

POLSKA AKADEMIA NAUK
ZAKŁAD NEUROPATHOLOGII W WARSZAWIE

NEUROPATHOLOGIA POLSKA

ZAKŁAD NEUROPATHOLOGII P.A.N.
Warszawa
BIBLIOTEKA
79/02

TOM IV

1966

ZESZ. 2

WARSZAWA

NEUROPATHOLOGIA POLSKA

KWARTALNIK

Tom IV

Kwiecień – Czerwiec 1966

Nr 2

KOMITET REDAKCYJNY

Andrzej Głuszczyk (Łódź), *Janusz Groniowski* (Warszawa), *Witold Karczewski* (Warszawa), *Józef Kaluża* (Kraków), *Maria Kobuszevska-Faryna* (Warszawa), *Jerzy Konorski* (Warszawa), *Zygmunt Kuligowski* (Pruszków), *Adam Kunicki* (Kraków), *Helena Nielubowiczowa* (Warszawa), *Ewa Osetowska* (Warszawa), *Zygmunt Ruszczevski* (Warszawa), *Stanisław Stefanko* (Kraków), *Lucjan Stępień* (Warszawa), *Henryk Wiśniewski* (Warszawa).

Przy współpracy

Ludo van Bogaert (Antwerpia), *N. J. Graszczekow* (Moskwa), *Igor Klatzo* (Bethesda), *Istvan Környey* (Pecs), *William H. McMenemey* (Londyn), *J. Olszewski* (Toronto), *Franz Seitelberger* (Wiedeń), *Istvan Tariska* (Budapeszt)

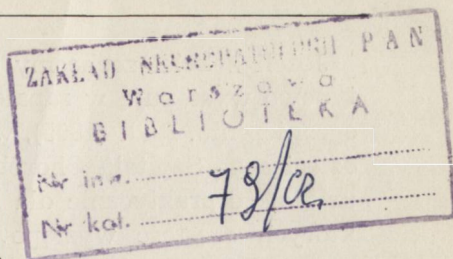
REDAKCJA

Redaktor: *Ewa Osetowska*
Redaktor Działu Ultrastruktury O.U.N.: *Janusz Groniowski*
Redaktor Działu Neuroonkologii: *Adam Kunicki*
Sekretarz: *Mirosław Mossakowski*
Sekretarz techniczny: *Henryk Wiśniewski*

ADRES REDAKCJI

Zakład Neuropatologii Polskiej Akademii Nauk
Warszawa, ul. Pasteura 3, tel. 22-96-27

Wydawca
PAŃSTWOWY ZAKŁAD WYDAWNICTW LEKARSKICH



EWA OSETOWSKA

NEUROPATHOLOGIA WIRUSOWYCH ZAPALEŃ MÓZGU U DZIECI *)

Z Zakładu Neuropatologii PAN w Warszawie

Kierownik: prof. dr med. E. Osetowska

Zbiorcze pojęcie „wirusowe zapalenia mózgu” weszło tak mocno w codzienny słownik lekarski, że sugeruje siłą rzeczy istnienie zespołu określonych, wyróżnicowanych obrazów patologicznych. Tymczasem nawet pobieżna analiza reakcji tkankowych, w stanach rozpoznawanych przyżyciowo jako zapalenia mózgu, względnie zapalenia mózgu wirusowe, stawia neuropatologa przed koniecznością najrozmaitszych zastrzeżeń, nawiasów, wyjaśnień i niedomówień.

Zacznijmy od katalogowego przeglądu wirusów, które mogą wchodzić w rachubę jako czynniki wywoławcze w zapaleniach ośrodkowego układu nerwowego.

Bentégeat i Marc (1961) wyróżniają następujące wirusy, odpowiedzialne za „neurowirozy”; enterowirusy, wśród nich grupa Polio, Coxsackie i Echo; Arbor-wirusy, wirus Armstronga, wywołujący zapalenie opon i spłotu; wirusy grupy Herpes, wirus nagminnego zapalenia ślinianek, adeno-wirusy. Jest to klasyfikacja wirusologów. Scheid (1961) — neurolog-klinicysta, wyróżnia następujące możliwości etiologiczne dla zapaleń mózgu pochodzenia wirusowego: Arbor-wirusy; Entero-wirusy; wirus nagminnego zapalenia ślinianki; wirus Herpes A i B; wirus Armstronga, oraz grupę innych wirusów, w której wymienia hypotetycznego wirusa nagminnego zapalenia mózgu Economo, wirusa grypy oraz wirusa EMC, powodującego powstawanie zespołu *encephalomyocarditis*. Mniej więcej te same wirusy wymieniane są w pracach przedstawionych na Sympozjum aktualnych Encefalitów w Sofii w roku 1962 (Mihalca i wsp. 1964, Iancu i wsp. 1964, Bruckner i wsp. 1964, Marulescu i wsp. 1964). Z wirusów nie mających znaczenia epidemiologicznego, ze względu na typ występowania, można dorzucić do tej listy jeszcze wirusa wścieklizny.

*) Praca wykonana w oparciu o pomoc finansową P.L. 480 U.S. Public Health Program, agreement 227703.

Jeżeli z kolei zechcemy się ograniczyć tylko do tych wirusów, które typowo występują w zapaleniach mózgu u dzieci, lista ulegnie dalszemu ograniczeniu. Radl (1965), w przeglądzie materiału klinicznego z oddziału dziecięcego Szpitala Chorób Zakaźnych w Wiedniu, w latach 1963/1964, uważa, że praktycznie dla klinicysty w rachubę wchodzi: wirusy *Polio*, których częstość występowania zmniejsza się z roku na rok; liczne przypadki wywołane wirusem nagminnego zapalenia ślinianek oraz zapalenia mózgu wywołane przez wirusy *Echo*. Śmiertelność wszystkich tych przypadków była minimalna i w zasadzie nie docierają one do weryfikacji patologicznej.

Z punktu widzenia obrazów tkankowych, do tego obrazów tkankowych mniej lub bardziej typowych, można wyróżnić grupę *Arbor* — nie wchodzi one jednak w repertuar zapaleń mózgu typowo dziecięcych. Oczywiście mogą się zawsze zdarzyć przypadki sporadyczne, jednak Moritsch (1965) stwierdza jednoznacznie, że zapalenie mózgu wywołane wirusami *Arbor*, szczególnie wirusami z grupy B, środkowo-europejskimi i pokrewnymi, nie jest chorobą ani wieku dziecięcego, ani ludzi bardzo młodych. Za przeciętną wiek dla tego zapalenia przyjmuje 38 lat.

Pozostaje zatem w rozważaniach grupa *Entero-wirusów*, w której tylko przy wirusach *Polio* można mówić o obrazie typowym; wirus *Herpes A* o dużym powinowactwie do wieku dziecięcego, a nawet niemowlęcego; wirusy grypy, ewentualnie wirus *EMC*. Wirus nagminnego zapalenia ślinianki daje stosunkowo rzadkie zejścia śmiertelne i neuropatologia zapalenia mózgu nie jest tu jednoznacznie zidentyfikowana. Wirus *Armstronga* nie jest również wirusem „dziecięcym”, a poza tym nie jest znany, jak dotychczas, ani jeden obraz patologiczny tego zapalenia — na ogół przebieg kliniczny kończy się pomyślnie (Osetowska 1962). Wściekliznę i nagminne zapalenie mózgu wykluczymy także z obecnych rozważań, jako nietypowe dla patologii mózgowej u dzieci. Pomimo tak ograniczonego repertuaru wirusów, rozdział encefalitów dziecięcych nie jest łatwy do opanowania praktycznego.

Istota trudności dla neuropatologa polega bowiem nie na nauczeniu się obrazów, wywołanych przez znany czynnik i niezmiennych w cechach podstawowych od przypadku do przypadku, lecz na występowaniu licznych odczynów tkankowych, powtarzających się w szeregu przypadków, przy niemożności uchwycenia przyczyny wywołującej; mam tu na myśli zapalenia mózgu o tzw. etiologii prawdopodobnie wirusowej, oraz na występowaniu niezmiernie różnych obrazów w przypadkach, gdzie przyżyciowo lub nawet śródtkankowo zidentyfikowano jednego i tego samego wirusa. Nad tym ostatnim zagadnieniem, szerzej nad zagadnieniem kształtowania się obrazu tkankowego

mózgu w zapaleniach wywołanych wirusami, chciałabym się przez chwilę zatrzymać, traktując je jako część ogólną zasad rozpoznawania tzw. jednostek neuropatologicznych.

Wirusy przedostają się do ośrodkowego układu nerwowego na drodze hematogennej lub poprzez nerwy obwodowe. Wydaje się jednak, że drogą inwazji masowej pozostaje droga hematogenna (Shiraki i wsp. 1965, Albrecht 1962). Przenikając przez ścianę naczyń nigdy w niej nie pozostają, dążąc wprost do komórki nerwowej. Uchwytne morfologicznie zmiany w neuronie występują w kilkadziesiąt godzin — badania tego typu zostały ostatnio wykonane w ME przez Oyangi (1965) dla eksperymentalnego zapalenia mózgu u myszy zakażonej wirusem *Encephalitis Japonica B*. W ścianach naczyń krwionośnych obserwuje się tylko objawy wzmożonej przepuszczalności, wywołanej prawdopodobnie toksycznym uszkodzeniem nerwów naczynioruchowych (Seitelberger, Jellinger 1965). Zmiany neuronalne mają charakter nieswoistej tigrólizy protoplazmy, homogenizacji jądra i protoplazmy, w końcu zaniku neuronu z utrzymywaniem się cieni homogennych w podłożu tkankowym. Jeżeli ta pierwsza inwazja wywoła dostatecznie uogólnione uszkodzenie parenchymy nerwowej, może w ogóle nie dojść do rozwinięcia się typowego zapalenia mózgu. Zejście śmiertelne następuje w fazie przed reakcją zapalną, w fazie encefalopatycznej.

Badanie histologiczne mózgu, wykonane na materiale, który odpowiada temu okresowi, stanowi przedmiot rozczarowania i dla patologa, i dla klinicysty. W protokóle możemy odnotować tylko uogólnione uszkodzenie neuronów z mniej lub bardziej nasilonymi objawami przekrwienia, stazy naczyniowej, mniej lub bardziej zlokalizowanym przynaczyniowo obrzękiem. Podporządkowanie tego banalnego obrazu burzliwemu kilkudniowemu, czasami kilkadziesiątgodzinnemu przebiegowi klinicznemu z zaburzeniami świadomości, często powtarzającymi się napadami drgawkowymi, głębokiej śpiączce *sub finem vitae*, znalazło swoje uzasadnienie dopiero w systematycznie, seryjnie prowadzonych badaniach doświadczalnych nad zachowaniem się wirusa bezpośrednio po przeniknięciu do elementów ośrodkowego układu nerwowego.

Ten pierwszy okres, cechujący się biologiczną interakcją pomiędzy wirusem i neuronem, zakończony albo bardzo poważnym uszkodzeniem tego ostatniego, albo jego śmiercią, Seitelberger i Jellinger (1965) nazywają fazą nekro-biotyczną. Następuje za nią faza druga, właściwa faza zapalna, cechująca się zespołem odpowiedzi tkanek podporowych, przez które na terenie ośrodkowego układu nerwowego rozumie się zarówno elementy łącznotkankowe, jak i mikro i makroglejowe, oraz dalszym rozwojem odpowiedzi układu naczyniowego na pierwsze wstęp-

ne podrażnienie. Patogeneza tej fazy nie jest jasna, ponieważ wchodzi tu już w rachubę liczne czynniki drugorzędne. Przywykło się mówić o zapaleniu zarówno mózgu, jak i zapaleniu w ogóle, na podstawie patologii klasycznej, że jest ono sumą reakcji bezpośrednich tkanki podporowej na obecność czynnika szkodliwego.

W zapaleniach wirusowych istnieje jednak wielokrotnie już stwierdzana dysocjacja lokalizacyjna pomiędzy czynnikiem szkodliwym — wirusem a reakcją tkankową — naciekiem zapalnym (Shiraki i wsp. 1965, Kusano i wsp. 1965, Osetowska, Wróblewska, Wiśniewski 1965). Naciek zapalny występuje przede wszystkim w miejscu uszkodzenia bariery krew—mózg, ale uszkodzenie to jest natury czynnościowej i bezpośrednia przyczyna wywołująca naciek hematogeny, proliferacyjną odpowiedź elementów łącznotkankowych oraz mobilizację i proliferację gleju położonego dalej od naczyń nie jest wyraźnie uchwytana. Niemniej muszą tu występować pewne elementy specyficzne dla danego zakażenia wirusowego, ponieważ ta właśnie reakcja tkankowa w wielu postaciach zapaleń nosi cechy predylekcyjnych powiązań lokalizacyjnych.

W nielicznych procesach naciek zapalny wiąże się z pierwotną lokalizacją wirusa. Tak jest np. w *Poliomyelitis*, gdzie zarówno grudki neuronofagiczne, jak i ławicowe nacieki zapalne występują w miejscu największego uszkodzenia neuronów na drodze nekrobiozy. Jednak już w grupie Arbor-wirusów, w grupie *Herpes simplex* nie można uchwycić tak dokładnych powiązań topograficznych, pomimo to naciek zapalny i w tych przypadkach utrzymuje cechy wybiórczości lokalizacyjnej.

Poza niezupełnie jasnym mechanizmem tejże odpowiedzi „pierwotnej” na obecność wirusa, w ośrodkowym układzie nerwowym w kształtowaniu się typu reakcji tkankowej biorą udział także i inne czynniki, zmienne od przypadku do przypadku, decydujące o odrębności i atypowości obrazów przy jednym i tym samym (takim samym) agresorze.

Większość zakażeń wirusowych ma przebieg dwustopniowy: fazę inwazji ogólnej i fazę „ufiksowania się” w narządzie predylekcyjnym. Ten okres czasu dzielący obie fazy wystarcza jednak do uruchomienia ogólnych mechanizmów obronnych, ale w szczególnych przypadkach także i mechanizmów alergicznych. W takich przypadkach reakcja tkanki mózgowej (rozumiem w tym miejscu pod tym ogólnikowym określeniem — nie tylko parenchymę, lecz również i zrąb podporowy, naczyniowo-mezodermalny) dotyczy nie tylko pierwotnej penetracji wirusa, lecz i wtórnej penetracji kompleksów białkowych, powstających w przebiegu procesów obronnych. Pierwotne uszkodzenie bariery hemato-encefalicznej ułatwia w wysokim stopniu przenikanie

do mózgu wysoko-cząsteczkowych białek, powodując odpowiedzi tkankowe znane z przebiegów parazytycznych i poszczepiennych. Na tę okoliczność zwraca bardzo mocno uwagę Jacob (1961), który uważa, że większość nietypowych obrazów *Poliomyelitis*, *Encephalitis rabica* itp. zawiera w istocie połączenie elementów odpowiedzi tkankowej właściwej dla danego czynnika wywoławczego obok elementów okołozynnego encefalitu mikroglejąowego, lub encefalitu grudkowego-mikroglejąowego, czy innych typów zapaleń właściwych dla czynników alergizujących (Jacob 1955).

Może tu dojść także do jeszcze jednego możliwego elementu podrażnienia lokalnego; produkty rozpadu mieliny, powstające pod wpływem okołonaczyniowego obrzęku, mogą ze swojej strony bądź to działać lokalnie bezpośrednio, modyfikując odpowiedź tkankową nawet w kierunku proliferacji granulomatycznych (Osetowska 1965), bądź też powodować procesy autoalergizacji i pogłębiać komponentę zapalenia nieswoistego.

W trzeciej fazie zapalenia mózgu dołącza się jeszcze czynnik wtórnych powikłań naczyniopochodnych oraz czynnik organizacji tkankowej regresywnej; tworzenie się ognisk martwiczych i ich wtórna organizacja; nacieki symptomatyczne i procesy bliznowacenia. W tej fazie, określanej przez Seitelbergera i Jellingera (1965) jako faza regresywna, bogactwo odczynów tkankowych jest największe, udział bezpośredni wirusa najmniejszy. I tak np. w technice immuno-fluorescencyjnej fluoryzujące antyciała, wskazujące na bogactwo agresji śródneuronalnej wirusa w okresach początkowych, pojawiają się w okresach późnych i fazach przewlekłych jako pojedyncze punkty nawet w ugrupowaniach jądrowych stanowiących jego siedlisko predyktoryjne.

Nakreślone powyżej możliwe modyfikacje obrazu mózgowego w przebiegu zapalenia wirusowego odnoszą się oczywiście zarówno do zapaleń mózgu u dzieci, jak i u dorosłych. Są to te pewne wytyczne myślowe, które należy uwzględniać w każdej ocenie diagnostycznej zapalenia mózgu. Być może jednak, że u dzieci, ze względu na odrębności chemiczne i tkankowe ustroju dojrzewającego, komplikacje te występują częściej, stąd też większa jest labilność obrazu i trudniejsza ostateczna interpretacja rozpoznawcza.

Reasumując tę część ogólną można tylko podkreślić raz jeszcze fakt, że czynnik etiologiczny nie przesądza ostatecznie specyficzności obrazu mózgowego. Ten ostatni kształtuje się w zależności od właściwości indywidualnych organizmu w ogóle i tkanki mózgowej w szczególności. Czy zatem sytuacja diagnozy neuropatologicznej staje znowu na martwym punkcie, w jakim znajdowała się przed okresem dużego skrawka

topograficznego, jako zasady pracy neuropatologii tkankowej klasycznej? Niezupełnie. Przy bardzo dużej różnorodności indywidualnej obrazów, w poszczególnych przypadkach udaje się jednak w miarę nabywania doświadczenia skatalogować pewną ilość wariacji możliwych dla danego procesu. Im więcej ma się za sobą obejrzanych przypadków jednego i tego samego typu zapalenia, tym bardziej zwiększa się możliwość trafnego rozpoznawania, ponieważ podobnie jak w całej patologii, tak i w patologii mózgowej zjawiska powtarzające się dają się szeregować w układy podstawowe dla procesu chorobowego i powikłania związane z danym przypadkiem. Niezależnie jednak od zasobu posiadanego doświadczenia, należy pamiętać o nieodrywaniu interpretacji obrazu mikroskopowego od wszelkich możliwych danych uzupełniających. Mam tu na myśli zarówno dane wywiadu, jak i przebiegu choroby, jak nawet i pochodzenia materiału mózgowego z określonych okolic geograficznych, co ma niejednokrotnie bardzo duże znaczenie, przy ogniskach wirusowych endemii.

Przechodząc z kolei do jednostek neuropatologicznych chciałabym krótko zatrzymać się nad *Poliomyelitis*, jako zapaleniem najbardziej znanym, choć powoli przesuwającym się do chorób historycznych, przynajmniej w swoich skrajnych wykładnikach histologicznych. Z tej samej grupy enterowirusów chcę wspomnieć tylko o zapaleniach mózgu wywoływanych przez wirusy Coxsackie. Nieco dłużej chciałabym się zatrzymać nad zapaleniem mózgu grypowym, jako nad jednostką najbardziej sporną interpretacyjnie. Następnie omówię zapalenie mózgu wywołane przez wirusa *Herpes simplex A*.

Na tych trzech postaciach wyczerpywałaby się lista zapaleń dziecięcych wirusowych, podporządkowanych określonym wirusom.

Z grupy o etiologii wirusowej domniemanej nie można pominąć zapalenia podostrego stwardniającego z przeważającym zajęciem istoty białej, znanego jako zapalenie van Bogaerta, Pette-Döringa lub Dawsona. Jest to zapalenie, które pomimo całego szeregu wariantów tkankowych utrzymuje na przestrzeni lat najbardziej jednolity obraz kliniczny i podstawowe cechy patologiczne. Wreszcie w zakończeniu chciałabym wspomnieć o wielkotrętowym zapaleniu mózgu, powstającym u niemowląt jako wtórna, dość rzadka komplikacja wiremii z powinowactwem głównym do narządów wewnętrznych, którego obraz ma jednak znaczenie w diagnostyce różnicującej.

Poliomyelitis anterior acuta w postaciach klasycznych związane jest topograficznie z istotą szarą rdzenia, opuszki, śródmózgowia, rzadziej międzymózgowia i kory. W obrębie istoty szarej wymienionych okolic przejawia się tropizm funkcjonalny do układu neuronów ruchowych, w mniejszym stopniu wegetatywnych. W rdzeniu wirus poprzez in-

ważę neuronów niszczy przede wszystkim komórki ruchowe rogów przednich, w kierunku rogów bocznych i tylnych, nasilenie procesu chorobowego wyczerpuje się. Na poziomie opuszki zmiany dotyczą głównie istoty siateczkowatej wielkokomórkowej oraz jąder szarych zgrupowanych pod dnem komory IV, nie spotyka się zazwyczaj uszkodzeń oliwy dolnej (moment różnicujący z zapaleniami wywołanymi przez wirusy Arbor B, uszkadzającymi z reguły oliwę dolną).

W śródmózgowiu obok istoty czarnej, głównie jej części siateczkowatej (*pars reticularis substantiae nigrae*), uszkodzone zostają także jądra istoty siateczkowatej. Zmiany mogą dotyczyć podwzgórza, a także ciała prążkowanego — *putamen* i *caudatum*; w korze zawoju czołowego wstępującego oraz okolicy centralnej. Po okresie nekrobiotycznym, trwającym około 2—3 dni, pojawiają się nacieki zapalne, lokalizacyjnie związane z uszkodzonymi i rozpadającymi się neuronami.

Leukocyty mogą zaścielać całe pole uszkodzeń rdzeniowych, stosunkowo rzadko jednak w naturalnym przebiegu choroby widzi się ten obraz pod mikroskopem, ponieważ giną one po upływie kilku dni zastąpione przez mikroglej, histiocyty i limfocyty.

Grudka neuronofagiczna, charakterystyczny element obrazu zapalnego w *Poliomyelitis*, jest w okresach wczesnych mieszana, mikroglejowo leukocytarna, w późniejszych prawie wyłącznie mikroglejowa. W pełnym, rozwiniętym obrazie chorobowym rzadko spotyka się odosobnione rozsiane grudki neuronofagiczne. Zazwyczaj cała uszkodzona okolica pokryta jest jakby plaką nacieku zapalnego glejowo-limfocytarnego, już tylko z nieznaczną przymieszką leukocytów. Mufki nacieków okołonaczyniowych przechodzą bez wyraźniejszej granicy w nacieki śródtkankowy; na danym poziomie rdzenia nacieki po kilku segmentach może się wyczerpywać, ażeby nasilić się nieco powyżej lub poniżej pierwszego skupienia. Ten rozlano-rozsiany typ nacieku jest dla poliomyelitu, podobnie zresztą jak dla wścieklizny i Arbor-encefalitu — charakterystyczny.

W zakażeniach poronnych, w zapaleniach zmodyfikowanych uprzednimi szczepieniami, w przebiegu procesu wywołanego szczepieniem wirusami atenuowanymi można spotykać odosobnione grudki neuronofagiczne i małe odizolowane nacieki. Zasadniczo proces zapalny nie przechodzi na istotę białą, poza poszerzeniem się na pograniczu białej i szarej. Przypadki, w których opisywano towarzyszące nacieki w istocie białej rdzenia i mózgu, zalicza się dziś do wspomnianych wyżej fenomenów towarzyszących natury alergicznej (Jacob 1961).

Po przejściu okresu ostrego zaczyna rozwijać się stadium reparacyjne z proliferacją gleju włóknistego i blizną glejową, z pewnym udziałem elementów mezodermalnych. Ten typ obrazów znany jest raczej

z materiału doświadczalnego. W okresach nasilonych epidemii pojawia się dużo obrazów nietypowych poronnych, ze zmienną lokalizacją i nietypową strukturą procesu. Do bardziej znanych postaci należą lokalizacje śródmózdkowe z powinowactwem do jąder głębokich, nie do kory (moment różnicujący z Arbor-wirusami) oraz bardzo trudne do interpretacji obrazy meningitów limfocytarnych.

Wiele z tych postaci „nietypowych”, szczególnie zaś menigealnych poliomyelitów udało się ostatnio powiązać etiologicznie z innymi enterowirusami grup Echo i Coxsackie. Tylko niektóre z licznych typów tych wirusów dają symptomatologię związaną z ośrodkowym układem nerwowym. Scheid (1961) cytuje jeden przypadek śmiertelny postaci zapalenia rdzeniowo-bulbarnej, wywołanej przez wirus Echo 2.

Z grupy Coxsackie — Coxsackie B mogą dawać zapalenia mózgu szczególnie u niemowląt. Są to jednak obrazy sporadyczne, bez cech ustalonych. Rozpoznanie opiera się na badaniach serologicznych i izolacji wirusa z tkanki lub płynów ustrojowych, tymczasem doświadczenie lat ostatnich poucza, że nawet takie stwierdzenia nie są ostatecznie przekonujące, ponieważ zdarzały się już przypadki, gdzie serologicznie stwierdzano inne zakażenie (np. grypowe), a z mózgu np. izolowano wirusa Herpes (Sabin 1961).

Przypadek zapalenia mózgu wywołany przez wirusa Coxsackie B, który miałam możliwość oglądać*), dotyczył niemowlęcia 2 i pół tygodniowego. Nacieki głównie okołonaczyniowe, limfocytarno-leukocytarne z domieszką makrofagów występowały przede wszystkim w zwojach podstawy i w pniu mózgu. Poza tym widoczne były małe pola martwic spongiotycznych w istocie białej i szarej. Brak było neuronofagii i wyraźniejszego uszkodzenia neuronów, poza umiarkowaną chromatolizą. Choroba zaczęła się w trzecim dniu życia i trwała dwa tygodnie. Wirusa Coxsackie, grupy B, typu 2 wyizolowano przyżyciowo z kału, pośmiertnie z mózgu i serca. Nie znaleziono go w wątrobie, w płucach pomimo objawów zapalenia, ani we krwi pobranej z serca.

W istocie rzeczy doniesienia neuropatologiczne z grupy enterowirusów poza *Polio* są tak sporadyczne, że trudno w tej chwili o pokuszenie się o jakiegokolwiek tkankowe kryteria rozpoznawcze.

„Grypowe zapalenie mózgu” powraca stale jako rozpoznanie w repertuarze diagnostycznym zarówno klinicystów, jak patologów. Tymczasem z punktu widzenia powiązania przyczynowego reakcji mózgowej z obecnością wirusa w mózgu jest to jednostka dosyć wątpliwa. Największe wątpliwości nasuwa może nie obraz mózgowy, który, aczkolwiek mało specyficzny, dałby się jednak pomieścić w ramach przed-

*) Przypadek ze zbiorów Walter Reed Pathology Center, Washington, USA.

stawionych wyżej faz inwazji wirusowej, ale bardzo duża trudność w stwierdzeniu obecności wirusa w mózgu. Spośród licznych doniesień, które pojawiły się na falach ostatnich epidemii grypowych, istnieje tylko praca Bamattera i wsp. (1960), która opiera się na pewnej weryfikacji wirusa grypowego w mózgu. Drugie doniesienie ze stwierdzoną obecnością wirusa — Flewetta i Hoult — jest cytowane przez Bamattera i wsp. (1960). Poza tym rozpoznawanie opierało się zazwyczaj na pojawianiu się przypadków grypowych zapaleń mózgu w okresach epidemii oraz na stwierdzeniu wysokiego miana przeciwciał na wirusa grypy we krwi. Jest jednak rzeczą uderzającą, że obraz mózgu mógł się kształtować bardzo podobnie w rozmaitych epidemiach wywołanych różnymi wirusami, jak to wynika z prac Furtado (1958); van Bogaerta (1960); wspomnianego wyżej Bamattera i wsp. (1960); Jellinera i Seitelbergera (1959); Crome'a (1954), a równocześnie w trakcie jednej i tej samej epidemii grypy u chorych, u których stwierdzono we krwi obecność przeciwciał dla wirusa grypy A Singapore 57, odpowiedzi tkankowe ośrodkowego układu nerwowego dały pełną gamę obrazów od encefalopatii komórkowej z objawami krwotocznymi, aż do obrazu przypominającego ostry poliomyelit (Battaglia i wsp. 1959).

W okresie epidemii grypowej, która przeszła przez Polskę w latach 1961/1962, mieliśmy możliwość przebadania w naszym zakładzie dziewięć przypadków, które zaklasyfikowano jako „Encefalit grypowy”. Wszystkie przypadki dotyczyły dzieci pomiędzy pierwszym i piątym rokiem życia. Po okresie klasycznej grypy układu oddechowego występowało pogorszenie albo w przebiegu ciągłym choroby, albo poprzedzone jednodwudniowym polepszeniem. W drugim okresie neurologicznym dzieci stawały się na przemian sennie lub pobudzone, przechodząc bardzo szybko w stan śpiączkowy, w którym następowało zejście w ciągu kilkunastu godzin do kilku dni. W poszczególnych przypadkach obserwowano uogólnione napady drgawkowe, powtarzały się skargi na bóle głowy i wymioty. Klinicznie nie obserwowano żadnych objawów ogniskowych, co najwyżej lekki zespół oponowy.

We wszystkich przypadkach stwierdzono sekcyjnie zapalenie płuc odoskrzelowe lub płatowe, które jednak z całą pewnością nie stanowiło dostatecznej przyczyny zejścia. W jednym przypadku zidentyfikowano przyżyciowo wirusa B grypy w płynie mózgowo-rdzeniowym, w dwóch przeciwciała dla tego samego wirusa we krwi. Badań nie powtórzono ze względu na krótki przebieg kliniczny.

Neuropatologicznie w przypadkach o przebiegu najkrótszym stwierdzono obraz uogólnionego uszkodzenia neuronów zarówno kory, jak i jąder podstawy i pnia. Obok obrazów tigrulizacji w protoplazmie, postaci ischemicznych i zmian komórkowych ciężkich, spostrzegano także dość

duże opustoszenia śródkorowe. W naczyniach występowało przekrwienie, niekiedy małe wynaczynienia *per diapedesim*. Nie stwierdzono żadnego nacieku okołonaczyniowego ani wyraźniejszej mobilizacji gleju. W grupie drugiej pojawiły się dyskretne nacieki okołonaczyniowe limfocytarne z przymieszką mikrogleju, zblednięcie okołonaczyniowe myeliny, wywołane prawdopodobnie obrzękiem. Zmiany komórkowe nie były tak nasilone, jak w grupie pierwszej.

Wreszcie w grupie trzeciej, o przebiegu klinicznym stosunkowo najdłuższym, obserwowano zwiększenie obfitości nacieków okołonaczyniowych, wyraźniejszą demielinizację w formie plak okołonaczyniowych oraz lekki naciek limfocytarno-histiocytarny rozlany w oponach (materiał ten był przedstawiany szczegółowo przez Osetowską i Zelman 1963 i 1964). Obrazy te, jak widać, nie zawierają żadnych cech swoistych i dadzą się właściwie pomieścić całkowicie wśród encefalopatii i encefalitów parazytacyjnych, sklasyfikowanych przez Jacoba w r. 1955. Co więcej, trzeba podkreślić, że w materiale archiwalnym zakładu posiadamy serię około dwudziestu przypadków dziecięcych o identycznym przebiegu klinicznym i identycznym obrazie mózgu. Ponieważ występowały one sporadycznie, poza wszelkimi falami epidemii, nikomu nie przyszło na myśl łączenie ich z grypą. Na podstawie monotonnego obrazu tkanekowego rozpoznawano je jako ostry encefalit limfocytarny (Osetowska 1962). Przypadki te występowały w różnych porach roku, wiele z nich w okresie jesienno-zimowym i mogły one odpowiadać sporadycznym przypadkom grypy. Wydaje się jednak, że ta postać zapalenia mózgu może powstać jako reakcja towarzysząca ośrodkowego układu nerwowego w rozmaitych uogólnionych zakażeniach ustroju, być może łatwiej w wiramiach niż w zakażeniach bakteryjnych. Nie jest z pewnością błędem rozpoznawanie ich szczególnie w okresach epidemii, jako encefalitów grypowych, ale raczej w rozumieniu zapalenia mózgu towarzyszącego zmienionej przez grypowe zakażenie odczynowości ustroju.

Przypadki ogłoszone ostatnio przez Bednara (1964) oraz szczególnie przypadki Bojinowa i Gentcheva (1964) z bardzo dużą komponentą demielinizacyjną dają się pomieścić w ramach koncepcji parazytacyjnej, choć jeśli chodzi o przypadki tych ostatnich autorów trzeba tu chyba przyjąć jako czynnik dodatkowy specyficzną indywidualną podatność myeliny na czynniki demielinizujące, właściwe encefalitom alergicznym.

Nieokreśloności obrazu grypowego zapalenia mózgu można przeciwstawić zapalenie mózgu wywołane przez wirus *Herpes simplex*, albo *Herpes A*. Zapalenie w przypadkach typowych odznacza się prawie stałą lokalizacją mózgową i dość stałymi komponentami strukturalnymi procesu. Przebiega o tyle odrębnie u niemowląt i małych dzieci, że

wirus *Herpes* odznacza się u nich niezmiernie silnym i destruktywnym powinowactwem do narządów wewnętrznych. To powinowactwo występuje nie tylko w infekcjach u ludzi, lecz także w doświadczalnych zakażeniach *Herpes simplex* u myszy. U myszek świeżo urodzonych, po podaniu wirusa dootrzewnowo, stwierdza się jego obecność w ciągu kilkunastu godzin w narządach mięsnych, a dopiero dwa dni później w mózgu. U myszy dorosłych koncentracja występuje tylko w mózgu. Z inokulacji obwodowej do ośrodkowego układu nerwowego wirus może wędrować przez nerwy obwodowe i rdzeń. Shiraki i wsp. (1965) przyjmują jednak przy infekcji masowej drogę hematogenną. Przy pomocy techniki immunofluorescencyjnej stwierdza się obecność wirusa w neuronach, w astrocytach, czasami w oligodendrogleju, w komórkach Schwanna w nerwach obwodowych, nigdy jednak nie stwierdzono jego obecności w oponach, w ependymie, w ścianach naczyń.

Encephalitis Herpes simplex należy do tych zapaleń mózgu wirusowych, w których znajduje się w komórkach wymienionych powyżej wtręty śródjądrowe typu A Cowdry'ego — eozynofilne, otoczone jasnym halo zwykle pojedyncze, wypełniające jądro komórki nerwowej, lub spychające je na bok. Wtręty te uważa się za produkt zwyrodnienia chemicznego nukleoprotein jądra pod wpływem wirusa, ale mechanizm tych przemian nie jest jasny, ponieważ cząsteczki optycznie zagęszczone odpowiadające wirusowi znajdują się głównie w protoplazmie neuronów, co potwierdzają zarówno badania w mikroskopie elektronowym, jak i badania immunofluorescencyjne (Oyangi 1965, Shiraki i wsp. 1965). Ponadto same inkluzje nigdy nie wychwytyują fluoryzującej surowicy w technice immuno-fluorescencyjnej — co dowodzi braku w nich antygenów wirusowych.

Zapalenie mózgu wywołane wirusem *Herpes simplex* uszkadza predy-lekcyjnie okolicę skroniową, szczególnie hippokampalną, zmniejsza się nasilenie zmian w kierunku zawoju skroniowego górnego. Proces roz-przestrzenia się natomiast na korę wyspy, *claustrum*, często do przodu na zawoje orbikularne, podwzgórze, wzgórze przyśrodkowe i otoczenie komory III, w przybliżeniu na wszystkie formacje anatomiczne powiązane z węcho-mózgowiem. Tam gdzie nasilenie zapalenia jest największe, w ławicowym nacieku zapalnym zniszczona zostaje zarówno istota biała, jak i szara, na ogół jednak zmiany zaczynają się raczej od tej ostatniej.

Bardzo ostry charakter zapalenia doprowadza do całkowitego zniszczenia podłoża i rozplywania się tkanki w nacieku składającym się z limfocytów, plazmatocytów, histiocytów, makrofagów, bardzo licznych wybroczyn krwotocznych z uszkodzonych naczyń. Płat skroniowy ulega tak doszczętnemu zniszczeniu, że właściwie trzyma się tylko na zrębie

oponowym i naczyniowym; na sekcji makroskopowej sprawia wrażenie zawału krwotocznego (Brihaye 1958, Haymaker, Smith, van Bogaert, de Chenar 1958).

U dzieci przeważa lokalizacja klasyczna, zmiany zapalne pojawiające się w innych okolicach mózgu mają raczej charakter odosobnionych nacieków przynaczyniowych lub rozsianych wysepek mikro- i makroglejowych. W przypadku dołączenia się towarzyszących zmian w naczyniach w postaci zapalenia okluzyjnego, co demonstrowali ostatnio Vortel i Fingerland (1965) u dziecka dwuletniego, może nastąpić nietypowe przekształcenie obrazu, wywołane wtórnymi ogniskami naczyniopochodnymi. Właściwy proces zapalny może być niesymetryczny; zwykle w obu płatach skroniowych występują zmiany zapalne, ale po jednej stronie są one niewspółmiernie większe. Prawie wszystkie znane przypadki zakończyły się zejściem śmiertelnym. Przebieg kliniczny jest bardzo ostry, trwa kilka do kilkunastu dni.

