 roku życia, to jest w okresie, w którym nasilenie zmian zwyrodnieniowych jest stosunkowo niewielkie oraz w przypadkach powyżej 50 roku życia. Liczebność w obu grupach była jednakowa.

Do badania mikroskopowego pobrano wycinki mózgowia z okolicy czołowej, ciemieniowej, potylicznej, amonalnej oraz z jąder podstawy. Po zatopieniu w parafinie skrawki barwiono metodami: van Gieson, HE, Bielschowsky'ego, a w poszczególnych przypadkach Perdrau'a.

Do oceny nasilenia zmian w naczyniach śródmózgowych zastosowano 5-ciestopniową skalę, opracowaną w oparciu o materiał własny (Tarnowska-Dziduszko 1967), przy uwzględnieniu zasad proponowanych dla naczyń o kalibrze 150—600 μ i ponad 600 μ , przez Światową Federację Neurologii (1959):

Naczynia o średnicy 0—25 μ : I^o — nieznaczne pogrubienie ściany włóscizki z pojawieniem się włókienek srebrochłonnych; II^o — nieznaczne pogrubienie ściany włóscizki z pojawieniem się elementów kolagenowych bez zwężenia światła (ryc. 1); III^o — znaczny rozplam elementów kolagenowych ze zwężeniem światła (ryc. 2); IV^o — zupełne zwłóknienie (zeszklwienie, zwapnienie) ściany włóscizki zwężające światło naczynia (ryc. 3).

Naczynia o średnicy 25—150 μ : I^o — nieznaczny rozplam elementów kolagenowych w obrębie błony środkowej; II^o — umiarkowany rozplam łącznotkankowy nie zwężający światła naczynia (ryc. 4); III^o — rozplam włókien kolagenowych dużego stopnia z przebudową ściany naczynia, zastąpienie znacznej części włókien mięśniowych przez włókna łącznotkankowe, z niewielkim zwężeniem światła (ryc. 5); IV^o — całkowite zwłóknienie, zeszkliwienie lub zwapnienie ściany naczynia, zwężające jego światło (ryc. 6).

Naczynia o średnicy 150—600 μ : I^o — niewielkie zgrubienia przydanki na pewnym odcinku lub wokół całego naczynia; II^o — rozplam w zewnętrznych warstwach przydanki z wnikaniem włókien kolagenowych w tkankę otaczającą; szerokość przydanki dochodzi lub przekracza szerokość niezmiętej błony mięśniowej (ryc. 7); III^o — rozplam

przydanki z częściowym zwłóknieniem i ścieńczeniem błony mięśniowej; szerokość błony mięśniowej wynosi około 1/3 szerokości ściany naczynia (ryc. 8); IV^o — pełne zwłóknienie zeszkliwienie, zwapnienie ściany naczynia z zanikiem błony mięśniowej (ryc. 9).

Ryc. 1—3. Włośniczki o średnicy 0—25 μ .

Fig. 1—3. Capillaries 0—25 μ in diameter

Ryc. 1. Nieznaczne pogrubienie ściany naczynia z nielicznymi włóknami kolagenowymi, bez zwężenia światła. II^o zmian. v. Gieson. Pow. 200 \times

Fig. 1. Slight thickening of vascular wall. Few collagen fibers, vascular lumen unchanged. II^o of changes. v. Gieson. \times 200

Ryc. 2. Znaczny rozplem włókien kolagenowych, zwężenie światła naczynia. III^o zmian. v. Gieson. Pow. 200 \times

Fig. 2. Marked proliferation of collagen fibers, narrowing of capillary lumen. III^o of changes. v. Gieson. \times 200

Ryc. 3. Zeszkliwienie ściany, zwężenie światła naczynia. IV^o zmian. v. Gieson. Pow. 200 \times

Fig. 3. Hyalinisation of capillary wall, narrowing of vascular lumen. IV^o of changes. v. Gieson. \times 200

Ryc. 4—6. Tętniczki o średnicy 25—150 μ

Fig. 4—6. Arterioles 25—150 μ in diameter.

Ryc. 4. Umiarkowany rozplem tkanki łącznej, światło naczynia niezmiennione. Rozluźnienie tkanki okołonaczyniowej. II^o zmian. v. Gieson. Pow. 200 \times

Fig. 4. Moderate proliferation of connective tissue, vascular lumen unchanged. Rarefaction of perivascular tissue. II^o of changes. \times 200

Ryc. 5. Znaczny rozplem włókien kolagenowych z przebudową ściany naczynia. Zastąpienie dużej liczby włókien mięśniowych przez włókna tkanki łącznej, niewielkie zwężenie światła naczynia. Rozluźnienie tkanki okołonaczyniowej. III^o zmian. v. Gieson. Pow. 200 \times

Fig. 5. Marked proliferation of collagen fibers, rebuilding of vascular wall. Replacement of large number of muscle fibers by the connective tissue fibers, slight narrowing of vascular lumen. Rarefaction of perivascular tissue. III^o of changes. v. Gieson. \times 200

Ryc. 6. Zeszkliwienie ściany tętniczki, zwężenie światła naczynia. IV^o zmian. v. Gieson. Pow. 200 \times

Fig. 6. Hyalinisation of arteriolar wall, narrowing of vascular lumen. IV^o of changes. v. Gieson. \times 200

Ryc. 7—9. Tętnice o średnicy 150—600 μ

Fig. 7—9. Arteries 150—600 μ in diameter.

Ryc. 7. Rozplem zewnętrznej warstwy przydanki, wnikanie włókien kolagenowych w otaczającą tkankę. Szerokość przydanki dorównuje szerokości niezmiennionej błony mięśniowej. II^o zmian. v. Gieson. Pow. 200 \times

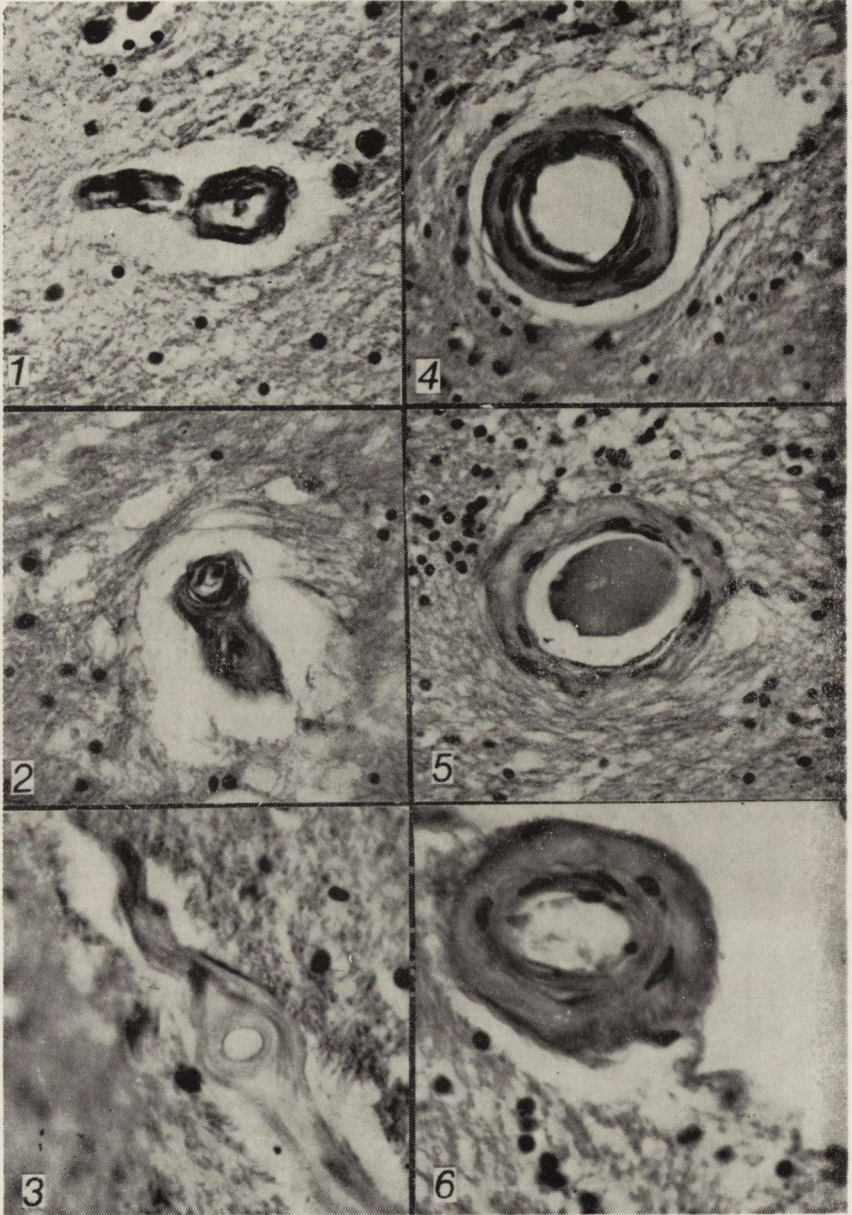
Fig. 7. Proliferation of outer layer of adventitia. Collagen fibers penetrate into surrounding tissue. The width of adventitia is equal to the width of unchanged *tunica muscularis*. II^o of changes. v. Gieson. \times 200

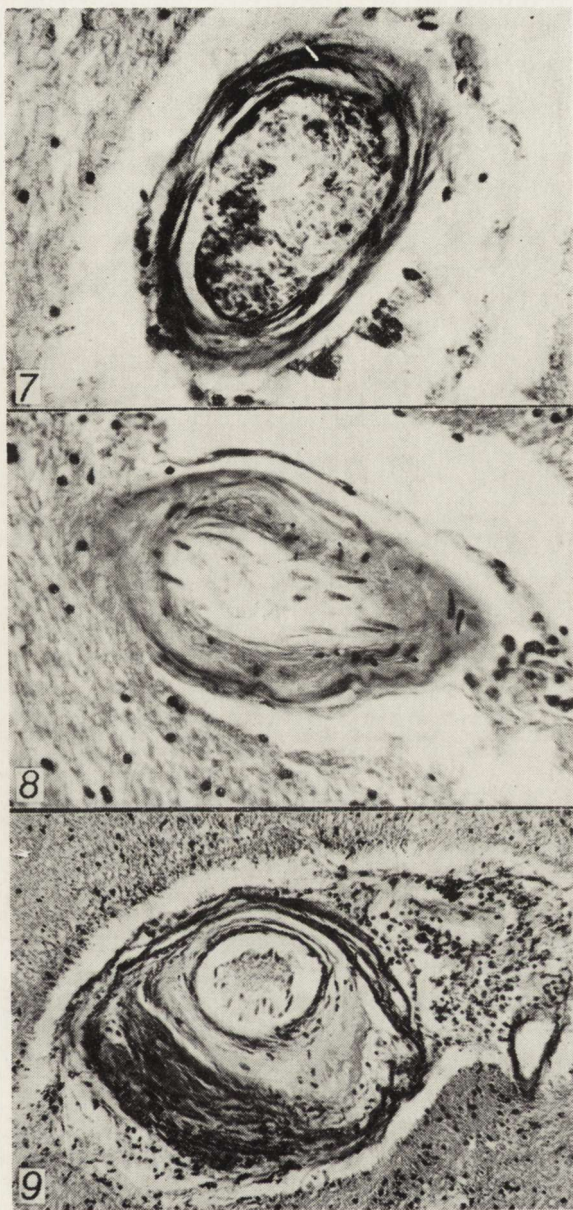
Ryc. 8. Rozplem przydanki, częściowe zwłóknienie i ścieńczenie błony mięśniowej. III^o zmian. v. Gieson. Pow. 200 \times

Fig. 8. Proliferation of adventitia, partial fibrosis and thinning of *tunica muscularis*. III^o of changes. v. Gieson. \times 200

Ryc. 9. Rozplem włókien kolagenowych przydanki, zeszkliwienie błony środkowej prowadzące do zwężenia światła naczynia. Rozluźnienie tkaniny otaczającej tkanki. IV^o zmian. v. Gieson. Pow. 60 \times

Fig. 9. Proliferation of collagen fibers of adventitia and hyalinisation of *tunica media*, narrowing of vascular lumen. Rarefaction of surrounding tissue. IV^o of changes. v. Gieson. \times 60





Tak więc natężenie zmian patologicznych w ścianach naczyń określano na drodze porównawczej, uwzględniając stopień jej pogrubienia w stosunku do średnicy światła naczynia oraz stopień zmniejszenia ilości jej składników prawidłowych na korzyść włóknistej tkanki łącznej (ryc. 1—9). O zakwalifikowaniu natężenia zwyrodnienia naczyń w badanej strukturze mózgu decydowała częstość występowania danego stopnia uszkodzenia, przy czym odrębnie oceniano tętnice w całej korze mózgowej, w istocie białej oraz w jądrach podstawy.

WYNIKI

W materiale badanych 36 przypadków było 30 mężczyzn i 6 kobiet zmarłych w wieku od 31 do 70 lat. Średnia wieku wynosiła 51 lat. Zgodnie z założeniami pracy materiał podzielono na 2 grupy w zależności od wieku.

Charakterystyka grupy I

Grupa I obejmowała 18 chorych w wieku od 31 do 50 lat. (Średnio 41 lat). U 12 chorych anamnestycznie ustalono okres nadużywania alkoholu, który wahał się od 9 do 29 lat (średnio 17 lat). W przebiegu nałogu u 15 chorych występowało ostre majaczenie alkoholowe, w tym u 5 — dwukrotnie, a u 1 — czterokrotnie.

Badaniem psychiatrycznym u wszystkich chorych stwierdzono zespół psychoorganiczny, u 16 w połączeniu z charakteropatią alkoholową, u 3 z ciężkim otępieniem. W stanie neurologicznym u 8 chorych stwierdzono rozsiane objawy uszkodzenia o.u.n., zespół mózdkowy obserwowano w 5 przypadkach, u 1 osoby obecne było alkoholowe uszkodzenie nerwów obwodowych. Napady padaczkowe typu grand mal występowały u 4 chorych.

Przyczyną zgonu w 14 przypadkach było ostre majaczenie alkoholowe powikłane w 7 przypadkach zapaleniem płuc. U pozostałych chorych wystąpił krwotok mózgowy podtwardówkowy (3 przyp.) bądź podpajęczynówkowy (1 przyp.).

Badaniem sekcyjnym w 10 przypadkach stwierdzono marskość i stłuszczenie wątroby, w 4 — uszkodzenie mięszu nerek, w 12 — zmiany zwyrodnieniowe mięśnia sercowego oraz w 5 przypadkach owrzodzenie żołądka i/lub dwunastnicy.

Badanie makroskopowe mózgu wykazało w 10 przypadkach zanik, a w 8 obrzęk mózgu. Miażdżycę w naczyniach podstawy stwierdzono tylko w 1 przypadku.

Charakterystyka grupy II

Grupa II obejmowała 18 osób w wieku od 51 do 70 lat (średnio 62 lata). U chorych nadużywanie alkoholu trwało od 25 do 50 lat (średnio 30 lat). Pozostali chorzy nadużywali alkoholu od wielu lat, w wywiadzie spotyka się sformułowania: „zawsze”, „od dawna”. Ilość jednorazowo spożywanego alkoholu jak i częstość nadużywania przez tego samego chorego, podobnie jak w grupie I, była zmienna: „kilka kieliszków do 1 litra — kilka razy w miesiącu, okresami, codziennie itp. W przebiegu nałogu u 5 chorych występowało ostre majaczenie alkoholowe, z tego u 1 chorego dwukrotnie. Przewlekłą psychozę alkoholową miało 3 chorych. Zespół urojeniowy występował u 4 chorych. We wszystkich przypadkach stwierdzono zespół psychoorganiczny: w 14 przypadkach ze znacznym otępieniem, który w 3 przypadkach naśladował psychozę przedstarczą, a w 1 — psychozę starczą. U 11 chorych stwierdzono charakteropatię alkoholową. W stanie neurologicznym dominowały rozsiane objawy uszkodzenia o.u.n. (10 przyp.), u 2 chorych stwierdzono polineuropatię alkoholową. Przyczyną zgonu u 6 chorych było ostre majaczenie alkoholowe, 2 osoby zmarły w przebiegu klinicznie nie rozpoznanego krwotoku podtwardówkowego, dwie — w przebiegu rozmiękania w półkuli mózgu (1 przyp.) i spoidła wielkiego (1 przyp.). Zapalenie płuc spowodowało zejście śmiertelne 6 chorych. U 2 chorych wystąpiła ostra niewydolność krążenia.

Badaniem sekcyjnym w 15 przypadkach stwierdzono stłuszczenie i marskość wątroby, zwyrodnienie mięśnia sercowego w 7, uszkodzenie miąższu nerek w 10, owrzodzenie żołądka i/lub dwunastnicy w 10 przypadkach.

Badanie makroskopowe mózgu wykazało zanik najczęściej uogólniony w 16 przypadkach, obrzęk mózgu w 8, zmiany miażdżycowe w naczyniach podstawy u 10 chorych.

Charakterystyka grupy kontrolnej

W grupie 36 przypadków kontrolnych było 16 mężczyzn i 20 kobiet zmarłych w wieku od 31 do 70 lat. Średnia wieku wynosiła 52 lata. Materiał kontrolny podzielono również na 2 grupy.

Grupa I kontrolna obejmowała 18 chorych w wieku od 33 do 50 lat (średnio 41 lat). Przyczyną zgonu w 10 przypadkach było rozmiękanie, u 2 chorych krwotok mózgu, w pozostałych przypadkach porażenie poprzeczne rdzenia, zapalenie gruczlicze opon mózgowo-rdzeniowych.

Grupa II kontrolna obejmowała 18 chorych w wieku od 51 do 70 lat (średnio 64 lata). Przyczyną zgonu w 8 przypadkach było rozmiękanie,

w 2 krwotok mózgowy, w pozostałych zapalenie płuc w przebiegu zespołu psychoorganicznego lub choroby zwyrodnieniowej o.u.n.