W klasycznym zapaleniu wywołanym przez wirus *Herpes simplex* stwierdzenie obecności wirusa w tkance mózgowej i płynie mózgowo-rdzeniowym jest łatwe. Łatwe jest także przeszczepienie materiału mózgowego na królika. Niezawodną metodą wg Sabina jest tylko technika immunofluorescencyjna (1961). Zdarzają się jednak przypadki, głównie u dzieci starszych i u dorosłych, w których wszystkie metody weryfikacji wirusa zawodzą.

Grupę zapaleń o identycznym obrazie tkankowym (jeżeli w odniesieniu do tej dziedziny można w ogóle mówić o identyczności), ale bez możliwego stwierdzenia obecności wirusa *Herpes*, rozpoznaje się jako ostre zapalenie nekrotyzujące mózgu, nie przesądzając czynnika etiologicznego. Na ogół ostre zapalenie nekrotyzujące występuje częściej u dorosłych niż u dzieci, u których w większości opisanych przypadków udało się potwierdzić obecność wirusa *Herpes*.

Doniesienia i opracowania pogładowe na temat *leukoencephalitis* van Bogaerta pojawiały się w ciągu ostatnich lat na tyle często w literaturze polskiej, że wspominam o tej postaci zapalenia mózgu głównie dla porządku, ażeby nie pominąć w tym przeglądzie zapalenia mózgu, które aczkolwiek etiologicznie nie wyjaśnione, wyjątkowo chyba zasługuje na miano zapalenia mózgu dziecięcego.

Największe nasilenie przypadków przypada na lata pomiędzy 5 i 10 rokiem życia; częstość zachorowań zmniejsza się bardzo mocno poniżej pięciu lat, stosunkowo dużo obserwuje się jeszcze pomiędzy 10 i 15 rokiem życia, przypadki powyżej lat 20 należą do rzadkości (Osetowska, Torck 1962). Niezmiernie charakterystyczny, trzyfazowy przebieg choroby (faza „psychiczna”, faza ruchów mimowolnych, faza porażenna) przewlekły przebieg i obraz pomimo wszelkich możliwych wariantów,

tak niezmiernie typowy (van Bogaert 1957), stanowią o specjalnej pozycji leukoencefalitu w patologii mózgowej. Pozycję tę umacnia jeszcze fakt systematycznego pojawiania się tego typu zapalenia z częstością od kilku do kilkunastu rocznie w krajach Europy zachodniej i centralnej, wyraźnie rzadsze występowanie w Anglii i wybitnie rzadkie w USA. W obrazie mózgu uderza bogactwo zmian zapalnych i wtórnych, przy tym należy przypomnieć, że podstawą rozpoznania jest obecność nacieku zapalnego okołonaczyniowego, o składzie limfocytarno-plazmatycznym oraz proliferacja gleju podporowego obok nacieku i przekształceń strukturalnych mikrogleju. Istota biała wypełniona jest masą komórek astrocytarnych pobudzonych, przerosłych, obrzękłego oligodendrogleju oraz rozproszonego luźno lub w formacjach grudkowych mikrogleju.

Przy przeważających, w większości przypadków, uszkodzeniach w istocie białej kora nie jest wolna od zmian. Występują w niej zarówno nacieki, jak i grudki neuronofagiczne i luźne ławicowe układy mikroglejowe. Nasilenie procesu zapalnego zaznacza się w okolicy potyliczno-skroniowo-ciemieniowej oraz w płaszczyźnie czołowej-podkorowo i okołokomorowo. Naciekowi zapalnemu towarzyszą, jako zmiany wtórne: demielinizacja o nasileniu zmiennym od przypadku do przypadku, oraz glejoza włóknista, częściowo wtórna w stosunku do demielinizacji, częściowo bardzo wczesna i od demielinizacji niezależna, stanowiąca pierwotną reakcją tkanki glejowej na czynnik szkodliwy, niezależnie od jego natury. Demyelinizacja ma charakter rozpadu do stadium sudanofilnego, z rozbiórką makrofagową i częściowo glejową tzw. nieruchomą.

Obraz może się bardzo komplikować przez wtórne zmiany naczyniopochodne, które szczególnie często były obserwowane w niezmiernie obfitym materiale węgierskim (Tariska 1963). Etiologicznie leukoencefalit był wiązany z różnymi wirusami, zarówno z wirusem *Herpes simplex*, jak i z Arbor-wirusami. Sugerowano, że jest on przewlekłym stadium tej lub tamtej infekcji wirusowej (Krücke 1957, Sherman, Davis, Haymaker 1961). Żadnego z tych powiązań przyczynowych nie udało się potwierdzić w badaniach systematycznych. W całości zarówno obraz kliniczny, jak i patologiczny, a także i typ rozprzestrzeniania się sugerują bardzo mocno etiologię wirusową. Potwierdza to przeświadczenie jeszcze obecność inkluzji śródjądrowych, spotykanych zarówno w postaci Dawsona, jak Pette-Döringa, jak i van Bogaerta (Bozsik i wsp. 1963). Biorąc pod uwagę przewlekły obraz choroby, oraz podstawową trudność identyfikacji wirusa w zapaleniach o absolutnie pewnej etiologii, chociażby takich, jak *Encephalitis Japonica* w fazach regresywnych procesu (Shiraki 1965), nie można właściwie z wirusowej hipotezy leukoencefalitu zrezygnować. Nie należy także zapominać, że wy-

stępujący niegdyś nagminnie encefalit Economo zaliczamy dziś niemal automatycznie do zapaleń wirusowych, a przecież po dziś dzień nie zweryfikowano jego właściwej przyczyny.

Zapalenie mózgu wywołane wirusem ślinianki (nie ma on nic wspólnego z wirusem *Parotitis epidemica*) należy raczej do rzadko spotykanych postaci zapalenia, występującego u niemowląt. Vortel i Fingerland (1965) podają, że na 13050 sekcji wykonanych w latach 1950 — 1963 mieli 55 przypadków infekcji narządów wewnętrznych tym wirusem, w tym tylko trzy z zajęciem ośrodkowego układu nerwowego. Bednar (1965) słusznie podnosi znaczenie tego encefalitu przy diagnozie różniczkowej z wczesnodziecięcą toksoplazmozą. W ogólnym obrazie mózgu uderza pogrubienie granulacyjne wyściółki, zwapnienia w korze i w pobliżu układu komorowego, martwice w okolicy podwyściółkowej i głębokiej. Rozpoznanie opiera się na stwierdzeniu obecności dużych eozynofilnych wtrętów w śródbłonkach naczyń oraz w astrocytach. W miejscach uszkodzonej tkanki nerwowej, jak np. w okolicy komorowej, w polach martwic buja glej, który obok nacieków okołonaczyniowych limfocytarnych, plazmatocytarnych i histiocytarnych wzbogaca bardzo obraz uszkodzenia mózgu. Wtręty śródjądrowe poza mózgiem występują w nabłonkach kanalików nerkowych, w przewodach żółciowych, w śliniankach, w nabłonku oskrzelowym itp. Ze względu na bardzo dużą ilość wtrętów i ich typowy wygląd, rozpoznanie jest w zasadzie łatwe, należy tylko pamiętać o przejrzeniu mikroskopowym materiału z tego punktu widzenia.

Nie jest mi znany ani jeden pewny opis zapalenia mózgu wywołanego wirusem EMC. Ostatnio na Sympozjum Encefalitów w Warszawie, Bojinow (1965) pokazywał przypadek zapalenia mózgu u dziecka czterolatniego, ze współistniejącym zapaleniem mięśnia sercowego. W obrazie sekcyjnym — przy czym zgon nastąpił po wygaśnięciu objawów zapalnych, na skutek niedomogi serca — stwierdzono rozległe uszkodzenia pnia mózgu, a szczególnie ogniska martwicy w istocie czarnej. Etiologia tego przypadku nie została wyjaśniona, pomimo stale istniejącego podejrzenia na infekcję wirusową. W laboratorium Czumakowa wykluczono dotychczas Poliomyelit wirusy Coxsackie i Echo. Przypadek ten, ze względu na współistniejące zmiany w sercu, sugeruje ewentualny związek z wirusem EMC.

Lista znanych obrazów zapaleń mózgu, podporządkowanych znanym wirusom, wyczerpuje się chyba na tym już dość dowolnie włączonym obrazie. Nie wyczerpuje się jednak z całą pewnością niezmiernie bogata patologia zapalna mózgu dziecięcego. Wydaje się jednak, że jak to już podkreślono powyżej, punkt ciężkości zagadnienia nie polega na swoistości reakcji na czynnik zakaźny, lecz na swoistej indywidualności rea-

gującego podłoża. Sytuacja ta ma znaczenie zasadnicze, nie tylko w patologii weryfikacyjnej, lecz także i w postępowaniu klinicznym. „Tajemnica” zapaleń mózgu związana jest, jak się wydaje, z tymi wszystkimi odczynami, które dziś zaszeregowuje się w sposób z pewnością wygodny, lecz mocno uproszczony, do rozdziału „zapaleń neuro-alergiczych”, których prototyp stanowią zapalenia powysypkowe i poszczepienne.

Э. Осетовска

НЕВРОПАТОЛОГИЯ ВИРУСНЫХ ЭНЦЕФАЛИТОВ У ДЕТЕЙ

Содержание

Для детских патологов и врачей по инфекционным заболеваниям подготовлено руководство по патологическим мозговым изменениям при энцефалитах вирусной этиологии либо заподозренных в вирусной этиологии. Отбор отдельных форм основывается на собственном материале, просходящем главным образом из территории Польши. Обсуждаются фазы развития вирусного воспаления вообще, совместно с возможными осложнениями картины, сопутствующими основному процессу, как нарушения кровообращения либо реакции аллергического порядка. Из частного обзора исключены: клещевые энцефалиты, бешенство, энцефалит Экономо, являющиеся нетипичными для детского возраста. Рассмотрены: воспаление мозга и передних рогов спинного мозга, включая данные, полученные на основании экспериментальных исследований и тестов безопасности при изготовлении вакцины, энцефалит и менингит, вызываемый энтеровирусами группы ЕСНО и Coxsackie и воспаления вызываемые вирусами эпидемического паротита. Обращается внимание на отсутствие характеристических тканевых реакций в этой группе случаев. Приводятся собственные наблюдения и воззрения на гриппозный энцефалит. Энцефалит, вызванный вирусом Herpes simplex рассматривается совместно с острым некротизирующим энцефалитом неизвестной этиологии. Упоминается о подостром склеротирующем энцефалите как о форме с характеристической клинической и тканевой картиной несмотря на отсутствие убедительных доказательств за наличием определенного инфекционного фактора. Напоминается также о изменениях, которые могут развиваться в мозговой ткани в течении цитомегалической болезни и о необходимости их дифференцирования от детских случаев токсоплазмоза головного мозга.

E. Osetowska

NEUROPATHOLOGY OF VIRAL ENCEPHALITIS IN CHILDREN

Summary

For the use of pathologists and specialists in infectious diseases of childhood, a descriptive list of the cerebral changes in encephalitis of viral or presumably viral etiology is presented, based mainly on the author's own observations in Po-

land. The phases of development of viral inflammation and possible complications due to circulatory disorders and allergic reactions are discussed. Excluded from the review are tick-borne encephalitis, rabies and Economo's encephalitis, which are not typical of childhood. The forms discussed include encephalitis and poliomyelitis with data from experimental research concerned with safety test during production of the vaccine; encephalomyelitis caused by the ECHO and Coxsackie enteroviruses; and encephalitis caused by the virus of epidemic parotitis. The lack of characteristic tissue lesions in this group of cases is pointed out. Personal observations and opinions on influenza encephalitis are presented. Encephalitis caused by the herpes simplex virus is discussed jointly with acute necrotizing inflammation of unknown etiology. Subacute sclerosing encephalitis is mentioned because of its typical clinical and histological picture, despite lack of evidence that it is caused by a specific etiologic agent. Cerebral lesions in cytomegalic disease and the necessity of their differential diagnosis in cases of childhood toxoplasmosis of the brain are recalled.

PIŚMIENICTWO

1. Albrecht P.: Pathogenesis of experimental infection with tick-borne encephalitis virus. Biology of viruses of the tick-borne encephalitis complex. Symposia. CSAV. Praha, 1962, 247—257.
2. Bamatter F., Gautier A., Jennaert O., Paccaud M. F.: Un cas d'encéphalite grippale avec isolement du virus A (Asia) 57 dans le système nerveux central. *Confin. neurol. (Basel)*, 1960, 20, 147—150.
3. Battaglia S., Guazzi G. C., Macchi G., Masini T.: Les encéphalites observées pendant la dernière épidémie grippale. *Acta neurol., belg.*, 1959, 59, 123—162.
4. Bednar B.: Die Grippencephalitis Encéphalites actuelles. Académie Bulgare des Sciences. Sofia, 1964, 264—266.
5. Bednář B.: Perinatal Cytomegalic Inclusion Encéphalitis. II International Colloquium on Encephalitides, Warsaw, 1965. *Neuropatologia Polska — w druku.*
6. Bentégeat J., Marc Y.: Les nevraxites virales, point de vue virologique actuel. *Presse Médicale*, 1961, 69, 2441—2444 i 2501—2504.
7. Bogaert van L.: Die klinische Einheit und die pathologische Variationsbreite der „subakuten sklerosierenden Leuko-encephalitis“ *Wien. Z. Nervenheilk.*, 1957, 13, 185—203.
8. Bogaert van L.: Encéphalites grippales (à virus A dit de Singapour). *Acta Neuropsychiatrica. Kader Basimeve (1960) 178—183. Separatum.*
9. Bojinov S., Gentchev T.: Sur les rapports entre la forme aigüe de sclérose diffuse, la sclérose en plaques aigüe et l'encéphalite grippale. Encéphalites actuelles. Académie Burgare des Sciences. Sofia, 1964, 286—287.
10. Bojinov S., Guentchev T.: Encéphalo-myocardite aigüe chez une enfant de quatre ans et demi. II Int. Colloquium on Encephalitides. Warsaw 1965. *Neuropatologia Polska — w druku.*
11. Brihaye J.: Etude des encéphalites herpétiques et des encéphalites nécrosantes aigües. *Acta Medica Belgica. Bruxelles*, 1958.
12. Bozsik G., Horanyi B., Papp M.: Über die histochemische Struktur der pan-encephalitischen Einschlusskörperchen. *Acta Neuropath.*, 1963, 2, 362—370.
13. Bruckner S., Marinescu G., Ioan V., Predescu I., Ciugarin M., Mares A.: Aspects clinico-étiologiques des encéphalites aigües primitives chez l'enfant. Encéphalites actuelles. Académie Burgale des Sciences. Sofia, 1964, 240—243.

14. Crome L.: Encephalitis during an epidemic of influenza. *Mnschr. Psychiatr. Neurol.*, 1954, 159—179.
15. Furtado D.: Encéphalite par grippe asiatique. *Rev. Neurol.*, 1958, 98, 192—205.
16. Haymaker W., Smith M. G., van Bogaert L., de Chenar C.: Pathology of viral diseases in man characterized by nuclear inclusions. *Viral Encephalitis*. Thomas. Springfield, 1958, 95—204.
17. Herout V., Vortel V., Fingerland A., Vondrackova A.: Herpes simplex encephalitis. II Intern. Colloquium on Encephalitides. Warsaw, 1965, *Neuropatologia Polska*, w druku.
18. Iancu O., Pop O., Cucu-Cabadaief L., Raucher C., Toma L., Fenesan E., Stern A., Grun I., Vuia O.: Les méningo-encéphalites virotiques chez l'enfant. *Encéphalites Actuelles*. Académie Burgale des Sciences. Sofia, 1954, 233—239.
19. Jacob H.: On the different course of postinfectious encephalitis and Encephalopathy. *Proc. II Internat. Congress Neuropath.* London, 1955. Reprint.
20. Jacob H.: Neuropathologie des Viruskrankheiten des Zentralnervensystem. *Deutsch. Z. Nervenheilk.*, 1961, 182, 478—491.
21. Jellinger K., Seitelberger F.: Enzephalitis bei Grippe. *Wien. Med. Wschr.*, 1959, 109, 201—207.
22. Krücke W.: Über eine besondere Form der spontanen Encephalitis. *Nervenarzt*, 1957, 28, 289, 301.
23. Kusano N., Aoyama Y., Kawamura A., Kawashima H.: The diagnosis of Japanese Encephalitis by means of fluorescent antibody technique in autopsy cases. II Intern. Colloquium on Encephalitides. Warsaw, 1965. *Neuropatologia Polska* — w druku.
24. Marulescu T., Chipail A., Constantinescu V., Trosc V., Apostol S.: Aspects cliniques et liquidiens des encéphaloses et des encéphalites toxiques aigües du nourrisson. *Encéphalites actuelles*. Académie Burgale des Sciences. Sofia, 1954, 244—250.
25. Mihalca E., Margineanu O., Brody G., Ghet D., Svhusster T., Kakotz, Martini H.: Aspects cliniques et de laboratoire des neuroviroses de l'enfant. *Encéphalites actuelles*. Académie Burgale des Sciences. Sofia, 1954, 229—232.
26. Moritsch H.: Diagnostic procedures in human cases of TBE. II Intern. Colloquium on Encephalitides. Warsaw 1965. *Neuropatologia Polska* — w druku.
27. Osetowska E.: Une encéphalite lymphocytaire aigüe. *Livre Jub. du Dr. Ludo van Bogaert*. Bruxelles, 1962, 608—615.
28. Osetowska E.: Modalités et Significations des Réactions Encéphaliques du type granulomateux. *J. Neurol. Sci.*, 1965 — w druku.
29. Osetowska E.: Torck P. Subacute Sclerosing Leukoencephalitis. *Wrld. Neurol.*, 1962, 3, 566—579.
30. Osetowska E., Wróblewska-Mularczyk Z., Wiśniewski H.: Topografia zmian tkankowych a umiejscowienie wirusa w kleszczowym zapaleniu mózgu. *Neuropatologia Polska*, 1965, III, 35—47.
31. Osetowska E., Zelman I.: Caractères neuropathologiques de l'encéphalite gripale en Pologne. *Acta Neuropath.*, 1963, 2, 328—333.
32. Osetowska E., Zelman I.: Beitrag zur Frage der Gríppenenzephalitis. *Encéphalites Actuelles*. Académie Burgale des Sciences. Sofia, 1964, 256—263.
33. Oyangi S.: An electron microscopic study on the fine structures of cerebral cortex in the mice infected with Japanese Encephalitis virus. II Intern. Colloquium on Encephalitides. Warsaw, 1965. *Neuropatologia Polska* — w druku.

34. Radl H.: Entzündliche Erkrankungen des Zentralnervensystems in den letzten Jahren. Münch. Med. Wschr., 1965, 107, 2232—2238.
35. Sabin A. B.: Fluorescent antibody technique in the study of fixed tissues from patients with encephalitis. Encephalitides. Amsterdam. Elsevier., 1961, 621—626.
36. Scheid W.: Zur Klinik der Viruserkrankungen des Nervensystems. Dtch. Z. Nervenheilk., 1961, 182, 455—471.
37. Seitelberger F., Jellinger K.: Neuropathologie der Zeckenencephalitis. II Intern. Colloquium on Encephalitides. Warsaw, 1965. Neuropatologia Polska — w druku.
38. Sherman F. E., Davis L. R., Haymaker W.: Subacute Inclusion Encephalitis. Acta Neuropath., 1961, 1, 271—288.
39. Shiraki H.: The neuropathology of Encephalitis Japonica in humans, especially from subchronic to chronic stage. II Intern. Colloquium on Encephalitides. Warsaw 1965. Neuropatologia Polska — w druku.
40. Shiraki H., Yamamoto T., Otani S., Kusano N., Aoyama Y.: Comparative study of experimental herpes simplex encephalitis, rabies and japanese encephalitis demonstrated by fluorescent antibody method. II Intern. Colloquium on Encephalitides. Warsaw, 1965. Neuropatologia Polska — w druku.
41. Tariska S.: Podostre zapalenie mózgu na Węgrzech. Post. Hig. Med. Dośw., 1963, 17, 699—708.
42. Vortel V., Fingerland A.: Cerebral lesions in generalized salivary gland virus infection. II Intern. Colloquium on Encephalitides. Warsaw, 1965. Neuropatologia Polska — w druku.

Nadesłano: 8.XII.1965.

Adres autora: Zakład Neuropatologii PAN, Warszawa, ul. Pasteura 3.

KRYSTYNA WIŚNIEWSKA, DANUTA TYTULSKA

MORFOLOGICZNE WYKŁADNIKI „ZAPALENIA”
W *SCLEROSIS LATERALIS AMYOTROPHICA*
I ICH ZNACZENIE BIOLOGICZNE

Z Zakładu Neuropatologii PAN w Warszawie
Kierownik: prof. dr med. E. Osetowska

Sclerosis lateralis amyotrophica (S.L.A.) należy do rzędu tych jednostek chorobowych, które jak *sclerosis multiplex*, mając w najbardziej szczegółowy sposób opracowaną klinikę i patologię, ciągle jeszcze wymkają się wyraźnym powiązaniom etiologicznym.

Formujące się na przestrzeni lat teorie etiopatogenetyczne S.L.A. stworzyły trzy grupy pogładowe:

1) rodzinno-dziedziczną (Schaffer 1926, 1938, Salus 1936, Spatz 1938, Dittel 1940, Schroeder 1946, Brown 1951, Koerner 1952, Arnold i wsp. 1953, Robertson 1953, Kurland i wsp. 1955);

2) endogenną, doszukującą się często powiązań z grupą dziedziczną (Kojewnikow 1885, Strümpel 1888, Oppenheimer 1913, Matzdorf 1925, Sokolijansky 1939);

3) egzogenną:

a) biorącą pod uwagę uszkodzenia rozmaitego typu: niedobór witaminy E (Davison 1943, Wechsler i wsp. 1944), niedobór witaminy B₂ (Lehoczky i wsp. 1964), przemęczenie fizyczne, niedożywienie (Chertsel i wsp. 1960), zaburzenia przewodzenia pokarmowego po resekcji żołądka (Ask-Upmark 1950), różną zawartość soli mineralnych w wodzie oraz wpływ czynników klimatycznych (Kiyosiki i wsp. 1963), uraz mechaniczny (Masion 1951, Bonduelle i wsp. 1958, Presthis 1958), środki toksyczne — trikresylfosfat (Vogiel 1957), benzol (Neveril 1928), mangan (Voss 1939), ołów (Hermann 1951), rtęć (Brown 1954, Kontarjian 1961), fosforany (Lehoczky 1964).

b) zapalną — po nagminnym zapaleniu mózgu (Wimmer 1925, Wimmer i wsp. 1928, Jancsó 1928, Khait 1939, Betz 1952), po ostrym zapaleniu rogów przednich rdzenia (Bodechtel 1948, Becker 1953), po kile (Schalterbrand 1952).

Właśnie dookoła tej trzeciej teorii skoncentrowało się nowo obudzone zainteresowanie, wywołane dwoma faktami:

1) uczeni raźniecy (Bunina 1962, Zilber i wsp. 1963, Smith 1964) w szeregu obserwacji i badań przeprowadzonych na małpach wysunęli pogląd, że S.L.A. —

a ściślej pewne grupy przypadków mają wyraźne podłoże zapalne o etiologii, być może, wirusowej, związanej ze „slow-wirusami” (Innes i wsp. 1963). Badania te pozostają w toku, a dotychczasowe wyniki są przedmiotem licznych, żywych dyskusji (Brody i wsp. 1965);

2) drugą przesłanką do podjęcia koncepcji etiologii zapalno-zakaźnej SLA stały się badania Kurlanda i wsp. (1965), przeprowadzone na wyspach Guam wśród ludności zapadającej masowo na schorzenia, odpowiadające klinicznie S.L.A., występujące przeważnie rodzinnie, ale z taką częstością i w takich okolicznościach, że nasuwa to liczne analogie ze scrapie — niezwykle chorobą zwierzęcą, stanowiącą jakby biologiczne ogniwo chorób zakaźnych i dziedzicznych (Nould i wsp. 1963, Osetowska 1965).

Dyskusja tocząca się dookoła etiopatogenezy SLA znalazła swoje odbicie w polskiej literaturze w formie bardzo uproszczonej i przesadzającej wyniki badań, które są jeszcze dalekie od zakończenia. Dlatego też właściwe naświetlenie tego problemu wydaje się nam niezbędne choćby dla celów dydaktyczno-informacyjnych.

Zagadnienie znaczenia zmian zapalnych dla interpretacji etiologicznej S.L.A. zostało podjęte przez Krzysztoń w pracy, która ukazała się w tomie: „Rozprawy Wydziału Nauk Medycznych” 1963. Autorka przeanalizowała klinicznie i neuropatologicznie 7 przypadków S.L.A., w wieku od 30 — 63 lat. Na podstawie obrazu morfologicznego wszystkich przebadanych przypadków, Krzysztoń rozpoznaje proces pierwotnie zapalny, przyjmując jako jego cechy reakcje gleju ekto- i mezodermalnego, tworzącego satelitozę i neuronofagię oraz rozrost rozlany, lub grudkowy. Za dalszą podstawę rozpoznania zapalenia pierwotnego przyjmuje nacieki w przestrzeniach okołonaczyniowych i w oponach miękkich. Uszkodzenie komórek zwojowych i włókien osiowych uważa za następstwo procesu zapalnego. Poza tym autorka sądzi, że czynnikiem obciążającym jest czynnik infekcyjny górnych dróg oddechowych, który we wszystkich przypadkach poprzedzał wystąpienie zespołu SLA. Przyjmując etiologię zapalną, powołuje się na Margulisa (1914), Orzechowskiego i Frejównę (1925), Lüthy'ego i wsp. (1947), Lawyer i wsp. (1953), Marburga (1936), Chondkariana (1955), Draganescu i wsp. (1956).

Na podstawie własnego materiału oraz w oparciu o wspomniane powyżej pozycje z literatury, wyciąga ona następujące wnioski:

1. Obraz morfologiczny S.L.A. świadczy o zapalnym charakterze tej choroby.

2. Czynnikiem zakaźnym szerzy się drogą naczyń krwionośnych oraz chłonnych i przechodzi następnie na opony mózgowo-rdzeniowe i tkankę mózgową.

3. Drogą wejścia przypuszczalnego zakażenia w przeważającej liczbie przypadków jest jama nosowa i gardłowa.

4. Obecność zwłóknień i zeszkliwień ścian naczyń, a więc stwardnienia naczyń, rozpatruje się jako sprawę związaną z czynnikiem zakaźnym.

5. Z chwilą przyjęcia, że choroba Charcota-Duchenna nie jest sprawą zwyrodnieniową, lecz zapalną, otwierają się nowe możliwości zapobiegania i leczenia.

Podjmując dyskusję z Krzysztoń, chcielibyśmy przedstawić nasz materiał sekcyjny, ilościowo i jakościowo zbliżony do jej materiału.

MATERIAŁ I METODA

Materiał obejmuje 10 przypadków archiwalnych lub bieżących rozpoznanych klinicznie i neuropatologicznie jako S.L.A. Podstawowe dane kliniczne oraz makro- i mikroskopowe przedstawiono w protokołach indywidualnych. Badania mikroskopowe przeprowadzono na mózgach i rdzeniach utrwalonych w 10% formalinie.

Do badania mikroskopowego pobrano wycinki z kory czołowej, centralnej, skroniowej, potylicznej, zwojów podstawy, śródmózgowia, mostu, mózdzku oraz z trzech poziomów rdzenia (szyjnego, piersiowego, lędźwiowego).

Technika histologiczna: parafina; barwienia: hematoksylina-eozyna, fiolet krezyłu, van Gieson, Heidenhain, Bielschowsky, Holzer, Masson.

W opisach mikroskopowych zwrócono specjalną uwagę na topografię i strukturę tych elementów procesu chorobowego, które mogłyby sugerować jego podłoże zapalne.

WYNIKI

Przypadek 1. Stanisław G., lat 52 (PAN 1788). Początek powolny. Choroba rozpoczęła się od poprzecznego niedowładu spastycznego kończyn dolnych. Po roku od chwili wystąpienia pierwszych objawów, dołączył się niedowład kończyn górnych. Niedowład towarzyszyły drżenia włókienkowe i zaniki mięśniowe. W następnym okresie pojawiły się zaburzenia połykania i mowy. Chory zmarł wśród objawów porażenia ośrodka oddechowego po 1,5-rocznym trwaniu choroby.

Sekcja ogólna. Rozedma płuc. Miażdżycy uogólniona. Przekrwienie narządów wewnętrznych.

Sekcja mózgu. Poza przekrwieniem oraz niewielkimi zmianami miażdżycowymi w naczyniach podstawy mózgu nie stwierdzono zmian.

Badania mikroskopowe. W rdzeniu kręgowym, na wszystkich poziomach, widoczna demielinizacja dróg piramidowych (ryc. 1a, b, c, d.), uszkodzenie mieliny można było przesledzić jeszcze w opuszce (ryc. 2a, b), w moście oraz we włóknach projekcyjnych w półkulach mózgowych (ryc. 3).

W barwieniach Nissla zanik oraz zwyrodnienie komórek nerwowych (schorzenie przewlekłe, chromatoliza, gromadzenie się złogów lipopigmentu) stwierdzono we wszystkich ugrupowaniach jądrowych rogów

przednich rdzenia, w opuszcze w obszarach jąder nn. XII i X. W korze zaniki i schorzenia komórkowe obserwowano we wszystkich badanych okolicach. Dotyczyły one przede wszystkim III i V warstwy. W obszarach demielinizacji i polach dużych zaników komórkowych obserwowano glejozę włóknistą. Obrazy neuronofagii były sporadycznie.

W zwojach podstawy, w istocie białej półkul oraz w rdzeniu kręgowym widoczne były zmiany miażdżycowe w naczyniach. Ściany naczyń były zeszkliwiałe, inne zaś posiadały przerosłą przydanek i zwłókniałą błonę środkową. Przy niektórych naczyniach na pograniczu naczynio-tkankowym widoczne były niewielkie nacieki z komórek limfocytopodobnych, nieraz z domieszką pojedynczych makrofagów. W oponach przy zwłókniałych naczyniach obserwowano pojedyncze nacieki z komórek histio-limfocytopodobnych.

Przypadek 2. Maria S., lat 58 (PAN 84/62). Choroba rozpoczęła się od drżeń włóknienkowych, wolno narastających zaników mięśni kończyn dolnych; następnie wystąpiły niedowłady spastyczne. Z czasem, te same objawy pojawiły się w kończynach górnych. Przed końcem życia dołączyły się objawy opuszkowe. Zejście nastąpiło na skutek zaburzeń oddychania. Czas trwania choroby 5 lat.

Sekcja ogólna. Obrzęk i rozedma płuc. Przewlekłe, włókniste zapalenie wsierdza w obrębie zastawki dwudzielnej. Miażdżyca uogólniona.

Sekcja mózgu. Mózg mały, rowki głębokie, zawoje wąskie, opony przekrwione. Naczynia podstawy wykazują dużego stopnia zmiany miażdżycowe. Na przekrojach czołowych widoczne nieznaczne poszerzenie układu komórkowego. Rdzeń spłaszczony w wymiarze przednio-tylnym. Rysunek rogów przednich rdzenia nieco zatarty. Struktura istoty białej w okolicy drogi piramidowej bocznej o zabarwieniu szarym.

Badanie mikroskopowe. W drogach korowo-opuszkowych i korowo-rdzeniowych widoczna demielinizacja. Zaniki i zmiany komórkowe w barwieniach Nissla widoczne są w rogach przednich na wszystkich poziomach rdzenia, w jądrach ruchowych nerwów czaszkowych w opuszcze (nn. XII, X, IX, VIII, V) oraz w korze we wszystkich preparatach badanych, głównie w warstwie III i V.

Obserwowane zmiany komórkowe to schorzenie typu przewlekłego, tigroliza i nagromadzenie lipopigmentu. Te ostatnie zmiany występują również w komórkach wzgórza, w dużych komórkach prądkowia, w pozostałych komórkach ruchowych jąder czaszkowych oraz w oliwach i jądrach zębatych. Przy komórkach rozpadających się pojedyncze grudki neuronofagii. Zanikom i demielinizacji towarzyszy glejoza włóknista. W naczyniach powyżej 25μ bardzo duże zmiany miażdżycowe. Wokół

niektórych miażdżycowo-zmienionych naczyń w zwojach podstawy i istoty białej półkul mózgowych widoczne są niewielkie nacieki z komórek limfocytarnych oraz pojedynczych makrofagów zawierających nieraz barwik krwiopochodny. Od czasu do czasu obserwuje się przy naczyńkach krwinkotoki. W rdzeniu, mimo dużych zmian miażdżycowych, w naczyniach nie obserwuje się nacieków mezodermalnych. W istocie białej zawojów mózgowych liczne naczynia maksymalnie wypełnione krwią. Opony zwłókniałe, przy pojedynczych naczyniach komórki limfocytarne.

Przypadek 3. Józef S., lat 55 (PAN 105/64). Początek przewlekły. Choroba rozpoczęła się zanikami i drżeniem włóknienkowym oraz niedowładem spastycznym kończyn górnych. Po 16 miesiącach trwania choroby, bezpośrednio po urazie głowy, wystąpiły objawy opuszkowe: zaburzenia połykania i oddechu. Czas trwania choroby 1½ roku.

Sekcja ogólna. Odoskrzelowe zapalenie płuc, zwyrodnienie mięśnia sercowego, miażdżyca uogólniona.

Sekcja mózgu. Opony pogrubiałe, zmleczale na sklepiście i wzdłuż przebiegu naczyń, duże przekrwienie opon. Na podstawie mózgu naczynia wykazują mierne zmiany miażdżycowe. Zawoje centralne wąskie, rowki Rolanda głębokie. Na przekrojach czołowych nie stwierdzono odchyłań od stanu prawidłowego.

Badania mikroskopowe: Demielinizacja widoczna na wszystkich poziomach rdzenia, wyrażona najsilniej w rdzeniu szyjnym, ku górze słabnie i wyczerpuje się na poziomie opuszki, dotyczy dróg piramidowych oraz dróg rdzenio-mózdkowych przednich, tylnych i siateczkowo-rdzeniowych. W barwieniach przeglądowych zaniki komórkowe w rogu przednim rdzenia lędźwiowego i piersiowego są rozsiane i niewielkie, w rdzeniu szyjnym obejmują grupy przednio i tylnoprzyśrodkowe rogu przedniego, w opuszcze komórkach jąder nn. XII, X, IX i V, zaś w korze centralnej w komórkach piramidowych. W zachowanych komórkach wyżej wymienionych obszarów, jak również w innych komórkach ruchowych, obrazy uszkodzeń neuronalnych podobnie jak w przypadku drugim.

Zanikom i demielinizacji towarzyszy glejoza włóknista. Naczynia jąder podstawy i istoty białej półkul mózgowych wykazują zmiany miażdżycowe.

Wokół dość licznych, miażdżycowo zmienionych naczyń niewielkie nacieki, składające się z komórek limfocytarnych (ryc. 13). W rdzeniu, mimo dość dużych zmian miażdżycowych, nacieków mezodermalnych nie obserwuje się (ryc. 14). W mózdku zanik segmentarny komórek Purkiniego oraz ich zmiany homogenizacyjne. Na wszystkich skraw-

kach występowały cechy obrzęku i przekrwienia. W oponach naczyńia zwłókniałe, przy niektórych pojedyncze komórki histio- i limfocytopodobne.

Przypadek 4. Waclaw K., lat 58 (Pan 40/60). Początek powolny, postępująca niedowład spastyczny kończyn dolnych, następnie górnych. Niedowładom towarzyszyły zaniki mięśniowe, drżenia pęczkowe, zaburzenia czucia powierzchniowego i głębokiego. Po rocznym trwaniu choroby dołączyły się objawy ze strony opuszki (nn. VII, IX, X, XII). Zmarł wśród objawów niewydolności oddechowej i krążenia, po 2-letnim trwaniu choroby. Poza tym chory od 10 lat leczył się z powodu wrzodu żołądka.

Sekcja ogólna. Zapalenie płuc, przewlekły wrzód żołądka, przekrwienie narządów wewnętrznych, miażdżycy uogólniona, wyniszczenie.

Sekcja mózgu. Cechy obrzęku mózgu, przekrwienie w naczyniach podstawy, duże zmiany miażdżycowe. Na przekrojach czołowych jamki okołonaczyniowe w prążkowie. Rdzeń cienki, twardy, na przekrojach rysunek rogów przednich zatarty.

Badanie mikroskopowe. Demielinizacja dróg piramidowych, na wszystkich poziomach rdzenia, mniej wyrażona w obrębie opuszki, zanikająca na poziomie mostu, poza tym spłowienie mielin pęczka Gollia i Burdacha. W barwieniach przeglądowych zaniki komórkowe: w rogach przednich rdzenia lędźwiowego, szyjnego, w mniejszym stopniu piersiowego, w jądrach nn. czaszkowych VII, IX, X, XII, w korze rozsięte w różnych warstwach na wszystkich skrawkach badanych. Liczne obrazy uszkodzeń komórkowych, złogi lipopigmentu, tigriliza, uszkodzenia przewlekłe widoczne w tych obszarach. Przy rozpadających się komórkach nerwowych występują pojedynczo obrazy neuronofagii. W naczyniach zwojów podstawy, w istocie białej półkul mózgowych, w pniu i rdzeniu duże zmiany miażdżycowe. Często wokół nich widoczne niewielkie nacieki składające się z komórek limfocytarnych, nieraz z niewielką domieszką makrofagów z barwikiem krwiopochodnym. W prążkowie widoczne zatoki i przerzedzenia okołonaczyniowe. Demielinizacji, zanikom komórkowym, martwicom okołonaczyniowym i bardzo zmienionym miażdżycowo naczyniom towarzyszy glejoza włóknista. Na wszystkich skrawkach cechy obrzęku i przekrwienia.

Przypadek 5. Zofia B., lat 62 (PAN 173/63). Choroba rozpoczęła się postępującym niedowładem spastycznym kończyn dolnych, po roku objawy te wystąpiły również w kończynach górnych. Niedowładom towarzyszyły zaniki mięśniowe oraz drżenia włóknienkowe i pęczkowe. W piątym roku trwania choroby wystąpiły zaburzenia polykania oraz zez zbieżny prawego oka. Zgon nastąpił wśród objawów porażenia ośrodka oddechowego w 6 roku trwania choroby.

Sekcja ogólna. Obustronne odoskrzelowe zapalenie płuc. Miażdżyca uogólniona.

Sekcja mózgu. Bez zmian, poza umiarkowaną miażdżycą naczyń podstawy.

Badanie mikroskopowe. Demielinizacja szlaków piramidowych na wszystkich poziomach rdzenia z równoczesnym nieznacznym spłowieniem mieliny całych sznurów przednich i bocznych rdzenia (ryc. 4), na wyższych poziomach demielinizacja widoczna jest w piramidach opuszki oraz w nielicznych włóknach projekcyjnych półkul mózgu. W barwieniach komórkowych widoczne są zaniki w rogach przednich rdzenia łądźwiowego obecne w różnych ugrupowaniach jądrowych, w rdzeniu piersiowym w komórkach jąder przednio-bocznych, Jacobsohna, Clarka, w rdzeniu szyjnym dotyczą prawie wszystkich komórek rogów przednich (ryc. 5) w opuszce w nn. XII, nieznacznie tylko w nn. IX, X, w moście w VI, VII, w śródmózgowiu widoczne są w nn. IV, zaś w korze w warstwach piramidowych pól ruchowych. W wymienionych okolicach występują ponadto liczne obrazy uszkodzeń komórkowych: tigroliza, schorzenie przewlekłe, gromadzenie się złogów lipopigmentu; te ostatnie występują również w innych komórkach ruchowych oraz we wzgórzu, oliwach, jądrach zębatych. Zanikom i demielinizacji towarzyszy glejoza włóknista (ryc. 6, 7). W miejscach rozpadających się neurocytów pojedyncze obrazy neuronofagii, satelitoza i grudki glejowe. W mózdzku zanik segmentarny komórek Purkinjego i pojedyncze obrazy schorzenia homogenizacyjnego. Naczynia we wszystkich badanych strukturach wykazują zmiany miażdżycowe. Przy niektórych naczyniach w zwojach podstawy i w istocie białej obserwuje się niewielkie nacieki z komórek limfocytarnych i makrofagów, zawierających złogi barwika (ryc. 15). W rdzeniu w okolicy słupów przednich i bocznych nacieki z pojedynczych komórek limfocytarnych (ryc. 16). Naczynia wszystkie maksymalnie wypełnione krwią. Opony zwłókniaste.

Przypadek 6. Franciszek S., lat 69 (PAN 102/64). Początek powolny, zaobserwowano stopniowo nasilające się zaniki mięśniowe, drżenia pęczkowe, niedowłady spastyczne w kończynach prawych. W czwartym roku choroby wystąpiły zaburzenia połykania, mowy oraz zez rozbieżny. Chory zmarł w 5 roku trwania choroby wśród objawów porażenia ośrodkowego.

Sekcja ogólna. Zapalenie płuc, zwyrodnienie mięśnia sercowego, miażdżyca uogólniona.

Sekcja mózgu. Zmłeczenie i pogrubienie opon wzdłuż przebiegu naczyń na sklepiści mózgu. Naczynia podstawy bardzo znacznie zmienione miażdżycowo. Zaniki płatów czołowych. Na przekrojach

nieznaczne poszerzenie układu komorowego, w łupinach jamki okołonaczyniowe. Rdzeń cienki zanikły, twardy przy krajaniu. W sznurach bocznych po stronie prawej w miejscu odpowiadającym drodze piramidowej o odcieniu szarawym.

B a d a n i e m i k r o s k o p o w e. Demielinizacja jednostronna w drodze piramidowej bocznej prawej na wszystkich poziomach rdzenia, w opuszcze w piramidach lewych, w torebce wewnętrznej oraz w *centrum semiovale* wokół nielicznych naczyń i w starej bliźnie pozawałowej w półkuli lewej. W barwieniach komórkowych rozsiane zaniki komórek obserwuje się we wszystkich ugrupowaniach jądrowych rogów przednich rdzenia, na wszystkich poziomach, w opuszcze w jądrach nn. XII (ryc. 8), w śródmózgowiu w jądrach okoruchowych. W korze we wszystkich warstwach okołonaczyniowe zaniki komórkowe na wszystkich badanych preparatach. W wymienionych okolicach często zachowane komórki wykazują zmiany o typie schorzenia przewlekłego i zwyrodnienie tłuszczowe. W istocie białej *centrum semiovale* w półkuli lewej stara blizna pozawałowa. Demielinizacji, zanikom komórkowym, ogniskom martwicy okonaczyniowej towarzyszy glejoza włóknista. Przy rozpadających się komórkach pojedyncze obrazy neuronofagii. W całym O.U.N. naczynia wykazują dużego stopnia zmiany miażdżycowe. Największe zmiany stwierdza się w zwojach podstawy, w istocie białej półkul mózgowych, w rdzeniu, najmniejsze są w korze. W pograniczu tkankowo-naczyniowym niewielkie nacieki składające się z komórek limfocytarnych z domieszką makrofagów i krwinek czerwonych. Poza tym, w zwojach podstawy, w pniu pojedyncze okołonaczyniowe zatkanie. Opony zwłókniałe.

Rozpoznano „*Pseudo — sclerosis lateralis amyotrophica — secundaria in decursu arteriosclerosis.*”

Przypadek 7. Cecylia B., lat 57 (PAN 104/66). Choroba rozpoczęła się postępującymi zanikami mięśni, drżeniem włóknienkowym oraz niedowładem spastycznym kończyn górnych. Po kilku miesiącach wystąpiły zaburzenia połykania oraz mowy z niedowładem nerwu twarzowego. Od kilku lat cierpiała na zaburzenia przewodzenia pokarmowego, była bardzo wyniszczona. Zmarła nagle, w trzy godziny po transfuzji krwi, na skutek wstrząsu poprzetoczeniowego w 6 miesiącu trwania choroby.

Sekcja ogólna. Punkcikowate wylewy w korze nadnerczy, podopłucnowo i podosierdziowo. Zastój we wszystkich narządach wewnętrznych.

Sekcja mózgu. Naczynia na sklepiści nastrzyknięte krwią, na podstawie wykazują obecność pojedynczych blaszek miażdżycowych. Zawoje wąskie, rowki głębokie, zwłaszcza w płatach czołowych i potylicznych. Na przekrojach mózg i rdzeń b.z.

Badanie mikroskopowe. Demielinizacja dróg piramidowych najbardziej nasilona na poziomie rdzenia szyjnego, słabnąca w opuszce, moście, torebkach wewnętrznych, włóknach projekcyjnych półkul mózgowych, jak również w rdzeniu piersiowym i lędźwiowym. Poza tym, demielinizacja obejmowała na poziomie rdzenia pęczek Flechsig'a i Gowers'a. Zaniki i schorzenia komórkowe występują na wszystkich poziomach rdzenia (wszystkie ugrupowania jądrowe rogów przednich), opuszki (jądra nn. XII, X, IV), mostu (jądra nn. VII) oraz w korze ruchowej w komórkach piramidowych. Zmiany komórkowe obserwowane w tych obszarach były podobne jak w przypadku 5. W zwyrodniałych komórkach rogów przednich rdzenia, w barwieniach Bielschowsky'ego widoczne były włókienka Alzheimera (ryc. 11).

Zanikom i demielinizacji towarzyszy glejoza włóknista. W mózdzku pojedyncze komórki Purkiniego reprezentują zmiany homogenizacyjne, warstwa Bergmana odcinkowo przerosła. W istocie białej półkul mózgowych tylko pojedyncze naczynia wykazują niewielkiego stopnia zmiany miażdżycowe. W pograniczu tkankowo-naczyniowym nie stwierdzono odczynu zapalnego. Na wszystkich skrawkach objawy przekrwienia i obrzęku.

Przypadek 8. Józef C., lat 71 (PAN 212/62). Od trzech lat postępujące zaniki mięśniowe w kończynach dolnych z towarzyszącymi objawami drżeń włóknkowych i niedowładów spastycznych. Po roku te same objawy w kończynach górnych. W piątym roku trwania choroby zaburzenia polykania i mowa dysartyczna. Zgon nastąpił wśród objawów niewydolności oddychania i krążenia.

Sekcja ogólna. Zapalenie płuc odoskrzelowe, przekrwienie naczyń wewnętrznych, miażdżycy uogólniona.

Sekcja mózgu. Zmęczenie opon wzdłuż przebiegu naczyń na sklepiści. Mózg mały, zanikowy, naczynia na podstawie wykazują dużego stopnia zmiany miażdżycowe.

Badanie mikroskopowe. Charakterystyczne zmiany na wszystkich poziomach rdzenia, polegające na przejaśnieniu mielin w tylny-zewnętrznej części powrózków bocznych, w polach piramidowych w opuszce oraz w pojedynczych włóknach projekcyjnych. W barwieniach komórkowych widoczne były zaniki i schorzenia komórkowe we wszystkich ugrupowaniach jądrowych w rogach przednich rdzenia oraz słupów Clarka, w opuszce w jądrach nn. XII, X, IX, V, w korze w komórkach piramidowych i przynaczyniowo we wszystkich badanych okolicach. W wymienionych obszarach komórki wykazują zmiany typu schorzenia przewlekłego, chromatolizy, kariolizy oraz zwyrodnienia tłuszczowego (ryc. 9a, b, c, d). W korze amonalnej liczne komórki wykazywały zmiany o cechach schorzenia przewlekłego (ryc. 10a, b).

W mózdzku obserwowano zanik segmentarny komórek Purkiniego i przerost warstwy Bergmana. Zanikom komórkowym, demielinizacji, zmianom miażdżycowym towarzyszy glejoza włóknista. Poza tym w ogniskach reparacyjnych związanych z ubytkami komórkowymi bądź zwyrodnieniem komórkowym, obserwuje się nieznaczny odczyn gleju mezodermalnego i pojedyncze obrazy satelitozy i neuronofagii (ryc. 12a, b, c). Naczynia wszystkich badanych okolic wykazują bardzo duże zmiany miażdżycowe. W zwojach podstawy przy zmienionych naczyniach obecne są zatoki okołonacyniowe. Przy niektórych naczyniach występują niewielkie nacieki mezodermalne składające się z komórek limfocytarnych z domieszką makrofagów zawierających nieraz barwik krwiopochodny. Pogranicze tkankowo-nacyniowe często rozluźnione. Opony zwłókniałe i przerosłe. Przy niektórych naczyniach opon występują niewielkie skupienia z komórek histio- i limfocytopodobnych.

Przypadek 9. Regina Z., lat 57 (PAN 197/63). Choroba rozpoczęła się niedowładem spastycznym kończyn górnych z zanikami mięśniowymi i drżeniami włóknienkowatymi. Po kilku miesiącach wystąpiły objawy opuszkowe ze strony nn. VII, IX, X, XII. Zmarła po rocznym trwaniu choroby wśród objawów niewydolności oddychania.

Sekcja ogólna. Ropne zapalenie oskrzeli, bierne przekrwienie narządów, miażdżycza uogólniona.

Sekcja mózgu. Mózg mały, zanikowy, zwłaszcza w płatach czołowych. Na podstawie mózgu naczynia wykazują obecność dość licznych blaszek miażdżycowych.

Badanie mikroskopowe. Demielinizacja w drogach piramidowych na wszystkich poziomach rdzenia, w opuszce oraz w nielicznych włóknach projekcyjnych półkul mózgowych. W barwieniach komórkowych w rdzeniu lędźwiowym oraz piersiowym zaniki komórkowe bardzo nieznaczne. Na poziomie zgrubienia szyjnego zarówno demielinizacja, jak i zmiany komórkowe są najintensywniejsze. Prawie zupełnie brak komórek rogów przednich rdzenia szyjnego, tu i ówdzie widoczne są jedynie ich pozostałości w postaci cieni komórkowych i poszerzonych aksonów. W opuszce największe zaniki występują w komórkach jąder nn. XII, niewielkie w jądrach nn. XI, X, w moście w jądrach nn. VII, w korze w komórkach piramidowych oraz przynacyniowo we wszystkich badanych okolicach. Komórki zachowane wykazują różne obrazy uszkodzeń. Nagromadzenie lipopigmentu widoczne jest we wszystkich komórkach jąder wzgórza, dużych komórkach prążkowiec, neuronach ruchowych pnia oraz w oliwach i jądrach zębatach. Zanikom komórkowym, martwicom okołonacyniowym, dużym zmianom miażdżycowym i demielinizacji towarzyszy glejoza włóknista.

W naczyniach zwojów podstawy i istoty białej półkul, w pniu, rdzeniu oraz korze widoczne są znaczne zmiany miażdżycowe. Przy niektórych naczyniach obecne są niewielkie nacieki komórek limfocytarnych z domieszką makrofagów. Opony zwłókniałe.

Przypadek 10. Adolf M., lat 54 (PAN 103/64). Choroba rozpoczęła się niedowładem spastycznym kończyn dolnych z towarzyszącymi zanikami i drżeniem włóknienkowym. Po kilku miesiącach te same objawy zaobserwowano w kończynach górnych. Zmarł z objawami porażenia ośrodka oddechowego po 12 miesiącach trwania choroby.

Sekcja ogólna. Obrzęk i rozedma płuc. Miażdżycy uogólniona.

Sekcja mózgu. Zawoje wąskie, rowki głębokie, zwłaszcza w płatach czołowych. Na sklepiści naczynia maksymalnie wypełnione krwią, na podstawie wykazują obecność pojedynczych blaszek miażdżycowych. Na przekrojach mózg, pień, mózdzek, rdzeń b. z.

Badanie mikroskopowe. W drogach korowo-opuszkowych i korowo-rdzeniowych demielinizacja najsilniej zaznaczona na poziomie szyjnym i lędźwiowym. Największe zaniki komórkowe obserwuje się tu w rogach przednich rdzenia, w jądrach przednio-przyśrodkowych i przednio-bocznych. W rdzeniu piersiowym zaniki są niewielkie. W opuszcze zaniki dotyczą komórek jąder podjęzykowych, dwuznacznych oraz w mniejszym nasileniu błędnych, zaś w korze centralnej komórek III i V warstwy. Schorzenia komórkowe podobne jak w przypadkach poprzednich. W komórkach rogów przednich w barwieniach Bielschowsky'ego widoczne są włókienka Alzheimer'a. Demielinizacji jak i zanikom komórkowym towarzyszy glejoza włóknista. Naczynia miernie zmienione miażdżycowo. Tylko przy pojedynczych naczyniach w zwojach podstawy jak i w istocie białej występują niewielkie nacieki składające się z komórek limfocytarnych z domieszką makrofagów. Nieraz w pograniczu naczyniowo-tkankowym struktura tkankowa jest rozluźniona. Naczynia na wszystkich skrawkach maksymalnie wypełnione krwią.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Za objawy procesu zapalnego w tkance mózgowej przyjęło się za klasykami (Spielmeyer 1922, Spatz 1930, Globus 1932) uważać sumę reakcji tkanki podporowej; na terenie ośrodkowego układu nerwowego zarówno tkanki mezodermalnej, wraz z pochodnym od niej mikroglejem, jak i ze wszelkimi zastrzeżeniami sytuacyjnymi — tzw. gleju podporowego; przy czym, jak wiadomo, odczyn zapalny może być zarówno reakcją na bezpośrednią obecność egzogenego czynnika szkodliwego (zakaźnego), jak i reakcją symptomatyczną na toczące się w tkance procesy rozpadowe. Objawy zapalenia występujące w naszym materiale można uszeregować następująco:

Tabela 1.

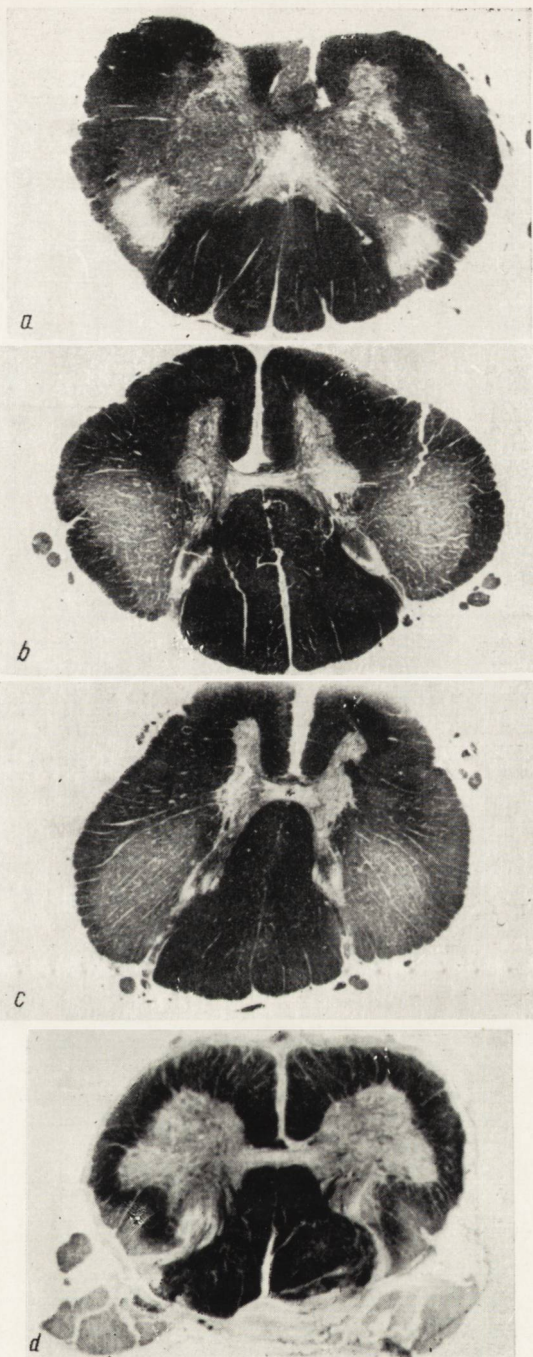
Table 1.

Nr przyp. Case No.	Zmiany zapalne Inflammatory changes	Topografia Topography
1	<p>nacieki okołonaczyniowe (komórki limfocytarne, nieraz makrofagi)</p> <p>perivascular infiltrates (lymphocytic with a few macrophages)</p> <p>glejoza włóknista</p> <p>fibrous gliosis</p> <p>neuronofagia-mikroglej</p> <p>neuronophagia, microglia</p>	<p>przy niektórych naczyniach zmienionych miażdżycowo</p> <p>around atherosclerotic blood vessels</p> <p>w obszarach uszkodzeń typowych dla SLA</p> <p>in the region of typical SLA lesions</p> <p>sporadycznie, przy rozpadających się neurocytach</p> <p>sporadic, around neurocytes breaking down</p>
2	<p>nacieki okołonaczyniowe (j.w.)</p> <p>perivascular infiltrates (as above)</p> <p>glejoza włóknista</p> <p>fibrous gliosis</p> <p>neuronofagia-mikroglej</p> <p>neuronophagia, microglia</p>	<p>wokół niektórych naczyń zmienionych miażdżycowo w zwojach podstawy, w istocie białej półkul mózgowych w oponach</p> <p>around some atherosclerotic blood vessels in the basal ganglia, white matter and meninges</p> <p>w obszarach uszkodzeń typowych dla SLA</p> <p>in the region of typical SLA lesions</p> <p>sporadycznie przy rozpadających się neurocytach w korze i rogach przednich rdzenia</p> <p>sporadic, around neurocytes breaking down, in the cortex and in the spinal anterior horns</p>
3	<p>nacieki okołonaczyniowe (j.w.)</p> <p>perivascular infiltrates (as above)</p> <p>glejoza włóknista</p> <p>fibrous gliosis</p>	<p>wokół nielicznych naczyń zmienionych miażdżycowo w zwojach podstawy i w istocie białej półkul mózgowych</p> <p>around a few atherosclerotic blood vessels, in the basal ganglia and in the white matter of the cerebral hemispheres</p> <p>towarzyszy zanikom komórkowym i demielinizacji</p> <p>accompanies cellular loss and demyelination</p>
4	<p>nacieki okołonaczyniowe (komórki limfocytarne, histiocytarne, makrofagi)</p> <p>perivascular infiltrates (lymphocytes, histiocytes, macrophages)</p>	<p>we wszystkich strukturach wokół niektórych naczyń zmienionych miażdżycowo</p> <p>in all the structures around some atherosclerotic blood vessels</p>

c.d. tabeli I

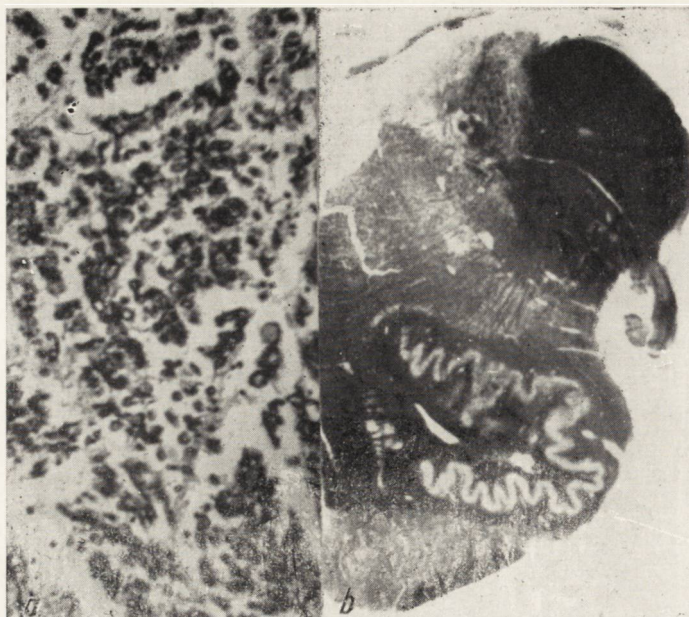
Nr przyp. Case No.	Zmiany zapalne Inflammatory changes	Topografia Topography
	<p>glejoza włóknista fibrous gliosis</p> <p>neuronofagia, satelitoza neuronophagia, satellitosis</p>	<p>występuje w polach reparacyjnych typowych dla SLA i wokół martwic okołonaczyniowych i naczyń in areas of reparation typical of SLA and around perivascular necrosis and blood vessels</p> <p>sporadycznie przy rozpadających się komórkach sporadically around cells breaking down</p>
5	<p>nacieki okołonaczyniowe (j.w.) perivascular infiltrates (as above)</p> <p>glejoza włóknista fibrous gliosis</p> <p>neuronofagia-mikroglej neuronophagia, microglia</p>	<p>we wszystkich strukturach badanych przy nielicznych naczyniach zmienionych miażdżycowo in all the studied structures around a few atherosclerotic blood vessels</p> <p>w polach uszkodzeń typowych dla SLA in areas of lesions typical of SLA</p> <p>pojedyncze obrazy przy rozpadających się komórkach nerwowych isolated foci around neurocytes breaking down</p>
6	<p>nacieki okołonaczyniowe (j.w.) perivascular infiltrates (as above)</p> <p>glejoza włóknista fibrous gliosis</p> <p>neuronofagia neuronophagia</p>	<p>wokół dość licznych naczyń zmienionych miażdżycowo, na wszystkich skrawkach badanych around fairly numerous atherosclerotic blood vessels in all the studied sections</p> <p>w polach demielinizacji — zaników komórkowych, w miejscach typowych dla SLA oraz wokół naczyń bardzo zmienionych miażdżycowo in demyelinated areas, around nerve cell loss, in places typical of SLA, and around blood vessels with advanced atherosclerotic changes</p> <p>sporadycznie przy rozpadających się neurocytach sporadically around neurocytes breaking down</p>

Nr przyp. Case No.	Zmiany zapalne Inflammatory changes	Topografia Topography
7	<p>nacieki okołonaczyniowe (j.w.) perivascular infiltrates (as above)</p> <p>glejoza włóknista fibrous gliosis</p>	<p>nie występują absent</p> <p>reparacyjna w typowych miejscach charakterystycznych dla SLA reparative in typical places for SLA</p>
8	<p>nacieki okołonaczyniowe (j.w.) perivascular infiltrates (as above)</p> <p>glejoza włóknista fibrous gliosis</p> <p>neuronofagia neuronophagia</p>	<p>wokół niektórych naczyń zmienionych miażdżycowo na wszystkich skrawkach around some atherosclerotic blood vessels in all the sections</p> <p>występuje w polach reparacyjnych typowych dla SLA przy zatokach i naczyniach bardzo zmienionych miażdżycowo in areas of reparation typical of SLA, around lacunes and blood vessels with advanced atherosclerotic changes</p> <p>sporadycznie, w rogach przednich rdzenia, przy rozpadających się neurocytach sporadically in the spinal anterior horns around neurocytes breaking down</p>
9	<p>nacieki okołonaczyniowe (j.w.) perivascular infiltrates (as above)</p> <p>glejoza włóknista fibrous gliosis</p>	<p>w wszystkich strukturach wokół naczyń niektórych bardzo zmienionych miażdżycowo in all the structures around some blood vessels with advanced atherosclerotic changes</p> <p>w polach reparacyjnych typowych dla SLA przy zatokach okołonaczyniowych i naczyniach bardzo zmienionych miażdżycowo in areas of reparation typical of SLA around perivascular lacunes and in blood vessels with advanced atherosclerotic changes</p>
10	<p>nacieki okołonaczyniowe (j.w.) perivascular infiltrates (as above)</p> <p>glejoza włóknista fibrous gliosis</p>	<p>przy naczyniach zmienionych miażdżycowo w zwojach podstawy i w istocie białej półkuli mózgowych around blood vessels with atherosclerotic changes in the basal ganglia and cerebral white matter</p> <p>w polach reparacyjnych typowych dla SLA in areas of reparation typical of SLA</p>



Ryc. 1a, b, c, d. Demyelinizacja dróg piramidowych bocznych na poziomie rdzenia: *a* — podopuszkowego, *b* — szyjnego, *c* — piersiowego, *d* — lędźwiowego. Parafina. Heidenhain. Pow. lupowe.

Fig. 1a, b, c, d. Demyelination of the lateral pyramidal tracts in the spinal cord: *a* — subbulbar, *b* — cervical, *c* — thoracic, *d* — lumbar. Paraffin. Heidenhain. Hand-glass magnification.



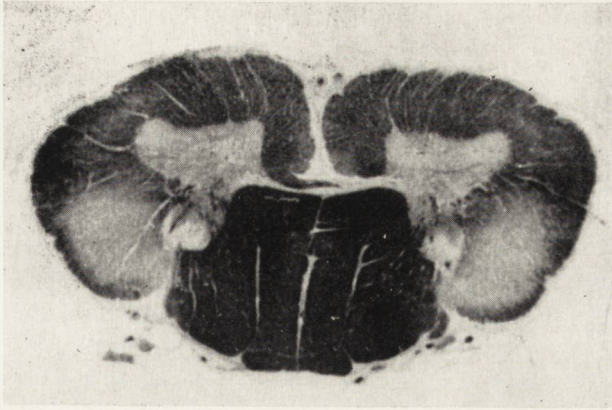
Ryc. 2a, b. — Demyelinizacja na poziomie opuszki w piramidach w powiększeniu lupowym oraz te same piramidy w pow. 175 \times , b — parafina. Heidenhain.

Fig. 2a, b. a — Demyelination at the bulbar level in the pyramids under hand-glass magnification and the same pyramids magnified $\times 175$, b — paraffin. Heidenhain.



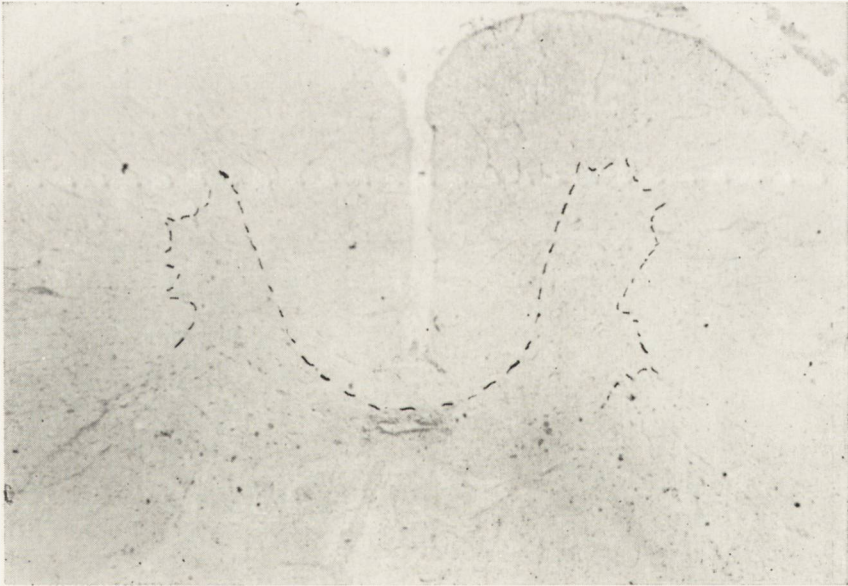
Ryc. 3. Demyelinizacja włókien projekcyjnych w półkuli mózgowej prawej. Parafina. Heidenhain. Pow. lupowe.

Fig. 3. Demyelination of the projection fibers in the right cerebral hemisphere. Paraffin. Heidenhain. Hand-glass magnification.



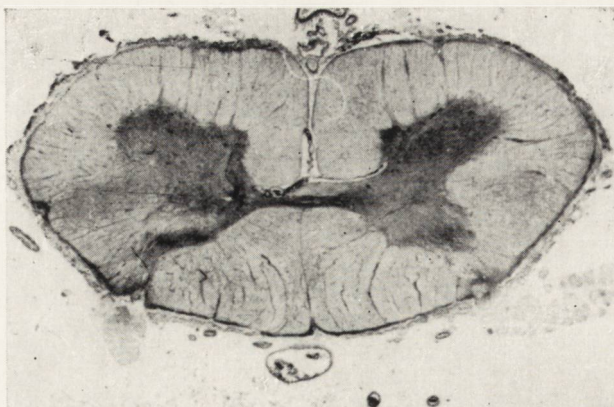
Ryc. 4. Demielinizacja dróg piramidowych na poziomie rdzenia szyjnego w przypadku 5. Parafina, Heidenhain, Pow. lupowe.

Fig. 4. Demyelination of the pyramidal tract at the level of the cervical spinal cord in case 5. Paraffin, Heidenhain, Hand-glass magnification.



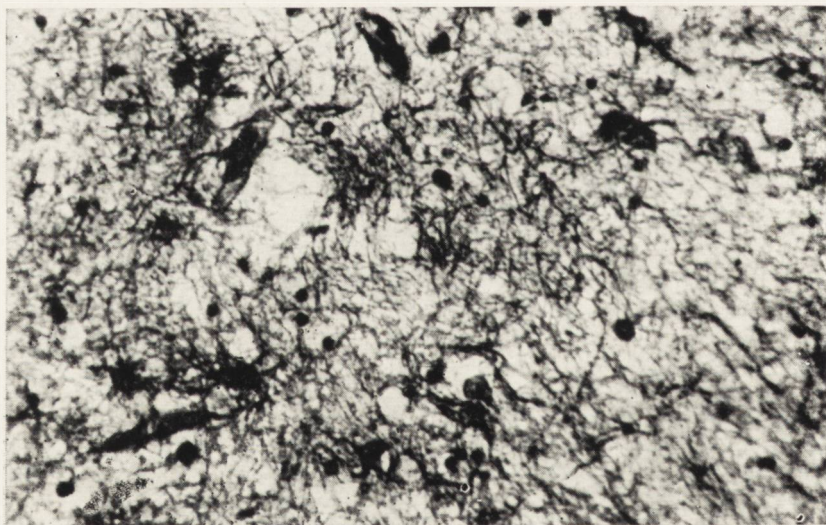
Ryc. 5. Lustrzany przekrój barwiony metodą Kanzler-Arendt'a. Widoczne zagęszczenie pilsni glejowej w obszarach demielinizacji. Pow. lupowe.

Fig. 5. A mirror section stained by the method of Kanzler-Arendt. Condensation of the glial network in the demyelinated area. Hand-glass magnification.



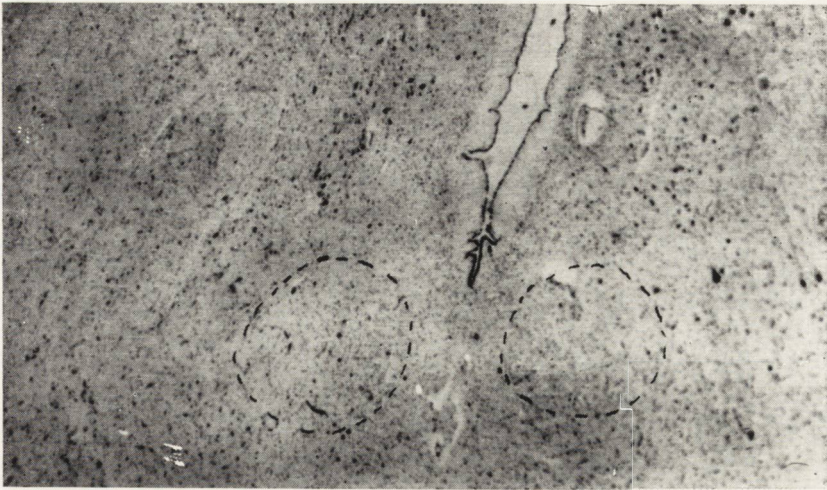
Ryc. 6. Ten sam przekrój w barwieniu komórkowym. Widoczny prawie całkowity zanik komórek ruchowych rogów przednich rdzenia szyjnego. Parafina. Hematoksylina-eozyna. Pow. lupowe.

Fig. 6. The same cross section, cellular staining. Almost complete disappearance of motor cells in the anterior horns of the spinal cord. Hand-glass magnification. Paraffin, Hematoxylin-eosin.



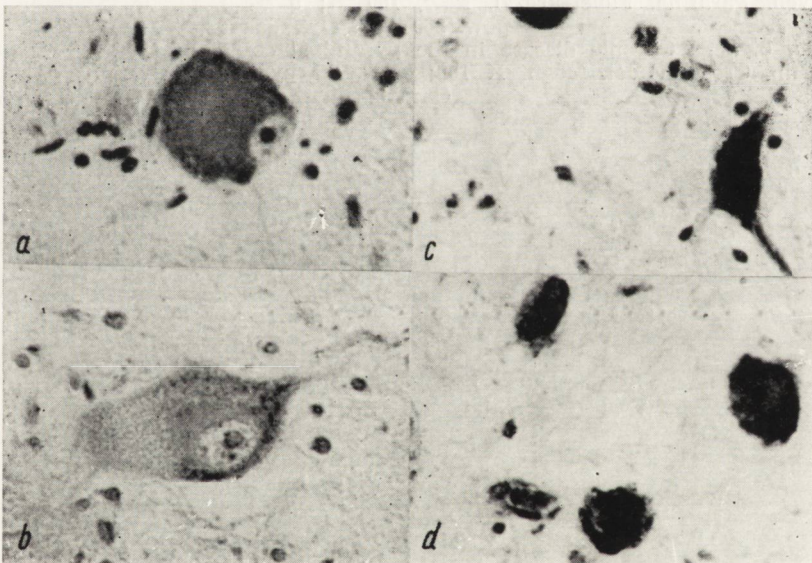
Ryc. 7. Obszar zagęszczonej pilsni glejowej w słupach bocznych rdzenia z tego samego przekroju w pow. 280 X. Kanzler-Arendt.