Badanie sekcyjne materiału kontrolnego wykazało w 20 przypadkach zmiany zwyrodnieniowe mięśnia sercowego, u 7 chorych uszkodzenie miąższu nerek, u 10 — marskość i stłuszczenie wątroby.

Badanie makroskopowe mózgu wykazało w 19 przypadkach zanik najczęściej uogólniony, w 12 obrzęk mózgu, w 20 przypadkach zmiany miażdżycowe w naczyniach podstawy.

OMÓWIENIE

W badanych grupach chorych nadużywających alkoholu i nie obciążonych nałogiem nie znaleźliśmy ani jednego przypadku, w którym układ naczyń śródmiąższowych nie byłby objęty zmianami zwyrodnieniowymi, chociaż nasilenie zmian stwardnieniowych w ścianach naczyń w różnych okolicach mózgu, a nawet w poszczególnych naczyniach tej samej struktury kształtowało się różnorodnie. Zmiany występowały w naczyniach różnego kalibru. W przeważającej liczbie przypadków większość naczyń oceniana w danej strukturze była objęta procesem zwyrodnieniowym. Włośniczki i drobne tętniczki najczęściej były uszkodzone w I i II warstwie kory i w okolicy podwyściółkowej.

W grupie „alkoholowej” młodszej wiekiem, w której nadużywanie alkoholu trwało przeciętnie 17 lat, przebudowa włóknista ścian włośniczek i tętniczek w korze była dużo bardziej nasiloną niż w naczyniach tego samego kalibru w grupie kontrolnej. Nasilenie zmian stwardnieniowych w zależności od kalibru naczyń w poszczególnych strukturach mózgu ilustruje tabela 1.

W 21 przypadkach alkoholików obserwowano zwłóknienie: włośniczek (III^o zmian) w 13 przypadkach i tętniczek w 8 przypadkach. W grupie kontrolnej pełnej przebudowy włóknistej włośniczek nie obserwowano w żadnym przypadku, a tylko w 3 przypadkach występowało zwłóknienie tętniczek. Przewaga nasilenia zmian w grupie „alkoholowej” w stosunku do grupy kontrolnej uwidacznia się również w naczyniach istoty białej. Naczynia o przekroju poniżej 150 μ były bardziej zmienione stwardnieniowo w stosunku do tętnic o średnicy ponad 150 μ . We włośniczkach i tętniczkach często pojawiały się włókna srebrochłonne (II^o zmian) i narastała kolagenowa przebudowa (III^o zmian) ich ściany, którą obserwowano w 14 i 18 przypadkach w grupie I, a tylko w 6 i 12 przypadkach w grupie kontrolnej.

Różnice w nasileniu zmian zwyrodnieniowych ścian naczyń w zależności od ich kalibru zacierają się w obrębie jąder podstawy w obu badanych grupach. W strukturach tych możemy zaobserwować nieco częś-

Tabela 1. Nasilenie zmian stwardnieniowych w naczyniach ośn zależnie od ich średnicy (przypadki w wieku 36—50 lat)
Table 1. Intensity of cerebral arteriosclerotic changes according to vessel's diameter in alcoholic and control group
 (cases in age 36—50 years)

Stopień nasilenia zmian Intensity of changes	Kora Cortex				Istota biała White matter				Jądra podstawy Basal ganglia			
	kaliber naczyń			razem total	kaliber naczyń			razem total	kaliber naczyń			razem total
	> 25 μ	25—150 μ	< 150 μ		> 25 μ	25—150 μ	< 150 μ		> 25 μ	25—150 μ	< 150 μ	
Grupa badana Examined group												
I°	1	0	10	11	1	0	8	9	2	0	1	3
I°	0	1	4	5	3	0	6	9	3	2	1	6
II°	4	8	3	15	10	14	2	26	6	5	7	18
III°	13	8	1	22	4	4	1	9	5	8	7	20
IV°	0	1	0	1	0	0	1	1	2	3	2	7
Razem Total	18	18	18	54	18	18	18	54	18	18	18	54
Grupa kontrolna Control group												
0°	3	4	8	15	4	4	4	12	1	1	4	6
I°	6	4	6	16	8	2	3	13	2	0	1	3
II°	9	7	4	20	4	9	7	20	8	10	7	25
III°	0	3	0	3	2	3	3	8	5	5	6	16
IV°	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	0	4
Razem	18	18	18	54	18	18	18	54	18	18	18	54

ciej większe nasilenie zmian stwardnieniowych w tętniczkach (11 przyp.) i tętnicach o przekroju powyżej 150 μ (9 przyp.) niż w grupie kontrolnej: (w tętniczkach w 7 przypadkach, w tętnicach w 6 przypadkach).

W grupie „alkoholowej” starszej wiekiem, obejmującej przypadki o średniej wieku 62 lata, w której nadużywanie alkoholu trwało przeciętnie 30 lat, zmiany stwardnieniowe w korze i istocie białej były bardziej nasilone we włóściczkach i tętniczkach o średnicy powyżej 150 μ . Jednak zmiany te zdecydowanie częściej występowały w grupie kontrolnej nie obciążonej nałogiem. W obrębie jąder podstawy pełne zwłóknienie i zeszkliwienie (IV^o zmian) włóściczek, tętniczek i tętnic ze zwężeniem ich światła występuje w większej liczbie przypadków w grupie kontrolnej (27 przyp.) niż w grupie „alkoholowej” (8 przyp.) Przebudowę włóknistą (III^o zmian) włóściczek i tętniczek częściej obserwuje się w grupie „alkoholowej” (17 przyp.) niż w grupie kontrolnej (8 przyp.).

Nasilenie zmian stwardnieniowych w badanych grupach w zależności od kalibru naczyń w poszczególnych przypadkach i strukturach mózgu ilustruje tabela 2.

W materiale chorych obciążonych nałogiem alkoholowym miażdżycę w naczyniach o średnicy powyżej 600 μ , w oponach i jądrach podstawy obserwowano w grupie młodszej wiekiem w 11 przypadkach, z tym że blaszki miażdżycowe tylko w minimalnym stopniu zwężyły światło naczyń. Jedynie w grupie starszej wiekiem w oponach (5 przyp.), jak i w jądrach podstawy (9 przyp.) występowało znaczne zmniejszanie światła naczyń. W grupie kontrolnej młodszej wiekiem zmiany miażdżycowe w naczyniach występowały w takiej samej liczbie przypadków (11 przyp.) co w grupie „alkoholowej”, były bardziej nasilone w obrębie naczyń jąder podstawy. W grupie starszej wiekiem miażdżycza występowała prawie u wszystkich chorych (16 przyp.); często obserwowano znaczne zwężenie światła i pogrubienie naczyń (11 przyp.).

Należy podkreślić, że uszkodzenie ściany włóściczek i tętniczek w grupie „alkoholowej” młodszej wiekiem jest bardziej nasilone niż w grupie kontrolnej. Przebudowa włóknista tych naczyń odpowiada zmianom obserwowanym w starzeniu się układu naczyniowego (Scholz 1938, Seitelberger 1954, Hassler 1965 i inni) i może świadczyć o zakłóconym metabolizmie kwaśnych mukopolisacharydów substancji podstawowej tkanki łącznej naczyń (Hausz i wsp. 1962, Kunz 1975 i inni). Jest zagadnieniem otwartym jak dalece może ono być wywołane przez bezpośrednie działanie alkoholu i jego produktów przemiany na ścianę naczynia lub w jakim stopniu zakłócona czynność wątroby przyczynia się do zmian metabolizmu ściany naczyniowej.

W naszym materiale obserwowaliśmy częste występowanie stłuszczenia i marskości wątroby. Nie brak jednak i prac, które wskazują na

Tabela 2. Nasilenie zmian stwardnieniowych w naczyniach oun zależnie od ich średnicy w grupie alkoholowej i kontrolnej (powyżej 50 lat)

Table 2. Intensity of cerebral arteriosclerotic changes according to vessel's diameter in alcoholic and control group (above 50 years)

Stopień nasilenia zmian Intensity of changes	Kora Cortex				Istota biała White matter				Jądra podstawy Basal ganglia			
	kaliber naczyń			razem total	kaliber naczyń			razem total	kaliber naczyń			razem total
	> 25 μ	25—150 μ	< 150 μ		> 25 μ	25—150 μ	< 150 μ		> 25 μ	25—150 μ	< 150 μ	
Grupa badana Examined group												
0°	0	0	4	4	0	0	1	1	0	0	0	0
I°	0	1	8	9	2	1	9	12	2	0	1	3
II°	5	9	3	17	8	11	7	26	4	7	6	17
III°	12	6	3	21	7	6	1	14	9	8	9	26
IV°	1	2	0	3	1	0	0	1	3	3	2	8
Razem	18	18	18	54	18	18	18	54	18	18	18	54
Grupa kontrolna Control group												
0°	0	0	6	6	0	0	0	0	0	0	0	0
I°	0	0	4	4	0	0	1	1	0	0	1	1
II°	1	4	4	9	3	3	10	16	4	2	2	8
III°	7	6	4	17	6	7	6	19	5	3	10	18
IV°	10	8	0	18	9	8	1	18	9	13	5	27
Razem	18	18	18	54	18	18	18	54	18	18	18	54

zmniejszenie się procesu zwyrodnieniowego w ścianie naczyń w przebiegu marskości wątroby, która doprowadza do obniżenia produkcji endogennej homocysteiny (Mc Cully 1969, 1970, Kunz 1975 i inni). W grupie starszej wiekiem proces nasilenia zmian zwyrodnieniowych w ścianie naczyniowej u alkoholików jest mniejszy niż w przypadkach nie obciążonych nałogiem. Ta rozbieżność jest szczególnie wyraźna w nasileniu zwłóknienia i zeszkliwienia ściany naczyniowej włóściczek tętniczek i tętnic ze znacznym zwięzieniem ich światła w naczyniach jąder podstawy. Zmiany miażdżycowe w naczyniach jąder podstawy o średnicy powyżej 600 μ były również większe w grupie kontrolnej starszej wiekiem.

WNIOSKI

Z przeprowadzonych badań wynika, że nadużywanie alkoholu nasila zmiany zwyrodnieniowe w ścianie naczyń włosowatych i drobnych tętnic w okresie do 50 roku życia, natomiast w wieku późniejszym nasilenie zmian w porównaniu z grupą kontrolną jest nieco mniejsze.

Zwłóknienie ścian naczyniowych wyraźnie przeważa nad zeszkliwieniem, które spotyka się bardzo rzadko.

W tętnicach o średnicy powyżej 600 μ zmiany miażdżycowe u pacjentów nadużywających alkoholu spotyka się rzadziej, szczególnie w grupie starszej wiekiem.

E. Tarnowska-Dziduszko, D. Маркевич, Л. Шемис

МОРФОЛОГИЯ ЭНДОПАРЕНХИМАТОЗНЫХ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ МОЗГА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ АЛКОГОЛИЗМЕ

Резюме

Целью работы была оценка интенсивности дегенеративных изменений в стенке эндотелиальных артерий, развивающихся под влиянием токсического действия алкоголя.

Материал охватывал 36 случаев секции больных, хронически злоупотреблявших алкоголем, и 36 контрольных случаев в тех же самых возрастных категориях.

Согласно результатам эпидемиологических исследований Бейкера и др. (1959) материал поделили на 2 группы: больных от 31 до 50 лет, а также от 51 до 70 лет.

В группе молодых больных повреждение капилляров и артериол было более интенсивным, чем в контрольной группе. Фиброзные изменения этих сосудов соответствуют изменениям, наблюдаемым в мозгу стареющих людей.

В группе старших больных интенсивность дегенеративных изменений в сосудистой стенке меньше, чем в группе неалкоголиков. Различия являются особенно четкими при развитии полного фиброза и гиалоза сосудистой стенки капилляров, артериол и артерий с сужением просвета в сосудах ядер основания.

Склеротические изменения в артериях с диаметром выше 60 мк в ядрах основания были также более четкими в контрольной группе старшего возраста.

На основании полученных результатов возникает предположение, что злоупотребление алкоголем усиливает дегенеративные изменения в стенке капилляров и мелких артерий в период до 50 года жизни, а в более позднем возрасте интенсивность изменений по сравнению с контрольной группой несколько меньше.

Фиброз сосудистых стенок явно превышает гиалоз, который встречается очень редко.

Авторы обсудили возможный механизм наблюдаемых изменений.

E. Tarnowska-Dziduszko, D. Markiewicz, L. Szemis

MORPHOLOGY OF PARENCHYMAL CEREBRAL BLOOD VESSELS IN CHRONIC ALCOHOLISM

Summary

The aim of the study was the evaluation of degenerative changes in the walls of parenchymal arterial vessels resulting from the toxic action of alcohol.

Material consisted of 36 sectioned cases of patients abusing alcohol chronically and of 36 control cases in the same age range.

According to the epidemiological study of Baker (1959) the material has been divided into two groups: the cases aged 31—50 years and 51—70 years old.

In the group of younger cases the damage to capillaries and arterioles was more advanced than that in the control group. Fibrous changes in the vessels corresponded to the changes observed in brains of aging people.

In the group of older cases the degenerative changes in vascular walls were less intense than in the control group. The differences were particularly evident due to advanced fibrosis and hyalinisation of vascular walls of capillaries, arterioles and arteries with concomitant narrowing of their lumina in the basal ganglia.

Atheromatic changes in basal ganglia arteries larger than 600 μ in diameter were more advanced also in the group of older control cases. It seems that the abuse of alcohol enhances the degenerative changes in the walls of capillaries and small arteries up to 50 years of life; in older age the intensity of changes was minor than in the control group. Fibrosis of vascular walls exceeds hyalinisation which is observed only exceptionally.

The authors discuss the possible pathomechanism of described changes.

PIŚMIENICTWO

1. Aschoff L.: Über Arteriosklerose. Verh. Dtsch. Ges. Med. 1939, (cyt. za Pentschewem 1958).
2. Baker A. B., Iannone A.: The smaller intracerebral arteries. Neurology 1959, 9, 391—396.
3. Baker A. B., Kinnard J., Iannone A.: Role of nutritional factors. Neurology 1961, 11, 380—395.
4. Cabot R. C.: The relation of alcohol to arteriosclerosis. J. Amer. Assoc. 1904, 43, 774 (cyt. za Pentschewem 1958).

5. Dąbska M., Iwanowski L., Kraśnicka Z., Majdecki T., Mandybur T., Mossakowski M. J., Wiśniewski H.: Badania nad miażdżycą naczyń mózgowych. *Neuropat. Pol.* 1963, 2, 49—99.
6. Gabryel P.: Właściwości morfologiczne naczyń włosowatych w ośrodkowym układzie nerwowym. *Neuropat. Pol.* 1963, 2, 25—47.
7. Hassler O.: Elastic tissue contents of the medial layer of the cerebral arteries. Differences between younger and adult individuals. *Virchows Arch. Path. Anat.* 1962, 335, 34—42.
8. Hassler O.: Vascular changes in senile brains. *Acta neuropath. (Berl)*. 1965, 5, 40—53.
9. Hauss W. H., Junge-Hülsing G., Holländer H. J.: Changes in metabolism of connective tissue associated with aging and arterio- or atherosclerosis. *J. Atheroscl. Res.* 1962, 2, 50—62.
10. Hunter A.: Longevity and mortality as affected by the use of alcohol. W: *Alcohol and man*. MacMillan, New York 1932, 327.
11. Kunz J.: *Pathologie der Arterienwand*. VEB—Verlag Volk und Gesundheit. Berlin 1975.
12. Majdecki T.: Zmiany w mózgu w alkoholizmie przewlekłym z uwzględnieniem miażdżycy naczyń. *PTL*, 1964, 31, 1188—1191.
13. Malamud N., Skillicorn S. A.: Relation between the Wernicke and the Korsakow syndrome. *A. M. A. Archiv. Neurol. Psychiat. (Chic)*. 1956, 76, 585—596.
14. Mc Cully K. S.: Vascular pattern of homocysteinemia; Implications on the pathogenesis of arteriosclerosis. *Amer. J. Path.* 1969, 56, 111—128.
15. Mc Cully K. S.: Importance of homocysteinemia induced abnormalities of proteoglycan structure in arteriosclerosis. *Amer. J. Path.* 1970, 59, 181—193.
16. Neubürger K.: Über Hirn-veränderungen nach Alkoholmissbrauch. *Z. Neurol.* 1931, 135, 159—209.
17. Neubürger K.: The changing neuropathologic picture of chronic alcoholism. *A.M.A. Arch. Pathol.* 1957, 63, 1—6.
18. Okhuma T.: Zur pathologischen Anatomie des chronischen Alkoholismus. *Z. Neurol.* 1930, 126, 94—128.
19. Pentschew A.: *Aethylalkoholvergiftung*. W: *Hdb spez. path. Anatom. Histol.* Springer—Berlin 1958, 13/2B, 2214—2262.
20. Raab W., Friedmann R.: Das Verhalten des Kreislauforgane bei "Vegetariannen" und Alkoholikern. *Zschr. Klin. Med.* 1936, 130, 505—509.
21. Scholz W.: Studien zur Pathologie der Hirngefäße. *Z. Neurol. Psychiat.* 1933, 162, 694—715.
22. Seitelberger F.: Zur pathologischen Anatomie der cerebralen Gefässerkrankungen des höheren Lebensalters. *Wien. Z. Nervenheilk.* 1954, 9, 109—117.
23. Seitelberger F., Gross H.: Zur Neuropathologie des Alkoholismus. W: *Arbeitstagung über Alkoholismus Wien*, 1—3 October 1962, 12—30.
24. Tarnowska-Dziduszko E.: Badania morfologiczne mózgu w psychozach wieku podeszłego. *Rozprawa doktorska*, 1967, Instytut Psychoneurologiczny w Warszawie.
25. Wichert F., Dreszer R.: Histopatologia ośrodkowego układu nerwowego w alkoholizmie. *Rocznik Psychiatryczny* 1931, 16, 51—64.
26. World Federation of Neurology — Collaborative study of epidemiological factors in cerebrovascular disease, Antwerpen, 1959.