Fig. 7. Area of condensed glia in the lateral columns of the spinal cord from the same cross section, magnified X 280. Kanzler-Arendt.



Ryc. 8. Widoczny prawie całkowity zanik komórek jąder podjęzykowych. Przypadek 7. Parafina. Hematoksylina-eozyna. Pow. lupowe.

Fig. 8. Almost complete absence of the cells of the hypoglossal nuclei. Case 7. Paraffin. Hematoxylin-eosin. Hand-glass magnification.



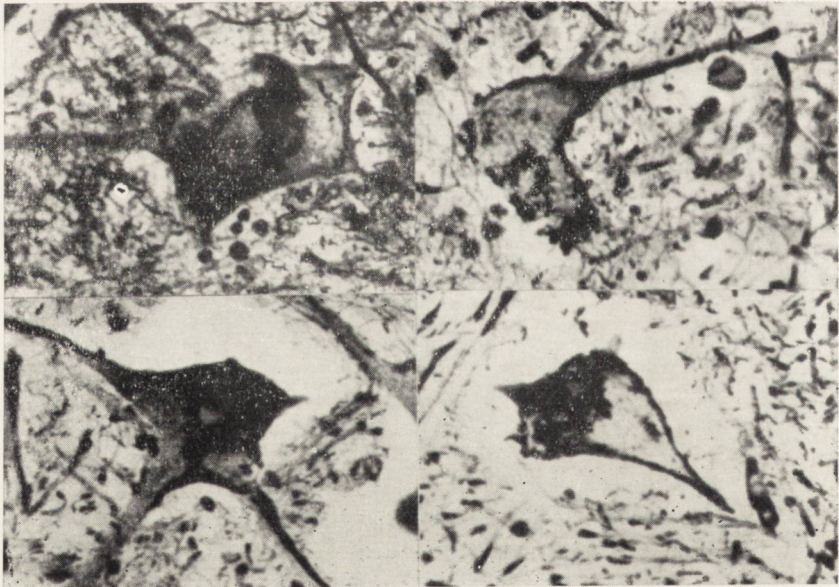
Ryc. 9a, b, c, d. Różne typy schorzeń komórkowych obserwowane w mniejszym lub większym nasileniu we wszystkich badanych przypadkach: *a* — chromatoliza w komórce ruchowej rogu przedniego rdzenia szyjnego; *b* — gromadzenie się lipopigmentu w protoplazmie, komórka piramidowa kory ruchowej; *c* — schorzenia przewlekłe w komórkach jąder nn. XII; *d* — schorzenia przewlekłe w komórkach jąder nn. X. Przypadek 8. Parafina. Fiolet krezyłu. Pow. 280 X.

Fig. 9a, b, c, d. Various types of cellular lesions observed in all the studied cases: *a* — chromatolysis in an anterior horn cell in the spinal cord; *b* — accumulation of lipopigment in the protoplasm of a pyramidal motor cell; *c* — chronic disease in the cells of the nuclei of the XIIth nerve; *d* — chronic disease in the nuclei of the Xth nerve. Case 8. Paraffin. Cresyl violet. Magn. X 280.



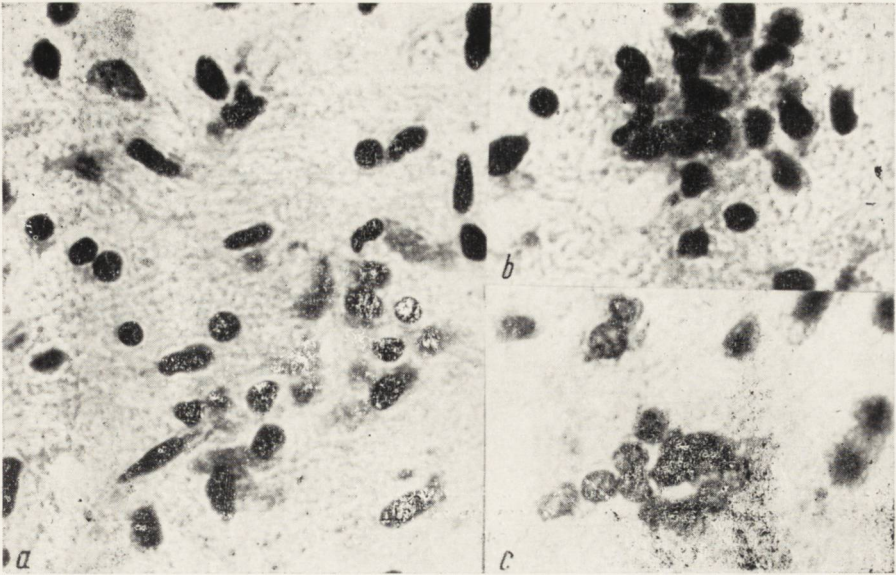
Ryc. 10a, b. a — W korze ammonalnej schorzenia przewlekłe w komórkach piramidowych. Parafina. Fiolet-krezyl. Pow. 100 \times ; *b* — 2 komórki piramidowe w pow. 280 \times . Przypadek 8.

Fig. 10a, b. a — Chronic disease in the pyramidal cells in the Ammonal cortex. Paraffin. Cresyl violet. Magn. \times 100; *b* — two pyramidal cells magn. \times 280. Case 8.



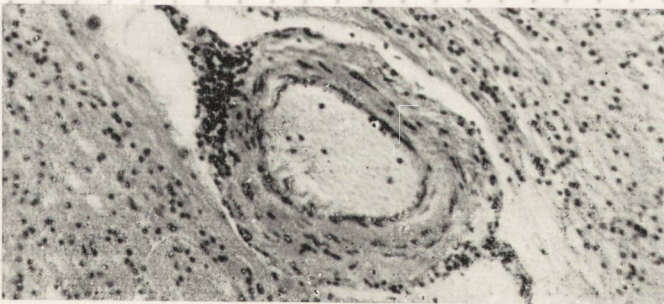
Ryc. 11. Włókienka Alzheimera w zwyrodniałych komórkach rogów przednich rdzenia. Bielschowsky. Pow. 400 \times .

Fig. 11. Alzheimer fibrils in degenerated anterior horn cells in the spinal cord. Bielschowsky. Magn. \times 400.



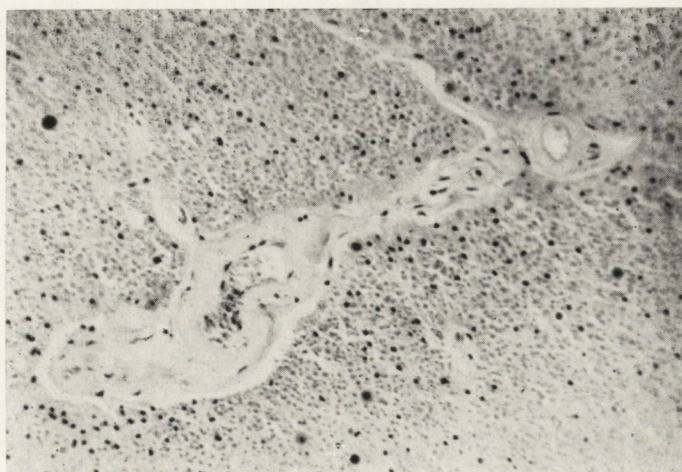
Ryc. 12a, b, c. Odczyn gleju ekto- i mezodermalnego: a — obraz neuronofagii, b — obraz satelitozy, c — miejscowy odczyn glejowy przy rozpadających się neurocytach w rogach przednich rdzenia szyjnego. Przypadek 8. Parafina. Fiolet — kreziyl. Pow. 280 ×.

Fig. 12a, b, c. Ecto- and mesodermal glial reaction: a — neuronophagia, b — satellitosis, c — local glial reaction with breaking down neurocytes in the anterior horns of the spinal cord. Cast 8. Paraffin. Cresyl-violet. Magn. × 280.



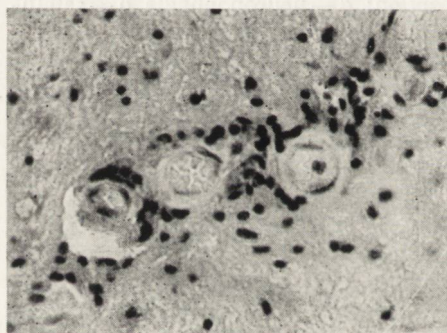
Ryc. 13. Naczynie przerosłe, zwiókniałe, z całkowicie zatartą budową warstwową ściany. W zewnętrznej części przydanki widoczne skupienia komórek limfocytarnych, które częściowo przechodzą do przynaczyniowych przestrzeni. Istota biała. Przypadek 3. Parafina. Hematoksylina-eozyna. Pow. 100 ×.

Fig. 13. Hypertrophic, fibrotic blood vessel, with completely obliterated layer structure of its walls. The external part of the adventitia contains accumulations of lymphocytic cells, some of which are present also in the paravascular space. White substance. Case 3. Hematoxylin-eosin. Magn × 100.



Ryc. 14. Naczynie prawie zupełnie zeszkliwiałe, z sąsiedztwa zdmielinizowanych sznurów bocznych rdzenia. Brak odczynu zapalnego. Ten sam przypadek. Parafina. Hematoksylina-eozyna. Pow. 100 \times .

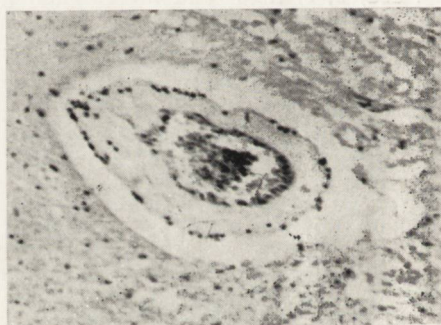
Fig. 14. Almost completely hyalinized blood vessel from the neighborhood of the demyelinated lateral columns of the spinal cord. Absence of an inflammatory reaction. The same case. Paraffin. Hematoxylin-eosin. Magn. \times 100.



Ryc. 15

Ryc. 15. Okołonaczyniowe nacieki z komórek limfocytarnych z domieszką nieznaczną makrofagów, przy naczyniach zmienionych miażdżycowo. Przypadek 5. Parafina. Hematoksylina-eozyna. Pow. 360 \times .

Fig. 15. Perivascular lymphocytic infiltration with a slight admixture of macrophages around atheromatous blood vessels. Case 5. Paraffin. Hematoxylin-eosin. Magn. \times 360.



Ryc. 16

Ryc. 16. W sznurach bocznych rdzenia szyjnego naczynie o ścianie zupełnie zeszkliwiałej. Widoczny w pograniczu naczyniowo-tkankowym niewielki naciek, składający się z komórek limfocytarnych. Przypadek 5. Parafina. Hematoksylina-eozyna. Pow. 200 \times .

Fig. 16. A blood vessel with completely hyalinized walls in the lateral column of the spinal cord. Slight lymphocytic infiltration at the tissue-vascular boundary. Case 5. Paraffin. Hematoxylin-eosin. Magn. \times 200.

Zestawione powyżej wykładniki reakcji zapalnej są identyczne jak te, które opisuje w swojej pracy Krzysztoń (1963). Biorąc pod uwagę ich topografię należy dojść do wniosku, że w żadnym z przebadanych przypadków reakcja komórkowa nie może być interpretowana jako zapalenie pierwotne *sensu stricto*, ponieważ:

1. Proliferacja astroglejowa związana jest z ubytkami komórkowymi, demielinizacją, lub naczyniami zmienionymi miażdżycowo. Glejoza włóknista ma tu zatem typowy charakter wtórny, reparacyjny należący do „klasycznych czynności” astrogleju na terenie mózgu (Wiśniewska 1965).

2. Grudki neuronofagiczne, satelitoza obserwowana w przypadkach 1, 2, 4, 5, 6, 8 są zjawiskami sporadycznymi, obserwowanymi w takim samym nasileniu ilościowym jak w przebiegu każdego procesu miażdżycowego lub zwyradniającego, pociągającego za sobą rozpad pojedynczych neuronów. Reakcja mikrogleju różni się tu w sposób zasadniczy od grudek neuronofagicznych rozlanych i od proliferacji ławicowej (której zupełnie brak w naszych przypadkach), cechującej proces tzw. pierwotnego zapalenia.

3. Pozostają wreszcie do interpretacji limfo-histiocytarne nacieki zapalne występujące bądź w ścianach naczyniowych, bądź w przynaczyniowych przestrzeniach. Zjawisko nacieku okołonaczyniowego towarzyszącego naczyniu, w którego ścianach zachodzą zmiany o charakterze stwardnieniowym lub miażdżycowym, znane jest bardzo dobrze w patologii naczyniowej mózgu jako zjawisko towarzyszące rozpadowi tkankowemu, naczyniowemu lub okołonaczyniowemu (jedna ze znanych reakcji symptomatycznych).

4. Nie znaleziono w naszym materiale, nie napotkano też przy szczegółowej analizie faktów przedstawionych przez Krzysztoń, ani jednej cechy przemawiającej za pierwotnie zapalną etiologią procesu podstawowego.

Rozpatrując patogenezę okołonaczyniowych nacieków zapalnych w S.L.A. wydaje się, że poza miażdżycą na nasilenie tych nacieków, zmian komórkowych i krwinkotoków mają wpływ okresowe stany niedotlenienia związane z uszkodzeniem opuszki. Wiadomo, że nawracające stany nieomagi ośrodka oddechowego dają hyperkapnię, co doprowadza do przekrwienia mózgu i uszkodzenia bariery krew-mózg, aż do krwinkotoków i mikromartwic włącznie. Obserwowany zanik segmentarny komórek Purkiniego, warstwy ziarnistej mózdzku, zmiany komórkowe w korze ammonalnej są również następstwem niedotlenienia mózgu, a nie schorzenia podstawowego.

Orzechowski i Frejówna (1925) uważają, że przewlekłość S.L.A. zacierza obraz histologiczny zapalenia, podobnie jak to ma miejsce w

parkinsonoidalnych mózгах po zapaleniu nagminnym mózgu, dlatego też zwróciliśmy szczególną uwagę na przypadek 7, gdzie chora zginęła w szoku potransfuzyjnym w stosunkowo wczesnym okresie choroby, ale i tu również nie znaleźliśmy cech zapalenia. Poza tym, podkreślany tak mocno przez Krysztóń (1963) czynnik infekcyjny górnych dróg oddechowych nie wydaje się być czynnikiem obciążającym, ponieważ, co potwierdzają i inni autorzy, chorzy ci zgłaszają się z zaawansowanymi objawami neurologicznymi. Wiązanie więc objawów grypowych z S.L.A. ze względu na częste występowanie tego typu infekcji jest ryzykowne.

Reasumując uważamy, że przedstawiony przez nas materiał w żadnym wypadku nie przesądza etiologii zespołu S.L.A. Wydaje się, że etiologia ta może być uznana za niejednorodną, czyli — innymi słowy — słuszne będzie nadal określenie S.L.A. mianem zespołu chorobowego, nie zaś jednostki. Z pewnością utrzyma się grupa rodzinna, z pewnością pozostaną przypadki o wyraźnych momentach endo- i egzogennych. Na takim stanowisku zresztą stoi większość przytoczonych w części wstępnej autorów. S.L.A. stanowić będzie prawdopodobnie pozycję nozologiczną, analogiczną do S.M., gdzie przy latentnej predyspozycji podłoża rozmaite czynniki szkodliwe wywołać mogą jeden i ten sam zespół uszkodzeń. Oczywiście zawsze jest możliwa zasadnicza zmiana poglądów w grupie „egzogennej” po uzyskaniu jednoznacznych wyników prowadzonych obecnie badań na małpach (Zilber i wsp. 1963 — ZSRR oraz Brody i wsp. 1965 N.I.H. — USA) i porównawczych obserwacji u chorych z wyspy Guam. Dotychczas jednak ani wyniki badań światowych, ani tym bardziej analiza materiału patologicznego, reprezentującego przypadki analogiczne do przedstawionych powyżej, nie upoważniają merytorycznie do zabrania w dyskusji głosu przesądzającego na korzyść takich czy innych poglądów na etiologię S.L.A.

К. Висьневска, Д. Тытульска

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ „ВОСПАЛЕНИЯ”
В SCLEROSIS LATERALIS AMYOTROPHICA И ИХ БИОЛОГИЧЕСКОЕ
ЗНАЧЕНИЕ

Содержание

Приводятся актуальные воззрения на этиопатогенез *sclerosis lateralis amyotrophica* с особым учетом воспалительного компонента, ибо в польской литературе в последнее время убедительно высказывается мнение о первично воспалительном происхождении *sclerosis lateralis amyotrophica*.

На основании морфологического анализа 10 случаев авторы приходят к выводу, что ни в одном случае клеточные реакции не могут оцениваться как чисто воспалительные поскольку:

1. Пролиферация астроглии связана с клеточными дефектами, демиелинизацией либо сосудистыми изменениями. Таким образом фиброзный глеиоз носит здесь типично последовательный, репараторный характер.

2. Невронофаговые комки, сателитоз, наблюдаемые в случаях 1, 2, 4, 5, 6, 8 представляют собой спорадическое явление, наблюдаемое в такой-же количественной выраженности в течении каждого атероматозного либо дегенеративного процесса. Реакции микроглии основным образом отличаются от невронофаговых диффузных комков и от дюнообразной прилиферации, характеризующей процесс т.наз. первичного воспаления.

3. Лимфо-гистиоцитарные воспалительные инфильтраты развивающиеся либо в сосудистых стенках либо в околососудистых пространствах сопутствуют тем сосудам, в стенках которых наблюдаются склеротические либо атероматозные изменения. Эти явления хорошо известны в сосудистой патологии мозга, они сопутствуют тканевому, сосудистому, околососудистому распаду (одна из известных симптоматических реакций).

Кроме того на интенсивность этих инфильтратов, клеточных изменений, диапедезов оказывают влияние периодические состояния гипоксии, обусловленные повреждением луковицы дыхательного центра.

4. Можно предполагать, что этиология при *sclerosis lateralis amyotrophica* является неоднородной и таким образом, более правильно называть *sclerosis lateralis amyotrophica* болезненным симптомокомплексом, чем нозологической единицей. Несомненно сохранится семейная группа, несомненно также останутся случаи с заметными экзо- и эндогенными моментами.

Sclerosis lateralis amyotrophica повидимому является нозологической позицией аналогичной *sclerosis multiplex*, где при латентной склонности базиса различные вредные факторы могут вызвать одинаковый комплекс повреждений.

K. Wiśniewska, D. Tytułska

MORPHOLOGIC MANIFESTATIONS OF „INFLAMMATION” IN SCLEROSIS LATERALIS AMYOTROPHICA AND THEIR BIOLOGIC SIGNIFICANCE

Summary

Current views on the etiopathogenesis of SLA are discussed, with special reference to the inflammatory component because it has been claimed recently in the Polish literature that SLA is a primarily inflammatory process.

On the basis of an analysis of 10 cases, it was concluded that the cellular reactions in this disease cannot be regarded as inflammatory *sensu stricto* because:

1. Astroglial proliferation is associated with nerve cell loss, demyelination or vascular lesions. Fibrous gliosis has a typically secondary, reparative character.

2. Neuronophagia and satellitosis, which were observed in cases 1, 2, 4, 5, 6 and 8, are sporadic phenomena occurring in the same degree in all atheromatous and degenerative processes. The microglial reactions differ fundamentally from diffuse neuronophagy and massive proliferation characterizing so-called primary inflammation.

3. Inflammatory lymphohistiocytic infiltrates in the vascular walls and perivascular spaces occur in those blood vessels with sclerotic or atheromatous lesions in their walls. This phenomenon is well known in the vascular pathology of the brain, where it accompanies vascular and perivascular tissue breakdown (one of known symptomatic reactions). Moreover, the intensity of the cellular changes and extravasation of blood cells is influenced by periodic states of hypoxia associated with bulbar lesions leading to disorders of the respiratory center.

4. The etiology of SLA is apparently mixed, and the condition is a syndrome rather than a disease entity. The familial group and cases with distinctly endogenous and exogenous aspects can be distinguished.

Nosologically, SLA occupies a position similar to that of SM, in which various noxious factors, in predisposed areas, can produce identical syndromes.

PIŚMIENNICTWO

1. Arnold A., Edgren D. C., Palladino U. S.: Amyotrophic lateral sclerosis 50 cases observed on Guam. *J. Nerv. Dis.*, 1953, 117, 135—139.
2. Ask-Upmark E.: Amyotrophic lateral sclerosis observed in 5 persons after gastric resection. *Gastroenterology*, 1950, 15, 257—259.
3. Becker J.: Bemerkenswerte Poliomyelitis-Katamnese. Ein Beitrag zur Fragestellung. Die nuclearen Atrophien—ein postpolio myelitisches Zustandsbild. *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 1953, 170, 160—166.
4. Betz K.: Spinale Muskelatrophien nach Encephalitis Epidemica. *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 1952, 167, 303—309.
5. Bodechtel G.: Die nucleare Atrophie — ein postpoliomyelitisches Krankheitsbild. *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 1948, 158, 438—448.
6. Brody J. A., Hadliw W. J., Hotchin J., Johnson R. T., Koprowski H., Kurland L. T.: Soviet Search for Viruses that Cause Chronic Neurologic Diseases in the USSR. *Science*, 1965, 147, 1114—1116.
7. Brown M. R.: Wetherbee ail, the inheritance of progressive muscular atrophy as a dominant trait in two New England families. *New England. J. Med.*, 1951, 245, 645—646.
8. Brown I. A.: Chronic mercurialism. A cause of the clinical syndrome of amyotrophic lateral sclerosis. *Arch. Neurol. and Psych.*, 1954, 72, 648—681.
9. Bunina T. L.: O wnutrikletocznych wkluczeniach pri siemiejnóm bokowóm amiotroficzieskom arteriosclerozie. *Ž. Niewr. i Psych.*, 1962, 9, 1293—1299.
10. Bonduelle M., Bouygués P. et Poissonniew M.: La sclerose latérale amyotrophique traumatique á propos d'une observation. *La Presse Médicale.*, 1958, 14, 72—74.
11. Chertsel M., Kovarisek J.: Bokowoi amiotroficzieskoj skleroz. *Ž. Neuropat. Psych.*, 1960, 60, 1105—1105.
12. Chondkarian O. A.: Gistopatologia centralnoj nierwnoj systemy pry bokowóm amiotroficzieskom sklerozie. *Ž. Niewr. i Psych.*, 1954, 54, 267—271.

13. Davison C.: Effect of vitam E therapy on the central nervous system in amyotrophic lateral sclerosis. *Amer. J. Path.*, 1943, 19, 883—894.
14. Dittel R.: Beitrag zur Frage der Erbllichkeit der amyotrophischen Lateralsklerose. *Nervenarzt.*, 1940, 13, 121—123.
15. Draganescu S., Ionescu J., Voinescu S., Steriade M.: Encephalopoliomielite virotica subacuta (Relatiile sale cu scleroza laterala amistrofica) Studii si cercetari de neurologie, 1956, 1, 1—4.
16. Globus J.: Inflammatory disease of the central nervous system. *Archiv. of Neurol. and Psych.*, 1932, 28, 810—843.
17. Hermann G.: Chronische Bleivergiftung unter dem Bilde einer amyotrophischen Lateralsklerose. *Wien. Med. Wschr.*, 1951, 657 f.
18. Innes I.R.M., Saunders L. Z.: *Comparative Neuropathology*. New York, Academic Press, 1963.
19. Jancsó S.: Über ein nach Encephalitis epidemica beobachtetes der amyotrophischen Lateralsklerose ähnliches Krankheitsbild. *Klin. Wschr.*, 1928, II, 2442—2444.
20. Kontarjian A. D.: A syndrome clinically resembling amyotrophic lateral sclerosis following chronic mercurialism. *Neurology*, 1961, 11, 639—644.
21. Khait M.: Sur le syndrome de la sclérose latérale amyotrophique consécutive à l'encéphalite épidémique. *Sovet Psichonevr.*, 1939, 15, 85—88.
22. Kiyosiki Kimura, Goshiro Gose, Jugi Higaski: A study on amyotrophic lateral sclerosis. I Epidemiological, geographical and genetic studies on amyotrophic lateral sclerosis and its allied diseases in Kii Peninsula Japan. *Psychiat. Neurol. Jap.*, 1963, 65, 31—38.
23. Koerner D. R.: Amyotrophic lateral sclerosis on Gaum: of clinical study and review. *Ann. Int. Med.*, 1952, 37, 1204—1220.
24. Kojewnikow A.: Ein Fall von lateraler amyotrophischer Sklerose. *Zbl. Nervenheilk.*, 1885, 8, 409—414.
25. Krzysztof Z.: Zagadnienia etiopatogenezy stwardnienia bocznego zanikowego. *Rozprawy Wydziału Nauk Medycznych*, 1963, 1, 41—57.
26. Kurland L. T., Mulder D. W.: Epidemiologic Investigations of Amyotrophic Lateral Sclerosis 2 Familial Aggregations Indicative of Dominant Inheritance. *Neurology*, 1955, 5, 182—196, 249—268.
27. Lawyer T., Netsky M. G.: Amyotrophic lateral sclerosis a clinicoanatomic study of fifty — three cases. *Arch. Neurol. Psych.*, 1953, 69, 171—192.
28. Lehoczky T., Sos J., Halasy M.: Animal experiments on the aetiology of myelopathy. Budapest, 1964. *Akadémiai Kiado Publishing House of the Hungarian Academy of Sciences*.
29. Lüthy F., Martin F.: Beobachtungen über 2 Fälle von amyotrophischen Lateralsklerose mit besonderer Berücksichtungen der mit beteiligten sensiblen Systeme Schw. *Med. Wschr.*, 1947, 694—697.
30. Massion W.H.: Das trauma in der Pathogenese der amyotrophischen Lateralsklerose. *Inang. Diss. Bonn.*, 1951.
31. Marburg O.: Die chronisch progressiven nuclearen Amyotrophien. *Handbuch der Naeurologie Bd. 1936, XVI*, 524.
32. Margulis M. S.: Über pathologische Anatomie und Pathogenese der amyotrophischen Lateralsklerose. *D. Z. Nervenheilk.*, 1914, 52, 361—400.
33. Matzdorf P.: Zur Pathogenese der amyotrophischen Lateralsklerose. *Z. Neur.*, 1925, 94, 703—737.

34. Mould D. L., Smidt, Dawson A. Mcl.: The causative agent of scrapie disease of sheep. *Biochem. J.*, 1963, 87, 24.
35. Neveril J.: Benzolvergiftung und amyotrophische Lateralsklerose. *Rev. Neurol.*, 1928, 25, 294—301.
36. Oppenheimer: Lehrbuch der Nervenkrankheiten. 6 Aufl. Berlin, 1913.
37. Orzechowski L., Frejówna L.: Zmiany anatomiczne w chorobie Charcot. *Neur. Pol.*, 1925, 8, 196—216.
38. Osetowska E.: Scrapie — choroba niezwykła. *Zw. Lab.* II kw., 1965, 3.
39. Presthis J.: Amyotrophic lateral sclerosis. Etiologie und diagnostic considerations. *Nord. Med.*, 1958, 59, 795—798.
40. Robertson E. E.: Progressive bulbar paralysis showing heredofamilial incidence and intellectual unpairment A.M.A. *Arch. Neur.*, 1953, 69, 197—207.
41. Salus F.: Beiträge zur Lehre von der amyotrophischen Lateralsklerose. *Arch. f. Psych.*, 1936, 104, 66—88.
42. Schaffer K.: Zur Histopatologie der idiotypischen Lateralskleroses oder spastischen Heredodegeneration. *Arch. f. Psych.*, 1926, 77, 130—161.
43. Schaffer K.: Histopathologie des Neurons. Budapest-Leipzig. Rényi-Burth, 1938.
44. Schalternbrand G.: Diskussions bemerkung *Zbl. Neurol.*, 1952, 120, 223.
45. Schroeder A. H.: Formas familiares de sclerosis lateral amiotrofica. *Ann. Fac. Med. Montevideo*, 1946, 31, 723—740.
46. Smith W. E. (Moskau): K etiologii bokowego amyotrofitscheskogo skleroza. Centenarfeier für Karl Schaffer 1964. Vortrag.
47. Sokolijansky G. G.: To the morbid anatomy and etiology of the amyotrophic lateral sclerosis. *Nevropat.*, 1939, 8, 35—49.
48. Spatz H.: Encephalitis. *Handbuch der Geisteskrankheiten Spezieller Teil VII. Die Anatomie der Psychosen* Springer Verlag. Berlin, 1930, 157—288.
49. Spatz H.: Die systematischen Atrophien. Eine wohlgekenzeichnete Gruppe der Erbkrankheiten des Nervensystems. *Arch. f. Psych.*, 1938, 108, 1—18.
50. Spielmeier W.: Histopathologie des Nervensystems. Vorlag von Julius Springer. Berlin, 1962, 406—454.
51. Strümpel A.: Über spinale progressive Muskelatrophie und amyotrophische Seitelstrangsklerose. *Dtsch. Arch. Klin. Med.*, 1888, 42, 230—260.
52. Vogiel P.: Die Neuropathologie der Trikesylphosphatvergiftung *Dtsch. Med. Wsch.*, 1957, 500—503.
53. Voss H.: Progressive Bulbärparalyse und amyotrophische Lateralsklerose chronischer Mangan vergiftung. *Arch. Gewerbepath.*, 1939, 464—476.
54. Wechsler I., Sapirstein M. R., Stein A.: Primary and symptomatic amyotrophic lateral sclerosis. A clinical study of 81 cases. *Amer. J. Med. Sci.*, 1944, 208, 70—81.
55. Wimmer A.: Amyotrophies de type sclérose latérale amyotrophique dans l'encéphalite épidémique chronique, *Rev. Neur.*, 1925, 841—842.
56. Wimmer A., Neel A.: Les amyotrophies systématisées dans l'encéphalite épidémique chronique. *Acta Psych.*, 1928, 3, 319—365.
57. Wiśniewska K.: Badania morfologiczne nad zachowaniem się granicznej błony glejowej okołonaczyniowej w przypadkach miażdżycy z nadciśnieniem i bez nadciśnienia. *Neuropatologia Pol.*, 1965, 3, 321—349.
58. Zilber L. A., Bojdałkowa Z. L., Gardasjan A. N., Konovalov N. V., Bunina T. L., Barabadze E. M.: *Bull. World Health Organ*, 1963, 29, 449—456.

Nadesłano: 5.XII.1965.

Adres autorek: Zakład Neuropatologii PAN. Warszawa, ul. Pasteura 3.

ANDRZEJ GLUSZCZ

LOKALIZACJA HISTOCHEMICZNA
FOSFATAZ HYDROLIZUJĄCYCH PYROFOSFORAN TIAMINY
W OSRODKOWYM UKŁADZIE NERWOWYM

Z Pracowni Neuropatologii przy Katedrze Anatomii Patologicznej AM w Łodzi
Kierownik Katedry: Prof. dr med. A. Pruszczyński

Od kilku lat pyrofosforan tiaminy budzi zainteresowanie cytochemików jako substrat ujawniający aparat Golgiego w komórce w przebiegu odczynu histochemicznego. Właściwość ta, którą mają również niektóre dwufosforany nukleozydowe (dwufosforany inozynowy, gwanozynowy, cytydynowy, urydynowy), stwarza możliwości śledzenia w różnych warunkach fizjologicznych i patologicznych zarówno zmian aktywności enzymatycznej w składnikach aparatu Golgiego, jak i zmian w budowie tego dotychczas mało poznanego układu cytoplazmy.

Znacznie mniej uwagi poświęca się innym właściwościom tych substratów, a mianowicie: jednoczesnemu ujawnianiu przez nie komórek glejowych i składników ścian naczyń w mózgu. Właściwości te umożliwiają badanie wzajemnego powiązania morfologicznego neuronów, gleju i naczyń krwionośnych oraz śledzenie ich powiązań czynnościowych w granicach dostępnych dla metodyki histochemicznej. Znaczenie tych odczynów w metodyce badawczej zwiększa się, ponieważ stosunkowo łatwo można je stosować w technice mikroskopowo-elektrowej (Torack i Barnett, 1963), jak również sprzęgać z badaniem aktywności kwaśnej fosfatazy w tych samych skrawkach (Barron i Tuncbay 1962 i 1964), co pozwala na ocenę wzajemnego stosunku lisosomów i błon Golgiego.

Pyrofosfataza organiczna należy do enzymów, których aktywność najwcześniej badano histochemicznie. Jednakże badano ją początkowo w zbyt kwaśnym, lub w zbyt zasadowym środowisku, co utrudniało śledzenie aktywności tego enzymu wśród produktów reakcji wytworzonych działaniem nieswoistych fosfataz. Nie uzyskano również wyraźnej lokalizacji produktu reakcji enzymatycznej w organellach wewnątrzkomórkowych, a tylko odczyn rozlany, gdyż badano bądź skrawki mrożone

nie utrwalane (Eränkő i Hasan 1954), skrawki liofilizowane (Naidoo i Pratt 1952), bądź też utrwalane w alkoholu lub w acetonie (Glick i Fischer 1946). Częściowo lokalizację aktywności pyrofosfatazy tiaminowej (TPP-azy) w aparacie Golgiego komórek najądrza myszy wykazali Allen i Slater (1961), zaś pełną jej lokalizację w tym aparacie w komórkach różnych narządów, m. in. w komórkach nerwowych, ujawnili po raz pierwszy Novikoff i Goldfischer (1961) w wycinkach tkankowych utrwalanych w formalinie po inkubacji skrawków mrożonych wg własnej metody w medium o pH 7,2.

Zasługą Novikoffa i Goldfishera oraz Allena (1963 a i b) jest określenie stopnia swoistości enzymów aparatu Golgiego. Zdaniem tych autorów związane są z nim co najmniej dwa enzymy: dwufosfataza nukleozydowa (NDP-aza) i pyrofosfataza tiaminowa (TPP-aza). Występują one wspólnie w aparacie Golgiego i są w nim identycznie rozmieszczone, a ponieważ oba hydrolizują pyrofosforan tiaminy oraz większość dwufosforanów nukleozydowych i ponadto oba są aktywowane przez jony Mg^{++} i Mn^{++} , odczyny histochemiczne z wymienionymi substratami ujawniają zawsze łączną aktywność obu enzymów, bez możliwości ich dokładnego zróżnicowania. Możliwość częściowego odróżnienia aktywności obu enzymów wiąże się z tym, że TPP-aza hydrolizuje znacznie intensywniej pyrofosforan tiaminy niż dwufosforany nukleozydowe, a w ogóle nie rozkłada dwufosforanów adenozyliny i urydyny (Allen, 1963 b).

Z badań różnych autorów wynika, że stosunek ilościowy obu enzymów u różnych gatunków zwierząt i w różnych narządach jest odmienny. Istnieją także różnice we własnościach odczynowych każdego z tych enzymów zależnie od ich narządów umiejscowienia, na co szczególnie zwrócili uwagę Lazarus i Wallace (1964). Scharakteryzowali oni TPP-azę jako enzym różniący się od NDP-azy odpornością na działanie formaliny, wrażliwością na hamujące działanie fluorku sodu i na pobudzające działanie cjanu potasu; stwierdzili również przewagę aktywności TPP-azy nad NDP-azą w tkance nerwowej. Mimo tych cech różnicujących, oba enzymy można całkowicie oddzielić jedynie na drodze elektroforezy (Allen 1963 b).

Óśrodkowy układ nerwowy jest jednym z najlepszych narządów modelowych dla badania budowy cytochemicznej aparatu Golgiego, ze względu na jego silny rozwój i charakterystyczną budowę w komórkach nerwowych. Stąd też badania aktywności TPP-azy w tkance mózgowej mają stosunkowo najliczniejsze piśmiennictwo, wywodzące się zwłaszcza z kręgów tzw. szkoły histochemicznej Novikoffa (Novikoff i Goldfischer 1961, Novikoff i wsp. 1961, Becker i wsp. 1961, Becker 1962, Barron i Tuncbay 1962, 1964, Goldfischer 1964, Torack i Barnett 1963, Laza-

rus i Wallace 1964). W Polsce badania aktywności tego enzymu wykonywano tylko sporadycznie (Cybulska i Wawrzyniak 1965, Vorbrodt 1965).

Poniżej przedstawiam wyniki badań histochemicznych prawidłowej tkanki mózgowej zwierząt doświadczalnych i człowieka, uzyskane według metodyki Novikoffa i Goldfischera i jej nieznacznych modyfikacji z zastosowaniem pyrofosforanu tiaminy jako substratu.

MATERIAŁ I METODA*)

Badania zostały przeprowadzone na mózgach 20 szczurów białych, 8 kotów, 8 świnek morskich oraz na ludzkiej tkance mózgowej pobranej podczas operacji (z dala od nowotworu). Wycinki tkanki o grubości 2 mm utrwalano w formalinie Bakera przez 15—18 godz., lub w 6,25% roztworze aldehydu glutarowego przez 3 godz., w temp. 4°C, następnie krojono na mikrotomie zamrażającym, wkładano do lodowatej wody destylowanej, a następnie inkubowano w temp. 37°C. Tylko wymienione metody utrwalania umożliwiały wyraźną lokalizację aktywności. Po utrwalaniu w acetonie lub też po inkubacji skrawków krojonych w kryostacie i nie utrwalanych lub wtórnie utrwalanych w formolu lub w acetonie na szkiełkach, wyniki okazywały się znacznie mniej zadowalające, obrazy były nieostre, powstawały dość znaczne, nieswoiste strąty.

Skrawki wolno pływające inkubowano przez 45—90 min. w medium Novikoffa-Goldfischera, nieznacznie zmodyfikowanym, o następującym składzie:

15 mg TPP rozpuszczonego w 4,4 ml wody podwójnie destylowanej

4 ml 0,2 M buforu tris-maleinowego o pH 7,2

0,6 ml 2% roztworu azotanu ołowiu

1 ml 0,1 M roztworu chlorku magnezu

0,1 N NaOH w ilości potrzebnej dla uzupełnienia pH płynu inkubacyjnego do wartości pH 7,2.

Płyn inkubacyjny podwójnie sączono i ogrzewano w cieplarni do temp. 37°C, po czym pogrążano w nim skrawki. Po zakończonej inkubacji skrawki przeprowadzano przez roztwór kwasu octowego i roztwór wielosiarczku amonu, jak w odczynie Gomoriego na kwaśną fosfatazę. Celem uzyskania wyrazistej i wybiórczej lokalizacji cytochemicznej dla różnych rodzajów komórek, nawet rezygnując częściowo z oceny stopnia aktywności enzymu, wprowadzano dla wybranych skrawków następujące zmiany w metodzie oryginalnej:

1. Stosowano medium pierwotne (o pH około 6,3) bez doprowadzania go do pH 7,2 wodorotlenkiem sodowym; uzyskiwano wówczas ostre obrazy aparatu Golgiego w neuronach, podczas gdy odczyn w komórkach glejowych i w ściankach włókniczek był znacznie słabszy. Jeśli ponadto zmniejszano w medium pięciokrotnie stężenie azotanu ołowiu, można było uzyskać wybiórcze odczyny tylko w komórkach nerwowych.

2. Stosując jony manganu jako aktywator zamiast jonów magnezu, uzyskiwano wzmocnienie odczynu w gleju i w ścianach włókniczek. Zgodne jest to ze spostrze-

*) Część badań histochemicznych do tej pracy (na mózgach szczurów i kotów) wykonano w Pathologisches Institut der Universität Marburg (NRF). Badania mózgow świnek morskich i ludzkiej tkanki mózgowej wykonano w ramach umowy o współpracy naukowej polsko-amerykańskiej. Umowa nr 527713. Wyniki badań przedstawiłem na III Sympozjum Histochemicznym w Kazimierzu n. Wisłą, w maju 1965 r.

żeniem Novikoffa, Druckera i wsp. (1961), że jony manganu są szczególnie efektywnym aktywatorem fosfatyzacji znajdujących się w błonach granicznych.

3. Pięciokrotne zmniejszenie stężenia azotanów ołowiu w płynie inkubacyjnym uzupełnionym wodorotlenkiem sodowym powodowało znaczne zmniejszenie intensywności odczynu aparatu Golgiego w komórkach nerwowych, wobec intensywniejszego odczynu w gleju i w ścianach naczyń.

4. Stosując medium o pH 7,2 z obniżonym stężeniem jonów ołowiu dla skrawków dłużej utrwalanych w formalinie (do 28 godz.), uzyskiwano preparaty, w których widać było tylko odczyn w gleju, przy czym zaznaczały się bardzo delikatne, ale wyraźne obrazy wypustek komórkowych.

OBRAZY HISTOCHEMICZNE I CYTOCHEMICZNE

W tkance mózgowej wszystkich badanych zwierząt i człowieka uzyskiwałem podobne obrazy histochemiczne i cytochemiczne. Odczyn z pyrofosforanem tiaminy ujawniał aparat Golgiego w komórkach nerwowych, błony komórkowe i wypustki komórek glejowych oraz ściany naczyń krwionośnych (ryc. 1). Podobna była również topografia różnic w intensywności odczynu w poszczególnych okolicach mózgu badanych zwierząt i człowieka.

W półkulach mózgu odczyn występował w komórkach nerwowych wszystkich warstw kory i wykazywał największą intensywność w warstwie dużych komórek piramidowych (ryc. 2, 3). Silnie dodatni odczyn ujawniały komórki nerwowe, tzw. kory entorhinalnej szczura (ryc. 4), oraz komórki kory hipokampa (ryc. 5, 6) u wszystkich badanych zwierząt i u człowieka. Znaczną aktywność TPP-azy i szczególnie wyraźną jej lokalizację okazywały komórki jąder ruchowych rdzenia kręgowego i pnia. Stopnie aktywności w poszczególnych typach komórek nerwowych w moich badaniach można było uszeregować podobnie jak w pracy Beckera, Novikoffa i Goldfischera (1961). Naintensywniejszy odczyn ujawniały komórki ruchowe rogów przednich rdzenia kręgowego (ryc. 7), komórki jąder ruchowych nerwów mózgowych oraz komórki jąder mózdzku, następnie komórki Purkiniego (ryc. 8), komórki kory hipokampa (ryc. 5, 6) i duże neurony kory mózgowej (ryc. 2).

Średnio nasilony odczyn okazywały komórki wzgórza i podwzgórza oraz małe neurony kory mózgowej.

Odczyn słaby ujawniały komórki nerwowe prążkowiec i gałki bladej, małe neurony pnia mózgu i komórki warstwy ziarnistej mózdzku (ryc. 8). Wynika stąd, że topografia intensywności odczynu z pyrofosforanem tiaminy pokrywa się dość ściśle z topografią odczynów histochemicznych na aktywność kwaśnej fosfatazy i niektórych enzymów oddechowych.

Odczyn w neuronach

W cytoplazmie komórek nerwowych odczyn histochemiczny z pyrofosforanem tiaminy ujawnia się w postaci układu siateczkowo-pęcherzykowego, odpowiadającego dość wiernie budowie aparatu Golgiego, znanej z obrazów uzyskiwanych po zastosowaniu srebrzenia. Najbardziej wyraźne obrazy uzyskuje się w komórkach ruchowych rdzenia kręgowego i pnia (ryc. 7). Widać w nich siatkę łączących się ze sobą wstęg, zwykle o podwójnych obrysach, układających się okrężnie wokół jądra komórkowego lub też tworzących pasma równoległe do błony komórkowej w obwodowych częściach cytoplazmy. Z reguły siatka wnika do początkowych odcinków dendrytów, ale omija okolicę odejścia aksonu od komórki. Na przebiegu wstęg stwierdzałem typowe dla aparatu Golgiego pęcherzykowate lub grudkowate zgrubienia. Błony komórkowe i jądrowe nie dawały odczynu histochemicznego z pyrofosforanem tiaminy.

W dużych komórkach nerwowych kory mózgowej sieć Golgiego jest z reguły mniej regularna i okazuje bardziej rozlany odczyn. W tych komórkach stwierdza się nitkowate pasma wnikające długim, wąskim klinem od sieci Golgiego również do neurytu (ryc. 9).

W komórkach Purkinjego odczyn z TPP ujawnia pojedyncze pierścienie utworzone z luźno ułożonych obok siebie grudek i pęcherzyków, co świadczy o nieco odmiennej, bardziej groniastej niż siateczkowej budowie aparatu Golgiego w tych komórkach (ryc. 8). Słaby, ale wyraźny odczyn w postaci przecinkowatych lub nawiasowatych tworów o współśrodkowym układzie wokół jądra stwierdza się w komórkach warstwy ziarnistej mózdzku.

W piśmiennictwie podkreśla się niekiedy pewne różnice między obrazem aparatu Golgiego, uzyskiwanym po zastosowaniu metod impregnacyjnych i w metodyce elektronowo-mikroskopowej, a obrazami cytochemicznymi (Barron i Tuncbay 1964). W preparatach histologicznych aparat Golgiego ma układ blaszek oraz nie związanych z nimi bezpośrednio pęcherzyków. Oba składniki zlokalizowane są w strefie okołojądrowej, ale mają nitkowate odgałęzienia, wnikające do aksonów. Natomiast w preparatach histochemicznych blaszki i pęcherzyki tworzą połączone układy, zajmujące bardziej rozległe obszary cytoplazmy, jednakże nie wnikają do neurytów, a więc przypominają budowę zasadochłonnej siateczki endoplazmatycznej (siateczki Nissla). Na tej podstawie Barron i Tuncbay (1962) wyrazili pierwotnie przypuszczenie, że metoda histochemiczna Novikoffa-Goldfischera ujawnia właśnie siateczkę endoplazmatyczną w komórkach nerwowych. Pogląd ten nawiązywał zresztą do badań elektronowo-mikroskopowych Malhotry (1959)

i Malhotry i wsp. (1960) oraz Davida i wsp. (1961), których zdaniem aparat Golgiego i aparat siateczkowy Nissla w neuronach kręgowców są układami homologicznymi.

Ostatnio zarówno Barron i Tuncbay (1964), jak i inni autorzy (Torack i Barnett 1963, Goldfischer 1964) stwierdzili na podstawie sprzężonych badań histologicznych, histochemicznych i elektronowo-mikroskopowych, że aparat zasadochłonny Nissla i fosfatazododatnia siateczka cytoplazmatyczna Golgiego są układami odrębnymi, mimo iż znaczne podobieństwo strukturalne oraz ścisłe ich powiązanie przestrzenne mogą stwarzać pozory identyczności obu układów. Torack i Barnett (1963), posługując się mikroskopem elektronowym, wykazali, że wytwór odczynu histochemicznego z dwufosforanem inozyny (IDP) wytrąca się między blaszkami aparatu Golgiego i wewnątrz jego pęcherzyków. Nie można wyłączyć czynnościowego pokrewieństwa obu układów, a nawet pochodzenia jednego układu od drugiego, zwłaszcza, że siateczka Nissla i aparat Golgiego oddziałują podobnie na różne bodźce fizjologiczne i patologiczne.

Jest rzeczą dość istotną, że intensywność odczynu histochemicznego w poszczególnych komórkach należących do tego samego zespołu okazuje znaczne wahania. Obok komórek o silnym odczynie stwierdzałem komórki o odczynie bardzo słabym, a nawet komórki z morfologicznymi odchyleniami budowy aparatu Golgiego, co podkreślają również Becker, Novikoff i Goldfischer (1961). Ponadto w wielu komórkach nerwowych dodatni odczyn ujawniał się tylko w części aparatu Golgiego. W związku z tym ocena zmian aktywności i budowy aparatu Golgiego w stanach patologicznych wymaga dużej ostrożności.

Odczyny w gleju

Najlepsze wyniki w ujawnianiu odczynu z pyrofosforanem tiaminy w komórkach glejowych uzyskiwałem, inkubując skrawki w medium o pH 7,2 z solami manganu jako aktywatorem. Zastosowanie przedłużonego utrwalania skrawków w formalinie, zmniejszenie stężenia azotanu ołowiu w płynie inkubacyjnym oraz przedłużone płukanie skrawków w 2% roztworze kwasu octowego po inkubacji wpływało na zmniejszenie zagęszczenia strąków metalicznych w ostatniej fazie odczynu, a jednocześnie na ściślejszą jego lokalizację. Odczyn był niemal identyczny w mózgach szczurów, kotów, świnek morskich i człowieka (ryc. 10, 11, 12, 13). Najbardziej wyraźne obrazy uzyskiwałem w gleju półkul mózgowych, zwłaszcza w korze i w podkorowej części istoty białej (ryc. 12, 13), szczególnie zaś w gleju okołonaczyniowym i okołoneuronalnym. Być może jest to związane ze stanem aktywności czyn-

nościowej komórek glejowych, pośredniczących w transporcie między włóściczkami a neuronami. Z porównania obrazów w preparatach histologicznych i histochemicznych wynikało, że odczyn występował tylko w części komórek glejowych, a przy tym komórki aktywne rozmieszczone były równomiernie.

W większości komórek glejowych odczyn występuje zarówno w błonach komórkowych, jak i w wypustkach. Dotyczy to obficie rozgałęzionego astrogleju okołonaczyniowego, jak też i słabiej rozgałęzionego oligodendrogleju istoty białej (ryc. 14). Nie mogłem więc dopatrzeć się różnic stwierdzanych w mikroskopie elektronowym, mających polegać na ujawnianiu się aktywności TPP-azy w błonach komórkowych tylko oligodendrocytów a w wypustkach tylko astrocytów (Torack i Barnett 1963, Becker i wsp. 1961). Cytoplazma komórek glejowych nie okazywała tego odczynu albo czasami okazywała go jedynie w postaci drobnych ziarenek w obwodowej części komórki. W miejscach odejścia wypustek od komórki, częściej jednak na ich przebiegu, a najczęściej w zakończeniach wypustek widoczne są grudkowate, niekiedy pęczeryzkowate zgrubienia, ujawniające intensywny odczyn z pyrofosforanem tiaminy (ryc. 15, 16, 17, 18). W miejscu przylegania wypustek glejowych do ścian włóściczek ziarenka te przybierają kształt kropłowy lub przypłaszczony na podobieństwo przyssawek (ryc. 19, 20, 21). Analogiczne ziarnistości można było również znaleźć na stykach między komórkami glejowymi i nerwowymi (ryc. 22). Można przypuszczać, że ziarniste zgrubienia wypustek oraz pojedyncze, a niekiedy skupione w grudki ziarnistości cytoplazmatyczne gleju są jednoznaczne i pośredniczą w transporcie ciał chemicznych między naczyniami a neuronami poprzez komórki glejowe.

Odczyny w wyściółce komór

W wyściółce komór odczyn histochemiczny z pyrofosforanem tiaminy ujawniał twory około jądra komórkowego, odpowiadające prawdopodobnie aparatowi Golgiego. W zależności od typu komórek wyściółki obrazy histologiczne odczynu różniły się nieco. W wyściółce komory III, a zwłaszcza lejka w mózgu szczura, gdzie znajdują się komórki wałeczkowate, odczyn ujawniał się pod postacią pasemek równoległych do długiej osi komórki, niekiedy znów zagiętych lub kolbowato zgrubiałych od strony światła komory (ryc. 23). W wodociągu i w komorze IV, gdzie komórki wyściółki są raczej sześciennie, uwiadczały się koło jądra przecinkowate lub nawiasowate twory. Niekiedy zaznaczał się bardziej wyraźny odczyn na biegunach komórek (ryc. 24).

Odczyny w ścianach naczyń krwionośnych

W ścianach naczyń krwionośnych dodatni odczyn na pyrofosfatazę był zjawiskiem stałym i występował niezależnie od wprowadzanych odmian metody inkubacyjnej. Jednakże największą intensywność odczynu uzyskiwało się w zasadowym pH. Po zastosowaniu płynu inkubacyjnego o pH 6,3 odczyn w ścianach naczyń był osłabiony, podobnie jak odczyn w gleju. Po zmniejszeniu w płynie inkubacyjnym stężenia azotanu ołowiu można było uzyskać szczególnie wyraźne obrazy odczynu enzymatycznego w śródbłonkach i w błonach podstawnych włóśniaków oraz w błonie środkowej tętniczek. W cytoplazmie śródbłonek uwidaczniały się wówczas drobne ziarenka, podobne do ziarenek opisanych w wypustkach glejowych.

Miejsce odczynu w ścianach naczyń krwionośnych odpowiadało dość ściśle miejscu odczynu z beta-glicerofosforanem sodu na aktywność nieswoistych fosfataz zasadowych; mają one zapewne zdolność hydrolizowania m.in. również pyrofosforanu, chociaż prawdopodobnie w nieznacznym stopniu; bowiem wprowadzenie cysteiny — inhibitora zasadowej fosfatazy do układu reagującego nie znosiło całkowicie dodatniego odczynu.

OMÓWIENIE

W merytorycznej ocenie przedstawionych wyników badań porównawczych tkanki nerwowej kilku gatunków zwierząt doświadczalnych i człowieka należy podkreślić brak istotnych różnic w lokalizacji i w intensywności odczynów tej tkanki wykonanych z pyrofosforanem tiaminy. Jak wynika z piśmiennictwa (Lazarus i Wallace 1964, Allen 1963 i in.), a także z nie opublikowanych jeszcze badań własnych, większe różnice w odczynie histochemicznym aparatu Golgiego zaznaczają się między komórkami nerwowymi i komórkami innych narządów u tego samego zwierzęcia, niż między komórkami nerwowymi różnych gatunków zwierząt. Świadczy to o znacznej międzygatunkowej swoistości enzymatycznej neuronalnego aparatu Golgiego, nie stwierdzanej w tym stopniu w aparacie Golgiego komórek innych narządów (Allen 1963).

Podobnie brak było istotnych różnic międzygatunkowych w stopniach intensywności odczynu histochemicznego w topograficznie porównywalnych okolicach mózgowia i w odnośnych typach komórek nerwowych. Znamienne jest również, że ośrodki i komórki ujawniające najsilniejszy odczyn z pyrofosforanem tiaminy odpowiadały na ogół ośrodkom i komórkom o dużym nasileniu aktywności kwaśnej fosfatazy i niektórych dehydrogenaz.

Nie stwierdziłem też istotnych różnic w nasileniu odczynu oraz w lokalizacji wytworu reakcji w komórkach glejowych.

W ocenie swoistości histochemicznej uzyskiwanych odczynów należy zwrócić uwagę na ich odmienną lokalizację w komórkach nerwowych i glejowych, zaznaczającą się w tych samych skrawkach po zastosowaniu tej samej metody. W neuronach uzyskuje się intensywny odczyn w aparacie Golgiego, błona komórkowa i wypustki nie dają tego odczynu. W gleju na odwrót, odczyn zaznacza się tylko w wypustkach i w granicznych błonach komórkowych. Ponadto jest on zwykle mniej intensywny, co prawdopodobnie świadczy o mniejszej zdolności odnośnych enzymów gleju do hydrolizowania pyrofosforanu tiaminy.

Jak już na wstępie wspomniałem, odczyn z pyrofosforanem tiaminy ujawnia zarówno aktywność TPP-azy, jak i NDP-azy, ale jest bardziej swoisty dla pierwszego z enzymów. Oba enzymy zlokalizowane są w aparacie Golgiego oraz w błonach ograniczających cytoplazmę i wypustki, odgrywających zasadniczą rolę w kontroli gospodarki wodnej komórek oraz w czynnościach wchłaniania i wydalania; przy tym TPP-aza umiejscowiona jest bardziej charakterystycznie i w składnikach aparatu Golgiego, NDP-aza zaś również we wszystkich rodzajach błon granicznych, a także w mikrosomach (Allen 1963, Novikoff, Drucker i in. 1961, Novikoff i Essner 1962, Novikoff, Essner i in. 1962, Novikoff i Heus 1963).

Aczkolwiek rola omawianych enzymów w procesach życiowych komórek nie jest całkowicie wyjaśniona, można przypuszczać możliwość udziału tych enzymów m.in. w transporcie śródtkankowym i śródkomórkowym. Dotyczy to w szczególności enzymu wykazującego słabsze odczyny z pyrofosforanem tiaminy (prawdopodobnie NDP-azy), aktywnego w śródbłódkach i w błonach podstawnych włósniczek oraz w wypustkach i w błonach komórkowych gleju. Wydaje się, że istotnym cytochemicznym wyrazem ciągłości funkcjonalnej łańcucha — naczynia włosowate, glej, neurony — jest obecność wyżej opisanych przeze mnie ziarenek i pęcherzyków obecnych zarówno w śródbłódkach naczyniowych, jak również w donaczyniowych i doneuronalnych wypustkach i w cytoplazmie komórek glejowych.

W miejscach występowania wspomnianych ziarenek i pęcherzyków ujawnia się bardziej intensywna hydroliza pyrofosforanu tiaminy niż w pozostałych częściach wypustek i błon komórkowych. Trudno wypowiedzieć się z pewnością, jakim organellom odpowiadają te ziarnistości, chociaż można przypuszczać, iż są to pęcherzyki pinocytozy; nie można także dokładnie określić, jaki enzym ujawnia w nich swą aktywność w reakcji histochemicznej Novikoffa-Goldfischera. Należy bowiem zaznaczyć,

że Torack i Barnett (1963) wykryli w błonach komórkowych i w wypustkach gleju ATP-azę, przy czym najintensywniejsze odczyny uzyskiwali również na stykach glejowo-neuronalnych i glejowo-naczyniowych, wiążąc z tym udział ATP-azy w regulacji transportu kationów przez błony komórkowe. Tewari i Bourne (1963) wykryli aktywność tego samego enzymu w aparacie Golgiego komórek Purkiniego u szczura. Wprawdzie ocena swoistości odczynów w tych badaniach nie może być jednoznaczna, ponieważ trójfosforan adenozyiny hydrolizuje również TPP-aza i NDP-aza (Novikoff 1952). Jednakże obrazy histochemiczne uzyskiwane między innymi i w moich badaniach, zdaje się, świadczą, że odczyny z pyrofosforanem tiaminy zależą od hydrolytycznego współdziałania zespołu enzymów, wśród których niepoślednią rolę odgrywać może — poza TPP-azą i NDP-azą — również ATP-aza i wreszcie nieswoista polyfosfataza (Padykula i Hermann 1955, Freiman i Kaplan 1960).

Zróznicowanie i wyodrębnienie enzymów hydrolizujących pyrofosforan tiaminy w błonach komórkowych jest sprawą dalszych badań, przekraczających zresztą — być może — możliwości metodyczne histochemii stosowanej. Wydaje się jednak, że szersze stosowanie badań histochemicznych z zakresu tej tematyki w neuropatologii może przyczynić się do wyjaśnienia licznych zagadnień dotyczących zwłaszcza transportu wewnątrzkomórkowego i międzykomórkowego.

W technicznej ocenie preparatów histochemicznych sporządzanych według podanej tu metodyki należy podkreślić wyrazistość i subtelność obrazów aparatu Golgiego w neuronach, jak również niezwykłą delikatność obrazów wypustek glejowych. Podobna jakość obrazów histologicznych jest trudna do uzyskania po stosowaniu metod impregnacyjnych. Wydaje się, że odczyn histochemiczny z pyrofosforanem tiaminy może w odpowiednich warunkach służyć jako metoda z wyboru do studiowania morfologicznej budowy aparatu Golgiego i komórek glejowych.

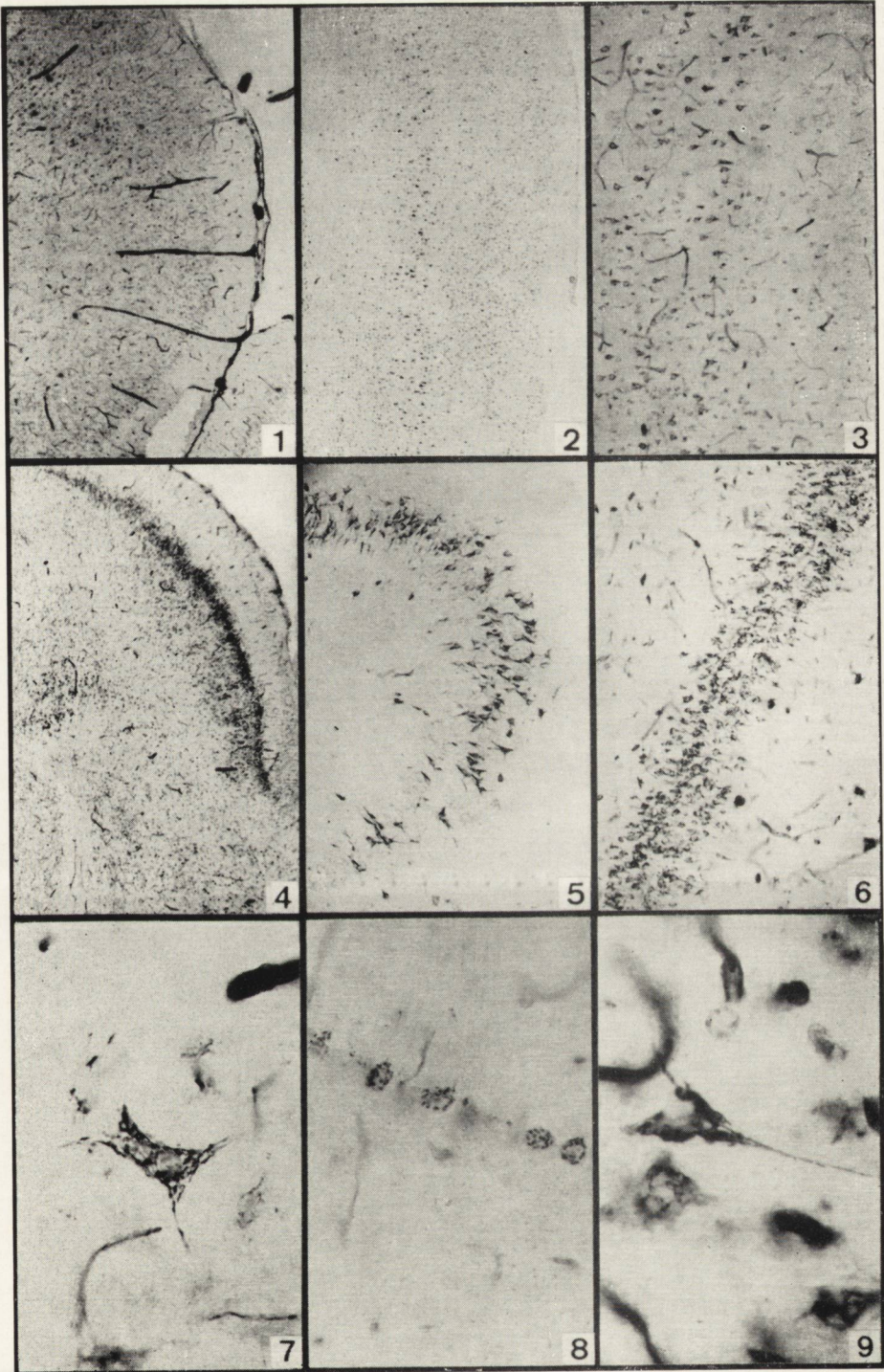
PODPISY POD RYCINY

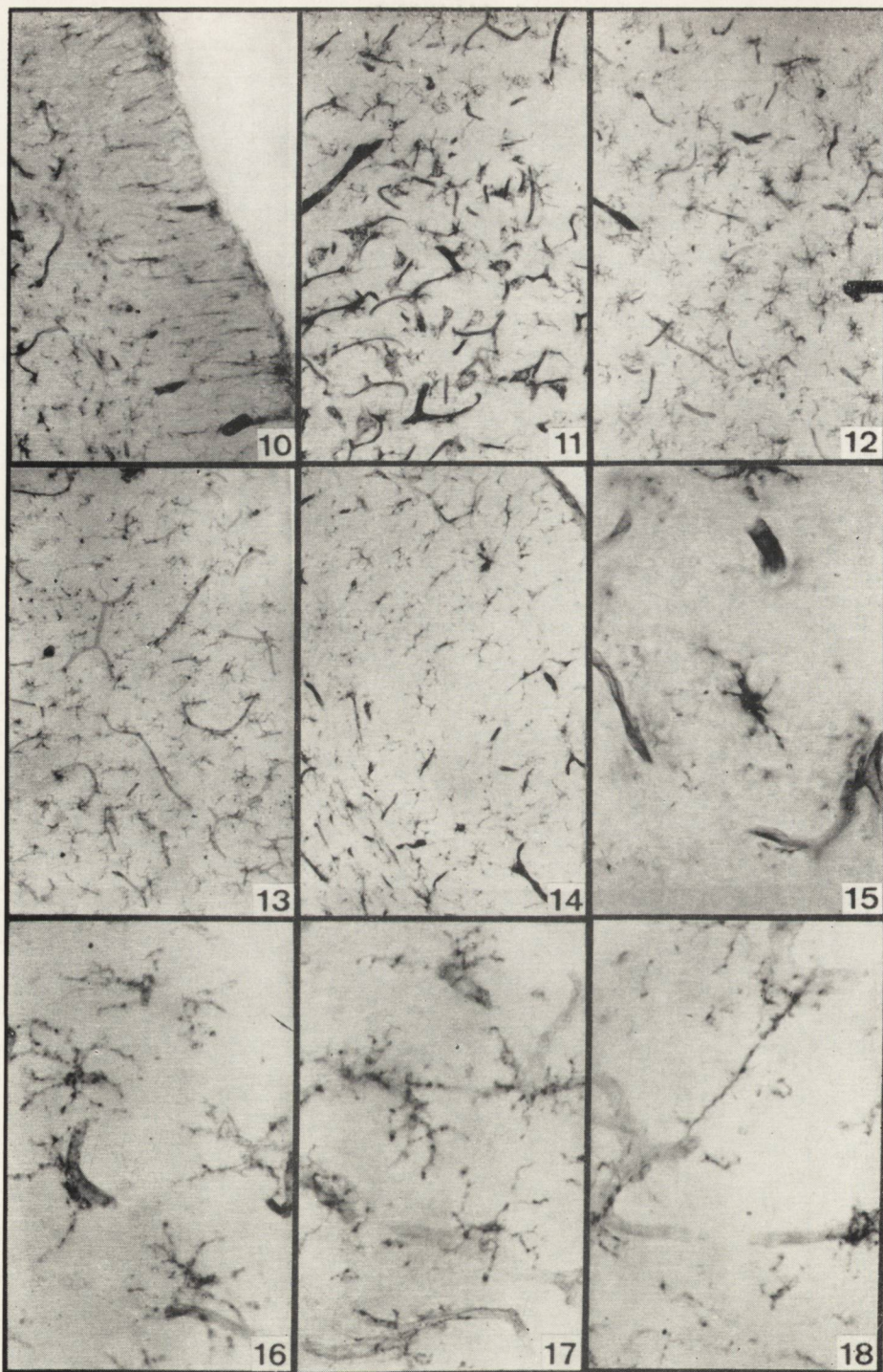
Ryc. 1. Mózg szczura, okolica czołowa. Wyrazisty odczyn komórek nerwowych, opony miękkiej i ścian naczyń krwionośnych. Metoda Novikoffa-Goldfischera bez modyfikacji. Inkubacja 55 min. Pow. 40 X.

Fig. 1. Rat's brain, frontal part. Distinct reaction in neurons, pia mater and blood vessel walls. Novikoff-Goldfischer method not modified. Incubation 55 min. Magn. X 40.

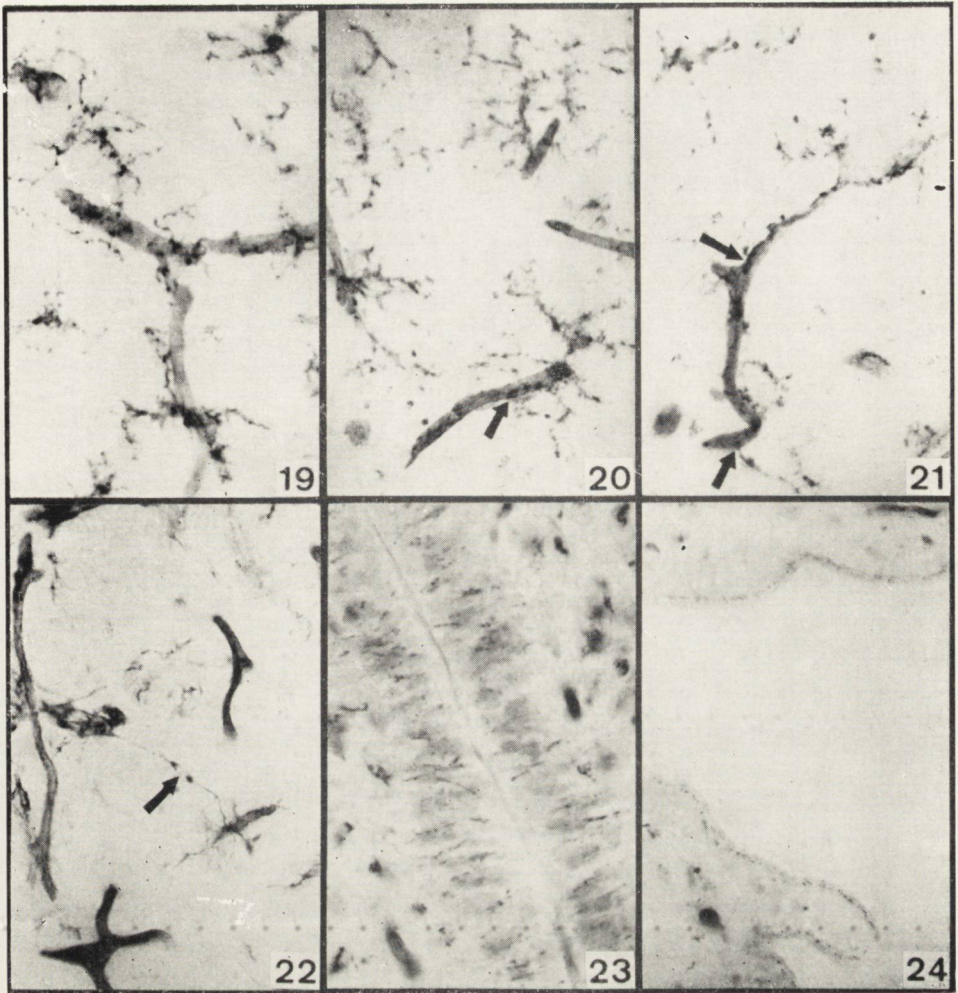
Ryc. 2. Mózg świnki morskiej, okolica ciemieniowa. Najintensywniejszy odczyn w dużych komórkach piramidowych kory. Inkubacja w pH 6,4, medium z 0,4% roztworu azotanu ołowiu, 60 min. Pow. 40 X.

Fig. 2. Guinea pig's brain, parietal lobe. Most intensive reaction in the big pyramidal neurons. Incubation at pH 6,4 in medium containing 0,4% sol. of lead nitrate, 60 min. Magn. X 40.





Ryc. 2



Ryc. 3

Ryc. 3. Mózg ludzki, płat czołowy, 3—4 warstwa kory. Intensywny odczyn w warstwie trzeciej neuronów. Metoda Novikoffa-Goldfischera bez modyfikacji. Inkubacja 60 min. Pow. 40 ×.

Fig. 3. Human brain, frontal lobe, 3—4th layers of the cortex. Intensive reaction in the neurons of the 3rd layer. Novikoff-Goldfischer method not modified. Incubation 60 min. Magn. × 40.

Ryc. 4. Mózg szczura, odczyn w korze entorhinalnej. Medium bez modyfikacji, pH 6,3, inkubacja 60 min. Pow. 40 ×.

Fig. 4. Rat's brain, reaction in entorhinal cortex. Medium not modified, pH 6,3. Incubation 60 min. Magn. × 40.

Ryc. 5. Mózg kota, odczyn w neuronach kory hipokampa. Inkubacja w pH 6,4, medium z 0,4% roztworu azotanu ołowiu. 60 min. Pow. 150 ×.

Fig. 5. Cat's brain, reaction in neurons of the hippocampal cortex. Incubation in pH 6,4, medium containing 0,4% sol. of lead nitrate. 60 min. Magn. × 150.

Ryc. 6. Mózg szczura, odczyn w neuronach kory hipokampa. Medium bez modyfikacji, pH 6,3, inkubacja 60 min. Pow. 160 ×.

Fig. 6. Rat's brain, reaction in neurons of the hippocampal cortex. Medium not modified, pH 6,3. Incubation 60 min. Magn. 160 ×.

Ryc. 7. Rdzeń kręgowy szczura, odczyn w komórce ruchowej rogu przedniego. Medium bez modyfikacji, pH 7,2. Inkubacja 60 min. Pow. 400 ×.

Fig. 7. Rat's spinal cord, reaction in a motor neuron. Medium not modified, pH 7,2. Incubation 60 min. Magn. 400 ×.

Ryc. 8. Mózg kota, odczyn w komórkach Purkinjego. Medium bez modyfikacji, pH 7,2. Inkubacja 60 min. Pow. 320 ×.

Fig. 8. Cats brain, reaction in Purkinje cells. Medium not modified, pH 7,2. Incubation 60 min. Magn. × 320.

Ryc. 9. Mózg szczura, komórka piramidowa kory. Odczyn aparatu Golgiego nieco rozlany. Widoczne wnikanie blaszek Golgiego do neurytu. Medium bez modyfikacji, pH 7,2. Inkubacja 60 min. Pow. 600 ×.