Adres autorki: Zakład Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego, Al. Sobieskiego 1/9, 02-957 Warszawa.

JERZY KULCZYCKI, TADEUSZ MAJDECKI

DIE AKUT VERLAUFENDE PANENCEPHALITIS

Neurologische Klinik der Pommerschen Medizinischen Akademie, Szczecin
Direktor: Prof. Dr. M. Jarema
Neuropathologisches Institut, Zentrum für Experimentelle und Klinische Medizin
der Polnischen Akademie der Wissenschaften, Warszawa
Direktor: Prof. Dr. M. J. Mossakowski

Vom Anfang der fünfzigen Jahre — hauptsächlich infolge bekannter Veröffentlichung von Martin und Mitarb. (1950) — verbreitete sich unter den Neuropathologen und Klinikern die Überzeugung, dass die *Encephalitis inclusiva Dawsoni*, die *Panencephalitis Pette-Döring* und die *Leucoencephalitis van Bogaerti* in Wirklichkeit eine nosologische Einheit darstellen. Diese Meinung wurde in den letzten Jahren durch neue Ergebnisse der Virologie und Immunologie kräftig unterstützt. Gleichzeitig aber mit zunehmend ansteigender Zahl neuer Beobachtungen erschien im Bereich dieser sogenannten subakuten sklerotisierenden Panencephalitis, bedeutende klinische und neuropathologische Variabilität, welche zu Unterscheidung bestimmter, charakteristischer Verlaufsfornen führte. Unter den letzten interessiert uns besonders die akute Form der SSPE und nicht nur deswegen, dass dieser Begriff eine echte „*Contradictio in adiecto*“ enthält.

Zu dieser Gruppe gehört freilich ein von uns beobachteter Fall.

FALLBESCHREIBUNG

Ein 16-jähriger, sich vollkommen gesund fühlender Junge arbeitete Abend desselben Tages entwickelten sich bei dem Jungen Lähmungen der Vater taumelndes Gehen und sonderbares Benehmen des Sohnes. Am Abend desselben Tages entwickelten sich bei dem Jungen Lähmungen der unteren Extremitäten. Am dritten Krankheitstage, während seiner Überweisung in die neurologische Klinik war der Patient verlangsamt, desorientiert, hatten einen horisontalen Nystagmus und angedeutete Tetraparese. Sein Allgemeinzustand verschlechterte sich rasch und am fünften Tage der klinischen Behandlung wurde der Patient bewusstlos und konnte nur durch eine Magensonde ernährt werden. Die in dieser Zeit durchgeführte Augenhintergrunduntersuchung hat deutliche Papillener-

blassung ausgezeigt. Die Bewertung der Sehensscharfe war nicht zu erreichen.

Dreimal wiederholte Liquoruntersuchung zeigte einen normalen Eiweissgehalt (44, 30 und 28 mg%) mit unerhöhtem gamma-Globulinanteil und lymphozytäre Zytose bis 6 Zellen/mm³ aus. In mehrmals kontrollierten EEG-Bildern wurde diffuses, beiderseitiges Auftreten von delta-Wellen ohne irgendwelche Tendenz zu rhythmischen Entladungen festgestellt. Eine Woche nach dem Krankheitsbeginn betrug der Masernantikörpergehalt in Serum 1:64 und in zerebrospinaler Flüssigkeit 1:16.

In der letzten Krankheitsphase erschienen Muskelzuckungen und Krämpfe, erhebliche Atemstörungen und eine Hyperpyrexie. In der sechsten Woche starb der Patient. Klinische Diagnose lautete: „*Encephalitis viralis, probabiliter SSPE.*“

Neuropathologisch wurde ein diffuses Hirnödem und zahlreiche eosinophile Kerninklusionen der Neuronen und Oligodendrogliazellen gefunden (Abb. 1). Die Einschlusskörperchen in den Nervenzellen traten besonders oft in der Frontal- und Okzipitalrinde und in dem Kopf des Nucleus caudatus auf. Die Zahl der Einschlusskörperchen in der Rinde betrug bei der Vergrößerung ca 400 mal von 25 bis 39 in einem Gesichtsfeld. Es gab Gebiete, in welchen fast alle Neurone auf dieser Weise geschädigt waren. Gewöhnlich füllten die Inklusionen den ganzen Kern

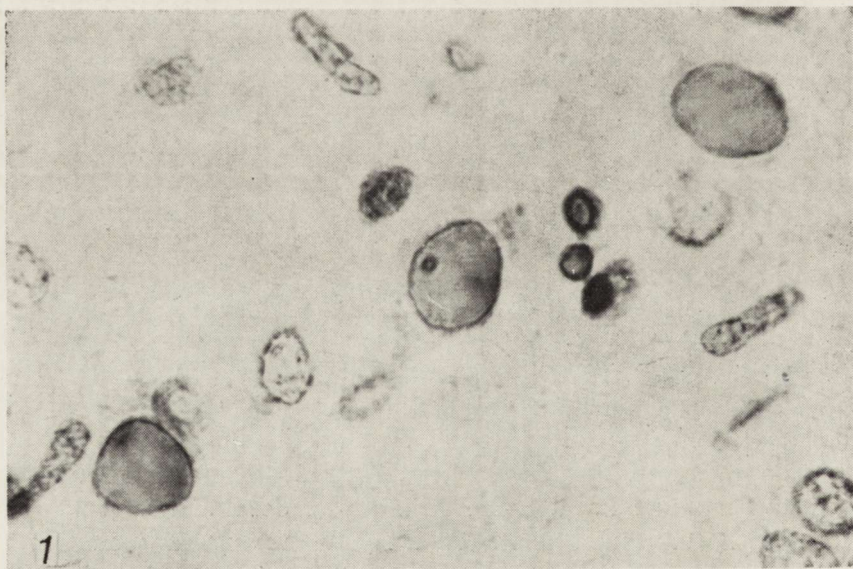


Abb. 1. Frontalrinde. Zahlreiche Nerven- und Gliazellen enthalten Kerneinschlusskörperchen. Sonst keine deutliche Zeichen der Entzündung. H-E. $\times 400$

Ryc. 1. Kora czołowa. Liczne komórki nerwowe i glejowe zawierają wtręty śródjądrowe. Poza tym brak wyraźnych zmian zapalnych. H-E. Pow. 400 \times

aus, seltener waren von einem freien Hof umkreist. In den weichen Hirnhäuten schienen uns auch einige Zellen ähnliche Einschlusskörperchen zu erhalten. Morphologische Entzündungszeichen waren sehr sparsam. Ausnahmsweise fanden wir perivaskuläre höchstens 2 bis 3 Schichten zählende Rundzelleninfiltrate (Abb. 2). Mässige Stäbchenzellenbil-

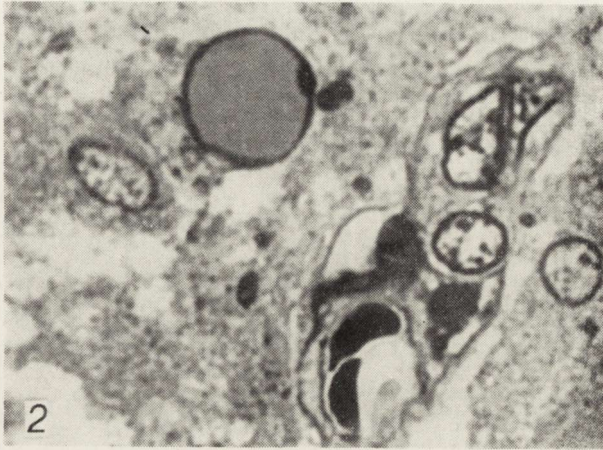


Abb. 2. Kerneinschlusskörperchen in einer Nervenzelle. Halbdünner Schnitt. Toluidinblau. Immersionvergr.

Ryc. 2. Wtręt śródjądrowy w komórce nerwowej. Skrawek półcienki. Bł. toluidyny. Pow. imersyjne

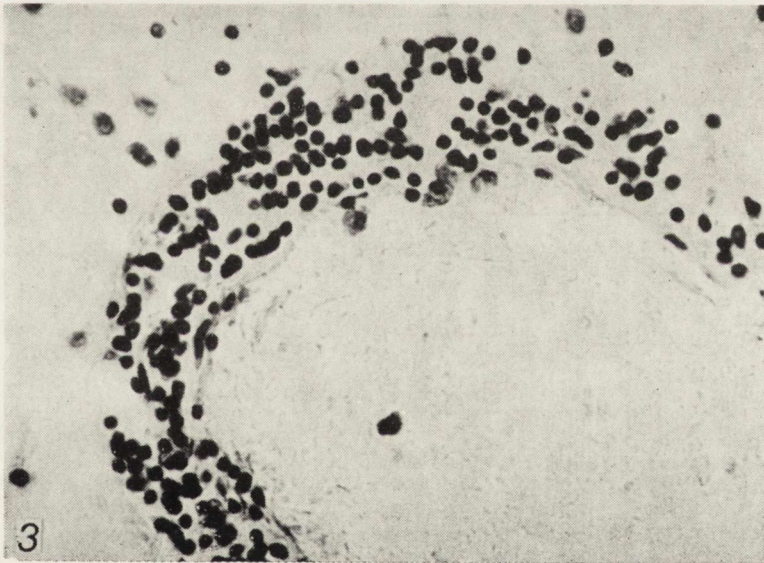


Abb. 3. Der grösste von gefundenen perivaskulären Infiltraten. H-E. $\times 400$

Ryc. 3. Największy ze znalezionych nacieków okołonaczyniowych. H-E. Pow. 400 \times

zung in der Rinde und diffuse Astrozytenproliferation im Mark der Okzipitalgegend ergänzten das morphologische Bild. Im Hirnstamm und im Kleinhirn wurden weder Einschlusskörperchen noch Entzündungsmerkmale beobachtet. Die Pyramidenwege zeigten beiderseits volle Degeneration aus.

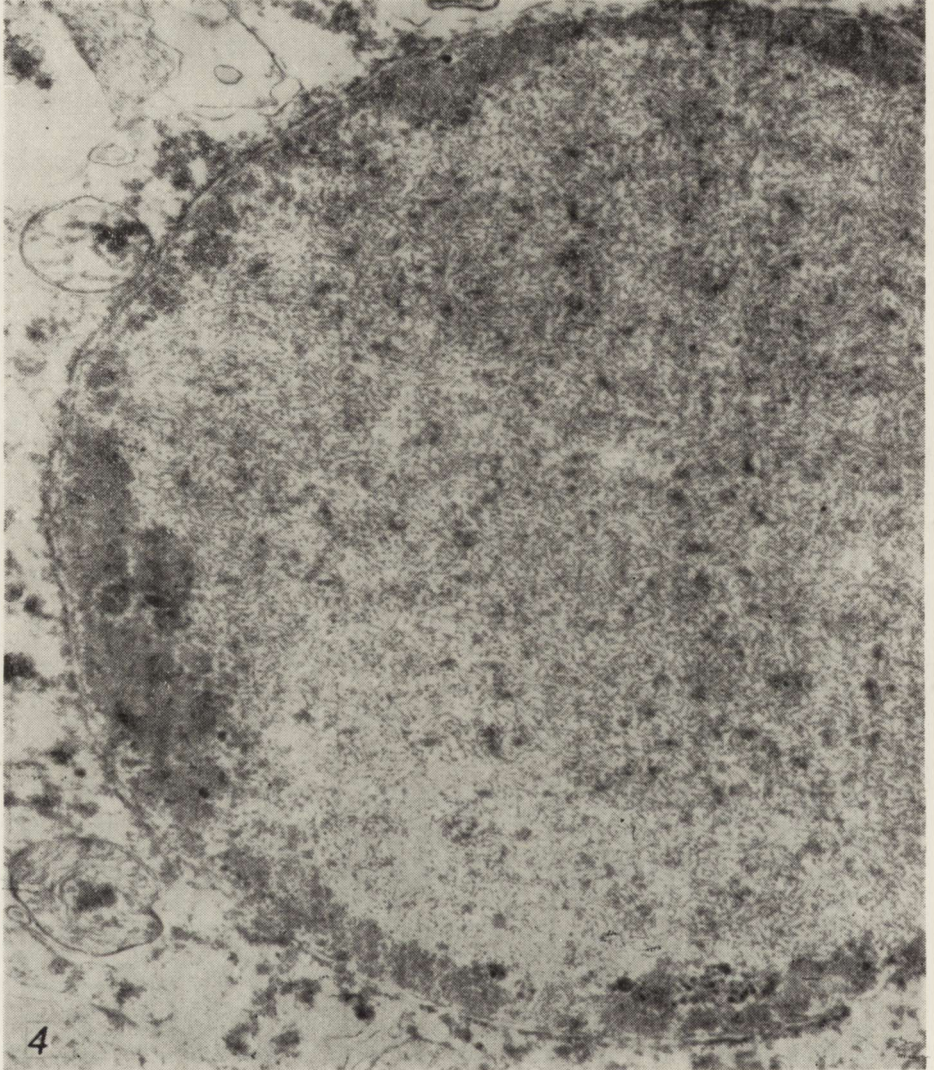


Abb. 4. Kerneinschlusskörperchen vermutlich in einer Nervenzelle. Autopsienmaterial. $\times 8000$

Ryc. 4. Wtręt śródjądrowy prawdopodobnie w komórce nerwowej. Materiał autopsyjny. Pow. $8000 \times$

In halbdünnen Schnitten bereitete uns das Aussuchen der Einschlusskörperchen keine Schwierigkeiten (Abb. 3). Im Elektronenmikroskop entsprachen den Inklusionen intranukleäre Anhäufungen tubulärer Strukturen, sowohl in den vermutlichen Oligodendrozyten, wie auch in den von uns als Neuronen identifizierten Zellen (Abb. 4).

Die beschriebenen Strukturen erschienen ausschliesslich in den Kernen und besaßen keine sichtbare Grenzmembran. Die einzelnen Tubulen sahen auf den Querschnitten wie kleine, ungefähr 15 Å in Durchmesser zählende Ringe aus (Abb. 5) und entsprachen ihren Eigenschaften nach den aus dem Schrifttum bekannten Nukleokapsiden. In manchen Zellen beobachteten wir unter den Tubulen vereinzelte, ringsherumliegende membranöse Strukturen.

In Zellplasma haben wir elektronenmikroskopisch keine Virus-ähnliche Gebilde gefunden. In einzelnen, vermutlich astrozytären Zellen, welche keine Nukleokapsiden enthielten, waren kugelförmige Verbreitungen des

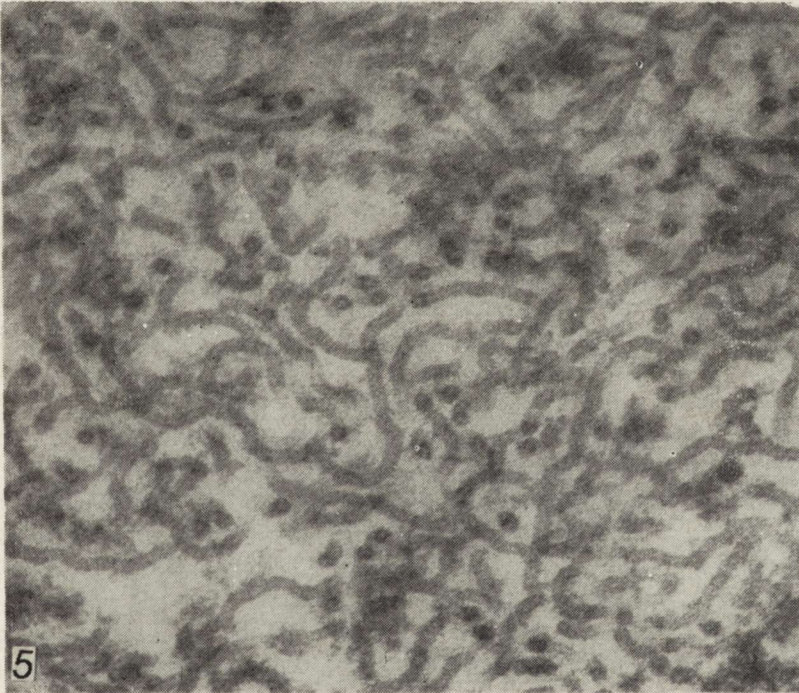


Abb. 5. Zahlreiche Nukleokapsiden in einem Einschlusskörperchen. Autopsiematerial. $\times 55\,000$

Ryc. 5. Liczne nukleokapsydy we wnętrzu śródjądrowym. Materiał autopsyjny. Pow. 55 000 \times

perinukleären Raumes nachweisbar. Die letzten waren von den Blättern der Kernmembran umgeben und enthielten elektrondünnes Material mit zerstreuten elektrondichten Flöcken (Abb. 6).