Fig. 9. Rat's brain, a pyramidal cell of the cortex. Rather diffuse reaction of the Golgi apparatus. Note the extrusion of lamellae into the axon. Medium not modified, pH 7,2. Incubation 60 min. Magn. × 600.

Ryc. 10. Mózg szczura, odczyn w wydłużonych komórkach glejowych warstwy drobinowej kory. Medium bez modyfikacji, pH 7,2, $MnCl_2$ jako aktywator. Inkubacja 50 min. Pow. 160 ×.

Fig. 10. Rat's brain, reaction in the elongated glial cells in the molecular layer of the cortex. Medium not modified, pH 7,2 $MnCl_2$ as activator. Incubation 50 min. Magn. × 160.

Ryc. 11. Mózg szczura, odczyn w komórkach nerwowych, komórkach glejowych i w ścianach naczyń kory mózgowej. Medium i inkubacja jak wyżej. Pow. 160 ×.

Fig. 11. Rat's brain, reaction in the neurons, glial cells and in the blood vessel walls of the cortex. Medium and incubation time as above. Magn. × 160.

Ryc. 12. Mózg świnki morskiej, odczyn w gleju istoty białej podkorowej. Medium i inkubacja jak wyżej. Pow. 160 ×.

Fig. 12. Guinea pig's brain, reaction in the glia of the subcortical white matter. Medium and incubation as above. Magn. × 160.

Ryc. 13. Mózg ludzki, odczyn w gleju kory mózgowej. Inkubacja w pH 7,2, medium z 0,4% roztw. azotanu ołowiu, $MgCl_2$ jako aktywator. Inkubacja 90 min, płukanie skrawków w 2% roztworze kwasu octowego przez 5 min. Pow. 120 ×.

Fig. 13. Human brain, reaction in the cortical glia. Medium pH 7,2 containing 0,4% sol. of lead nitrate and $MgCl_2$ as activator. Incubation time 90 min., washing 5 min. in 2% sol. of acetic acid. Magn. × 120.

Ryc. 14. Mózg kota, odczyn w gleju skąpowypustkowym istoty białej w okolicy torebki wewnętrznej. Medium i warunki inkubacji jak w objaśnieniu do ryc. 10. Pow. 160 X.

Fig. 14. Cat's brain, reaction in the periaxonal glia of the white matter in the region of the internal capsule. Medium and incubation conditions as in the legend to Fig. 10. Magn. X 160.

Ryc. 15. Mózg szczura, komórka glejową istoty szarej. Widoczne ziarniste zgrubienia wypustek komórkowych. Odczyn bez modyfikacji, pH 7,2, $MnCl_2$ jako aktywator. Inkubacja 90 min. Pow. 600 X.

Fig. 15. Rat's brain, a cortical glial cell. Note granular swellings of the processes. Medium not modified, pH 7,2, $MnCl_2$ as activator. Incubation 90 min. Magn. X 600.

Ryc. 16. Mózg kota, komórki glejowe okołonaczyniowe z grudkowatymi zgrubieniami wypustek. Medium i warunki inkubacji jak w objaśnieniu do ryc. 13. Pow. 920 X.

Fig. 16. Cat's brain, perivascular glial cells with granular swellings of the processes. Medium and incubation conditions as described in the legend to Fig. 13. Magn. X 920.

Ryc. 17—21. Mózg ludzki. Różne postacie i układy ziarenek i pęcherzyków w komórkach i w wypustkach glejowych, dające silne odczyny z pyrofosforanem tiaminy. W miejscach styku wypustek ze ścianami włóściczek ziarenka te tworzą rodzaj przysawek. Medium i warunki inkubacji jak w objaśnieniach do ryc. 13. Pow. 600 X.

Fig. 17—21. Human brain. Various arrangements and forms of the strongly TPP-ase positive granules and vesicles in glial cells and in their processes. Note the sucker-like forms of the granules on the glio-vascular contact points. Medium and incubation conditions as in the legend to Fig. 13. Magn. X 600.

Ryc. 22. Mózg szczura. Ziarniste zgrubienia na styku wypustki nerwowej i glejowej. Medium i warunki inkubacji jak w objaśnieniach do ryc. 13. Pow. 600 X.

Fig. 22. Rat's brain. Granular swellings of the endings of the processes at a glio-neuronal contact point. Medium and incubation conditions as in the legend to Fig. 13. Magn. X 600.

Ryc. 23. Mózg szczura, odczyn komórek wyściółki komory trzeciej. Medium bez modyfikacji. Inkubacja 60 min. Pow. 600 X.

Fig. 23. Rat's brain, reaction in the ependymal cells of the third ventricle. Medium not modified. Incubation 60 min. Magn. X 600.

Ryc. 24. Mózg szczura, odczyn komórek wyściółki wodociągu. Medium bez modyfikacji. Inkubacja 60 min. Pow. 600 X.

Fig. 24. Rat's brain, reaction in the ependymal cells of the aqueduct. Medium not modified. Incubation 60 min. Magn. X 600.

A. Глущик

ГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ ГИДРОЛИЗИРУЮЩИХ ФОСФАТАЗ ПИРОФОСФАТ-ТИАМИНА В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ*)

Содержание

Проводились гисто- и цитохимические исследования центральной нервной системы по методу Новикова и Голдфисера (1961) с применением как субстрата

*) Работа частично выполнена в соответствии с договором о польско-американском научном сотрудничестве. Нр. договора 527713.

пирофосфата тиамина. Исследовалась мозговая ткань крыс, кошек, морских свинок, а также тканевой биоптический материал взятый от человека во время операций на мозге. В исследованном материале не обнаружили существенных видовых разниц в топографии, локализации и в интенсивности гистохимической реакции в сравниваемых видах клеток и клеточных системах. В нейронах интенсивную цитохимическую реакцию проявлял аппарат Гольджи, в то время как в глиевых клетках реакция наблюдалась только в оболочках и клеточных отростках. В цитоплазме и отростках глиевых клеток резкая положительная реакция отмечалась в специфических зернистостях и пузырьках, главным образом на глиево-сосудистых и глиево-нейронных соприкосновениях. В работе обсуждается значение этих зернистостей и пузырьков для транспортных функций между сосудами и нейронами посредством глиевой клетки. Анализируется также вопрос специфичности проводимых гистохимических реакций.

A. Głuszczyk

HISTOCHEMICAL LOCALIZATION OF PHOSPHATASES HYDROLYZING THIAMINE PYROPHOSPHATE IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM *)

Summary

A histochemical and cytochemical study of the central nervous system was carried out by the method of Novikoff and Goldfischer (1961) using thiamine pyrophosphate as substrate. Brains of rats, cats and guinea pigs, and human biopsy material obtained at operations were studied. No fundamental differences between the species were found with regard to the localization and intensity of the histochemical reaction in comparable cell types or cell systems. In the neurons, intensive cytochemical reactions were observed in the Golgi apparatus, while glial cells gave positive reactions only in the cell membranes and processes. The cytoplasm and cell processes of glial cells contained specific grains and vesicles giving strongly positive reactions, especially at the gliovascular and glioneuronal boundaries. The role of these structures in transport between blood vessels and neurons across the glial cells is discussed. The specificity of the histochemical reaction that was used is also discussed.

PIŚMIENNICTWO

1. Allen J., Slater J.: A cytochemical study of Golgi associated thiamine pyrophosphatase in the epididymis of the mouse. *J. Histochem. Cytochem.*, 1961, 9, 418—423.
2. Allen J.: The properties of Golgi-associated nucleoside diphosphatase and thiamine pyrophosphatase: I. Cytochemical analysis. *J. Histochem. Cytochem.*, 1963, 11, 529—541.
3. Allen J.: The properties of Golgi-associated nucleoside diphosphatase and thiamine pyrophosphatase: II. Electrophoretic separation and identification. *J. Histochem. Cytochem.*, 1963, 11, 542—552.

* This study was carried out partly under the Polish-American research agreement No. 527713.

4. Barron K. D., Tuncbay T. O.: Histochemistry of acid phosphatase and thiamine pyrophosphatase during axon reaction. *Amer. J. Path.*, 1962, 40, 637—652.
5. Barron E. D., Tuncbay T. O.: Phosphatase histochemistry of feline cervical spinal cord after brachial plexotomy. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1964, 23, 368—386.
6. Becker N. H., Novikoff A. B., Goldfischer S.: A cytochemical study of the neuronal Golgi apparatus. *Arch. Neur.*, 1961, 5, 497—503.
7. Beker N. H.: The cytochemistry of anoxic and anoxic-ischemic encephalopathy in rat. *Amer. J. Path.*, 1962, 40, 243—252.
8. Cybulska R., Wawrzyniak M.: Histochemiczna charakterystyka gleju w „Lamina quadrigemina” świni i krowy. I. Fosfataza kwaśna i tiaminowa pyrofosfataza. Ref. na III Sympozjum Histochem. na temat Histochemii Układu Nerwowego, 1965.
9. David G. B., Brown A. W., Mallion K. B.: On the identity of the „Neurofibrils”, „Nissl Complex”, „Golgi Apparatus” and „Trophospongium” in the Neurons of Vertebrates. *Quart. J. Micr. Sci.*, 1961, 102, 481—493.
10. Erankö O., Hassán J.: Enzymatic hydrolysis of thiamine pyrophosphatase by frozen sections of rat's kidney, adrenal and liver. *Acta Path. Scand.*, 1954, 35, 563—572.
11. Freiman D. G., Kaplan N. J.: Studies on the histochemical differentiation of enzymes hydrolysing adenosine triphosphate. *J. Histochem. Cytochem.*, 1960, 8, 159—170.
12. Glick D., Fischer E. E.: Studies in histochemistry. XVII. Localisation of phosphatases in the wheat grain and epicotyl and roots of the germinated grain. *Arch. Biochem.*, 1964, 11, 65.
13. Goldfischer S.: The Golgi apparatus and the endoplasmic reticulum in neurons of the rabbit. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1964, 23, 36—45.
14. Lazarus S. S., Wallace B. J.: Nucleoside phosphatase and thiamine pyrophosphatase activity of rabbit Golgi apparatus. *J. Histochem. Cytochem.*, 1964, 12, 729—736.
15. Malhotra S. K.: What is the „Golgi apparatus” in its classical site within the neurons of vertebrates. *Quart. J. Micr. Sci.*, 1959, 100, 339—347.
16. Malhotra S. K., Meek G. A.: The electron microscopy of the „Golgi apparatus” in the Purkinje cells of Owls. *Quart. J. Micr. Sci.*, 1960, 101, 389—398.
17. Naidoo D., Pratt O. E.: The localisation of aneurin pyrophosphatase in the brain. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 1952, 15, 164—171.
18. Novikoff 1952: przyt. wg Padykuli i Hermana 1955.
19. Novikoff A. B., Goldfischer S.: Nucleosidediphosphatase activity in the Golgi apparatus and its usefulness for cytological studies. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1961, 47, 802—810.
20. Novikoff A. B., Goldfischer S., Essner E.: The importance of fixation in a cytochemical method for the Golgi apparatus. *J. Histochem. Cytochem.*, 1961, 9, 459—460.
21. Novikoff A. B., Drucker J., Woo-Yung Shin, Goldfischer S.: Further studies of the apparent adenosinotriphosphatase activity of cell membranes in formal-calcium fixed tissues. *J. Histochem. Cytochem.*, 1961, 9, 434—451.
22. Novikoff A. B., Essner E.: Pathological changes in cytoplasmic organelles. *Fed. Proc.*, 1962, 21, 1130.

23. Novikoff A. B., Essner E., Goldfischer S., Heus M.: Nucleosidephosphatase activities in cytomembranes. Symp. Intl. Soc. Cell Biol., Vol. I. The Interpretation of Ultrastructure. Edit. R. J. C. Harris, Academic Press, New York, 1962, 149—192.
24. Novikoff A. B., Heus M.: Microsomal Nucleosidediphosphatase. *J. Biol. Chem.*, 1963, 238, 710.
25. Padykula H. A., Herman A.: The specificity of the histochemical method for adenosine triphosphatase. *J. Histochem. Cytochem.*, 1955, 3, 170—183.
26. Tewari H. B., Bourne G. H.: Histochemical studies on the localisation of adenosine triphosphatase in the cerebellum of the rat. *J. Histochem. Cytochem.*, 1963, 11, 246—257.
27. Torack R. M., Barnett R. J.: Nucleosidephosphatase activity in membranous fine structures of neurons and glia. *J. Histochem. Cytochem.*, 1963, 11, 763—772.
28. Vorbrodtt A.: Enzymy lizosomalne i struktur Golgiego w komórkach nerwowych. Ref. na III Sympozjum Histochem. na temat Histochemii Układu Nerwowego, 1965.

Nadesłano: 8.X.1965.

Adres autora: Pracownia Neuropatologii przy Katedrze Anatomii Patologicznej AM. Łódź, ul. Narutowicza 96.

KOMUNIKAT

Wydział Nauk Medycznych Polskiej Akademii Nauk zawiadamia, że nagrody naukowe Wydziału za wybitne i twórcze osiągnięcia w dziedzinie nauk medycznych będą przyznawane w III kwartale b.r. Nagrody w zasadzie są przyznawane za prace naukowe opublikowane w ciągu ostatnich trzech lat poprzedzających rok, w którym nagroda jest przyznana.

Wydziałowe nagrody naukowe mogą być przyznawane bez względu na stopień i tytuł naukowy oraz miejsce pracy autora, ze szczególnym uprzywilejowaniem młodszych pracowników nauki.

Nagroda Wydziału Nauk Medycznych nie może być w zasadzie przyznana po raz drugi tej samej osobie przed upływem 5 lat od daty przyznania poprzedniej nagrody Wydziału.

Z wnioskami o przyznanie nagród mogą występować do Wydziału Prezydium Komitetów Naukowych Wydziału i Rady Naukowe Placówek Wydziału.

Zakwalifikowanie pracy do nagrody może nastąpić nie wcześniej niż po jej opublikowaniu drukiem.

W pierwszej kolejności przydzielane będą nagrody z zakresu następujących dziedzin:

- 1) Mikrobiologia lekarska
- 2) Fizjologia człowieka
- 3) Neurofizjologia i elektrofizjologia
- 4) Neuropatologia
- 5) Endokrynologia
- 6) Immunologia
- 7) Badania nad nowymi lekami
- 8) Genetyka człowieka
- 9) Patofizjologia molekularna
- 10) Zmiany zachodzące w środowisku człowieka (ekologia)

O przyznaniu nagród decyduje w głosowaniu tajnym Plenarne Posiedzenie Wydziału.

Wydziałowe nagrody naukowe mogą być indywidualne i zespołowe. Wysokość nagród określa aktualna uchwała Sekretariatu Naukowego Polskiej Akademii Nauk.

Termin nadsyłania do Wydziału Nauk Medycznych PAN wniosków o przyznanie nagrody upływa z dniem 1 września 1966 r. Do wniosku o nagrodę powinny być załączone:

- a) dane personalne autora (autorów) oraz adres,
- b) charakterystyka pracy napisana przez wnioskodawców,
- c) odbitka drukarska pracy,
- d) oświadczenie autora pracy, stwierdzające, że praca nie była jeszcze nagrodzona, względnie, że była nagrodzona, przy czym należy podać nazwę instytucji nagradzającej oraz formę uzyskania nagrody.

Sekretarz Naukowy Wydziału
Nauk Medycznych
prof. dr Ksawery Rowiński

HANNA SZYDŁOWSKA

BADANIA NAD ORANŻOFILIĄ NIEKTÓRYCH STRUKTUR W GU- ZACH GLEJOPCHODNYCH BARWIONYCH POLICHROMAMI

Z Pracowni Patologii Neurochirurgicznej PAN w Krakowie
Kierownik: prof. dr med. A. Kunicki

Powinowactwo różnych składników tkankowych do oranżu G jest, w wielu przypadkach, objawem przemian czynnościowych zarówno w tkankach normalnych, jak i patologicznie zmienionych (Martinotti 1924, Papanicolaou 1954, Krupiński 1955).

Papanicolaou przypisuje wzmożonej oranżofilii duże znaczenie w diagnostyce niektórych nowotworów, zwłaszcza nowotworów pochodzących z nabłonka oskrzelowego, w których ma ona być wyrazem wzrastającej złośliwości nowotworu (Papanicolaou 1954).

Oranżofilia jest pewną odmianą kwasochłonności, wybitnie nasilonej w cytoplazmie dzielących się astrocytów lub astrocytów hipertroficznymi i hyperplastycznymi (Adams 1958), a także występującej w dużych, gruszkowatych astroblastach, które swym układem i zachowaniem różnią się od innych komórek utkrania nowotworowego (Costero 1958).

Jednakże dopiero zastosowanie niektórych polichromów kwaśnych do barwienia guzów glejopochodnych wykazało różnice kwasochłonności, przejawiające się odmiennym powinowactwem składników tkankowych do barwników zawartych w polichromach i ujawniło szereg struktur oranżochłonnych, występujących w utkaniu nowotworowym lub w najbliższym jego otoczeniu, a nie spotykanych w prawidłowej tkance nerwowej (Szydłowska 1965a, 1965b).

Chemiczne uzasadnienie działania barwników zawartych w polichromach nie jest, jak dotąd, dokładnie poznane (Langeron 1949). Wprawdzie badania nad znaczeniem kwasu fosforolibdenowego w barwieniach histologicznych ujawniły amfoteryczny charakter barwników z grupy siarkowanych trójfenylometanów (Puchtler i Isler 1958) oraz wykazały powinowactwo tych barwników do kwasu fosforolibdenowego, wiążącego się z amidowymi lub imidowymi grupami białek, nie

uwzględniły jednak pozostałych grup chemicznych w tkankach i nie wyjaśniły ich roli w mechanizmie barwienia.

Zjawisko oranżochłonności zasługuje na zainteresowanie ze względu na chemiczny charakter oranżu G, który dzięki swojej grupie barwnej, azowej oraz rdzeniowi naftolowemu z grupą -OH w położeniu beta, jest podobny zarówno do Sudanów, jak i związków tetrazowych.

W guzach glejopochodnych, barwionych polichromami, różne nasilenie powinowactwa do oranżu G lub całkowity jego brak w strukturach morfologicznie podobnych, nasuwa przypuszczenie, że mimo podobieństwa budowy różnią się one czynnościowo. W związku z tym, cechuje je także odrębność w rodzaju i przebiegu zachodzących w nich procesów chemicznych, co prawdopodobnie nie jest bez znaczenia dla charakteru wzrostu i rozwoju nowotworu.

W tym celu podjęto badania, które są próbą zespolenia barwienia histologicznego z techniką histochemiczną i które miały nie tylko uwiarygodnić struktury morfologiczne tkanek z możliwością interpretacji chemicznej, lecz także miały wyjaśnić udział różnych grup chemicznych w zjawisku oranżofilii.

MATERIAŁ I METODA

Materiał operacyjny (40 przypadków), utrwalony w płynie Carnoy (6 : 3 : 1), zatapiało w parafinie przez benzoesan metylu z celloidyną, zgodnie z ogólnie przyjętymi zasadami. Grubość skrawków wynosiła 5—7 mikronów.

Tabela 1

Table 1

Barwniki Dyes	Metody Methods		
	Martinotti	Papanicolaou	Pasini
Oranż G	0,22%	0,5%	0,17%
Orange G	0,7	2,2	0,5
Eozyna	0,33%	0,23%	0,33%
Eosin	1,00	1,00	1,00
Błękit wodny	0,44%	—	0,22%
Water blue	1,3	—	0,7
Zieleń jasna	—	0,23%	—
Light green	—	1,00	—
Fuksyna kwaśna	—	—	0,79%
Acid fuchsin	—	—	2,4
Brunat Bismarcka	—	0,05%	—
Bismarck brown	—	0,002	—

Metodą barwienia z wyboru była zmodyfikowana metoda Pasiniego (Szydłowska 1965). Metoda Martinottiego w modyfikacji dla skrawków parafinowych (Borsuk 1963) i metoda Papanicolaou, z przedłużonym czasem barwienia w OG₅ i EA₃₆ (Szydłowska 1965), spełniały rolę metod kontrolnych. W niektórych przypadkach używano metody Pasiniego z wykluczeniem działania kwasu fosforowolframowego. Wzajemny stosunek barwników w poszczególnych polichromach i ich skład procentowy ilustruje tabela 1, przy czym ilość eozyny przyjęto za jednostkę.

W celu interpretacji chemicznej zjawiska oranżofilii zastosowano szereg metod histochemicznych (tab. 2) i swoiste blokowanie grup chemicznych z następnym barwieniem polichromowym (tab. 3).

WYNIKI

Do struktur oranżofilnych występujących w utkaniu guza lub w jego otoczeniu zmienionym wskutek toczącego się procesu nowotworowego należą:

- 1) wypustki astrocytów, astroblastów i gemistocytów,
- 2) włókna glejowe w gwiaździakach różnego typu, zwłaszcza w gwiaździakach włókienkowych mózdzku,
- 3) cytoplazma astroblastów, niektórych gemistocytów i astrocytów odczynowych,
- 4) większość jąderek,
- 5) chromatyna i błona jądrowa niektórych jąder spoczynkowych,
- 6) chromatyna (chromosomy) jąder w stanie podziału mitotycznego,
- 7) niektóre ginące komórki nerwowe w otoczeniu guza,
- 8) zmieniona błona wewnętrzna niektórych naczyń w guzie,
- 9) krwinki czerwone w guzie i tkance prawidłowej.

Zdolność wchłaniania oranżu G nie jest więc związana z określonymi strukturami tkanki; jest ona często właściwością elementów różnych morfologicznie, podczas gdy elementy morfologicznie podobne posiadają ją w rozmaitym stopniu lub wcale.

Oranżofilia, jako szczególna postać kwasochłonności, występuje zwykle razem z eozynofilią i jej nasilenie zależy zarówno od chemizmu elementów tkankowych, jak i od składu używanego polichromu.

Zastosowanie dwóch odmian polichromu Pasiniego, jednej — pozbawionej całkowicie eozyny, a drugiej — oranżu G (według metody oryginalnej) wykazało, że wszystkie kwasochłonne struktury nie zabarwione błękitem wodnym i kwaśną fuksyną są eozynofilne, ale tylko część tych struktur wchłania równocześnie oranż G. Usunięcie kwasu fosforowolframowego z traktowania poprzedzającego barwienie nie wpływa na oranżochłonność, mimo że zwiększa powinowactwo składników tkankowych do barwników z grupy siarkowanych trójfenylometanów.

Tabela 2. Zestawienie metod histochemicznych
Table 2. List of the histochemical methods

DNA i RNA DNA and RNA	barwienie staining	Reakcja Feulgena Feulgen reaction	Metoda Himesa i Mor- ribera Method of Himes and Morriber	Zieleń metylowa + pyroni- na w buforze Walpole'a, pH 4,8; czas: 30 minut Methyl green + pyronin in Walpole buffer of pH 4,8; time: 30 mins.	Błękit toluidyny 0,05% w buforze Mac Ilvaina, pH 4, 5, temp. 45°C; czas: 20 minut Toluidine blue 0,05% in MacIlvain buffer of pH4, temp. 45°; time: 20 min.
	kontrola control	Reakcja Feulgena bez hydrolizy w 1N-HCl Feulgen reaction wit- hout hydrolysis in 1N HCl	Metoda Himesa i Mor- ribera bez hydrolizy w 1N-HCl Himes-Morriber met- hod without hydroly- sis in 1N HCl	Trawienie rybonukleazą w roztworze wodnym 1/5000, w temp. 37°C; przez 60 minut Digestion with aqueous solution of ribonuclease, 1/5000, temp. 37°, 60 mins	
Białka Proteins	barwienie ogólne general staining	<ol style="list-style-type: none"> 1. Reakcja biuretowa wg Solsa 2. Reakcja ksantoproteinowa wg Lisona 3. Barwienie 0,5% roztworem żółcieni naftolowej S, w CH₃COOH, pH 2,6 temp. pokojowa, czas barwie- nia: 2, 4 i 6 godzin 4. Błękit bromofenolowy A. BBF 0,01% w alkoholu 96%, pH 7,6 — 7,8 B. BBF 0,01% w alkoholowym roztworze 10% HgCl₂ <ol style="list-style-type: none"> 1. Biuret reaction according to Sols 2. Xanthoprotein reaction according to Sols 3. Staining with 0.5% naphthol yellow S, in CH₃COOH, pH 2,6, room temp; time of staining: 2, 4 and 6 hrs 4. Bromphenolblue A. BBF 0.01% in 96% alcohol, pH 7.6 — 7.8 B. BBF 0.01% in alcoholic solution of 10% HgCl₂ 			

Grupy -SH i -S-S- SH-and -SS- groups	barwienie staining	Metoda Frédéricica i Chèvremonta Method of Frédéricico and Chèvremont	Red Sulphydryl Reagent w alkoholu 80%, czas barwienia: 72 godziny Red Sulphydryl reagent in 90% alcohol; time of staining: 72 hrs	Swoiste utlenianie kwasem nadoctowym i nadmnrówkowym i barwienie: a) odczynnikiem Schiffa; b) błękitem alcjanowym; c) azotanem kobaltu Specific oxidation with peracetic and performic acids and staining with: a) Schiff's reagent, b) Alcian blue, c) cobalt nitrate		
	kontrola control	Blokowanie grup -SH nasyconym wodnym roztworem HgCl ₂ , temp. pokojowa, czas: 72 godziny Blocking of -SH groups with saturated aq. soln of HgCl ₂ , room temp., time 72 hrs				
Polisacharydy, glikoproteiny itd. Polysaccharides, Glycoproteins, etc.	barwienie staining	Metoda Himesa i Morribera Himes-Morriber method	Metoda Himesa i Morribera bez barwienia żółcienią naftolową S Himes-Morriber method without staining with naphthol yellow S	Błękit toluidyny 0,02% i 0,05% w buforze Mac Ilvaina., pH od 2 do 3,5 Toluidine blue, 0,02% and 0,05% in Mac Ilvaine buffer, pH 2 to 3,5	Błękit alcjanowy wg Lisona, w CH ₃ COOH Alcian blue, according to Lison, in CH ₃ COOH	Metoda Hale'a w połączeniu z reakcją PAS Method of Hale combined with the PAS reaction
	kontrola control	Acetylowanie w mieszaninie bezwodnika octowego i osuszonej pirydyny, w temp. 22°C przez 24 godz. (wg Lillie) Acetylation in a mixture of acetic anhydride and dry pyridine, temp. 22°, time 24 hrs (according to Lillie)		Trawienie hyaluronidazą jądrową w 0,85% NaCl, 1 mg/ml, w temp. 37°C, przez 3 godziny Digestion with testicular hyaluronidase in 0,85% NaCl, 1 mg/ml, temp. 37°, time 3 hrs		
Glikogen Glycogen	barwienie staining	Metoda Himesa i Morribera Himes-Morriber method	Metoda Bauera Method of Bauer	Barwienie karminem Besta Staining with Best's carmine		
	kontrola control	Trawienie 1% diastazą w buforze fosforanowym z dodatkiem NaCl, w temp. 37°C, przez 1 godzinę (wg Lisona) Digestion with 1% diastase in phosphate buffer containing NaCl, temp. 37°, time 1 hr (according to Lison)				

Tabela 3. Zestawienie barwień histologicznych i blokowanie grup chemicznych
 Table 3. List of histological staining methods and of methods of blocking chemical groups

Barwienia histologiczne Histological staining	Polichrom Pasini'ego z dodatkiem oranżu G (Szydłowska 1965) Pasini's polychrome with Orange G (Szydłowska 1965)		Metoda Martinotti'ego Method of Martinotti	Metoda Papanicolaou Method of Papanicolaou	Oranż G: A. 0,5% roztwór w alkoholu 96% B. 0,5% roztwór w 10% roztworze alkoholowym HgCl ₂
	Polichrom Pasini'ego bez eożyny Pasini's polychrome without eożin	Polichrom Pasini'ego bez oranżu G (metoda oryginalna) Pasini's polychrome without Orange G (original method)			Orange G: A. 0.5% sol. in 96% alcohol B. 0.5% in 10% alcoholic solution of HgCl ₂
Deaminacja Deamination	50% CH ₃ COOH + 5% NaNO ₂ (w stosunku 1 : 1), temp. 0° — 4°C, czas reakcji: 2, 3, 4, 6, 18, 24 i 48 godzin 50% CH ₃ COOH + 5% NaNO ₂ (1 : 1), temp. 0° — 4°; time of reaction: 2, 3, 4, 6, 18, 24 and 48 hrs				
Metylowanie Methylation	CH ₃ OH + 0,01N-HCl w temp. 33°C, czas reakcji: 48 i 72 godziny (wg Pearse'a) CH ₃ OH + 0,01N-HCl temp. 33°, time of reaction: 48 and 72 hrs (according to Pearse)	CH ₃ OH + 0,01N-HCl w temp. 60°C, czas reakcji: 1, 2, 3, 4, 6, 16 i 18 godzin (wg Lillie) CH ₃ OH + 0,01N HCl, temp. 60°; time of reaction: 1, 2, 3, 4, 6, 16 and 18 hrs (according to Lillie)	CH ₃ OH + 0,01N-HCl, w temp. 60°C, czas reakcji: 5, 10, 15, 30, 45, 60 i 120 minut CH ₃ OH + 0,01N HCl, temp. 60°; time of reaction: 5, 10, 15, 30, 45, 60 and 120 minutes		
Demetylowanie Demethylation		Tylko po 18 godzinach w roztworze 1% KOH w alkoholu 70%, przez 20 minut, w temp. pokojowej (wg Lillie) Only after 18 hrs in 1% KOH sol. in 70% alcohol, 20 mins, room temp. (according to Lillie)	Tylko po 1 godzinie i po 2 godzinach w 0,5% roztworze nadmanganianu potasu i w 1% kwasie szczawiowym (wg Pearse'a) Only after 1 and 2 hrs in 0,5% potassium permanganate sol. and in 1% oxalic acid (according to Pearse)		
Utlenianie Oxidation	Utlenianie swoiste wiązań -S-S- kwasem nadoctowym w temp. pokojowej, czas reakcji: 1, 2, 3 i 4 godziny Specific oxidation of -S-S- groups with peracetic acid at room temp.; time of reaction: 1, 2, 3 and 4 hrs		Utlenianie kwasem nadjodowym 0,5% i 1%, w temp. pokojowej, czas reakcji: 5 minut Oxidation with periodic acid, 0,5%, and 1%, room temp.; 15 mins		

Blokowanie grup -S Blocking of -S groups	Blokowanie grup -SH nasyconym, wodnym roztworem HgCl ₂ , w temp. pokojowej, czas reakcji: 48 i 72 godziny -SH groups were blocked with saturated aq. sol. of HgCl ₂ at room temp.; time of reaction: 48 and 72 hrs		
Fermenty Enzymes	Trawienie pepsyną 2 mg/ml 0,02N-HCl, pH 1,8, w temp. 37°C, czas reakcji: 30 minut, 1, 2 i 3 godziny (wg Pearse'a) Digestion with pepsin, 2 mg/ml, 0,02N-HCl, pH 1.8. Reaction time: 1, 2 and 3 hrs (according to Pearse)	Trawienie trypsyną w roztworze 0,05 M buforu fosforanowego, 0,1 mg/ml, pH 6,7, w temp. 37°C, czas reakcji: 15, 30 i 60 minut (wg Pearse'a) Digestion with trypsin in 0,05 M phosphate buffer sol. 0.1 mg/ml, pH 6.7, temp. 37°; reaction time: 15, 30 and 60 mins (according to Pearse)	Trawienie trypsyną w buforze Tris, pH 7,2; 0,1 mg/ml, w temp. 37°C, czas reakcji: 15, 30, 45, 60 minut i 2 godziny Digestion with trypsin in Tris buffer, pH 7.2; 0.1 mg/ml; temp. 37°, reaction time: 15, 30, 45, 60 mins and 2 hrs

Badania histochemiczne pozwoliły porównać rozmieszczenie oranżofilii z rozmieszczeniem substancji chemicznych w tkankach i ustalić wzajemną zależność między nimi.

Rozmieszczenie oranżofilii nie pokrywa się z rozmieszczeniem substancji PAS-dodatnich; struktury oranżochłonne są od silnie PAS-dodatnich aż do zupełnego braku w nich reakcji PAS.

Zabarwienie błękitem alcjanowym odpowiada zabarwieniu oranżem G tylko czasem w zmienionej błonie wewnętrznej naczyń; jądra, jąderka, cytoplazma i wypustki komórek, mimo oranżofilii nie wybarwiają się błękitem alcjanowym.

Struktury oranżochłonne barwią się silnie niebiesko-zielono metodą Hale'a (1946) połączoną z metodą PAS, co mogłoby świadczyć o obecności kwaśnych mukopolisacharydów, gdyby nie to, że trawienie hyaluronidazą nie wpływa na zmianę reakcji, a błękit toluidyny nie daje w tych miejscach metachromazji ani przy pH 2, ani przy pH 3,5 \leq 2.

Cytoplazma komórek nowotworowych i ich wypustki zawierają niekiedy glikogen, który wybarwia się metodą Bauera lub karminem Besta w postaci drobnych ziarenek, albo jednorodnie, bladoróżowo, wypełniając całą cytoplazmę. Rozmieszczenie glikogenu nie jest zgodne z rozmieszczeniem oranżofilii. Drobne ziarna glikogenu, pojawiające się w zmienionej błonie wewnętrznej naczyń, również nie zawsze występują w tych jej miejscach, które wykazują powinowactwo do oranżu.

Oranżochłonność jąder spoczynkowych, jąderek i chromosomów w komórkach w stanie podziału mitotycznego nie jest związana z rozmieszczeniem kwasów nukleinowych. Wprawdzie większość jąderek wykazuje wyraźne powinowactwo do oranżu, lecz wykazują je również,

nawet w znacznie silniejszym stopniu, chromosomy komórek dzielących się mitotycznie, w których zdecydowanie przeważa DNA. W jądrach spoczynkowych natomiast, mimo dużej nieraz zawartości DNA, oranżofilia występuje rzadko. Można by zatem przypuszczać, że na oranżochłonność tych struktur wpływa raczej charakter ciał białkowych związanych z kwasami nukleinowymi.

W cytoplazmie oranżofilnych astroblastów lub gemistocytów można czasem napotkać nieco silniejsze zabarwienie pyroniną niż w komórkach nie wykazujących powinowactwa do oranżu G. Zabarwienie to jest przeważnie rozlane, ale w niektórych komórkach można zaobserwować bardzo drobne ziarnistości zgrupowane zwłaszcza w ich wypustkach i to w miejscu odejścia tych ostatnich od ciała komórkowego. W tych samych miejscach błękit toluidyny przy pH 4,5 daje metachromazję beta, której nasilenie odpowiada intensywności zabarwienia pyroniną. Niemniej RNA występuje również, i to w znacznie większej ilości, w tych strukturach, które nie wykazują powinowactwa do oranżu, jak np. w cytoplazmie śródbłonek naczyńniowych, podczas gdy w silnie oranżochłonnych strukturach, jak w krwinkach czerwonych, jest go całkowicie brak.

Reakcja ksantoproteinowa i barwienie żółcienią naftolową S — pozwoliły stwierdzić obecność białek, nie wykazały jednak istotnych różnic między strukturami oranżochłonnymi a strukturami pozbawionymi oranżochłonności.

Wszystkie struktury kwasochłonne, barwiące się eozyną i oranżem G, barwią się ciemnoniebiesko błękitem bromofenolowym w alkoholu 96%, przy pH 7,8, przy czym w miejscach oranżofilii zabarwienie jest znacznie mniej intensywne i nasila się dopiero przy barwieniu błękitem bromofenolowym w 10% roztworze alkoholowym HgCl_2 , przy pH 2,4, co dowodzi obecności w tych miejscach białek kwaśnych.

Struktury oranżochłonne dają reakcję biuretową (według metody Solsa) znacznie silniejszą niż struktury pozbawione powinowactwa do oranżu, przy czym cechuje je zabarwienie fioletowoniebieskie, w przeciwieństwie do pozostałych składników tkanki, które barwią się bladofioletowo-różowo.

Charakterystyczna dla struktur chłonek oranż G jest obecność grup -SH, wykrytych metodą Frédéric-Chèvremonta, a przede wszystkim przy użyciu Red Sulphydryl Reagent (Bennet 1951 cyt. wg Pearse'a, 1960). W tym ostatnim przypadku, na tle pomarańczowego zabarwienia rozlanego w całej cytoplazmie można zaobserwować czerwone ziarenka różnej wielkości i o różnym układzie. W cytoplazmie zgrupowane są one w środku komórki lub w miejscu odejścia jej wypustek w postaci ziarenek bardzo drobnych, przypominających często swym

wyglądem układy mitochondrialne. W chromatynie jądrowej ziarna są grube, nierzadko skupione w sąsiedztwie jąderka. Znaczną ilość grup -SH zawiera błona jądrowa i błony krwinek czerwonych. Ziarenka występujące w ścianach naczyń krwionośnych są rozmaitej wielkości, a ułożenie ich nie ma określonego charakteru.

Elementy tkankowe, charakteryzujące się oranżochłonnością, wykazują niewielkie ilości wiązań bisulfidowych; reakcje barwne są wybitnie słabe zarówno przy użyciu odczynnika Schiffa, jak również błękitu alcjanowego i azotanu kobaltu.

Przeprowadzenie swoistych reakcji rozkładających lub blokujących poszczególne grupy chemiczne białka zmienia wyniki barwień polichromowych, uniemożliwiając strukturom tkankowym związanym niektórymi barwników zawartych w mieszaninie barwiącej. Trawienie niektórymi fermentami rozbijającymi wiązania peptydowe tak samo zmienia barwliwość struktur tkankowych.

Deaminacja powodująca rozbitcie grupy NH_2 i przeprowadzenie jej w grupę $-\text{OH}$ nie wpływa na zabarwienie oranżem, zmienia natomiast zabarwienie eożyną. Zmiana ta następuje stopniowo w różnych strukturach, po stosunkowo długim działaniu kwasu azotawego. Najszybciej, bo już po kilku godzinach, ulega zmianie zabarwienie cytoplazmy i wypustek komórkowych; w jądrach i jąderkach całkowite zniesienie eozynefilii następuje dopiero po 48 godzinach, przy czym zabarwienie błękitem wodnym jest również wyraźnie osłabione. Tego rodzaju zmianom towarzyszy nasilenie oranżofilii, które jest jednak pozorne; nie zmienia się bowiem powinowactwo poszczególnych składników tkankowych do oranżu, a jedynie dzięki osłabionemu wchłanianiu eozynefilii wyraźniej występuje barwa pomarańczowa.

Metylowanie skrawków przeprowadzone w temperaturze 33°C (Pearse 1960) już po 24 godzinach znosi całkowicie zabarwienie nie tylko oranżem, ale i eożyną. Skrawki są całe niebieskie, jedynie w niektórych miejscach zabarwione fuksyną.

Metylowanie w temperaturze 60°C , ale w znacznie krótszym czasie (Lillie 1958), dało takie same wyniki. Jedynie po pierwszej godzinie utrzymywała się jeszcze oranżofilia chromatyny w tych komórkach, które znajdowały się w trakcie podziału mitotycznego, bez względu na stadium podziału.

Cytoplazma astroblastów, astrocytów i większości oranżochłonnych gemistocytów traci swe powinowactwo do oranżu już po 5 minutach metylowania w temperaturze 60°C , tak samo jak i większość wypustek i włókien glejowych. W tym samym czasie tracą oranżochłonność krwinki czerwone i intima naczyń krwionośnych. Po 30 minutach oranżem barwią się tylko wszystkie jądra w stanie podziału mitotycznego

i chromatyna nielicznych jąder spoczynkowych, w których jednakże błona jądrowa i jąderka zatraciły już właściwości oranżofilne. Metylowanie przez 60 minut pozbawia oranżochłonności wszystkie struktury, z wyjątkiem chromatyny dzielących się komórek, a po dwóch godzinach metylowania cały skrawek zabarwiony jest na niebiesko. Metylowanie, w przeciwieństwie do deaminacji zmieniającej eozynofilne właściwości tkanki, a po długim czasie osłabiającej zabarwienie błękitem lub zielenią, uniemożliwia w dość krótkim okresie zarówno zabarwienie tkanki oranżem, jak i eozyną. Zdolność wchłaniania eozyny utrzymuje się znacznie dłużej, ale w końcu znika i to w tej samej kolejności jak zdolność wchłaniania oranżu.

Demetylowanie przeprowadzone przy pomocy nadmanganianu potasu i kwasu szczawiowego po dwóch godzinach metylowania oraz przy użyciu 1% roztworu KOH w alkoholu 70% — po 18 godzinach metylowania przywracało tkankom zdolność barwienia się oranżem, nie zdołało jednak przywrócić im w pełni eozynofilii.

Blokowanie grup -SH chlorkiem rtęciowym w roztworze wodnym wzmacnia oranżochłonność tkanki, osłabiając przy tym niebieskie zabarwienie błękitem wodnym lub zielone — zielenią jasną, z wyjątkiem zabarwienia włókien kollagenowych, które pozostają nie zmienione, ciemnoniebieskie lub zielone.

Utlenianie kwasem nadjodowym nie zmienia właściwości oranżochłonnych tkanki; natomiast utlenianie kwasem nadoctowym daje obraz podobny obrazom otrzymanym po 15 minutowym metylowaniu, w których wiele struktur barwi się jeszcze eozyną, podczas gdy prawie wszystkie przestały barwić się oranżem.

Trawienie pepsyną znosi różnobarwność skrawków na korzyść zabarwienia wyłącznie błękitem wodnym już po 30 minutach, a trypsyną w buforze fosforanowym — już po 15 minutach. Trypsyna stosowana w buforze Tris nie powoduje zmiany w zabarwieniu oranżem nawet po dwóch godzinach, jednak już po 30 minutach znosi zabarwienie eozyną wielu składników tkankowych, a przede wszystkim jąder komórkowych.

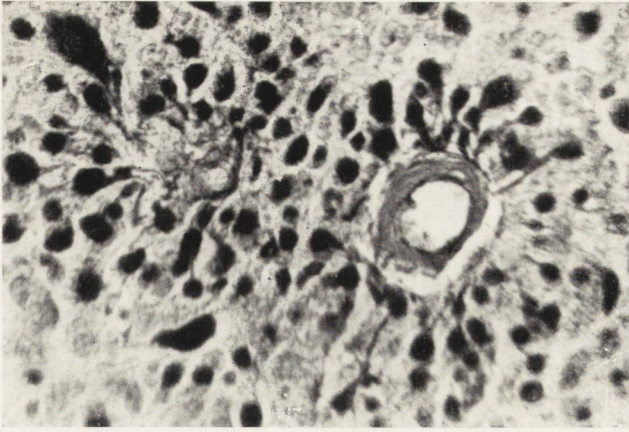
PODPISY POD RYCINY

Ryc. 1. *Glioblastoma multiforme* — oranżofilne astroblasty przy naczyńach. Pasi-
ni z dodatkiem oranżu G w polichromie. Pow. obj. 40 ×, ok. 10 ×.

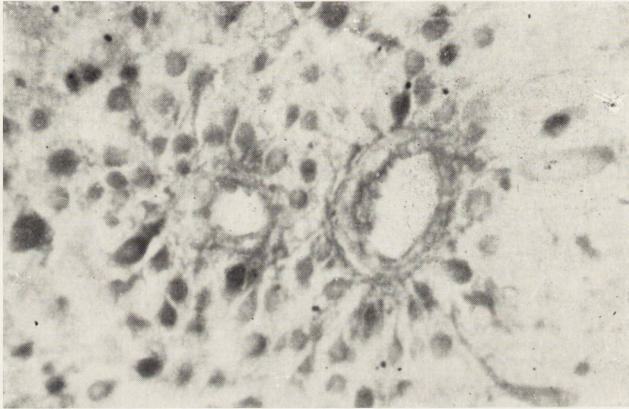
Fig. 1. *Glioblastoma multiforme* — orangeophilic astroblasts near blood vessels.
Pasini, with Orange G added to the polychrome. Magn. obj. × 40, oc. × 10.

Ryc. 2. Oranżofilne astroblasty w *glioblastoma multiforme*. Błękit bromo-fenolo-
wy, pH 7,8. Pow. obj. 40 ×, ok. 10 ×.

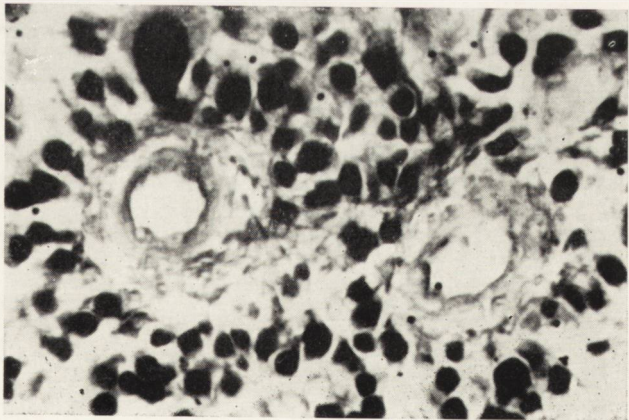
Fig. 2. Orangeophilic astroblasts in *glioblastoma multiforme*. Bromphenol blue,
pH 7.8. Magn. obj. × 40, oc. × 10.



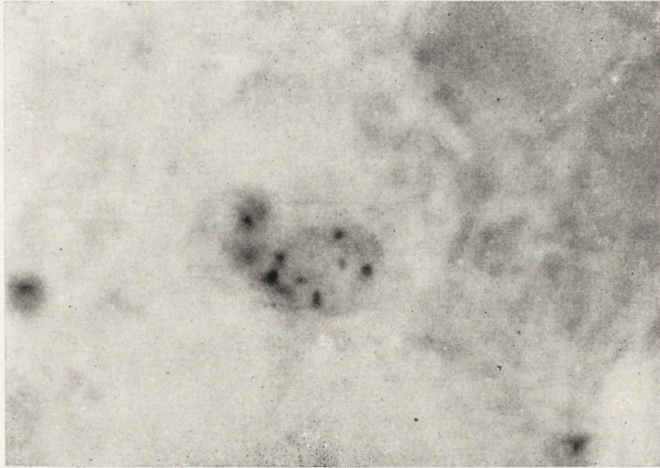
Ryc. 1



Ryc. 2



Ryc. 3



Ryc. 4



Ryc. 5

OMÓWIENIE

Z przeprowadzonych badań wynika, że w guzach glejopochodnych barwionych polichromami powinowactwo do oranżu G wiąże się z występowaniem w strukturach tkankowych grup karboksylowych oraz z obecnością wiązań peptydowych, położonych przy resztach aminokwasów aromatycznych lub dwukarboksylowych.

Nie wpływa na nie natomiast obecność lub brak kwasów nukleinowych oraz substancji PAS-dodatnich, łącznie z glikogenem, o czym świadczy występowanie wymienionych substancji niezgodnie z rozmieszczeniem struktur oranżofilnych i często od niego odmienne.

Dodatni wynik metody Hale'a w tych strukturach może być tłumaczony zarówno związaniem Fe^{+++} z RNA, jak i adsorbowaniem go przez białka, tym bardziej że swoistość tej metody jest wątpliwa (Lison 1953), a kontrola hyaluronidazą nie wpłynęła na zmianę reakcji.

Spostrzeżenia te zgadzają się z obserwacjami Picarda i Cotte'a (1959), którzy, badając przyczyny nadbarwliwości komórek nerwowych, wykluczyli za pomocą pomiarów cytofotometrycznych i metod histochemicznych wpływ RNA oraz substancji PAS-dodatnich i sudanofilnych na powinowactwo do oranżu G. Potwierdzili oni natomiast obecność grup -SH w miejscach oranżochłonnych, sugerując na podstawie porównania intensywności obu reakcji istnienie w tych miejscach innych, jeszcze nieznanymi grup chemicznych, wpływających na charakter zabarwienia.

Barwienie błękitem bromofenolowym w różnym pH, z dodatkiem i bez dodatku $HgCl_2$, wykazało, że w miejscach pojawienia się oranżo-

Ryc. 3. Oranżofilne astroblasty w *glioblastoma multiforme*. Błękit bromo-fenolowy w 10% roztworze chlorku rtęci. Pow. obj. 40 ×, ok. 10 ×.

Fig. 3. Orangeophilic astroblasts in *glioblastoma multiforme*. Bromphenol blue in 10% mercuric chloride solution. Magn. obj. × 40, oc. × 10.

Ryc. 4. Grupy -SH w komórce oranżofilnej w *glioblastoma multiforme*. Granice komórki i pozostałe struktury tkankowe niewyraźne, nie wybarwione dzięki wyjątkowej wybiórczości reakcji. Red Sulphydryl Reagent wg Benneta. Pow. obj. 90 ×, ok. 10 ×.

Fig. 4. SH groups in an orangeophilic cell in *glioblastoma multiforme*. The boundaries of the cell and remaining tissue structures are indistinct, unstained because of the exceptional selectivity of the reaction with Red Sulphydryl reagent according to Bennet. Magn. obj. × 90, oc. × 10.

Ryc. 5. Mitoza w *glioblastoma multiforme*. Metoda Pasini'ego z dodatkiem oranżu G w polichromie po dwugodzinnym metylowaniu w 60°C wg Lillie. Tkanka i komórka zmieniona długotrwałym procesem metylowania. W komórce widoczne jasne smugi pomarańczowych chromosomów. Pow. obj. 90 ×, oc. 10 ×.

Fig. 5. Mitosis in *glioblastoma multiforme*. Method of Pasini with Orange G added to the polychrome after two hours' methylation at 60° according to Lillie. The tissue and the cell are changed as a result of the prolonged methylation. Light-orange smudges in the cell are chromosomes. Magn. obj. × 90, oc. × 10.

fili występuje zwiększona ilość białek kwaśnych. Barwią się one prawdopodobnie dlatego oranżem, należącym do barwników kwaśnych, ponieważ pH polichromu jest bardzo niskie, w granicach 3,5 — 3,9. Należałoby więc rozważyć możliwości wejścia w reakcję grup -OH i -COOH. Grupy karboksylowe, które biorą udział w reakcji, mogą to być grupy N-terminalne lub grupy należące do rodników aminokwasów dwukarboksylowych, wbudowanych w łańcuchy peptydowe. Grupy C-terminalne, zrównoważone działaniem N-terminalnych grup NH_2 , nie powinny wpływać na zabarwienie struktur (Godlewski 1963).

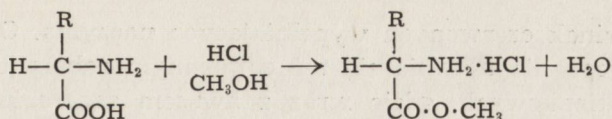
Przyjęcie to wydawało się o tyle prawdopodobne, że struktury znane z wysokiej zawartości białek zasadowych, jak np. włókna kolagenowego, bogate w prolinę i hydroksyprolinę (Pearse 1954, Baranowski 1963) zawsze wykazują powinowactwo do barwników trójfenylo-metanowych i nigdy nie barwią się oranżem. Tak samo chromatyna większości jąder, zawierająca duże ilości argininy, nie wykazuje powinowactwa do oranżu.

Nie można było szukać potwierdzenia tych przypuszczeń, stosując przyjęte w histochemii reakcje wykrywające białka; gdyż udałoby się wtedy, co najwyżej, ujawnić w strukturach oranżofilnych pewne grupy chemiczne, charakterystyczne dla rodników poszczególnych aminokwasów, jednakże byłby to tylko dowód ich obecności, ale nie dowód czynnego udziału w reakcji.

Dlatego też wprowadzono barwienie polichromowe, poprzedzone blokowaniem poszczególnych grup białkowych.

Całkowite zniesienie powinowactwa do oranżu G, po odpowiednio długim metylowaniu i przywrócenie go ze znacznym nasileniem w procesie demetylacji, dowiodło, że zjawisko oranżofilii wiąże się niewątpliwie z obecnością grup karboksylowych. Jednakże metylowanie blokuje nie tylko grupy -COOH, lecz również i grupę aminową (Baranowski 1963), chociaż niektórzy autorzy temu zaprzeczają (Pearse 1960).

Barwienie deaminowanych skrawków wykluczyło udział grup NH_2 i NH ; deaminacja znosiła bowiem eozynofilię, a po bardzo długim czasie osłabiła niebieskie zabarwienie. Wykazała ona również, że grupy -OH powstające w wyniku reakcji nie wpływają na oranżochłonność, zwiększają natomiast powinowactwo struktur do fuksyny kwaśnej. Nasilenie oranżochłonności przy równoczesnym osłabieniu eozynofilii w skrawkach demetylowanych wynika prawdopodobnie stąd, że w procesie demetylacji szybciej zostaje uwolniona grupa -COOH, niż może być rozłożony powstały przy metylowaniu chlorowodorek zgodnie z wzorem:



Zniesienie oranżofili po utlenianiu kwasem nadoctowym wydaje się zaprzeczać jakimukolwiek udziałowi grup karboksylowych w wiązaniu oranżu; nie można jednak zaprzeczyć, że oprócz swoistego utleniania wiązań bisulfidowych może przy tej dość energicznie przebiegającej reakcji dojść również do zablokowania grupy karboksylowej resztą kwasu octowego, w wyniku czego znika oranżochłonność tkanek. Przemawia za tym fakt, że utlenianie kwasem nadjodowym nie wpływa na zabarwienie oranżem i struktury tkankowe zachowują w pełni powinowactwo do tego barwnika.

Trudniej jest wytłumaczyć wzmożoną oranżochłonność występującą po długotrwałym działaniu chlorku rtęciowego, blokującego grupy -SH; najprawdopodobniej zachodzi tu zjawisko takie, jak przy barwieniu błękitem bromofenolowym z dodatkiem rtęci, tzn. białka kwaśne związane uprzednio z rtęcią wybarwiają się oranżem intensywniej, niż bez działania związków rtęciowych. Potwierdza to próba barwienia oranżem, która przeprowadzona w ten sam sposób jak barwienie błękitem bromofenolowym dała podobne rozmieszczenie intensywności zabarwienia.

Powyższe obserwacje dowodzą, że zjawisko oranżochłonności w guzach glejopochodnych jest związane z obecnością grup karboksylowych w strukturach tkankowych.

Badanie czystych aminokwasów umieszczonych w postaci kropli 1% roztworów na bibule chromatograficznej wykazało, że wiążą one wszystkie w jednakowym stopniu oranż G, a także pozostałe barwniki polichromu i nie różnią się prawie między sobą zabarwieniem.

Trawienie pepsyną, która rozbija wiązania peptydowe położone obok reszt aminokwasów aromatycznych lub dwukarboksylowych, znosiło całkowicie oranżofilię tkanek, podczas gdy bardzo długie nawet działanie trypsyny nie wpływało na zmianę powinowactwa do oranżu G. Przemawiałoby to za tym, że warunkiem wchłaniania tego barwnika jest nie tylko obecność grup -COOH, lecz konieczne jest również istnienie wiązań peptydowych, powstających między grupami karboksylowymi kwasu glutaminowego lub asparaginowego, a aminowymi innego aminokwasu.

Dziwnym objawem wydaje się fakt, że normalna tkanka nerwowa, w której kwas glutaminowy występuje w wyjątkowo dużych stężeniach, większych niż w jakiegokolwiek innej tkance (Baranowski 1963), nie wykazuje powinowactwa do oranżu, z wyjątkiem jąderek komórek nerwo-

wych i krwinek czerwonych wypełniających naczynia. Obecność kwasu glutaminowego nie ujawnia się też odmiennym zabarwieniem w astrocytach włóknienkowych, gdzie wraz z kwasem asparaginowym stanowi on znaczną część składową gliofibrilli (Bairati 1958). Natomiast w guzach glejopochodnych, mimo wyraźnie obniżonej zawartości aminokwasów dwukarboksylowych (Hemmer 1959) oranżofilia występuje w wielu strukturach.

Można by więc na tej podstawie wnioskować z zachowaniem dużych ostrożności, że oranżochłonność struktur tkankowych zależy nie od ilości aminokwasów bogatych w grupy karboksylowe, lecz od ich umieszczenia w łańcuchu peptydowym w taki sposób, który nadaje grupom -COOH charakter N-terminalnych.

WNIOSKI

1. Powinowactwo do oranżu G w nowotworach glejopochodnych barwionych polichromami kwaśnymi jest wynikiem zmienionej czynności poszczególnych struktur tkankowych, co pociąga za sobą odrębność ich właściwości chemicznych.

2. Zjawisko oranżochłonności występuje w strukturach bogatych w białka kwaśne i wiąże się z obecnością grup -COOH oraz z istnieniem wiązań peptydowych przy grupach karboksylowych aminokwasów aromatycznych lub dwukarboksylowych.

3. Zdolność wchłaniania oranżu G nie zależy od ilości aminokwasów dwukarboksylowych, lecz od ich położenia w łańcuchu peptydowym i dlatego normalna tkanka nerwowa jej nie wykazuje, mimo że może być bogatsza w kwas glutaminowy i asparaginowy niż utkanie nowotworowe.

Г. Шыдловска

ИССЛЕДОВАНИЯ ОРАНЖЕФИЛИИ НЕКОТОРЫХ СТРУКТУР В ГЛИЕГЕННЫХ ОПУХОЛЯХ ОКРАШИВАЕМЫХ ПОЛИХРОМАМИ

Содержание

Применение кислых полихромов для окраски глиегенных опухолей (Шидловска 1965а, 1965б) обнаружило разное сродство похожих морфологических тканевых элементов к красителям содержащимся в полихромах.

Проявились оранжефильные структуры находящихся в строении новообразования либо в его окружении, а не наблюдаемые в нормальной нервной ткани. Проведенные исследования показали, что способность резорбции оранже G при низком рН окрашивающей смеси, является результатом измененной функции отдельных тканевых структур, что в свою очередь влияет на особенность их химических свойств. Эти структуры отличаются богатством кислых белков и их

сродство с оранжем связано с наличием групп $-COOH$ а также с существованием пептидных связей при карбоксильовых группах ароматических либо бикарбоксильовых аминокислот. Оранжефильность не зависит однако от количества бикарбоксильовых аминокислот, а от их позиции в пептидной цепи.

H. Szydłowska

STUDIES ON ORANGEPHILIC STRUCTURES IN GLIAL TUMORS STAINED WITH POLYCHROMES

Summary

The use of acid polychromes for staining glial tumors (Szydłowska 1965a, b) revealed different degrees of affinity to dyes contained in the polychromes in morphologically similar tissue structures. Structures with affinity to Orange G were observed in and around the tumor tissue, but were both encountered in normal nervous tissues. Experiments showed that ability of absorbing Orange G at low pH of the staining mixture is due to altered activity of tissue structures associated with altered chemical properties. These structures have a high acid protein content, and their affinity to Orange G is connected with the presence of $-COOH$ groups and peptide linkages at the carboxyl group of aromatic or dicarboxylic amino acids. However, affinity to Orange G does not depend on the amount of dicarboxylic amino acids, but on their position in the peptide chain.

PIŚMIENNICTWO

1. Adams R. D.: Implications of the Biology of the Neuroglia and Microglia Cells for clinical Neuropathology. W. Windle, Biology of Neuroglia. Springfield-Illinois, 1958, 245—263.
2. Bairati A.: Fibrillar Structure of Astrocytes. W. Windle, Biology of Neuroglia. Springfield-Illinois, 1958, 66—72.
3. Baranowski T.: Podręcznik Biochemii. PZWL. Warszawa, 1963.
4. Bennet H. S.: Anat. Rec. 1951, 110, 231. cyt. wg. Pearse A. G. E.: Histochemistry theoretical and applied. J. a. A. Churchill LTD. London, 1960.
5. Borsuk I.: W sprawie barwienia rogowacenia. Folia Morph., 1963, 14, 69—70.
6. Costero I.: In Condensed Discussions of the Neuropathology. W. Windle. Biology of Neuroglia. Springfield-Illinois, 1958, 279—280.
7. Godlewski H.: Histochemia białek. Skrypt Histochemii i Cytochemii. Pol. Tow. Histochemików. Warszawa, 1963, 235—255.
8. Hemmer R.: Freie Aminosäuren, Peptide und Amine bei Hirntumoren. Das Glioblastoma multiforme. Acta Neurochirurgica. Suppl. VI. Wien (Springer-Verlag), 1959, 205—210.
9. Krupiński L.: Nowa metoda barwienia rozmazów pochwoowych. Folia Biol., 1955, III, 273—296.
10. Langeron M.: Précis de Microscopie. Masson et Cie Editeurs. Paris, 1949.
11. Lillie R. D.: The Nile Blue Reaction of peptic Gland Zymogen Granules: the Effect of Methylation and Alkali Demethylation. J. Histochem. a. Cytochem., 1958, VI, 130—132.
12. Lison L.: Histochemie et Cytochemie animales. Gauthier-Villars Editeurs. Paris, 1953.

13. Martinotti L.: Lecnica per 10 studio processo della cornificazione della cute. *Z. w. M.*, 1924, 41, 202—258.
14. Papanicolaou G. N.: *Atlas of exfoliative Cytology*. Harvard University Press. Cambridge, Mass, 1954.
15. Pearse A. G. E.: *Histochemistry theoretical and applied*. Little Brown Co. Boston, 1954.
16. Pearse A. G. E.: *Histochemistry theoretical and applied*. Churchill, London, 1960.
17. Pasini: Über eine Methode zur Demonstration der Epithelfasern in der Haut. *Monatsch. prakt. Dermat.* Bd. 40.
18. Picard D., Cotte G.: L'état hyperchromophile des cellules nerveuses. *Proceedings of the First International Congress of Neurological Sciences*. Vol. IV, 1959, 189—191, Pergamon Press, London — N. York — Paris — Los Angeles.
19. Puchtler H., Isler H.: The effect of phosphomolybdic acid on the stainability of connective tissues by various dyes. *J. of Histochem. a. Cytochem.*, 1958, 6, 265—270.
20. Szydłowska H.: Zastosowanie metody Papanicolaou w barwieniu niektórych guzów ośrodkowego układu nerwowego. *Neuropatologia Polska*, 1965, III, 125—130.
21. Szydłowska H.: Znaczenie polichromów w niektórych badaniach neuropatologicznych. *Neuropatologia Polska*, 1965, 3.

Nadesłano: 5. 8. 1965 r.

Adres autorki: Pracownia Patologii Neurochirurgicznej. Kraków, ul. Botaniczna 3.

MIECZYSLAW ŚMIALEK, KRYSZYNA WIŚNIEWSKA

CZYNNOŚĆ NIEKTÓRYCH DEHYDROGENAZ
W OKOŁONACZYNIOWYM GLEJU REAKTYWNYM
W MIAŻDŻYCY ZWOJÓW PODSTAWY

Z Zakładu Neuropatologii PAN w Warszawie
Kierownik: prof. dr med. E. Osetowska

W badaniach histochemicznych nad otoczeniem ognisk naczyniopochodnych w przebiegu miażdżycy mózgu, Friede (1962) zwrócił uwagę na wzmożenie procesów enzymatycznych oksydo-redukcyjnych. Liczni inni autorzy obserwowali nasilenie czynności tych samych enzymów w otoczeniu ognisk chorobowych o rozmaitej etiologii, którym towarzyszyły odczyny reaktywnego makrogleju (Friede 1962, Smith 1963, Wallace i wsp. 1963, Rubinstein i wsp. 1962).

W latach 1962 — 1964 Wiśniewska przeprowadziła systematyczne badania nad pograniczem mózgowo-naczyniowym w mózgach z miażdżycą bez nadciśnienia tętniczego i z nadciśnieniem. W wyniku tych badań stwierdzono (Wiśniewska 1965), że nieodwracalne uszkodzenia tkanki nerwowej poprzedzone są wzmożeniem przepuszczalności ścian naczyń śródmiaższowych, na które makroglej otoczenia odpowiada przerostem i proliferacją.

Badania podjęte obecnie miały na celu stwierdzenie, czy istnieje korelacja między stopniem nasilenia zmian miażdżycowych, przerostem i proliferacją astrogleju i aktywnością jego enzymów oksydo-redukcyjnych. W tym celu postanowiono przebadać czynność enzymatyczną dehydrogenaz związanych z cyklem przemian kwasów trójkarboksylowych, zależnych od nukleotydu dwufosfopirydynowego (DPN), a mianowicie dehydrogenazę kwasu jabłkowego (MDH), kwasu mlekowego (LDH) oraz kwasu glutaminowego (GDH).

MATERIAŁ I METODA

Badania przeprowadzono na 10 mózgach ludzkich ze zmianami miażdżycowymi, w 4 — 6 godzin po zgonie.

Z badań wyłączono przypadki, w których istniało podejrzenie, że stwierdzone w czasie sekcji zmiany w narządach wewnętrznych mogłyby wpłynąć na odczyn glejowe w mózgu.

Dla oceny procesów oksydo-redukcyjnych w pograniczu tkankowo-naczyniowym do badania histochemicznego pobierano: skorupę, jądro ogoniaste, gałkę błądą, wzgórze wzrokowe, przedmurze, korę wyspy i przylegające struktury istoty białej. Kontrolę histologiczną odczynów glejowych przeprowadzono metodami Cajala i Holzera w modyfikacji Kanzler-Arendta, a stopień zaawansowania zmian miażdżycowych oraz odczyn glejowe badano podobnie jak w pracy Wiśniewskiej (1965).

Materiał przechowywano na lodzie przez okres około godziny do momentu zamrożenia i krajano następnie w kriostacie. Skrawki grubości około 12- μ zabarwiono techniką tetrazolową z Nitro-BT (2, 2'-di-p-nitrophenol 5,5'-diphenol -3, 3' -/3, 3' dimethoxy-4, 4'-biphenyleneditetrazolium chloride) wg Novikoffa, Shin, Drukera (1960) i Hitzemana (1963), stosując poniższe modyfikacje.

Przez okres 3 minut skrawki suszono w temperaturze pokojowej, następnie utrwalono w acetonie w temp. +1°C przez 20 min. Po przemyciu buforem fosforanowym 0,05 M o pH 7,4 inkubowano przez 1 godz. w temp. 37°C.

MDH, LDH i GDH badano w mieszaninie inkubacyjnej o następującym składzie:

Substrat 0,5 M	0,1 ml
DPN 3 mg/0,1 ml	0,1 ml
Nitro - BT 1 mg /ml	0,3 ml
Bufor fosforanowy 0,1 M	
pH 7,4	0,5 ml
NaCN 0,1 M	0,02 ml

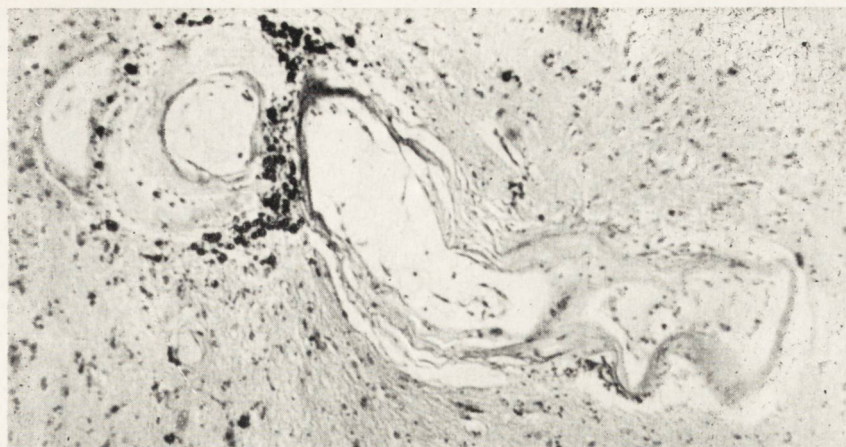
Następnie skrawki przemywano buforem, utrwalano w 10% zobojętnionym roztworze formaliny przez 10 min. i zatapiano w glicero-żelatynie. Wykonano równoległe próby kontrolne bez dodatków substratów i bez DPN.

Przy ocenie odczynów glejowych zwracano uwagę na kaliber naczyń, topografię procesu oraz stan zaawansowania zmian miażdżycowych.

WYNIKI

Badania morfologiczne. W zebranych materiale 10 mózgów stwierdzono 4 przypadki z bardzo dużymi, 3 z dużymi i 3 ze średnimi zmianami miażdżycowymi w naczyniach. Wyraźnie dało się zauważyć, że ze wzrostem zmian miażdżycowych (tab. 1) zwiększał się odczyn reaktywnego gleju w pograniczu tkankowo-naczyniowym.

W barwieniach Holzera w modyfikacji Kanzler-Arendta we wszystkich przypadkach z bardzo dużymi i z dużymi zmianami miażdżycowymi stwierdzono glejozę włóknistą okołonaczyniową (pomnożenie piliśni glejowej okołonaczyniowej) oraz glejozę rozlaną (przechodzenie piliśni glejowej z pogranicza tkankowo-naczyniowego na sąsiednią tkankę z uwidocznieniem się okołojądrowej cytoplazmy astrocyta, ryc. 1, 2, 3). W barwieniach metodą Cajala w tych przypadkach widoczne były zmia-



Ryc. 1. Naczynia powyżej $25\ \mu$ ze zmianami szklisto-włóknistymi. Widoczna w pograniczu tkankowo-naczyniowym rozluźniona tkanka nerwowa, makrofagi z barwnikiem krwiopochodnym, komórki limfocytopodobne. Łupina. Hematoksylina-eozyna. Pow. ok. $15\times$ obj. $8\times$.

Fig. 1. Blood vessels over $25\ \mu$ with fibro-hyalinuous changes. Loose nervous tissue containing macrophages loaded with blood pigment and lymphocyte-like cells at the tissue-vascular boundar. Putamen. H. E. Magn. oc. $\times 15$, obj. $\times 8$.



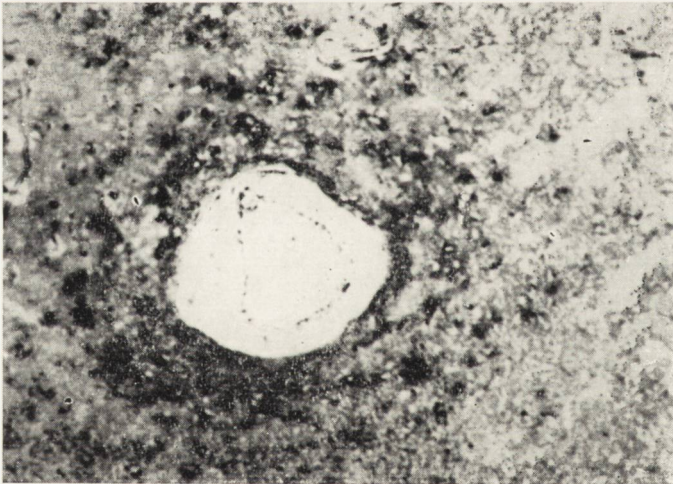
Ryc. 2. Przekrój lustrzany tych samych naczyń w barwieniu met. Holzera w modyfikacji Kanzler-Arendta. W pograniczu tkankowo-naczyniowym szeroki wał glicju włóknistego. Pow. ok. $15\times$ ob. $8\times$.

Fig. 2. Mirror cross section of the same blood vessels stained by the method of Holzer modified by Kanzler-Arendt. A wide wall of fibrous glia can be seen at the tissue-vascular boundar. Magn. oc. $\times 15$, obj. $\times 8$.



Ryc. 3. Naczynie powyżej 150 μ wybitnie stwardniałe w barwieniu metodą Cajala wykazuje wybitne pomnożenie wypustek glejowych w pograniczu tkankowo-naczyniowym. Pow. ok. 15 \times obj. 8 \times .

Fig. 3. Blood vessel over 150 μ , markedly indurated, stained by the method of Cajal, showing increased number of glial processes at the tissue-vascular boundary. Magn. oc. \times 15, obj. \times 8.



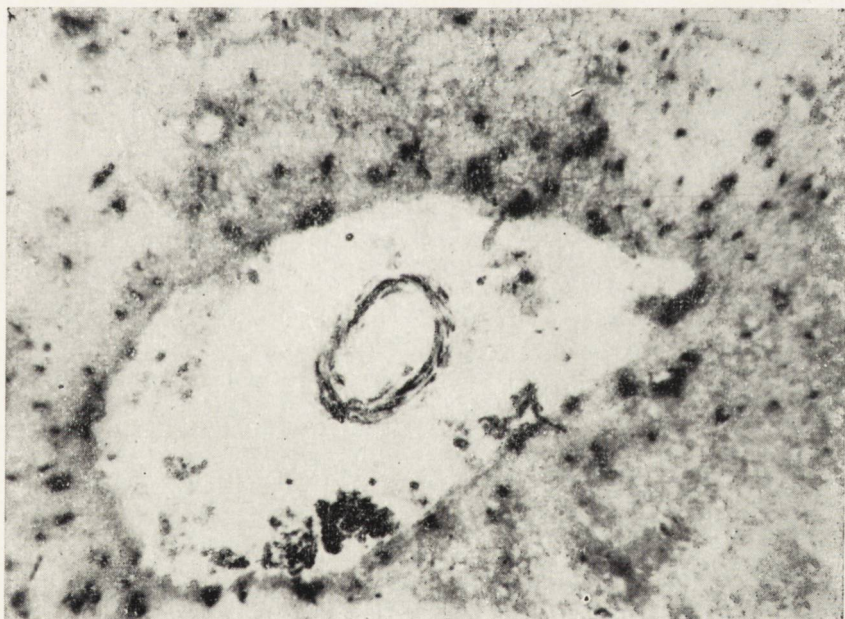
Ryc. 4. To samo naczynie z wałem reaktywnego gleju (dehydrogenaza kwasu mlekowego LDH). Brak aktywności enzymatycznej w ścianie naczynia z wyjątkiem komórek śródbłónka. Pow. ok. 15 \times obj. 8 \times .