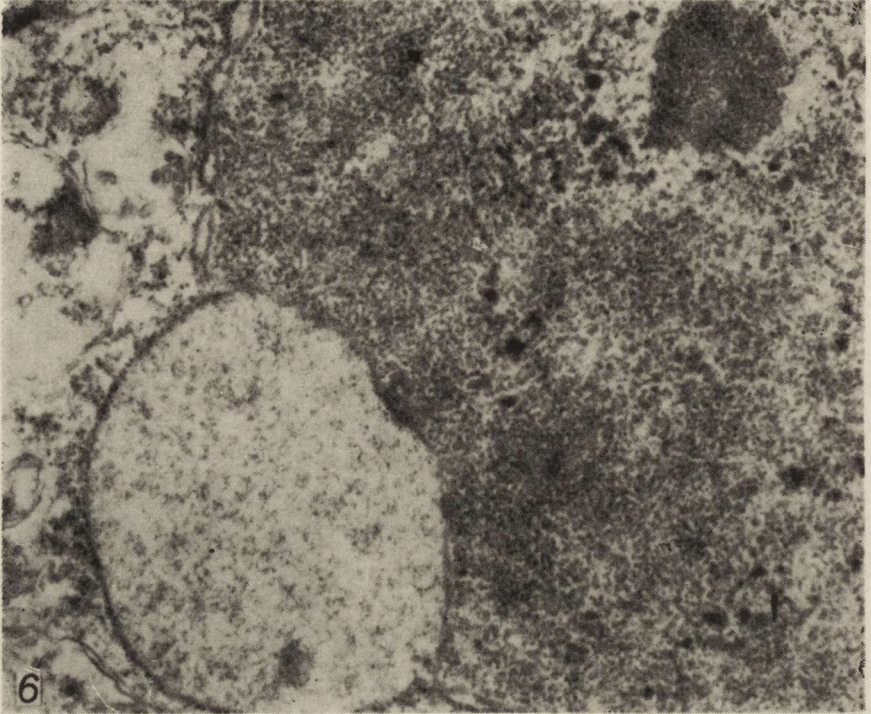


Abb. 6. Kugelförmige Verbreitung des perivaskulären Raumes in einer Nervenzelle. Autopsienmaterial. $\times 12\ 000$

Ryc. 6. Kuliste poszerzenie przestrzeni okołojądrowej w neuronie. Materiał autopsyjny. Pow. $12\ 000 \times$

DISKUSSION

Sowohl die lichtmikroskopischen wie auch die ultrastrukturellen Veränderungen bestätigten die Angehörigkeit unseres ungewöhnlichen Falles zu der SSPE. Die neuropathologischen Bilder waren hier aber auch sehr eigenartig und brachten uns auf den Gedanken, dass die Virusinvasion bei unserem Patienten ohne grössere Verteidigungsreaktion verlief. Die klinische Bestätigung dieser Meinung könnte auf niedrigem, für die SSPE ungewöhnlichem Masernantikörpergehalt in Serum beruhen.

Ähnliche Erscheinungen wurden auch in anderen akuten Fällen der SSPE beobachtet. Bei zwei Patienten von Gilden und Mitarbeitern (1975)

mit sehr früh auftretendem komatösem Zustand war der Masernantikörpertiter 1:256. Neuropathologische Untersuchung im ersten dieser Fälle erwies unzählbare Kerneinschlusskörperchen und nur mässige Entzündungszeichen. Bei anderem akutem von Bresnan und Richardson (1974) beobachtetem Fall überschritt der Masernantikörpertiter in Serum die Zahl 1:128 nicht. Neuropathologisch gilt wieder als führendes Zeichen grosse Menge der Kerninklusionen. Nihei und Mitarbeiter (1977) beschrieben einen akuten SSPE-Verlauf bei einem 4-jährigem japanischem Knaben. Der höchste Masernantikörpertiter betrug 1:32 im Blut und 1:8 in Liquor (im Haemagglutinations-Hemmungstest).

Die Erklärung in diesen und ähnlichen Fällen des niedrigen Antikörpertiters nur mit dem kurzen Krankheitsverlauf ist bestimmt ungenügend, weil die nach Masernimpfungen durchgeführten Untersuchungen ein sehr rasches Ansteigen des Antikörpergehalts gezeigt haben. Unabhängig davon ist die Hypothese einer viel früheren Infizierung mit dem Masernvirus der SSPE-Kranken allgemein anerkannt.

In dieser Situation sollten wir eher annehmen, dass ein immunologischer Fehler, der jedes gegen den Masernvirus gerichtete Verteidigungsvermöge vernichtet, eine entscheidende Rolle in der Entwicklung der akuten SSPE spielt. Eine andere Möglichkeit wäre die Anwesenheit eines zusätzlichen, ethiologischen Faktors, der die immunologische Antwort in eine andere Richtung lenkt. Dafür könnte, oft in den akuten Fällen beobachtetes Ansteigen von anderen Antikörpern (z.B. gegen der *Varicella*, *Herpes simplex* u.a.) zeugen.

J. Kulczycki, T. Majdecki

PRZYPADEK STWARDNIAJĄCEGO ZAPALENIA MÓZGU O OSTRYM PRZEBIEGU

Streszczenie

Autorzy opisują przypadek ostro przebiegającego zapalenia mózgu (SSPE) u 16-letniego chłopca, ze zgonem w 6-tym tygodniu choroby. Poziom przeciwciał odrowych w surowicy krwi był bardzo niski (1:64), w płynie mózgowo-rdzeniowym wynosił 1:16 przy zawartości gamma-globulin 11%. W obrazie mikroskopowym mózgu występowały niezwykle liczne ciała wtrętowe w jądrach neuronów i komórek oligodendrogleju, szczególnie w płatach czołowych i potylicznych oraz w jądrze ogoniastym. Nacieki zapalne w mózgu były miernie nasilone. W obrazach elektronowo-mikroskopowych wtręty śródjądrowe wykazały obecność dużych ilości tubuli o wyglądzie typowych nukleokapsydów myksowirusów.

Przebieg kliniczny, niskie poziomy przeciwciał odrowych oraz obraz neuropatologiczny przemawiają za słabą odpowiedzią immunologiczną na infekcję wirusową w opisywanym przypadku.

Е. Кульчыцки, Т. Майдепки

СЛУЧАЙ СКЛЕРОЗИРУЮЩЕГО ЭНЦЕФАЛИТА С ОСТРЫМ ТЕЧЕНИЕМ

Резюме

Авторы описывают случай остро протекающего энцефалита (SSPE) у 16-летнего мальчика со смертельным исходом на 6-ой неделе болезни. Уровень коревых антител в сыворотке крови был очень низким (1:64), в цереброспинальной жидкости составлял 1:16 при содержании гаммаглобулинов 11%. В микроскопической картине мозга появлялись необычные многочисленные включения в ядрах нейронов и клеток олигодендроглии, особенно в лобных и затылочных долях, а также в хвостатом ядре. Воспалительные инфильтраты в мозгу были средней интенсивности. В электронно-микроскопических картинах внутриядерные включения обнаруживали присутствие большого количества тубулочек, похожих на типичные нуклеокапсиды миксовирусов.

Клиническое течение, низкие уровни коревых антител и нейропатологическая картина свидетельствуют о слабом иммунологическом ответе на вирусную инфекцию в описываемом случае.

LITERATUR

1. Bresnan M. J., Richardson E. P.: Rapidly evolving visual loss and dementia in a 15-year-old girl. *N. Engl. J. Med.*, 1974, 290, 273—279.
2. Gilden D. H., Rorke L. B., Tanaka R.: Acute SSPE, *Arch. Neurol.*, 1975, 32, 644—646.
3. Martin F., Macken J., Hess R.: Sur une encéphalite subaiguë, ayant les caractères de la leuco-encéphalite sclérosante avec inclusions. *Schweiz. Arch. Neurol. Neurochir. Psychiat.*, 1950, 66, 217—260.
4. Nihei K., Kamoshita S., Muzutani H., Katayama T., Nishimura H.: Atypical subacute sclerosing panencephalitis. *Acta neuropath. (Berl.)*, 1977, 38, 163—166.

Anschrift der Verfasser: Neurologische Klinik, Psychoneurologisches Institut, 02-957 Warszawa, al. Sobieskiego 1/9.

KRYSTYNA RENKAWEK

A CASE OF PANENCEPHALITIS WITH EXTENSIVE DEGENERATIVE CHANGES

Department of Neuropathology, Medical Research Centre Polish Academy
of Sciences, Warsaw, Poland
Head: Prof. dr med. M. J. Mossakowski

It is now well established that SSPE is a chronic infection of the central nervous system caused by measles-like virus (Horta-Barbosa et al. 1969, Degré et al. 1972, Martinez et al. 1974), coupled with defective immune response (Vandvik 1973, Metha et al. 1975, Swick et al. 1976), although the exact pathogenesis is not quite clear. The clinical picture of SSPE differs markedly in particular cases from acute, fulminating to chronic duration of the illness (Gutewa, Osetowska 1961, Dubois-Dalq et al. 1974, Peter et al. 1974, Gilden et al. 1975). Neuropathological findings, usually correlating to the clinical manifestation (Ohya et al. 1974) are dependent on many unknown factors controlling the development of structural changes. The age at onset of the illness and previous damage of the brain tissue by other types of infection or non infectious disease (Seitelberger 1961, Donner et al. 1972, Purtilo et al. 1975, Hochberg et al. 1976) may contribute to variations in the neuropathological picture.

The observations described in this paper serve to illustrate the difficulties encountered in the clinic in the diagnosis of a certain encephalitis state because of very poor clinical symptoms. Neuropathologically, the inflammatory process coexisted with severe degenerative tissue changes widespread over the cerebral and cerebellar cortex.

CLINICAL HISTORY

The child was born after a normal full-term pregnancy. Delivery and early physical and mental development were normal. He started to walk and speak at about 1 year and 2 months. At 6 months of age he had a brief illness with high temperature and convulsions without neurolo-

gical symptoms, diagnosed as purulent otitis. After this disease he had persistent convulsions, but his physical and mental development was not disturbed. At the age of 1½ year he was hospitalized for causal diagnosis of the recurrent epileptic attacks. During his stay in hospital he had measles which apparently ran a normal course and the only neurological abnormality was rigidity of the neck and epileptic seizures.

There were no significant abnormalities in the laboratory investigation. The blood picture was normal, the urine was free from phenylketones and metachromatic bodies. The cerebrospinal fluid was clear with no elevation of gamma-globulin level. Wassermann reaction was negative. A pneumoencephalogram revealed atrophy of frontal lobes and slight dilatation of the lateral ventricles. On the encephalogram the background activity was slow with bilateral, synchronous irregular complexes of high voltage slow waves and periodically occurring complexes of slow and sharp waves. These findings indicated the presence of diffuse bilateral brain abnormality involving cortical and subcortical structures.

In the following months deep mental disturbances developed and the patient was admitted to the hospital for mentally retarded children. He was unable to walk, speak and recognize known persons. His clinical examination revealed a deep mental defect and spastic paresis with pyramidal signs more severe on the left side.

In the next years up to the age of 14 his condition remained stationary. Grand mal epileptic attacks occurred persistently despite anticonvulsive therapy, occasionally he had common infections with high temperature. At the age of 9 he had viral hepatitis with mild clinical course without sequelae. He died at the age of 14 of pneumonia and cardiovascular failure.

Brain autopsy material was processed in formalin. Representative coronal sections from different cerebral lobes, basal ganglia, midbrain, pons, medulla oblongata and cerebellum were embedded in paraffin and stained with H.-E., toluidine blue, Heidenhain, Holzer, Sudan III and Bielschowsky methods.

NEUROPATHOLOGICAL PICTURE

Histopathological examination revealed an inflammatory process in the whole cerebral cortex and white matter expressed by more or less dense perivascular infiltration and diffuse interstitial proliferation of glial and mesodermal cells (Fig. 1, 2). A clear accentuation of the changes was found in the parietal and temporal lobe, with gradually diminishing severity towards the frontal cortex. In the occipital region and

basal ganglia the changes were much less severe, there were only occasional perivascular inflammation foci. The brain stem was practically not affected.

Perivascular infiltrations consisted predominantly of lymphocytes and a few plasma cells. Usually, they were delicate, limited to a single cellular group and confined to the perivascular space. In the most severely damaged areas perivascular cuffings were encountered (Fig. 3) and lymphocytes could be followed into the surrounding tissue.

The leptomeninges showed inflammatory reaction in the form of perivascular and interstitial lymphocytic infiltration, particularly marked over the most severely affected cortical areas where the infiltration was often continuous with the cortical vessels.

Perivascular inflammation was accompanied by diffuse glial proliferation throughout the hemispheric gray and white matter in most of the regions examined. Astrocytes, showing large and pale nuclei were found frequently in the cortex and in the white matter. Glial alterations resembling Alzheimer type II (Fig. 4), often arranged in pairs were present in the deep layers of the cortex. There was widespread, remarkable proliferation of microglia, more pronounced in the grey matter than in the white. Microglial rod-shaped nuclei were especially numerous in the parietal and temporal lobe (Fig. 5). They did not aggregate in true nodules but showed a slight tendency to form clusters, mainly at the border of grey and white matter (Fig. 6).

In the white substance there was marked, perivascular or interstitial edema and small, drop-like foci of tissue necrosis without glial reaction. Moreover, in Ammon's horn there was extensive fresh tissue destruction with numerous progressively changed astrocytes and rod-shaped microglia.

The myelin was well preserved and only small perivascular demyelinated patches or subcortical slight pallor of myelin were present in the convolutions or subcortical regions. The insular region showed slight pallor of myelin in the external capsule and the white matter lateral to the claustrum with extensive fibrillary gliosis. Sudanophilic material was found only around the vessels and in minimal degree. Contrary to the myelin picture, pronounced, dense fibrillar gliosis occurred diffusely in the whole white matter, particularly intensive in the temporal lobe and in the subcortical localization (Fig. 7).

Besides inflammatory changes in all layers of the cortex both in regions with severe and slight inflammation pronounced cell loss and neuronal damage were present. Most of the cells had disappeared, those which remained showed varied types of alteration: chronic and severe type of changes, ischemic lesion, ghost cells and all intermediate

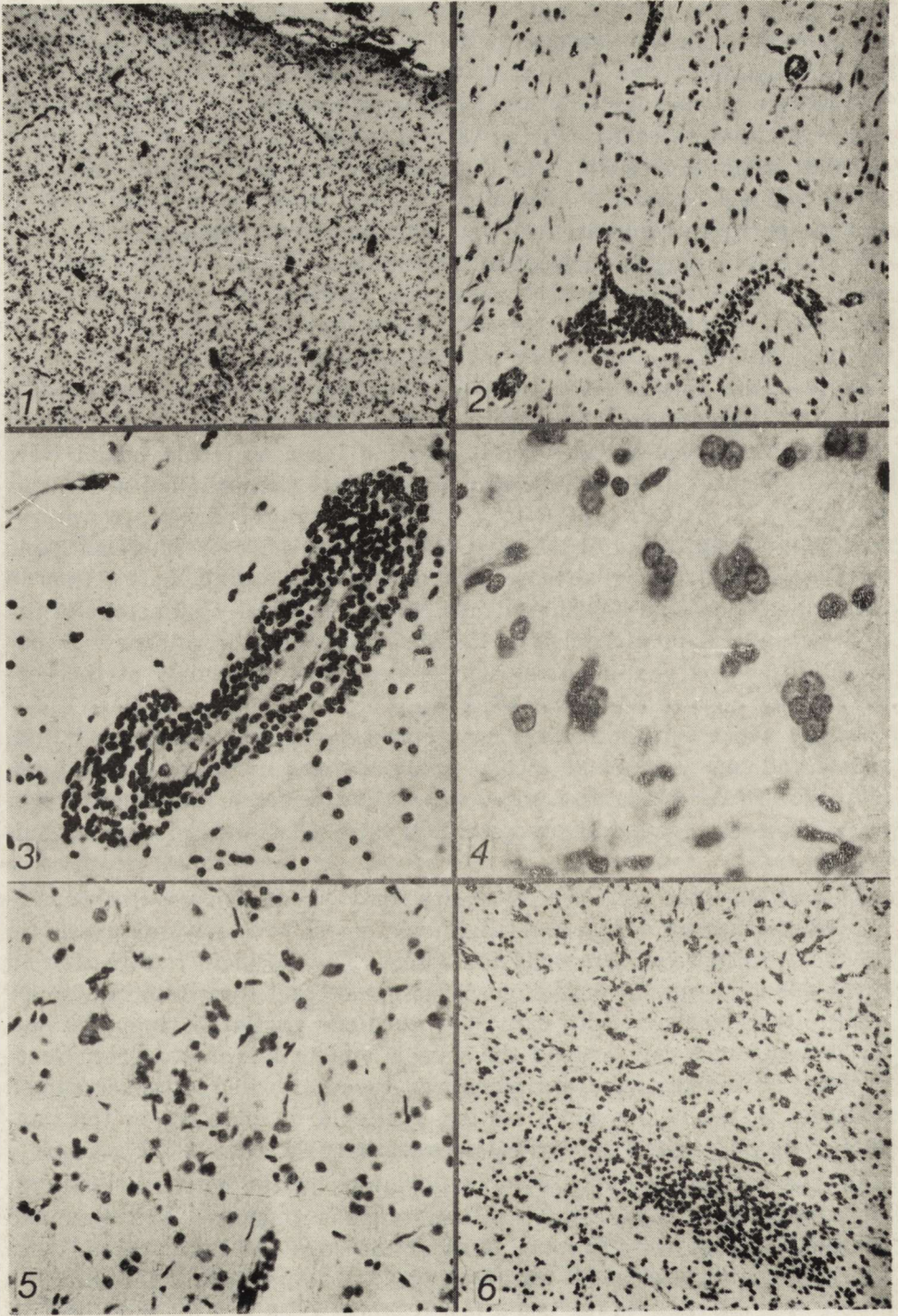


Fig. 1. Generalized inflammatory process in the meninges and cerebral cortex. Frontal lobe. H.F. $\times 30$.

Ryc. 1. Uogólniony proces zapalny w oponie miękkiej i korze mózgowej. Płat czołowy. H.F. Pow. 30 \times .

Fig. 2. Perivascular infiltration with diffuse interstitial glial proliferation in the parietal lobe. H.F. $\times 100$.

Ryc. 2. Nacieki okołonaczyniowe i rozlana proliferacja gleju w płacie potylicznym. H.F. Pow. 100 \times .

Fig. 3. Perivascular lymphocytic cuffing in the white matter with edematous tissue changes in the parietal lobe. H.E. $\times 200$.

Ryc. 3. Okołonaczyniowa, „mufka” limocytna w substancji białej i obrzęk okołonaczyniowy w płacie ciemieniowym. H.E. Pow. 200 \times .

Fig. 4. Large astrocytic nuclei in the deep layer of the cortex. H.E. $\times 400$.

Ryc. 4. Duże jądra astrocytów w głębokich warstwach kory. H.E. Pow. 400 \times .

Fig. 5. Rod-shaped microglia proliferation in the temporal cortex. Perivascular edema and extensive damage of neurons. H.E. $\times 200$.

Ryc. 5. Proliferacja pałeczkowatych jąder mikrogleju w korze skroniowej. Obrzęk okołonaczyniowy i znaczne uszkodzenie neuronów. H.E. Pow. 200 \times .

Fig. 6. Formation of glial nodules at the border of grey and white matter in parietal region. H.F. $\times 100$.

Ryc. 6. Grudka glejowa na granicy substancji szarej i białej w okolicy ciemieniowej. H.F. Pow. 100 \times .



Fig. 7. Pronounced fibrillar gliosis accentuated in the subcortical areas. Holzer. Magn glass.

Ryc. 7. Rozlana glejoza włóknista nasiloną w okolicach podkorowych. Holzer. Pow. lupowe.

stages between the classical pictures. In particular neurons of the cortex Alzheimer's neurofibrillary degeneration was present (Fig. 8). These parenchymatous changes were less obvious in the Ammon horn and in basal ganglia than in the cerebral cortex.

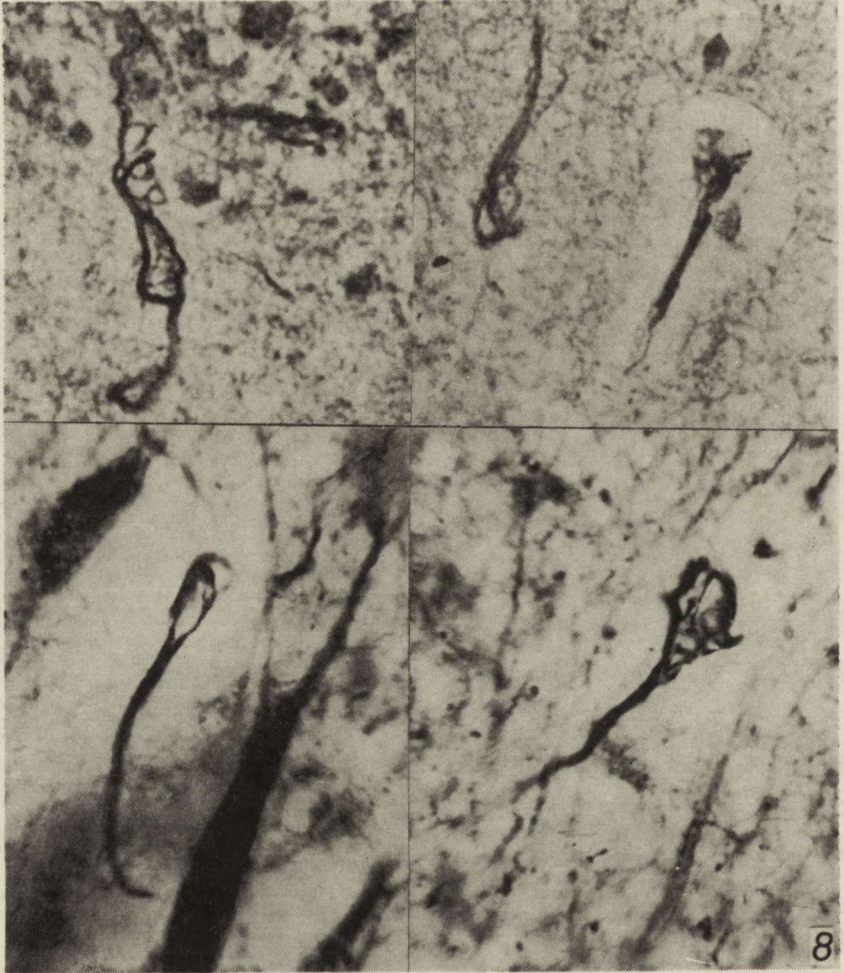


Fig. 8. Alzheimer's neurofibrillary degeneration in cortical neurones. Bielschowsky. $\times 600$.

Ryc. 8. Zwyródnienie włókienkowe Alzheimera w neuronach kory. Bielschowsky. Pow. 600 \times .

Degenerative neuronal changes were prominent in the cerebellum. There was a great loss and severe damage of Purkinje cells accompanied by proliferation of the Bergmann glia and distinct, uniform depletion of the granular layer. Intracellular inclusions were not found. Ot-

her pronounced degenerative changes of parenchyma appeared in the form of tissue necrosis (Fig. 9). In the parietal and temporal lobes there was a loosening of the tissue background resulting in small cystic spaces and giving the appearance of a status spongiosus (Fig. 10). The cystic

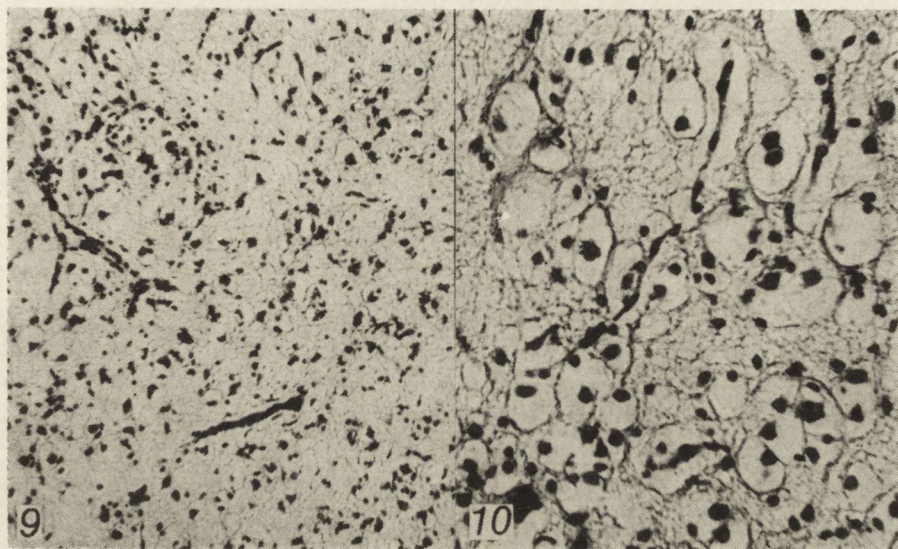


Fig. 9. Widespread spongy degeneration in the temporal cortex with destruction of cortical architecture and inflammatory reaction. H.E. $\times 100$.

Ryc. 9. Rozlane zwyrodnienie gąbczaste z rozpadem warstw korowych i reakcją zapalną w płacie skroniowym. H.E. Pow. 100 \times .

Fig. 10. Cystic cortical necrosis. H.E. $\times 200$.

Ryc. 10. Martwica korowa z tworzeniem cyst. H.E. 200 \times .

and spongiform degeneration seemed to be laminar only in some degree. Mostly, the necrosis in the cortex affected all the layers so that cortical architecture was completely obliterated by loss of neurons and superimposed glial proliferation.

COMMENT

According to the findings just described, this case belongs to viral encephalitis, although in the absence of virological examination the discussion must be restricted to the anatomical character of the lesions.

Histopathological findings reveal active, chronic panencephalitis involving the grey and white matter of the cerebrum and cerebellum manifested by severe fibrillary gliosis, lymphocytic meningeal and perivascular infiltrates, diffuse astroglial and rod-shaped microglial proliferation, perivascular and diffuse edema.

The clinical history does not present the typical phases of SSPE (Van Bogaert 1945), but the onset of the illness appeared when the child was

deeply mentally retarded. It seems, therefore, that SSPE should be taken into account in the differential diagnosis of any encephalitic state in patients with dementia or mental defect.

The duration of the illness is uncertain, but very marked fibrillar gliosis, out of proportion with the myelin destruction, chronic cellular damage, Alzheimer's fibrillar degeneration are in general characteristic for subacute or chronic cases of SSPE (Gutewa, Osetowska 1961, Krücke 1961).

In this case the essential feature is a particularly pronounced affection of the cerebral and cerebellar cortex in the form of extensive diffuse damage or necrosis of parenchymatous elements. Degenerative changes of brain parenchyma are comprised in the wide spectrum of pathological variations of SSPE and they are not a direct consequence of the essentially inflammatory process itself, but they rather result from complicating anoxic-vasal damage (Tariska 1961). As regards the given case, the severity of the lesions may have been determined and exaggerated by disturbances in the circulatory conditions following the severe epileptic states. However, in this case the topography, extension and character of degenerative changes in the cerebral and cerebellar cortex do not directly correlate to the predilective areas of brain damage, moreover, they are even greater than those described in patients with epilepsy (Dąbska 1960). It is quite possible that cortical changes in this case can follow anoxia of stagnant, ischemic or histotoxic type of damage and all these factors contribute towards an inadequate supply of oxygen for cerebral metabolism (Brierley 1976).

Another distinct feature of that case is the spectacular damage of a large part of the cerebral cortex, which has the appearance of severe spongy degeneration. The intensity of the lesion was not similar to that found in the case of SSPE when a degenerative process of moderate severity is usually described. Distinct cortical and subcortical status spongiosus can be conditioned by disturbance in cerebral circulation or by a viral agent or even it might have an hereditary basis, for it seems to be of a primary degenerative nature (Johnson 1970). Similar necrosis differently localized has been described in encephalitides of known and unknown origin and in subacute spongiform encephalopathy due to vascular dysfunction without obvious morphological changes in the blood vessels (Tariska 1966, Crompton 1963). In this case the spongy necrosis is not restricted to the territory of any artery neither it is localized in the border zone of vascularization, therefore it can not be simply explained by vascular disturbances. The formation of status spongiosus within the grey matter and the presence of marked perivascular inflammatory reaction in the same regions suggest a relationship

of the spongiform degeneration with encephalitogenic factors. Some of the factors responsible for such intensive damage are the constitutional metabolic properties of the affected grey substance which can produce the final lesions by their interreaction with the inflammatory agent.

Krystyna Renkawek

PRZYPADEK ZAPALENIA MÓZGU Z NASILONYMI ZMIANAMI
ZWYRODNIENIOWYMI

Przypadek dotyczy dziecka z głębokim niedorozwojem umysłowym i padaczką po przebytych zapaleniu mózgu o niejasnej etiologii i obrazie klinicznym. W obrazie neuropatologicznym stwierdzono uogólnione zmiany zapalne o charakterze zapalenia wirusowego mózgu i opon. Zmiany zapalne współistniały wraz z uogólnionym procesem zwyrodnieniowym tkanki i rozpadem gąbczastym kory mózgu. Największe nasilenie zmian martwiczych w okolicach najbardziej uszkodzonych procesem zapalnym sugeruje udział czynnika infekcyjnego w powstawaniu martwicy gąbczastej.

К. Рэнкавэк

СЛУЧАЙ ПАНЭНЦЕФАЛИТА
С ИНТЕНСИВНЫМИ ДЕГЕНЕРАТИВНЫМИ ИЗМЕНЕНИЯМИ

Описанный случай показывает трудности клинической диагностики энцефалитов неясной этиологии. С помощью микроскопического исследования обнаружен панэнцефалит вирусного происхождения. Невропатологическая картина характерна для вирусного воспаления мозга. Наряду с воспалительной инфильтрацией имеет место интенсивная дегенерация паренхимы коры головного мозга и мозжечка. Кроме того, некротическая ткань образует выраженные цисты и в некоторых областях, там где больше всего наблюдалась в осполительная реакция, присутствовала губчатая (пенистая) дегенерация. Образование спонгиозных изменений ткани мозга указывает, что в данном патологическом процессе участвует вирусный агент.

REFERENCES

1. Brierley J. B.: Cerebral hypoxia. Greenfield's Neuropathology Eds: Blackwood W., Corsellis J.A.N. 1976, 43—85.
2. Crompton M. R.: A case of subacute spongiform encephalopathy supporting a vascular pathogenesis. Acta neuropath. (Berl.) 1963, 2, 291—296.
3. Dąmbska M.: Neuropatologia zmian po napadach padaczkowych. Post. Hig. Med. Dośw. 1960, 14, 667—678.
4. Degré M., Vandvik B., Hovig T.: Subacute sclerosing panencephalitis: isolation and ultrastructural characterization of a measles-like virus from brain obtained at autopsy. Acta path. microbiol. scand. Section B. 1972, 80, 713—723.
5. Donner M., Waltimo O., Porrás J.: Subacute sclerosing panencephalitis as a cause of chronic dementia and relapsing brain disorder. J. Neurol. Neurosurg. Psych. 1972, 35, 180—185.
6. Dubois-Dalq M., Coblentz J. M., Pleet B.: Subacute sclerosis panencephalitis. Arch. Neurol. 1974, 31 355—363.

7. Gilden D. H., Rorke L. B., Tanaka R.: Acute SSPE. *Arch. Neurol.* 1975, 32, 644—646.
8. Gutewa J., Osetowska E.: A chronic form of subacute sclerosing encephalitis (A case with a history of five years). Clinical and pathological study. *Encephalitides* Ed. L. van Bogaert et al Elsevier Publ Co. 1961, 386—404.
9. Hochberg F. H., Lehrich J. R., Richardson E. — Mononucleosis-associated subacute sclerosing panencephalitis. *Acta neuropath. (Berl.)* 1976, 34, 33—40.
10. Horta-Barbosa L., Fuccillo D. A., Sever J. L., Zeman W.: Subacute sclerosing panencephalitis isolation of measles virus from a brain biopsy. *Nature (Lond.)* 1969, 221, 974—975.
11. Johnson R. T.: Virus-host relationships in acute and chronic encephalopathies. *Vith Intern. Congress of Neuropath.* Masson et Cie Ed. 1970, 761—779.
12. Krücke W.: Chronic sclerosing "leucoencephalitis and polyneuritis with intranuclear inclusion bodies". *Encephalitides.* Elsevier Publ. Co Amsterdam 1961, 560—574.
13. Martinez A. J., Ohya T., Jabbour J. T., Duenas D.: Subacute sclerosing panencephalitis (SSPE). Reappraisal of nuclear, cytoplasmic and axonal inclusions. Ultrastructural study of eight cases. *Acta neuropath. (Berl.)* 1974, 28, 1—13.
14. Mehta P. D., Tetley A. J., Thormar H.: Measles antibodies and immunoglobulins in sera from patients with subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) and from an infected ferret. *J. neurol. Sci.* 1975, 26, 283—294.
15. Ohya T., Martinez A. J., Jabbour J. T., Lemmi H., Duenas D. A.: Subacute sclerosing panencephalitis. Correlation of clinical, neurophysiologic and neuropathologic findings. *Neurology* 1974, 24, 211—218.
16. Peter A., Lowenthal A., Juvancz I.: Changes of globulins in serum and cerebrospinal fluid of patients with subacute sclerosing panencephalitis. *J. Neurol.* 1974, 207, 85—92.
17. Purtilo D. T., Yang J. P., DeGirolami U., Allegra S.: Mononucleosis associated subacute sclerosing panencephalitis. *Lancet* 1975, 2, 1310—1311.
18. Seitelberger F.: Contribution to the histopathology of Van Bogaert's subacute sclerosing leucoencephalitis. *Encephalitides.* Elsevier Publ. Co Amsterdam 1961, 340—352.
19. Swick H. M., Brooks W. H., Roszman T. L., Caldwell D.: A heat-stable blocking factor in the plasma of patients with subacute sclerosing panencephalitis. *Neurology* 1976, 26, 84—88.
20. Tariska S.: The vasa mechanisms responsible for the pathological variations of subacute progressive panencephalitis. *Encephalitides* Ed. L. van Bogaert et al., Elsevier Publ. Co 1961, 541—559.
21. Tariska S.: Remarks on the encephalopathic lesions occurring in encephalitides. *Neuropat. Pol.* 1966, IV Suppl. 651—653.
22. Van Bogaert L.: Une leuco-encephalite sclérosante subaigue. *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 1945, 8, 101—120.
23. Vandvik B.: Immunopathological aspects in the pathogenesis of subacute sclerosing panencephalitis, with special reference to the significance of the immune response in the central nervous system. *Ann. Clin. Res.* 1973, 5, 308—315.

Author's adress: Neuropathology Department, Experimental and Clinical Medical Research Centre Polish Academy of Sciences. 3, Dworkowa Str., 00-784 Warsaw.

AGNIESZKA JĘDRZEJEWSKA-IWANOWSKA, MARIA B. GABRYELEWICZ
TOMASZ NIEDEK, GENOWEFA PUŁAWSKA

POSTAĆ MÓZGOWA LUPUS ERYTHEMATODES DISSEMINATUS. OPIS PRZYPADKU

Zakład Diagnostyki Patomorfologicznej Centrum Medycznego Kształcenia
Podyplomowego, Warszawa
Kierownik: prof. dr med. M. Kobuszewska-Faryna
Oddział Obserwacyjny Szpitala Bielańskiego, Warszawa
Ordynator: dr T. Niedeck

Chociaż zajęcie ośrodkowego układu nerwowego (oun) w przebiegu *lupus erythematodes disseminatus* (LED) jest sprawą znaną, niezmieranie rzadko zdarza się, aby ta kolagenoza atakowała przede wszystkim oun. Stąd publikacja naszego przypadku.

OPIS PRZYPADKU

40-letnia kobieta została przyjęta do oddziału obserwacyjnego Szpitala Bielańskiego w Warszawie z powodu napadowych bólów głowy i zawrotów towarzyszących podniesionemu ciśnieniu tętniczemu krwi do wartości 180/110 mm Hg. Przed hospitalizacją była leczona ambulatoryjnie bez pozytywnych rezultatów z rozpoznaniem przewlekłego kłębkowego zapalenia nerek. Od kilku lat cierpiała również na bóle w obrębie drobnych stawów kończyn górnych.

W dniu przyjęcia do oddziału stwierdzono: temperaturę ciała 37,8°C tętno 180/min., RR 210/130 mm Hg, obwodową sinicę, rytm cwałowy i szmer rozkurczowy słyszalny na koniuszku serca, zniekształcenie stawów palców I, II, III obu dłoni oraz retinopatię nadciśnieniową. Piątego dnia pobytu w oddziale chora nagle straciła przytomność, stwierdzono zespół oponowy i tetraplegię. Zmarła 10-tego dnia hospitalizacji, nie odzyskując przytomności. Wyniki badań: płyn mózgowo-rdzeniowy wodnojasny, przejrzysty, cytoza 2/1 mm³, białko 237 mg%, rozmaz: 9% limfocytów, 12% monocytów, 5% leukocytów obojętnochłonnych, 74% komórek siateczki lub komórek śródbłonka. W surowicy krwi stwierdzono: komórki LE i rozety LE, odczyn lateksowy (+++), WR ujemny. Pozostałe badania dodatkowe bez istotnych odchyłań od normy.

Na podstawie wyniku badań dodatkowych, sugerujących kolagenozę, biorąc pod uwagę rozpoczęcie choroby od zajęcia nerek, prowadzącego do nieutrwalonego nadciśnienia, przy bólach stawowych stawów dłoni i zajęciu mięśnia serca oraz wiek i płeć pacjentki ustalono rozpoznawanie kliniczne: *lupus erythematodes disseminatus. Meningismus sub finem vitae. Tracheobronchitis.*

Badaniem sekcyjnym i badaniem histologicznym z użyciem metod: H.-E., P.T.A.H., P.A.S., Azan-Heidenhaina, Feulgena i Sudanu III ustalono rozpoznanie:

Myocarditis chronica activa cum fibrosi dispersa myocardii. Pericarditis et endocarditis parietalis incipiens. Glomerulitis proliferativa. Thrombosis focalis glomerulorum renaliū, Periarteriolitis productiva in liene. Pneumonia purulenta dispersa inferior bilateralis. Steatosis hepatis. Cholecystitis calculosa. Leiomyoma subserosum corporis uteri.

Należy tu zaznaczyć, że wymienione w powyższym rozpoznaniu zmiany narządów wewnętrznych nie były szczególnie wyraźne. Umiarkowane rozplem komórek śródbłonka pętli kłębków i początek procesu wykrzepiania były widoczne jedynie w pojedynczych kłębkach nerkowych mimo przeglądania wielu wycinków. Nie obserwowano rozplemu nabłonka torebki Bowmana ani pogrubienia błony podstawnej kłębka. Nie znaleziono ciał hematoksylinowych. Rozplem tkanki łącznej przydanki naczyń śledziony („pętla drutu”) obserwowano tylko w pojedynczych naczyniach. Wsierdzie ścienne było uszkodzone w sposób niespecyficznie zapalny z zaznaczonym włóknieniem okołonaczyniowym. Nie napotkano zmian w wycinkach ze skóry i mięśni szkieletowych.

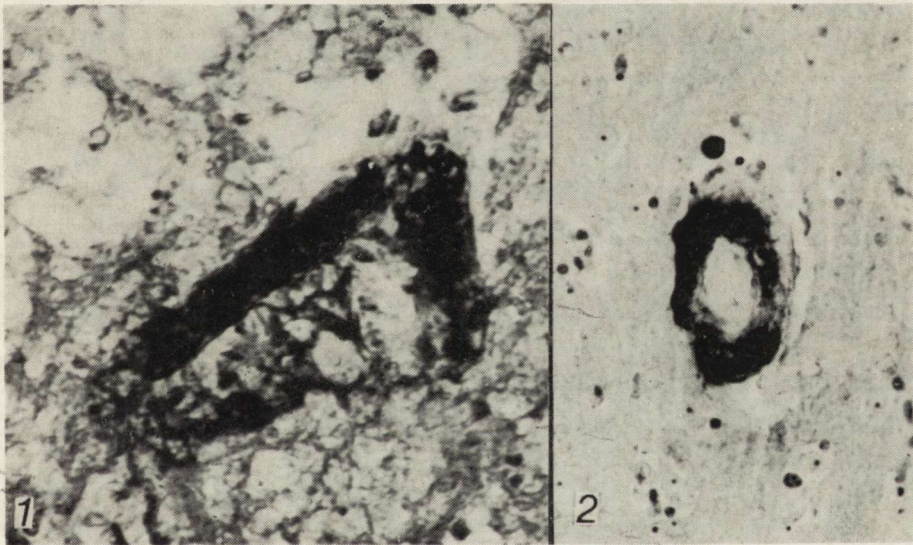
Badanie neuropatologiczne

Badaniem makroskopowym stwierdzono jedynie przekrwienie mózgu i cechy obrzęku z wkliniowaniem haków hipokampa i migdałków mózdzku.

Do badania mikroskopowego pobrano obustronne wycinki półkulowe z poziomów czołowych, ciemieniowych, potylicznych jak również wycinki z mózdzku, pnia mózgu, rdzenia szyjnego, piersiowego i lędźwiowego. Materiał zatopiono w parafinie i barwiono: H.-E., wg metody van Gieson, Weigerta, P.T.A.H., Heidenhaina, Kanzler-Arendta, Gomoriego na włókna srebrochłonne.

Badanie mikroskopowe ujawniło uszkodzenie końcowych odcinków sieci naczyniowej mózgu tj. tętniczek, przedwłośniczek i włóśniczek. Ściana naczyń była pogrubiała, homogenna, eozynofilna z zasadochłonnymi złogami przypominającymi fragmenty jąder. Tak zmienione ściany naczyniowe barwiły się żółto wg metody van Gieson i Weigerta.

W ścianach uszkodzonych naczyń metodą P.T.A.H. ujawniono substancję włóknikopodobną (ryc. 1, 2) wykazującą również powinowactwo do soli srebra (ryc. 3). W pojedynczych tętniczkach okolicy przykomorowej obserwowano zamiast zwyrodnienia włóknikopodobnego rozplem komórek mięśniowych i włókien kolagenowych. Naczynia większe od tętniczek nie wykazywały uchwytnych zmian. Uszkodzeniom naczyniowym towarzyszyły drobne ogniska martwicy tkanki mózgowej. Były to albo ogniska bardzo świeże bez odczynu komórkowego (ryc. 4) lub ogniska zgałczenia z odczynem komórek mezenchymalnych (ryc. 5). Ogniska te występowały w każdej okolicy mózgowia bez związku z rejonami unaczynienia poszczególnych tętnic mózgowych i bez związku z „polami ostatnich łąk”, nieco większe ich nasilenie obserwowano w jądrach podstawy. W rdzeniu kręgowym zwracał uwagę ubytek neuronów rogów przednich, zwyrodnienie osiowe komórek nerwowych i obrzmienie wypustek osiowych. W *vasa nervorum* korzeni nerwowych obserwowano zmiany typu „pętla drutu”. Rozplem komórek wyściółki i gleju brzeżnego oraz przekrwienie i obrzęk uzupełniały obraz.

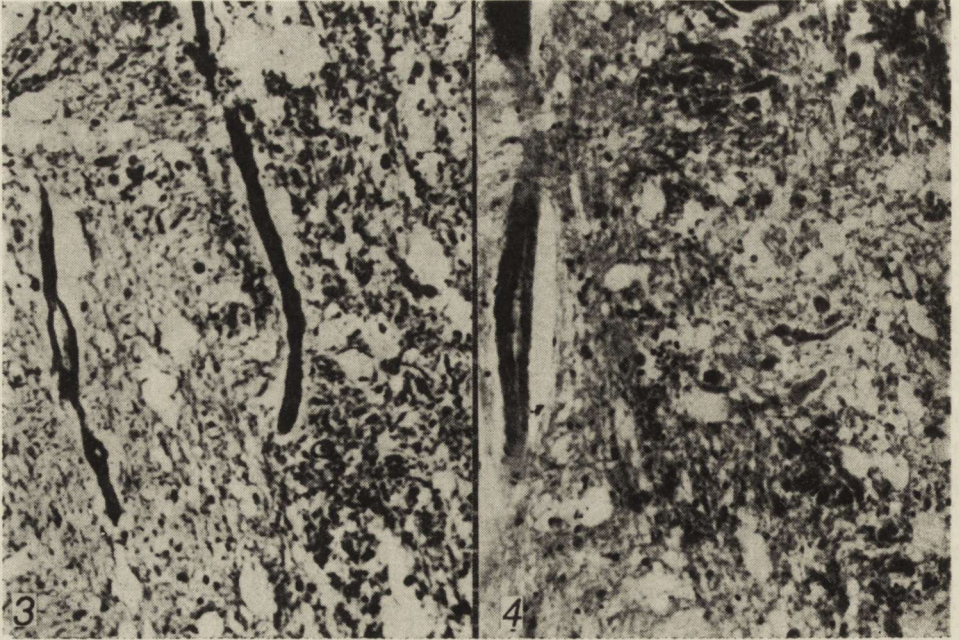


Ryc. 1. Zwyrodnienie włóknikopodobne ściany naczynia; zgałczenie okołonaczyniowe. H.-E. Pow. 400 \times

Fig. 1. Fibrinoid-like degeneration of vascular wall; perivascular spongiosis. H.-E. \times 400

Ryc. 2. Zwyrodnienie włóknikopodobne ściany naczynia. P.T.A.H. Pow. 400 \times

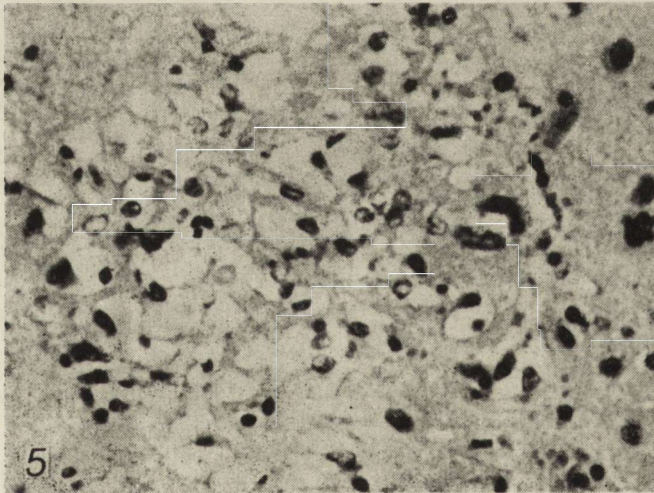
Fig. 2. Fibrinoid-like degeneration of vascular wall. P.T.A.H. \times 400



Ryc. 3. Zwyródnienie włóknikopodobne ściany włośniczki. Gomori. Pow. 400 ×
 Fig. 3. Fibrinoid-like degeneration of capillary wall. Gomori. × 400

Ryc. 4. Ognisko świeżej bezodczynowej martwicy w jądrach podstawy. H.-E.
 Pow. 200 ×

Fig. 4. Focus of recent necrosis in the region of basal ganglia. H.-E. × 200



Ryc. 5. Kora potyliczna. Ognisko zgąbczenia z odczynem komórkowym. H.-E.
 Pow. 400 ×

Fig. 5. Occipital cortex. Focal spongiosis with cellular reaction. H.-E. × 400

OMÓWIENIE I DYSKUSJA

Zwyrodnienie włóknikopodobne ścian naczyń, określane również przez Osetowską (1974) jako *arteriitis necroticans fibrinoidea* sugerowało od razu rozpoznanie choroby z grupy kolagenoz (Bruetsch, 1962), zgodnie zresztą z rozpoznaniem klinicznym. Z literatury wynika (Bruetsch, 1957; 1962, 1971; Shiraki, 1966; Bratkowska-Seniów, 1968; Martin i Estanol, 1973; Kacperk i Spiochowa, 1974; Osetowska, 1974), że jest niezmiernie trudno ustalić rodzaj kolagenozy na podstawie obrazu morfologicznego choroby jedynie w oun. Rozpoznanie to winno opierać się na ustaleniach morfologicznych w innych narządach i na rozpoznaniu klinicznym. Ponadto wiadomo, że każda kolagenoza potrzebuje niejako czasu na „wyprodukowanie” charakterystycznego dla siebie obrazu morfologicznego, któremu zresztą towarzyszy zwykle szereg zmian mniej swoistych.

W omawianym przypadku sytuację utrudniał fakt dość nikłych, chociaż występujących w LED zmian w narządach wewnętrznych. Oun został zaatakowany w ostatnim krótkim okresie choroby, a zmiany neuropatologiczne odpowiadały obrazowi ostrej kolagenozy. Bruetsch (1962) uznał zwyrodnienie włóknikopodobne ścian naczyń mózgowych za typowe dla gwałtownie przebiegającej gorączki reumatycznej u młodych osobników. Jacob (1961) opisał przypadek encefalopatii reumatycznej z rozsianymi ogniskami zgąbczenia mózgu, których obecność wiązał z jednoczasowym zajęciem naczyń małego kalibru. Obydwaj autorzy rozpoznanie choroby reumatycznej opierali na danych klinicznych i na obrazie patomorfologicznym serca charakterystycznym dla choroby reumatycznej. Choroba reumatyczna o wiele częściej ma przebieg ostry niż inne kolagenozy. Wydawało się więc nam naturalne, że w piśmiennictwie obraz ostrej kolagenozy przypisuje się niejako gorączce reumatycznej. W naszym przypadku brakowało podstaw do rozpoznania choroby reumatycznej według kryteriów ustalonych przez Bruetscha (1962; 1971). Natomiast były pełne podstawy do postawienia klinicznego rozpoznania LED, którego w niczym nie podważyło badanie sekcyjne.

Badanie neuropatologiczne ujawniło obraz ostrej encefalopatii kolagenozowej, co w zestawieniu z danymi klinicznymi i może dość małym, ale chyba istotnym znaleziskiem zasadochłonnych złogów przypominających chromatynę jądrową w obrębie ścian naczyń mózgu, zniszczonych przez proces chorobowy, uprawniało autorów (w ich mniemaniu) do postawienia rozpoznania ostrego zajęcia oun w przebiegu LED.

Należy nadmienić, że bardzo podobny obraz neuropatologiczny w przebiegu LED, poparty zresztą klasycznym dla LED obrazem morfologicznym innych narządów opisali Martin i Estanol (1973).

A. Енджеевска-Ивановска, М. Габрыелевич, Т. Недек, Г. Пулавска
 MOZGOVAЯ ФОРМА *LUPUS ERYTHEMATODES DISSEMINATUS*.

ОПИСЬ СЛУЧАЯ

У 40-летней женщины, которая умерла через 5 дней от момента появления мозговых неврологических симптомов (потеря сознания, синдром оболочек, тетраплегия), патоморфологическое исследование обнаружило обширное повреждение типа фибринозоподобной дегенерации в малых артериях, предкапиллярах и капиллярах в мозгу. Повреждение сосудов сопровождалось мелкими некротическими очагами (коагуляционный некроз и спонгиозные очаги с пролиферацией клеток мезенхимального происхождения). В отдельных органах наблюдали только незначительные изменения, могущие появляться при *Lupus erythematodes disseminatus*. На основе сопоставления нейропатологической картины с клиническими данными диагностирована острая мозговая форма *Lupus erythematodes disseminatus*.

A. Jędrzejewska-Iwanowska, M. Gabryelewicz, T. Niedek, G. Puławska
 CEREBRAL FORM OF *LUPUS ERYTHEMATODES DISSEMINATUS*.

CASE REPORT

Forty years old woman developed following cerebral neurological symptoms: loss of consciousness, meningeal syndrome, tetraplegy, and died 5 days thereafter. Pathomorphological findings consisted of extensive fibrinoid-like degeneration of cerebral arterioles, precapillaries and capillaries, associated with small foci of coagulative necrosis and spongiosis with proliferation of mesenchymal cells. Other organs presented only scanty changes which can develop in *lupus erythematodes disseminatus*. On the basis of neuropathological findings and clinical data the acute, cerebral form of *lupus erythematodes* was diagnosed.

PIŚMIENICTWO

1. Bratkowska-Seniów B.: Toczeń trzewny. PZWL Warszawa 1968.
2. Bruetsch W. L.: Die reumatische Hirnerkrankungen. Spätfolge des reumatischen Fiebers. W: II Intern. Congress of Psychiatry. Zürich 1—7.IX.1957. Abstracts.
3. Bruetsch W. L.: Occlusive rheumatic arteriitis in the brain and other organs in patients with rheumatic vascular heart disease. IV Intern. Congress of Neuropathology. G. Thieme. Stuttgart. 1962, p. 309—331.
4. Bruetsch W. L.: Rheumatic vascular disease of the brain and other organs. W: Pathology of nervous system. II. Ed.: J. Minckler. McGraw—Hill Co. New York. 1971, 1436—1448.
5. Jacob H.: Rheumatic encephalitis and encephalopathy. W: Encephalitides. Ed.: L. van Bogaert, Elsevier. Amsterdam 1961, 305—344.
6. Kacperk S., Spiochowa M.: Veränderungen im Zentralnervensystem bei einem Fall von Lupus Erythematodes Disseminatus. Neuropat. Pol., 1974, 12, 303—308.
7. Martin O. S. M., Estanol B. V.: Cerebral vasculitis proceeding as a meningoencephalitis. A case of systemic lupus erythematodes. Delaware Med. J., 1973, 45, 315—319.
8. Osetowska E.: Neuropatologia zapaleń mózgu wirusowych i alergicznych. PZWL, Warszawa 1974.
9. Shiraki H.: Neuropathology of systemic lupus erythematodes in comparison with rheumatic encephalopathy. Neuropat. Pol., 1966. Supl. IV, 759—768.

Adres autorów: Zakład Diagnostyki Patomorfologicznej CMKP, ul. Ceglowska 80, 01-809 Warszawa.

BARBARA BRONISZEWSKA-ARDELT

REGULACJA AKTYWNOŚCI GLIKOLITYCZNEJ MÓZGU PODCZAS NIEDOTLENIENIA

STRESZCZENIE PRACY HABILITACYJNEJ

Zespół Neurochemii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

Charakterystyczny dla ośrodkowego układu nerwowego potencjał elektryczny oraz gradient stężenia jonów wytwarzają się i utrzymują dzięki energii czerpanej niemal wyłącznie z przemiany glukozy (Sokoloff, 1960). Szybkość tej przemiany ulega precyzyjnej, wielostopniowej regulacji, przy czym pierwszoplanową rolę prawdopodobnie spełniają procesy odpowiedzialne za dostarczanie pierwszego substratu, a więc krążenie krwi w mózgu i transport glukozy z krwi do tkanki nerwowej oraz czynniki regulujące przebieg ograniczających reakcji zarówno glikolizy, jak i cyklu kwasów trójkarboksylowych. Ograniczające reakcje ciągu glikolitycznego katalizują trzy kluczowe enzymy: heksokinaza, fosfofruktokinaza i kinaza pirogronianowa. Są to enzymy allosteryczne, wrażliwe na działanie szeregu efektorów tworzących się w czasie przemiany węglowodanów (Gumińska, 1971). Wszystkie trzy enzymy są na przykład hamowane przez ATP, a więc przez zasadniczy produkt cyklu Krebsa, a także i glikolizy. Ma to poważne znaczenie regulacyjne: nadmiar ATP (a więc nadwyżka energii) zamyka drogę glikolizy, zaś niedobór tego nukleotydu (a więc przewaga ADP i AMP) drogę tę otwierają (Gumińska, 1971). W ten sposób stosunek stężeń trzech wymienionych nukleotydów jest, jak się wydaje, istotnym elementem regulacji ciągu glikolitycznego. Prócz tego, ważnym czynnikiem regulacyjnym wydają się procesy kontrolujące stężenie kluczowych enzymów glikolitycznych w miejscu reakcji, przede wszystkim te z nich, które zapewniają komórce odpowiednią dystrybucję enzymów. Na przykład, heksokinaza mózgu występuje zarówno w cytosolu, w którym zlokalizowane są enzymy ciągu glikolitycznego, jak i też (nawet w większych ilościach) w mitochondriach. Istnieją hipotezy, że enzym ten może przemieszczać się między

tymi „przedziałami” komórki w zależności od fizjologicznego stanu organizmu, czy też tkanki, i że taka redystrybucja może mieć istotne znaczenie regulacyjne.

Celem niniejszej pracy było zbadanie procesów odpowiedzialnych za regulację ciągu glikolitycznego w mózgu w stanie niedotlenienia. W pierwszej części pracy przebadano w mózgach zwierząt poddanych niedotlenieniu zawartość szeregu produktów przemiany cukrowców i lipidów, zawartość związków wysokiej energii oraz aktywność kluczowych enzymów glikolizy. Przeprowadzono ponadto szereg doświadczeń *in vitro* i *in vivo*, mających na celu wyjaśnienie mechanizmów powstawania zaobserwowanych zmian.

MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto świnki morskie, szczury (Wistar oraz Sprague-Dawley), myszy (TNO-Zeist, Holland), żółwie morskie (*Pseudemys scripta elegans*) oraz króliki.

Stosowano trzy typy niedotlenienia: azotowy, tlenkowogłowy i krążeniowy.

Niedotlenienie azotowe: zwierzęta przetrzymywano w komorze, przez którą przepuszczano azot techniczny pod ciśnieniem 0,5 kg/cm². Stosowano trzy rodzaje zabiegu: a) dwuminutowe niedotlenienie w azocie zawierającym 1% tlenu, zakończone dekapitacją; b) wielokrotne niedotlenienie w azocie i 1% tlenu, z każdorazową reanimacją po wystąpieniu objawów klinicznych, zakończone dekapitacją (łączy czas zabiegu wynosił 30 min); c) niedotlenienie w azocie zawierającym 4% tlenu, zakończone po 2 min zamrożeniem zwierzęcia w ciekłym azocie.

Niedotlenienie tlenkowogłowe (Korthals i wsp., 1973): zwierzęta umieszczano w komorze, przez którą przepuszczano powietrze z zawartością 1% tlenu węgla; po upływie 30 lub 60 min zwierzęta dekapitowano.

Niedotlenienie krążeniowe wywoływano metodą Mchedlishvili (1973). Zwierzętom w narkozie nembotalowej wypreparowywano obie tętnice szyjne wspólne i z jednej z nich upuszczano krew w takiej ilości, aby zmniejszyć obwodowe ciśnienie krwi do 20 mm Hg. Z kolei, obie tętnice zaciskano odcinając dopływ krwi do mózgu. Po upływie 15 min zwalniano zacisk na jednej z tętnic, do drugiej wprowadzano upuszczoną uprzednio krew.

Trzymywanie frakcji komórkowych. Frakcję mitochondrialną otrzymano według metody Ozawy i wsp. (1967). Frakcja mikrosomalna i cytosol: 10% homogenat istoty szarej w 0,32 M sacharozie wirowano przy 10.000 g przez 10 min. Osad odrzucano. Supernatant wirowano przy

105.000 g w ciągu 1 godz. Osad zawierający głównie mikrosomy stosowano do badań (frakcja mikrosomalna), supernatant zaś stanowił cytosol. Układ cytoplazmatyczny: 20% homogenat istoty szarej mózgu w 0,154 M KCl wirowano przy 15.000 g przez 15 min. Osad odrzucano, a supernatant stosowano do doświadczeń jako frakcję cytoplazmatyczną.

Oznaczanie aktywności enzymatycznych. Aktywność heksokinazy oznaczano spektrofotometrycznie (Beattie i wsp., 1963). Aktywność fosfofruktokinazy oznaczano metodą Adlarda i Dobbinga (1971). Aktywność kinazy pirogronianowej oznaczano według metody Schwarka i wsp. (1971).

Oznaczanie aktywności glikolitycznej układu cytoplazmatycznego i cytosolu. Frakcje inkubowano w roztworze La Page (Umbreit i wsp., 1957) z różnymi substratami glikolitycznymi (glukoza, glukoza-6-fosforan, fruktoza-6-fosforan, fruktoza-1,6-dwufosforan w stężeniu 6 mM). Po odpowiednim czasie inkubacji oznaczano stężenie kwasu mlekowego metodą Horna i Brunsa (1956).

Oznaczenie stężenia nukleotydów adenylowych i innych substratów glikolitycznych. Bezpośrednio po dekapitacji, głowy zwierząt zamrażano w ciekłym azocie, wypreparowywano półkule mózgowie i ekstrahowano je według metody Folbergrowej i wsp. (1969). W ekstraktach oznaczano stężenie glukozy, glukoza-6-fosforanu, fosfokreatyny, ATP, ADP, AMP i pirogronianu metodą fluorymetryczną (Lowry i wsp. 1964). Kwas mlekowy oznaczano według Jongkinda i Bruntinka (1970).

Oznaczanie stężenia wolnych kwasów tłuszczowych w mózgu. Wolne kwasy tłuszczowe ekstrahowano z układu cytoplazmatycznego, cytosolu lub mikrosomów według metody MacGee i Allena (1974) i estryfikowano dwuazometanem w chloroformie. Estry rozdzielano w chromatografii gazowej (PYE-Unicam-S-104) wyposażonym w płomieniowy detektor jonizacyjny. Kolumny zawierały PEGA chromosorb W. Temperatura kolumn wynosiła 210°C, szybkość przepływu argonu 40 ml/miń. Jako wewnętrznego standardu używano estru metylowego kwasu erukowego.

Wpływ kwasów tłuszczowych i detergentów na enzymy glikolityczne. Badano działanie wolnych kwasów tłuszczowych i detergentów na aktywność glikolityczną układu cytoplazmatycznego oraz aktywność heksokinazy i fosfofruktokinazy. Kwasy tłuszczowe i kwas dezoksycholowy stosowano w postaci zawiesin wodnych otrzymanych przez sonifikację lub też, w przypadku doświadczeń wymagających niewielkich stężeń tych substancji, wprowadzano je do układów wodnych w postaci odpowiednich ilości 10 mM roztworów podstawowych w etanolu. Siarczian dodecyłu rozpuszczano w wodzie.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Ostre, dwuminutowe niedotlenienie azotowe powodowało obniżenie poziomu glukozy oraz zwiększenie zawartości kwasu mlekowego w mózgowiach badanych zwierząt. Jednocześnie obserwowano niezmienny poziom glukozy we krwi. Wyniki te potwierdzają znany fakt występowania znacznego przyspieszenia glikolizy już w pierwszych minutach niedotlenienia tkanki (Duffy i wsp., 1972). Związane ze wzmożoną aktywnością glikolityczną większe zużycie glukozy przez mózg nie jest w tym okresie kompensowane przez zwiększony transport tego cukrowca z krwi. W dalszych minutach (30 minutowe niedotlenienie z wielokrotną reanimacją) zaobserwowano wzrost zawartości glukozy zarówno we krwi, jak i w mózgu, najprawdopodobniej w wyniku mobilizacji glikogenu wątrobowego z jednoczesną stymulacją transportu glukozy z krwi do mózgu. Zawartość kwasu mlekowego znacznie przewyższała w tym czasie zarówno wartość kontrolną, jak i oznaczoną po 2 minutach niedotlenienia.

Zawartość glukozy-6-fosforanu w mózgowiach szczurów ulegała także obniżeniu po 2 minutach niedotlenienia i wracała do poziomu wyjściowego po 30 minutach niedotlenienia. Powrót do normy zawartości tego metabolitu przy jednoczesnym wysokim poziomie kwasu mlekowego należy tłumaczyć wykorzystaniem części glukozy-6-fosforanu przez cykl pentozowy stymulowany również w niedotlenieniu. Stymulację dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu, enzymu katalizującego pierwszą reakcją tego cyklu wykazano uprzednio w mózgu zwierząt poddanych zatruciu tlenkowęglowemu (Sikorska i Broniszewska-Ardelt, 1976).

Zaobserwowano również wzrost stężenia pirogronianu w mózgu zarówno po 2, jak i po 30 minutach niedotlenienia, co jest zgodne ze znanym zjawiskiem upośledzenia przemian cyklu Krebsa w warunkach beztlenowych, a także sugeruje zwiększoną przemianę niektórych aminokwasów do pirogronianu oraz ograniczenie glukoneogenezy. Ostre, dwuminutowe niedotlenienie azotowe (96% N₂, 4% O₂) obniżało w niewielkim stopniu poziom fosfokreatyny i ATP w mózgowiach myszy. Większe zużycie tych związków (około 50% wartości kontrolnej) obserwowano w mózgowiach szczurów poddanych niedotlenieniu azotowemu (99% N₂, 1% O₂). Równolegle obserwowano wzrost stężenia ADP i AMP, w wyniku czego obniżyła się wartość ładunku energetycznego (0,86—0,67). Po 30 minutach niedotlenienia z reanimacją wykazano w mózgowiach szczurów wzrost zawartości P-kreatyny i ATP nieco powyżej normy oraz obniżenie poziomu ADP i AMP, co przywróciło do poziomu wyjściowego wartość ładunku energetycznego nukleotydów adenylowych. Ponieważ zwiększeniu się zawartości ATP w tkance nie towarzyszyła zmiana

na obniżonego poziomu tego nukleotydu w mitochondriach, można sądzić, że źródłem nowopowstałego ATP jest ciąg glikolityczny zachodzący w cytoplazmie. Wydaje się więc, że stymulacja glikolizy jest mechanizmem adaptacyjnym pozwalającym utrzymać na prawidłowym poziomie zawartość związków wysokoenergetycznych w mózgu w stanie niedotlenienia.

Badanie zawartości kwasów tłuszczowych wykazało, że niedotlenienie powoduje wzrost ich stężeń w mózgu, co uprzednio wykazali Bazan (1970) i Łazarewicz i wsp. (1972). Stwierdzono również, że nagromadzenie kwasów tłuszczowych występuje we frakcji mikrosomalnej układu cytoplazmatycznego.

Po raz pierwszy wykazano, że w niedotlenieniu azotowym i krążeniowym zmniejsza się aktywność heksokinazy mitochondriów mózgu, a jednocześnie wzrasta aktywność tego enzymu w cytoplazmie. Najprawdopodobniej jest to wynikiem przemieszczenia się enzymu w komórce z mitochondriów do cytoplazmy. Należy tu wspomnieć, że w mózgu kurcząt po dekapitacji zaobserwowano przemieszczenie się tego enzymu w kierunku odwrotnym, z cytoplazmy do mitochondriów (Knull i wsp., 1973).

Kolejne badania miały dostarczyć odpowiedzi na dwa pytania: czy obserwowana redystrybucja heksokinazy może być odpowiedzialna za stymulację glikolizy mózgu w niedotlenieniu oraz jaki jest mechanizm tego zjawiska? Wykazano, że mitochondria dodane do glikolizującego układu cytoplazmatycznego mózgu stymulują powstawanie kwasu mlekowego i że stymulacja ta związana jest z fosforylacją glukozy. Egzogenna heksokinaza również stymulowała aktywność glikolityczną. Wobec tego, wydaje się, że na pierwsze z postawionych pytań należy odpowiedzieć twierdząco. Aby odpowiedzieć na drugie z tych pytań przebadano wpływ czynników charakterystycznych dla niedotlenienia mózgu (wzrost stężenia jonów wodorowych, zmiana stężenia nukleotydów adenylowych) na heksokinazę mitochondrialną. Uzyskane wyniki przemawiają za tym, że obniżone pH tkanki i kwasy tłuszczowe w niższych stężeniach mogą być odpowiedzialne za przemieszczanie się enzymu z mitochondriów do cytosolu. Należy dodać, że przemieszczenie heksokinazy w niedotlenieniu zaobserwowano w mózгах zwierząt z dojrzałym układem nerwowym. Nie obserwowano tego zjawiska w mózгах zwierząt na niższym etapie rozwoju filogenetycznego (żółwi morskich) oraz w mózгах zwierząt z niedojrzałym układem nerwowym (5-cio dniowych szczurów). Brak zmian w rozmieszczeniu heksokinazy w mózgu żółwi morskich można wiązać z ich większą pojemnością buforową krwi, stwierdzoną przez Clarka i Millera (1973).

Wykazano ponadto, że wolne kwasy tłuszczowe w stężeniach powyżej 1 mM hamują aktywność glikolityczną układu cytoplazmatycznego mózgu. Zjawisko to może być wynikiem nieswoistego zahamowania heksokinazy i fosfofruktokinazy, które ulegają denaturacji w obecności kwasów tłuszczowych w stężeniach wyższych niż 1 mM.

Niewielki hamujący wpływ na heksokinazę wywierało także obniżenie ładunku energetycznego nukleotydów adenylowych

$$\frac{[ATP] + 0,5 [ADP]}{[ATP] + [ADP] + [AMP]}$$

do wartości stwierdzonej uprzednio *in vivo* w niedotlenieniu.

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań można sądzić, że zasadniczą rolę w regulacji aktywności glikolitycznej mózgu w niedotlenieniu odgrywa heksokinaza, pierwszy kluczowy enzym ciągu glikolitycznego. Enzym ten związany głównie z frakcją mitochondrialną może w stanie niedotlenienia przemieszczać się częściowo do cytosolu. Mechanizm i przyczyny tego przemieszczenia nie są znane. Zjawisko to może stanowić jeden z czynników odpowiedzialnych za stymulację ciągu glikolitycznego w niedotlenieniu.

PIŚMIENNICTWO

1. Adlard B. P. E., Dobbing J.: Phosphofructokinase and fumarate hydratase in developing rat brain. *J. Neurochem.*, 1971, 18, 1299—1303.
2. Bazan N. G.: Effects of ischemia and electroconvulsive shock on free fatty acid pool in the brain. *Biochim. Biophys. Acta*, 1970, 218, 1—10.
3. Beattie D. S., Sloan H. R., Basford R. E.: Brain mitochondria II. The relationship of brain mitochondria to glycolysis. *J. Cell. Biol.*, 1963, 19, 309—316.
4. Clark V., Miller A. T. Jr.: Studies on anaerobic metabolism in the fresh-water turtle (*Pseudemys scripta elegans*). *Comp. Biochem. Physiol.* 1973, 44 A, 55—62.
5. Duffy T. E., Nelson S. R., Lowry O. H.: Cerebral carbohydrate metabolism during acute hypoxia and recovery. *J. Neurochem.* 1972, 19, 959—977.
6. Folbergrova J., Passonneau J. V., Lowry O. S., Schulz D. W.: Glycogen, ammonia and related metabolites in the brain during seizures evoked by methionine sulphoximine. *J. Neurochem.* 1969, 16, 191—203.
7. Gumińska M.: Regulacja glikolitycznej drogi wytwarzania energii. *Monografie Biochemiczne* 1971, 24, 47—69.
8. Horn H. D., Bruns F. M.: Quantitative Bestimmung von L (+) Milchsäure mit Milchsäuredehydrogenase. *Biochem. Biophys. Acta* 1965, 21, 378—380.
9. Jongkind J. F., Bruntink R.: Forebrain freezing rates and substrate levels in decapitated rat heads. *J. Neurochem.* 1970, 17, 1615—1617.
10. Knull H. R., Taylor W. F., Wells W. W.: Effects of energy metabolism on *in vivo* distribution of hexokinase in brain. *J. Biol. Chem.* 1973 248, 5414—5417.
11. Korthals J., Mossakowski M. J., Śmiałek M.: Obraz histologiczny i ultrastrukturalny ostrej doświadczonej encefalopatii tlenkowej. *Neuropat. Pol.*, 1973, 11, 279—300.

12. Lowry O. H., Passonneau J. V., Hasselberger F. X., Schulz D. W.: Effects of ischemia on known substrates and cofactors of the glycolytic pathway in brain. *J. Biol. Chem.* 1964, 239, 18—42.
13. Łazarewicz J. W., Strosznajder J., Gromek A.: Effects of ischemia and exogenous fatty acids on the energy metabolism in brain mitochondria. *Bull. Acad. Pol. Sci.*, 1972, 20, 599—606.
14. MacGee I., Allen K. G.: Preparation of methyl esters from the saponifiable fatty acids in small biological specimens for gas-liquid chromatographic analysis. *J. Chromat.* 1974, 100, 35—42.
15. Mchedlishvili G. J.: Experimental model of controllable circulatory hypoxia (ischemia) of cerebral hemispheres. *Neuropat. Pol.* 1973, 11, 249—262.
16. Ozawa K., Seta K., Takeda H., Ando K., Avaki C.: The effect of ischemia on mitochondrial metabolism. *J. Biochem.* 1967, 61, 512—517.
17. Schwark W. S., Singhal R. L., Ling G. M.: Metabolic control mechanisms in mammalian systems. Regulation of pyruvate kinase in the rat cerebral cortex. *J. Neurochem.* 1971, 18, 123—134.
18. Sikorska M., Broniszewska-Ardelt B.: The activity of adenylate cyclase, hexokinase, phosphofruktokinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase and pyruvate kinase in rat brain after experimental carbon monoxide intoxication. *Bull. Acad. Pol. Sci.*, 1976, 24, 429—435.
19. Sokoloff L.: Metabolism of the central nervous system "in vivo". *Handbook of Physiology*. III Ed. J. Field., Am. Physiol. Soc., Washington 1960, p. 1847.
20. Umbreit W. W., Burns R. H., Stauffer J. F.: *Manometric techniques*, Burgess Publ. Co. Minn. 1957.

Adres autorki: Zespół Neurochemii, Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, ul. Dworkowa 3, 00-784 Warszawa.

OCENA KSIĄŻKI

W. Jänisch, H. Güthert, D. Schreiber: *PATHOLOGIE DER TUMOREN DES ZENTRALNERVENSYSTEMS*. VEB G. Fischer Verlag, Jena 1976, str. 513.

W przedmowie do książki autorzy wyjaśniają swój pogląd, że rozważania na temat klasyfikacji guzów układu nerwowego uważają w chwili obecnej za bezowocne i konsekwentnie ograniczają ten kontrowersyjny problem do koniecznych zaznaczeń. Natomiast szerzej niż w innych monografiach jest rozbudowana część ogólna obejmująca prawie połowę tekstu. Część ta obejmuje cztery rozdziały dotyczące danych obdukcyjnych i epidemiologicznych jak częstość występowania guzów układu nerwowego, wieku i płci pacjentów, biologii i morfologii nowotworów oraz ich patogenezy. W tym rozdziale autorzy omawiają związek między występowaniem guzów a czynnikami zewnętrznymi jak urazy, ciała obce, pasożyty, przewlekłe stany zapalne, stwardnienie rozsiane, zakażenia wirusowe, immunosupresja, promieniowanie, czynniki chemiczne z otoczenia oraz związek z czynnikami wewnętrznymi jak hormony, uwarunkowanie genetyczne, zaburzenia rozwoju embrionalnego. Dane piśmiennictwa są tu starannie korelowane z własnym materiałem autorów, pochodzącym z Instytutu Patologii Akademii Medycznej w Erfurcie i Uniwersytetu Martina Lutra w Halle-Wittenberg. Część ogólna została poszerzona o rozdział poświęcony doświadczalnym guzom mózgu i samoistnym nowotworom układu nerwowego u zwierząt. Uzupełnienia tego typu w monografiach dotyczących materiału ludzkiego są rzadkim zjawiskiem i tym cenniejszym, że wprowadzili je wytrawni znawcy przedmiotu opierający się na własnym materiale opublikowanym już uprzednio w monografii o doświadczalnych guzach układu nerwowego.

W części szczegółowej autorzy omawiają poszczególne typy guzów neuroektodermalnych i mezenchymalnych ilustrując je 202 rycinami oraz licznymi tabelami dotyczącymi występowania, czasu przeżycia, częstości przerzutów itd. Dzięki tej starannej dokumentacji statystycznej książka dodatkowo zyskuje na wartości. Atrakcyjność książki polega głównie na szeroko rozbudowanej części ogólnej. Osobom zajmującym się neuroonkologią kliniczną dostarcza nowych informacji wynikających z rozwoju neuroonkologii doświadczalnej, dla klinicystów — związanych danych statystycznych, a dla anatomopatologów jest godnym polecenia, nowoczesnym podręcznikiem neuroonkologii.

Halina Kroh

DZIAŁ KRONIKI I INFORMACJI

W dniu 7 kwietnia 1978 r. odbyło się w Poznaniu Zwyczajne Walne Zgromadzenie Stowarzyszenia Neuropatologów Polskich. Obradom przewodniczył kol. M. Kozik, sekretarzem był kol. A. Goncerzewicz.

Zebranie otworzył przewodniczący Zarządu Głównego SNP, prof. M. J. Mossakowski. Przypomniął, że w ciągu 15 lat istnienia Stowarzyszenia nastąpił ilościowy wzrost jego członków (z 25 do 77). Do Stowarzyszenia przyłączyli się przedstawiciele pokrewnych specjalności (neurochemicy, neuroanatomowie, neurologzy kliniczni). Następnie prof. Mossakowski wręczył dyplomy osobom nagrodzonym przez Stowarzyszenie w latach 1976 i 1977 za wyróżniające się prace z zakresu neuropatologii.

Prof. Mossakowski wygłosił następnie wspomnienie pośmiertne o prof. dr Ewie Osetowskiej, pierwszej przewodniczącej Stowarzyszenia, której śmierć była niepowetowaną stratą dla całej polskiej neuropatologii. Zebrani minutą ciszy uczcili Jej pamięć.

Po odczytaniu protokołu z poprzedniego Walnego Zgromadzenia i sprawozdań z działalności Zarządu Głównego, Redakcji Neuropatologii Polskiej i Komisji Rewizyjnej, jednomyślnie udzielono absolutorium ustępującemu Zarządowi.

W dyskusji zabrało głos szereg osób (kol. kol. A. Jędrzejewska, J. Dymecki, J. Kałuża, M. Mossakowski, I. Zelman).

Poruszono między innymi nie uregulowany dotychczas problem drugostopniowej specjalizacji z neuropatologii, sprawę usprawnienia nadzoru nad całością diagnostyki neuropatologicznej przez utworzenie stanowiska specjalisty krajowego z zakresu neuropatologii, kwestię uzyskania przez Instytut Psychoneurologiczny uprawnień do doktoryzowania z zakresu neuropatologii, sprawę trybu pracy Redakcji Neuropatologii Polskiej (priorytet dla prac realizowanych w ramach problemów węzłowych, przysyłanie autorom recenzji prac zgłaszanych do druku, podawanie terminu wpłynięcia pracy i zakwalifikowania jej do druku), sprawy przystąpienia SNP do Międzynarodowego Zrzeszenia Towarzystw Lekarskich i wiele innych.

Zebrani zaakceptowali następujące dezyderaty opracowane przez Komisję Wnioskową:

1) nadsyłanie wszystkich wiadomości o wydarzeniach w środowisku neuropatologicznym do prowadzonej przez kol. J. Dymeckiego Kroniki Neuropatologii Polskiej,

2) rozważenie możliwości przystąpienia SNP do Międzynarodowego Zrzeszenia Towarzystw Lekarskich,

3) zobowiązanie Zarządu Głównego do podjęcia działań w kierunku utworzenia stanowiska specjalisty krajowego z zakresu neuropatologii.

Następnie wybrano nowe władze SNP w osobach:

- przewodniczący — prof. dr med. M. Wender,
- vice-przewodnicząca — doc. dr med. M. Dąmbaska
- redaktor naczelny Neuropatologii Polskiej — prof. dr med. M. J. Mossakowski,

- sekretarz Z. G. — dr med. A. Goncerzewicz,
- skarbnik Z. G. — dr med. T. Majdecki,
- członkowie Z. G. — doc. dr med. J. Rafałowska i dr med. J. Lehman-Borowska,
- delegatami SNP do Rady Międzynarodowego Towarzystwa Neuropatologicznego pozostali nadal: prof. M. J. Mossakowski (vice-prezes Towarzystwa), oraz M. Wender i J. Dymecki (członkowie Rady).

* * *

Przewodniczący Towarzystwa Neuropatologicznego NRD wręczył w dniu 7 kwietnia 1978 r. w Poznaniu dyplom Członka Honorowego tegoż Towarzystwa Przewodniczącemu SNP prof. dr med. M. J. Mossakowskiemu.

* * *

- W ostatnim okresie następujący koledzy z Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN w Warszawie uzyskali stopień naukowy doktora habilitowanego:
- Halina Kroh na podstawie pracy: „Cechy morfologiczne i histochemiczne doświadczalnych glejaków mózgu myszy”;
 - Maria Ostenda na podstawie pracy: „Stan złącza naczyniowo-glejowego w napromienionej tkance mózgowej”;
 - Andrzej Kapuściński na podstawie pracy: „Badania nad ischemiczno-hipoksyjnym obrzękiem mózgu przy użyciu metod izotopowych”.

* * *

W dniu 8 kwietnia 1978 r. kol. Jerzy Dymecki otrzymał nominację na profesora nadzwyczajnego.

* * *

W ramach Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików powstała Sekcja Tkanki Łącznej. Celem Sekcji jest między innymi: zbieranie informacji na temat badań prowadzonych w kraju w zakresie biologii i patologii tkanki łącznej — inspirowanie tych badań, organizowanie sympozjów naukowych, współpraca z odpowiednimi organizacjami i ośrodkami zagranicznymi. Przewodniczącym Sekcji został prof. dr hab. Eugeniusz Małyk.

Adres sekcji: Instytut Reumatologiczny, Spartańska 1, 02-637 Warszawa.

Jerzy Dymecki

TREŚĆ

E. Osetowska, A. Kozyriska, M. Afek-Kamińska: Procesy zapalne „neuronobójcze” i neuronotropowe	305
J. Borowska-Lehman, B. Kopacka, D. Kuklińska: Zmiany morfologiczne w ośrodkowym układzie nerwowym u myszy szczepionych zawiesiną <i>bordetella pertussis</i>	317
M. J. Mossakowski, M. Ostenda, A. Pronaszko-Kurczyńska: Obraz mikroskopowo-elektronowy naczyń włosowatych mózgu w doświadczalnej encefalopatii wątrobowej	327
M. Wender, A. Piechowski, J. Sędzik, O. Mularek, D. Talkowska: Białka mieliny po transłożyskowym zatruciu etylnitrozomocznikiem	339
J. Szczech: Zmiany morfologiczne i histoenzymatyczne w korze amonalnej szczura w przebiegu zatrucia octanem fenylortęciowym	347
M. Beskid, A. Koelichen, J. Kwiatkowska: Ultrastrukturalna ocena komórek kory mózgowej szczura w toku skojarzonego stosowania etanolu z pirazolem	361 TUB
W. Lessel, K. Dietzmann: Badania monoaminowego mechanizmu bariery krew-mózg przy pomocy metody Falk-Hillarp i metody glioksalowej. Badania porównawcze	375
R. Gadamski: Obraz włókien adrenergicznych w oponie miękkiej szczura i chomika mongolskiego w niedotlenieniu hipoksyjnym, niedokrwieniu i odnerwieniu	385
E. Tarnowska-Dziduszko, D. Markiewicz, L. Szemis: Morfologia śródmiaższowych naczyń krwionośnych mózgu w przewlekłym alkoholizmie	399
J. Kulczycki, T. Majdecki: Przypadek stwardniającego zapalenia mózgu o ostrym przebiegu	413
K. Renkawek: Przypadek zapalenia mózgu z nasilonymi zmianami zwyrodnieniowymi	421
A. Jędrzejewska-Iwanowska, M. B. Gabryelewicz, T. Niedek, G. Puławska: Postać mózgowa <i>lupus erythematodes disseminatus</i> . Opis przypadku	431
B. Broniszewska-Ardelt. Regulacja aktywności glikolitycznej mózgu podczas niedotlenienia	437
Ocena książek nadesłanych	444
Dział Kroniki i Informacji	445

СОДЕРЖАНИЕ

Е. Осетовска, А. Козырская, М. Афек-Каминьска: Нейронолетальные и нейронотропические воспалительные процессы	305
И. Боровска-Лехман, Б. Копачка, Д. Куклинська: Морфологические изменения в центральной нервной системе у мышей, вакцинированных взвесью <i>bordetella pertussis</i>	317
М. Я. Моссаковски, М. Остенда, А. Пронашко-Курчиньска: Электронно-микроскопическая картина мозговых капилляров при экспериментальной гепатогенной энцефалопатии	327
М. Вендер, А. Пеховски, Я. Сендзик, О. Мулярек, Д. Тальковска: Белки миелина после трансплацентарного отравления этилнитрозомочевинной Ю. Щех: Морфологические и гистоэнзиматические изменения в коре аммонова рога крысы в процессе отравления октаном фенилртути	339
М. Бескид, А. Коелихен, И. Квятковска: Ультраструктурная оценка клеток мозговой коры крысы в ходе совместного применения этанола с пиразолом	347
В. Лессел, К. Дитцманн: Исследования моноаминового механизма гемато-энцефалического барьера при помощи метода Фалька-Хилларпа и глиоксалевого метода. Сравнительные исследования	361
Р. Гадамски: Адренэргические волокна в мягкой оболочке крысы и монгольского хмяка при гипоксии, ишемии и денервации	375
Е. Кульчыцки, Т. Майдецки: Случай склерозирующего энцефалита химатозных кровеносных сосудов мозга при хроническом алкоголизме	3
Е. Кульчыцки, Т. Майдецки: Случай склерозирующего энцефалита с острым течением	39
К. Ренкавэк: Случай паненцефалита с интенсивными дегенеративными изменениями	413
А. Енджеевска-Ивановска, М. Габрыелевич, Т. Недек, Г. Пулавска: Мозговая форма <i>lupus erythematodes disseminatus</i> . Описание случая	421
Б. Бронишевска-Ардельт: Регуляция гикохимической активности мозга при гипоксии. Содержание диссертации на звание доцента	4
Рецензии	437
Отдел хроники и информации	444
	445

CONTENTS

E. Osetowska, A. Kozyrska, M. Afek-Kamińska: "Neuronolethal" and neuronotropic inflammatory processes	305
J. Borowska-Lehman, B. Kopacka, D. Kuklińska M: Morphological changes in the central nervous system of mice inoculated with a <i>bordetella pertussis</i> suspension	317
M. J. Mossakowski, M. Ostenda, A. Pronaszko-Kurczyńska: Ultrastructure of brain capillaries in experimental hepatogenic encephalopathy	327
M. Wender, A. Piechowski, J. Sędzik, O. Mularek, D. Talkowska: Myelin proteins after transplacental intoxication with ethylnitrosoarea	339
J. Szczec: Morphological and histoenzymatic changes in rat ammonal cortex after phenylmercuric acetate intoxication	347
M. Beskid, A. Koelichen, J. Kwiatkowska: Ultrastructural evaluation of rat brain cortical neurons in the course of joint ethanol and pyrazole administration	361
W. Lessel, K. Dietzmann: Untersuchungen am monoaminergen Bluthirnschrankenmechanismus mit der Falck-Hillarp- und der Glyoxylsäuremethode. Ein Methodenvergleich	375
R. Gadamski: Adrenergic fibers in the rat and mongolian gerbil pia mater in hypoxic hypoxia, ischemia and denervation	385
E. Tarnowska-Dziduszko, D. Markiewicz, L. Szemis: Morphology of parenchymal cerebral blood vessels in chronic alcoholism	399
J. Kulczycki, T. Majdecki: Die akut verlaufende Panencephalitis	413
K. Renkawek: A case of panencephalitis with extensive degenerative changes	421
A. Jędrzejewska-Iwanowska, M. B. Gabryelewicz, T. Niedek, G. Puławska: Cerebral form of <i>lupus erythematoses disseminatus</i> . Case report	431
B. Broniszewska-Ardelt: Regulation of cerebral glycolytic activity in hypoxia	437
Books review	444
Chronicles and Information	445

WARUNKI PRENUMERATY

Cena prenumeraty krajowej:

rocznie	— zł 100.—
półrocznie	— zł 50.—

Prenumeratę na kraj przyjmują Oddziały RSW „Prasa — Książka — Ruch” oraz urzędy pocztowe i doręczyciele — w terminach:

- do 25 listopada na styczeń, I kwartał, I półrocze roku następnego i na cały rok następny,
- do dnia 10 miesiąca, poprzedzającego okres prenumeraty, na pozostałe okresy roku bieżącego.

Jednostki gospodarki uspołecznionej, instytucje i organizacje społeczno-polityczne składają zamówienie w miejscowych Oddziałach RSW „Prasa — Książka — Ruch”.

Zakłady pracy i instytucje w miejscowościach, w których nie ma Oddziałów RSW, oraz prenumeratorzy indywidualni zamawiają prenumeratę w urzędach pocztowych lub u doręczycieli.

Prenumeratę ze zleceniem wysyłki za granicę, która jest o 50% droższa od prenumeraty krajowej, przyjmuje RSW „Prasa — Książka — Ruch”, Centrala Kolportażu Prasy i Wydawnictw, ul. Towarowa 28, 00-958 Warszawa, konto PKO nr 1531-71 — w terminach podanych dla prenumeraty krajowej.

*

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: 36668