Fig. 4. The same blood vessel with a reactive glial wall (lactic dehydrogenase LDH). Absence of enzymatic activity in the walls of the vessel, except in endothelial cells. Magn. oc. \times 15, obj. \times 8.



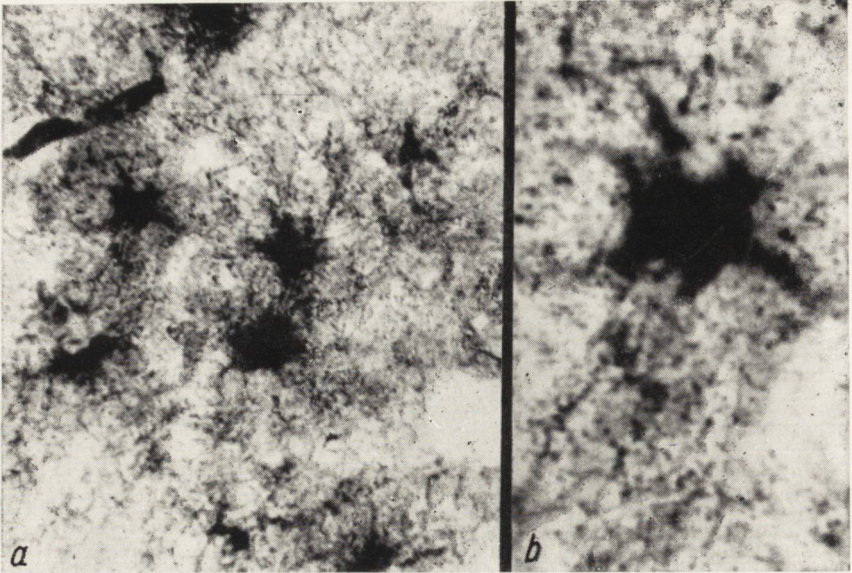
Ryc. 5. Te same naczynia, co na ryc. 1, 2, badane na enzymy oksydoredukcyjne z Nitro-BT (dehydrogenaza kwasu jabłkowego MDH). Wyraźnie wzmożona czynność enzymatyczna gleju pogranicza. Pow. ok. $15\times$ obj. $8\times$.

Fig. 5. The same blood vessel as in Fig. 1, 2, tested for redox enzymes with Nitro-BT (malic dehydrogenase MDH). Distinctly increased enzymatic activity of the limiting glia. Magn. oc. $\times 15$, obj. $\times 8$.



Ryc. 6. Jamka okołonaczyniowa. Na obwodzie wzmożona czynność enzymatyczna gleju (dehydrogenaza kwasu glutaminowego GDH). Pow. ok. $15\times$ obj. $8\times$.

Fig. 6. Perivascular cavity. Peripherally, increased enzymatic activity of the glia (glutamic dehydrogenase GDH). Magn. oc. $\times 15$, obj. $\times 8$.



Ryc. 7a, b. Hypertroficzne astrocyty ze wzmożoną czynnością dehydrogenazy kwasu jabłkowego MDH wokół naczyń. Pow. ok. $15 \times$ ob. $20 \times$ — *a*; te same astrocyty w pow. ok. $15 \times$ ob. $40 \times$ — *b*.

Fig. 7a, b. Hypertrophic astrocyte with increased malic acid activity (MDH) around blood vessels. Magn. oc. $\times 15$, obj. $\times 20$ — *a*; the same astrocytes, magn. oc. $\times 15$, obj. $\times 40$ — *b*.

ny przerostowe gleju. Nieraz obserwowano zmiany regresywne pod postacią klastomatodendrozy oraz komórek amebowatych.

W przypadkach z średnimi zmianami miażdżycowymi oraz przy naczyńiach nie zmienionych brak było w pograniczu naczyniowo-tkankowym reaktywnego gleju.

Tabela 1. Współzależność odczynów glejowych i enzymatycznych od stopnia zaawansowania zmian miażdżycowych w przypadkach badanych we wszystkich zwojach podstawy, z wyjątkiem gałki bladej

Table 1. Relation of glial and enzymatic reactions to the degree of advancement of atherosclerotic lesions in all the basal ganglia with the exception of the globus pallidus

Nr kol. mózgu No. of brain	Zmiany miażdż. Atheroscl. lesions	Odczyny reaktywnego gleju Reactions glial		Czynność enzymatyczna reaktywnego gleju Enzymatic activity of reactive glial		
		włókniste fibrinolytic	komórkowe cellular	MDH	LDH	GDH
1	+++	++	+++	+++	++	++
2	++	—	—	—	—	—
3	+++	++	++	++	++	++
4	++++	+++	++++	++++	+++	++
5	++	—	—	—	—	—
6	++++	++++	++++	++++	+++	++
7	++++	+++	++++	+++	+++	++
8	++	—	—	—	—	—
9	++++	++++	++++	++++	+++	++
10	+++	+++	+++	+++	++	+

Stwierdzono ponadto, że odczyny gleju włóknistego, okołonaczyniowego, przy naczyńiach powyżej 25- μ , były proporcjonalne do nasilenia zmian miażdżycowych, zaś glejoza włóknista, rozlana, występująca przy wszystkich kalibrach naczyń, była zależna przede wszystkim od obrzęku towarzyszącego ogniskom naczyniopochodnym.

Największe nasilenie zmian miażdżycowych stwierdzono w gałce bladej, następnie w łupinie, w głowie jądra ogoniastego, przedmurzu i wzgórzu wzrokowym.

Odczyny reaktywnego gleju najbardziej nasilone były w łupinie, gdzie poza tym w przeszło połowie przypadków stwierdzono mikromartwice pod postacią okołonaczyniowych jamek.

Nieco mniej reaktywnego gleju w pograniczu tkankowo-naczyniowym stwierdzono w głowie jądra ogoniastego, przedmurzu i wzgórzu wzrokowym. W gałce bladej natomiast reakcje glejowe były najmniejsze.

W strukturach istoty białej, zwłaszcza w przypadkach obrzęku, glejoza włóknista i komórkowa były najwybitniejsze.

W barwieniu przeglądowym, w pograniczu tkankowo-naczyniowym przy bardzo zaawansowanych zmianach miażdżycowych stwierdzano często rozluźnioną strukturę tkankową, upostaciowane i nieupostaciowane elementy krwi (makrofagi nieraz z hemosyderyną, krwinki czerwone, komórki limfocytopodobne). Poza tym w komórkach jąder podstawy obserwowano często zmiany typowe dla zwyrodnienia tłuszczowego.

Badania histochemiczne. W zależności od narastania zmian miażdżycowych, wzrost aktywności badanych dehydrogenaz widoczny był przede wszystkim w okołojądrowej cytoplazmie astrocytów. Dlatego też pełną korelację między badaniami histologicznymi a histochemicznymi można było przeprowadzić wówczas, gdy barwienia histologiczne uwidaczniały nie tylko wypustki, ale i całą komórkę.

Wokół wielu naczyń z bardzo dużymi zmianami miażdżycowymi i towarzyszącymi tym zmianom opustoszeniami okołonaczyniowymi, wał reaktywnego astrogleju wykazywał mocno nasiloną czynność MDH, LDH i GDH pod postacią złogów barwy niebieskofioletowej (ryc. 4). Aktywność enzymatyczna w wypustkach astrocytów uwidaczniała się w postaci drobnych ziaren dwuformozanu, występujących głównie w części przykomórkowej. Wokół naczyń z dużymi zmianami miażdżycowymi, odpowiednio do mniej bogato-komórkowych odczynów glejowych aktywność dehydrogenaz była słabsza (ryc. 5).

Astroglej pogranicza tkankowo-naczyniowego w obecności średnich zmian miażdżycowych nie uwidacznia się (tab. 1).

Powyżej opisane zmiany wzmożonej aktywności MDH, LDH i GDH najwyraźniej występowały w obrębie łupiny, następnie głowy jądra ogoniastego, przedmurza i wzgórza wzrokowego.

W gałce bladej, mimo najbardziej zaawansowanych zmian miażdżycowych, obserwowano sporadycznie pierścieniowate układy gleju reaktywnego z wzmożoną aktywnością badanych dehydrogenaz.

W łupinie, gdzie stwierdzono liczne jamki okołonaczyniowe, na ich obwodzie obserwowano w komórkach reaktywnego astrogleju wysoką czynność enzymatyczną (ryc. 6).

W przypadkach, w których obok zaawansowanych zmian miażdżycowych występował duży obrzęk, widoczne było nasilenie czynności dehydrogenazowej najwyraźniej w obrębie struktur białych.

W obrębie ścian naczyń wraz z nasileniem zmian miażdżycowych wyraźnie ulega zmniejszeniu czynność MDH, LDH i GDH (ryc. 4).

Poza reaktywnym glejem i naczyniami, obserwowaliśmy następującą czynność enzymatyczną w tkance: w obrębie skorupy, jądra ogoniaste-

go i przedmurza widoczne było rozlane, fioletowe zabarwienie podłoża z drobnymi ziarnistościami dwuformozanu, bez możliwości wyodrębnienia elementów komórkowych, w gałce bladej, na tle różowo wybarwionych struktur istoty białej, bardzo dużą aktywność dehydrogenazową wykazywała cytoplazma neuronów, wzgórze przedstawiało obraz pstry. Największa czynność enzymatyczna obserwowana była w neuronach jądra przysrodkowego. Szlaki istoty białej wybarwiały się na różowo, a w komórkach oligodendrogleju stwierdzało się słabą czynność przebadanych enzymów.

Z badanych enzymów, niezależnie od badanych struktur i stopnia zaawansowania zmian patologicznych, największą aktywność wykazywała MDH, tylko nieco słabszą LDH, a najniższą GDH.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdziliśmy, z wyjątkiem gałki bladej, zbieżność między narastaniem zmian miażdżycowych, glejową astrogleju a nasileniem reakcji enzymatycznych.

Występowanie najbardziej zaawansowanych zmian miażdżycowych w obrębie naczyń gałki bladej (badania Markiewicz 1965, potwierdzone w naszych obserwacjach) przy bardzo skąłym odczynie glejowym pogranicza tkankowo-naczyniowego i słabym nasileniu aktywności badanych dehydrogenaz przemawia za tym, że odczyny glejowe i wzmoczenie czynności enzymów oksydo-redukcyjnych astrogleju nie są tylko uwarunkowane zmianami miażdżycowymi naczyń. Widocznie różnice topograficzne są przyczyną tego, że ten sam glej w przypadku nawet bardziej zaawansowanej miażdżycy w obrębie gałki bladej potrafi spełniać swoje funkcje bez konieczności uwidocznienia zarówno histologicznie, jak i enzymatycznie wzmoczenia przemian komórkowych.

Topograficzne różnice w czynności enzymatycznej prążkowania i gałki bladej zaobserwowali Kodousek i Kolin (1960) oraz Friede (1962). Nasze obserwacje w zakresie badania aktywności MDH, GDH i LDH pokrywają się z badaniami powyższych autorów w odniesieniu do SDH.

Wszystkie badania porównawcze w metodach histochemicznych sugerują związek aktywności enzymatycznej z reakcjami biochemicznymi gleju okołonaczyniowego w poszczególnych jądrach podstawy. Słabsza aktywność reakcji glejowej gałki bladej powoduje słabszą aktywność dehydrogenazową gleju pogranicza tkankowo-naczyniowego. Jądro to nie reaguje tak szybko i intensywnie na zmienione warunki pod wpływem uszkodzonych przez proces miażdżycowy naczyń krwionośnych.

WNIOSKI

1. Wokół naczyń z bardzo dużymi i dużymi zmianami miażdżycowymi stwierdzono występowanie wału reaktywnego astrogleju z wzmoczoną czynnością MDH, LDH i GDH w obrębie komórek astrocytów.
2. Współzależność zmian miażdżycowych i odczynu glejowego zaobserwowano w obrębie skorupy, jądra ogoniastego, przedmurza, wzgórze wzrokowego i istoty białej.
3. W gałce bladej, mimo największych zmian miażdżycowych, reakcje gleju przedstawiały się o wiele słabiej w porównaniu z pozostałymi strukturami badanymi.
4. W obrębie skorupy i jądra ogoniastego w przypadkach z bardzo dużymi i dużymi zmianami miażdżycowymi o wiele liczniej niż w pozostałych jądrach podstawy stwierdzono przynaczyniowe jamki z reaktywnym glejem na obwodzie i wzmoczoną czynnością badanych dehydrogenaz.
5. Przy objawach ogólnego obrzęku występowała rozlana glejoza z wzmoczoną czynnością dehydrogenazową, najsilniej wyrażona w istocie białej, skorupie i jądrze ogoniastym.
6. Stwierdzono zarówno w tkance, jak i w gleju reaktywnym w pograniczu tkankowo-naczyniowym w miażdżycy mózgu największą czynność MDH, nieco niższą LDH, a najmniejszą GDH.
7. Wzmoczona czynność enzymów oksydo-redukcyjnych nie jest specyficzna dla procesu miażdżycowego, lecz dla odczynów hyperplastycznych i proliferacyjnych astrogleju.

M. Смялэк, К. Висневска

АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ДЕГИДРОГЕНАЗ
В ОКОЛОСОСУДИСТОЙ РЕАКТИВНОЙ ГЛИИ В АТЕРОМАТОЗЕ ГАНГЛИЕВ
ОСНОВАНИЯ

Содержание

Исследовались участки ганглиев основания в 10 мозгах человека с атероматозными изменениями, среди некоторых в 4 случаях наблюдались сильно выраженные, в 3-ех — выраженные и в 3-ех — умеренные атероматозные изменения.

Гистологический анализ глиевых реакций проводился по методу Кайяля и Халцера в модификации Канцлер-Арендта, а степень выраженности атероматического процесса оценивался методами гематоксилин-эозин и ван Гизон; как указано в работе Висневской (1965 г.).

Гистохимическое исследование активности дегидрогеназ яблочной кислоты (MDH), молочной кислоты (LDH) и глутаминовой кислоты (GDH) проводилось

с Нитро-ВТ по методу Новикова, Шин, Друккера (1960 г.) и Хитцемана (1963 г.) применяя необходимые модификации в составе инкубационной жидкости.

В так исследованном материале в случаях с сильно выраженным и выраженным атероматозом обнаружили валы реактивной астроглии с повышенной активностью MDH, LDH и GDH.

Взаимозависимость атероматозных и глиевых реакций наблюдали в пределах шелухи, хвостатого ядра, оградаы, зрительного бугра и белого вещества.

В бледном шаре несмотря на максимально выраженные атероматозные изменения не наблюдали повышенной активности исследуемых дегидрогеназ в околососудистом пространстве а только в немногочисленных случаях реакций глии в сравнении с остальными исследованными структурами была на много слабее.

В пределах шелухи и хвостатого ядра в случаях с сильно выраженными и выраженными атероматозными изменениями значительно чаще чем в других ядрах основания наблюдались околососудистые лакуны и микронекрозы с реактивной глией по периферии и повышенной активностью исследуемых гидрогеназ.

При явлениях обобщенного отека наблюдался генерализованный глеиоз с повышенной активностью дегидрогеназ, причем максимально выраженный глейоз отмечался в белом веществе, шелухе и хвостатом ядре.

Так в ткани, как и в реактивной глии околососудистого пространства в атероматозе мозга была обнаружена самая высокая активность MDH, затем LDH и самая низкая GDH.

Повышение активности оксидоредуктивных энзимов не является специфическим для атероматозного процесса, но для гиперпластической и пролиферационной реакции астроглии.

M. Śmiałek, K. Wiśniewska

ACTIVITY OF SOME OF THE DEHYDROGENASES IN PERIVASCULAR REACTIVE GLIA IN ATHEROSCLEROSIS OF THE BASAL GANGLIA

Summary

The region of the basal ganglia was studied in 10 human brains exhibiting atherosclerotic lesions, which were very extensive in 4 cases, extensive in 3, and moderate in 3 cases.

The glial reactions were checked histologically by the method of Cajal and Holzer modified by Kanzler-Arendt, and the degree of advancement of the atherosclerotic lesions in preparations stained with hematoxylin-eosin and according to van Gieson, as in the work of Wiśniewska (1965).

Activities of malic dehydrogenase (MDH), lactic dehydrogenase (LDH), and glutamic dehydrogenase GDH were studied with Nitro-BT by the method described by Novikoff, Shin, Drucker (1960) and Hitzeman (1963) with the necessary modifications of the incubation fluid.

In cases with very extensive and extensive atherosclerotic lesions, a wall of reactive astroglia with increased MDH, LDH and GDH activities was observed.

Relations between atherosclerotic lesions and glial reactions were observed in the putamen, caudate nucleus, claustrum, optic thalamus and white substance.

In the globus pallidus, despite advanced atherosclerotic lesions, activity of the studied dehydrogenases was not observed at the tissue-vascular boundary. In a few cases only, a weak glial reaction, compared with the other structures, was present. In the remaining basal nuclei, paravascular lacunae and micronecrosis with peripheral reactive glia and increased dehydrogenase activity were seen.

When symptoms of generalized edema were present, diffuse gliosis with increased dehydrogenase activity occurred, especially in the white substance, putamen and caudate nucleus.

In cerebral atherosclerosis, the tissues as well as reactive glia on the tissue-vascular boundary showed strongest activity of MDH; activity of LDH was weaker, and that of GDH weakest.

Increased activity of redox enzymes is not specific for atherosclerosis, being typical of hyperplastic and proliferative astroglial reactions.

PIŚMIENNICTWO

1. Friede R. L.: The cytochemistry of normal and reactive astrocytes. *J. Neuro-path. Exper. Neurol.*, 1962, 21, 471—478.
2. Friede R. L.: An enzyme histochemical study of cerebral arteriosclerosis. *Acta Neuropath.*, 1962, 2, 58—72.
3. Hitzeman J. W.: Observation the subcellular localisation of oxidative enzymes with nitro blue tetrazolium. *J. Histochem. Cytochem.*, 1963, 11, 62—70.
4. Kodousek R. von, Kolin A.: Neuroenzymologische Beobachtungen am menschlichen Zentralnervensystem unter Anwendung von einigen „Dehydrogenase Makroreaktionen“. *Acta Histochem.*, 1960, 10, 133—138.
5. Markiewicz D.: Badania porównawcze zmian miażdżycowych i stwardnienieowych w naczyniach krwionośnych zwojów podstawy mózgu, ze szczególnym uwzględnieniem gałki błędej. *Neuropatologia Polska*, 1966 (w druku).
6. Novikoff A. B., Shin W. Y. and Drucker J.: Cold — Acetone fixation for enzyme localisation in frozen section. *J. Histochem.*, 1960, 8, 37—40.
7. Rubinstein L. J., Klatzo I. and Miquel J.: Histochemical observations on oxidative enzymes activity of glial cells in a local brain injury. *J. Neuro-path. Exper. Neurol.*, 1962, 21, 116—136.
8. Smith B.: Dehydrogenase activity in reactive and neoplastic astrocytes. *Brain*, 1963, 86, 89—94.
9. Wallace B., Volk B. W. and Lazarus S. S.: Glia cell enzyme alternations in infantile amaurotic family idiocy (Tay-Sachs disease). *J. Neurochem.*, 1963, 10, 439—446.
10. Wiśniewska K.: Badania morfologiczne nad zachowaniem się granicznej błony glejowej okołonaczyniowej w przypadkach miażdżycy naczyń mózgowych z nadciśnieniem i bez nadciśnienia. *Neuropatologia Polska*, 1965, 3, 321—349.

Nadesłano: 7.XII.1965.

Adres autorów: Zakład Neuropatologii PAN, Warszawa, ul. Pasteura 3.

HANNA SZYDŁOWSKA, JÓZEF KALUŻA

ON THE POSSIBILITY OF SELECTIVE STAINING
OF DNA AND RNA USING TOLUIDINE BLUE AND RELATED DYES

From Laboratory of Neurosurgical Pathology Polish Academy of Sciences
Director: Prof. Dr A. Kunicki

Toluidine blue, which is used in a modification of Nissl's method for staining nervous elements, stains not only nuclei but also tigroid or Nissl's substance, a typical component of nervous cells. The property of nuclear substance of staining with basic dyes depends on its high content of nucleic acids (Einarson 1933, 1957). This has been confirmed by Cassperson and his school, who showed that nuclear chromatin absorbs ultraviolet rays of a wavelength characteristic for nucleic acids. Casperson (1941), and later Brachet (1942 — cit. after Lison 1953), showed that the chromophilic substance of Nissl's bodies is RNA (Vanderly, Vanderly 1959). Basing on these observations and on the results of studies of metachromasia in solutions of basic dyes (Lison, Kelley, Miller, Michaelis, cit. according to Lison 1953, Sylvén 1954, Grauman and Musso 1959) toluidine blue was used in histochemical methods for identifying nucleic acids (Brachet 1953). Although known previously, due to the introduction of new staining procedures this method has been little used until recently. At present, however, increasing use is being made of it, especially in relatively quantitative estimations of the nucleic acids (Vorbrodts, Godlewski, Dux 1958) or to show that they are in special fine structures of the cell, eg. mitochondria of the nervous cell (Schabadasch 1958a, 1958b), because of the transparency of the slides, which makes possible the use of high enlargements.

While using a modification of Nissl's method based on toluidine blue, in some slides dark blue or greenish blue staining of the nuclear chromatin was observed, while Nissl's substance and the nucleolus showed a reddish violet color corresponding to so-called „beta” metachromasia (Lison 1953). This observation was thought to be interesting in view of the fact that up to now methods of visualizing nucleic acids by means of toluidine blue have not permitted a differentiation of the two types.

Therefore, using Nissl's method, it was decided to try to work out a method enabling, if possible, such differentiation in all tissue-slides. Also, an attempt was made to maintain the same conditions, indispensable for demonstrating the nucleic acids with the basic dyes, which is not possible with Nissl's method.

As the result of our experiments the following technique was adopted:

1. Small sections of fresh tissue were fixed in Carnoy's solution (6:3:1) for 2 to 6 hours, methyl alcohol being substituted for ethyl alcohol.

2. The fixed sections were transferred to methyl benzoate or methyl alcohol for 24 hours.

3. After passing through methyl benzoate or methyl benzoate-celloidin, the sections were imbedded in paraffin.

4. Sections 5 — 10 microns thick after deparaffinizing were transferred from distilled water for 5 min. to McIlvain buffer of pH 4,5 — 4,7.

5. Stain for 20—30 min. in mixture of equal parts of M/3000 solution of toluidine blue and McIlvain buffer of pH 4,5 — 4,7, at temperature 49° — 50°C.

6. Without washing in water, the tissue-slides were transferred to anhydrous methyl alcohol and differentiated for 30 to 60 seconds until the nuclei assumed a dark blue or bluishgreen color.

7. The tissue-slides were dehydrated by passing them through mixtures of acetone and xylene:

a) acetone 95 ml + xylene 5 ml — 5 min.

b) acetone 70 ml + xylene 30 ml — 5 min.

c) acetone 30 ml + xylene 70 ml — 5 min.

d) acetone 5 ml + xylene 95 ml — 5 min.

8. Cleared in pure xylene (5 minutes), mounted in Canada balsam dissolved in chloroform (not xylene!).

Results: Nucleic chromatin is stained dark blue or greenish-blue, nucleolus and Nissl's substance — reddish violet (beta-metachromasia). Some of the polysaccharides may be stained purpule (gamma-metachromasia).

A modification of Nissl's method based on toluidine blue is generally applied to material fixed in 96% ethyl alcohol, frequently changed. However, similar results were obtained with material fixed in Carnoy's solution (Strumann 1915). Fixation as prescribed in Nissl's original method is not recommended because ethyl alcohol produces irreversible changes in the structure of DNA (White and Elmes 1952, Pearse 1954). For this reason we have replaced ethyl alcohol with the more weakly active methyl alcohol.

Using 0.005% or M/6000 stain solution, an attempt was made to stabilize the metachromasia, which disappears when the acidity of the solution grows and the dye is not diluted proportionally to the decreasing pH (Graumann and Musso 1959).

The aqueous solution of the dye, which is used in Nissl's method, changes its hydrogen ion concentration, depending on the pH of wa-

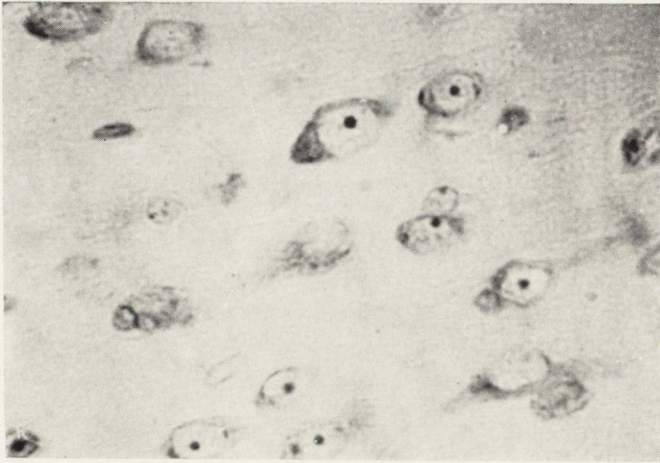


Fig. 1. Normal cerebral cortex. Toluidine blue. Magn. 40×10 .

Ryc. 1. Prawidłowa kora mózgowa. Błękit toluidyny. Pow. 40×10 .

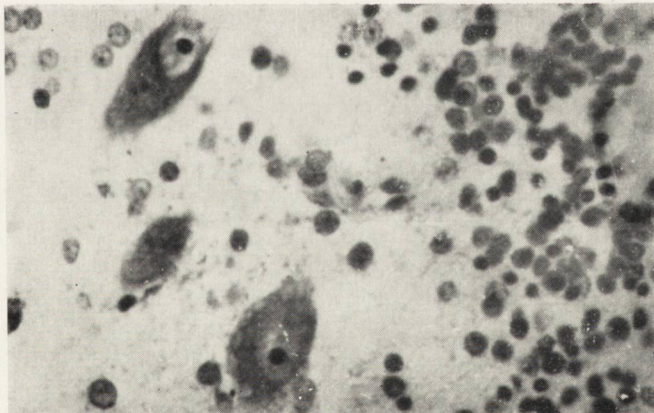


Fig. 2. Cerebellum. Brillantercresylblue. Magn. 40×10 .

Ryc. 2. Mózdzek. Błękit krezyłowo-brylantowy. Pow. 40×10 .

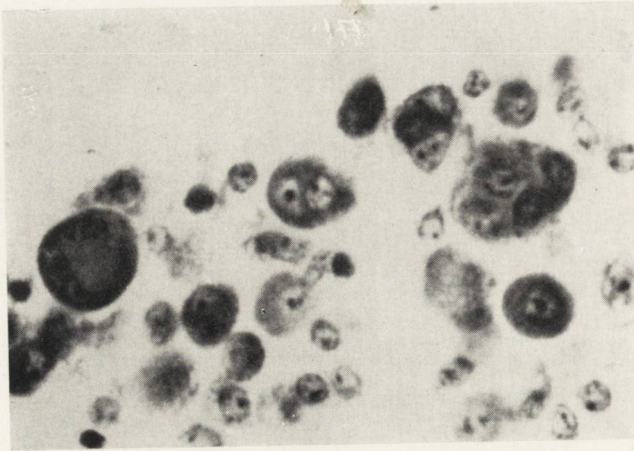


Fig. 3. Glioblastoma multiforme. Toluidine blue. Magn.
40 × 10.

Ryc. 3. Glejak wielopostaciowy. Błękit toluidyny. Pow.
40 × 10.

ter. The aqueous solution was replaced by buffered solution of pH 4.5 — 4.7, which is the best for staining nucleic acids (Lison 1953, Schabadasch 1958a, 1958b).

Staining was carried out at temperature 49° — 50° C.

The staining temperature may affect unfavorably acids nucleic, especially RNA, which readily undergoes hydrolysis at higher temperatures, 65° C (Lison 1953), 70° — 90° C (Pearse 1954), and may be washed out of tissues even by distilled water after one hour at 65° C, as shown by Brachet (1941, cit. according to Lison 1953). We believe that significant loss of RNA need not be expected during the relatively short staining time, because of the use of the method only for localisation and identification, even a slight loss of nucleic acids does not influence the true picture of their distribution.

Slides were dehydrated in a mixture of acetone and xylene, since we observed that dehydration in alcohol may change the metachromatic staining.

Besides toluidine blue, we have used also methylene blue, azure I, azure II, brilliant cresyl blue and the mixture of methylene blue and azure I (1 : 2), as well as of methylene blue and thionine (1 : 2); however, we could not get such precise and reproducible results as described with toluidine blue.

When the tissue-slides were compared with others treated by ribonuclease and with slides stained by Brachet's test or by Feulgen's method, it was found that the dark blue or greenish blue color corresponds to DNA and the reddish violet color to RNA.

We have not done spectrophotometric measures, but on the basis of histochemical control-methods specific for nucleic acids, it can be concluded that staining with toluidine blue allows not only to show both nucleic acids, but also to differentiate between DNA and RNA.

H. Szydłowska, J. Kałuża

W SPRAWIE MOŻLIWOŚCI WYBIÓRCZEGO BARWIENIA DNA I RNA PRZY UŻYCIU BŁĘKITU TOLUIDYNY I POKREWNYCH BARWNIKÓW

Streszczenie

W preparatach barwionych błękitem toluidyny wg metody Nissla obserwuje się niekiedy zjawisko beta metachromazji występujące w strukturach zawierających kwas rybonukleinowy, takich jak tigroid czy jąderko.

Autorzy przeprowadzili próbę wykorzystania tego zjawiska dla różnicowego barwienia struktur zawierających RNA i DNA, występujących w prawidłowej i nieprawidłowej tkance. Zastosowano technikę, przy pomocy której struktury

zawierające DNA wybarwiają się na kolor ciemnoniebieski (ortocheomatycznie), podczas gdy organelle komórkowe zawierające RNA barwią się czerwono-fioletowo (beta metachromazja).

Związki o charakterze mukopolisacharydów wykazywały w tych warunkach gama-metachromazję, barwiąc się w odcieniu czerwono-purpurowym.

Użycie pokrewnych barwników zasadowych dało identyczne wyniki.

Г. Шыдловска, Ю. Калужа

К ВОПРОСУ О ВОЗМОЖНОСТИ ЭЛЕКТИВНОЙ ОКРАСКИ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕИНОВОЙ (ДНК) И РИБОНУКЛЕИНОВОЙ (РНК) КИСЛОТ С ПОМОЩЬЮ ТОЛУИДИНБЛАУ И ПРОИЗВОДНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ

Содержание

В препаратах окрашиваемых толуидинблау по методу Ниссля можно отметить явление бета метахромазии, появляющееся в структурах содержащих рибонуклеиновую кислоту, напр. тигроид либо ядрышко.

Проводилась попытка использовать данное явление для дифференциальной окраски структур содержащих РНК и ДНК, находящихся в нормальной и измененной ткани. Применялась техника, при которой структуры, содержащие ДНК — окрашивались в темно-синий цвет (ортохроматически), а клеточные органеллы, содержащие РНК — в красно-фиолетовый цвет (бета метахромазия).

Соединения носящие характер мукополисахаридов в этих условиях проявляли гамма-метахромазию, окрашиваясь в красно-пурпурный цвет.

При применении производных щелочных красителей были получены аналогичные результаты.

REFERENCES

1. Brachet J.: La localisation des acides pentosenucleiques dans les tissus animaux et les oeufs d'Amphibiens en voie developpement, Arch. Biol., 1942, 53, 207—257.
2. Brachet J.: The use of basis dyes and ribonuclease for cytochemical detection of ribonucleic acid. Quart. J. Micr. Sci., 1953, 94, 1—10.
3. Caspersson T., Landström-Hyden H., Wohlfart G.: Über den Nukleotidumsatz der Nervenzelle. Z. Mikr. Anat. Forsch., 1941, 49, 534—548.
4. Einarsson L.: Notes on the morphology of the chromophil material of nerve cells and its relation to nuclear substances. Amer. J. Anat., 1933, 53, 141—176.
5. Einarsson L.: Cytological aspects nucleic acid metabolism in D. Richer, Metabolism of the nervous system. Pergamon Press, 1957, 403—422.
6. Graumann W., Musso H.: Histologische Prüfung der metachromogenen Wirksamkeit verschiedener Toluidinblau — und Azur A-Präparate. Zeitschr. f. Zellfomikr. Anat. Abt. Histochemie, 1959, 1, 196—205.
7. Lison L.: Histochemie et cytochemie animales. Gauthier-Villars, Paris, 1953, VIII, 94; XIV, 253.

8. Pearse A. G. E.: *Histochemistry Theoretical and Applied*. Little Brown Co. Boston, 1954.
9. Sturmman F. J.: Die Herstellung und Färbung von Serienpräparaten der Gehirne kleiner Tiere. *Zeitschr. Mikrosk.*, 1915, 32, 152—159.
10. Schabadasch A. L.: Strukturno-chemiczeskije osnovy biologičeskoj organizacii nerwnoj sistemy. Soobszczenije. I. Bazofilnyje struktury citoplazmy nejrona. *Arch. Anat. Gist. Embr.*, 1958, 35/4, 3—13.
11. Schabadasch A. L.: Strukturno-chemiczeskije osnovy biologičeskoj organizacii nerwnoj sistemy. *Arch. Anat. Gist. Embr.*, 1958, 35/1, 3—12.
12. Sylvén B.: Metachromatic dye-substrate. *Quart. J. micr. Sci.*, 1945, 95, 327—358.
13. Vendrely C., Vendrely R.: *Handbuch der Histochemie*. Bd. III. Abt. III. Nucleoproteide. Graumann u. Neumann. Struttgart, 1959.
14. Vorbrodt K., Godlewski H., Dux K.: Zmiany względnej zawartości kwasów nukleinowych w miejscowo napromienionym naskórku szczura. *Folia Morph.*, 1958, 9/1, 39, 48.
15. White J. C., Elmes P. C.: Basic-dyes. *Nature*, 1952, 169, 151—160.

Nadesłano: 3.VII.1965.

Adres autorów: Zakład Patologii Neurochirurgicznej, Kraków, ul. Botaniczna 3.

ERRATA AD No 1/66

W pracy Z. M. Rapa (str. 23—32) zostały zamienione ryciny nr. 3 i 4 z rycinami nr 3 i nr 4 pracy E. Osetowskiej (str. 97—110).

In the work of Z. M. Rap (page 23—32) fig. No 3 and No 4 has been changed with fig. No 3 and No 4 in the work of E. Osetowska (page 97—110).

HANNA JĘDRZEJOWSKA, ANNA FIDZIAŃSKA

ZMIANY WE WRZECIONACH MIĘŚNIOWYCH W CHOROBYCH MIĘŚNI

Z Kliniki Neurologicznej AM w Warszawie
Kierownik: prof. dr med. I. Hausmanowa-Petrusewicz

Rozwój miopatologii, obserwowany w ciągu ostatnich lat, przyczynił się znacznie do rozszerzenia naszej wiedzy o charakterze i mechanizmie powstawania zmian w mięśniach. Przedmiotem badań były przede wszystkim zewnątrzwrzecionowe (ekstrafuzalne) włókna mięśniowe; niewiele natomiast uwagi poświęcono wrzecionom mięśniowym. Nieliczne obserwacje poszczególnych autorów poświęcone temu zagadnieniu różnią się między sobą. Brak jest jednolitości poglądów co do częstości i charakteru zmian, występujących we wrzecionach w chorobach nerwowo-mięśniowych. Adams, Denny-Brown i Pearson (1962) uważają, że wrzeciona mięśniowe są bardzo odporne na działanie czynników szkodliwych i w bezwzględnej większości chorób mięśni nie ulegają żadnym zmianom. Podobnych danych dostarczają obserwacje Mumenthalera (1963). Inni autorzy twierdzą, że zmiany we wrzecionach spotyka się dość często i to zarówno w uszkodzeniach neurogennych mięśni, jak i w grupie miopatii (Lapresle i Milhaud 1964, Sala 1915, Daniel i Strich 1964).

Ze względu na brak oryginalnego piśmiennictwa polskiego na temat wrzecion mięśniowych przypominamy na wstępie podstawowe dane dotyczące ich obrazu morfologicznego.

Wrzeciona mięśniowe opisane po raz pierwszy przez Weismanna w 1861 r. stały się przedmiotem prac wielu badaczy w drugiej połowie XIX i na przełomie XIX i XX wieku. Największe zasługi położyli na tym polu Ruffini i Sherrington. Ustalili oni podstawowe dane tak anatomiczne, jak i fizjologiczne, które przez kilkadziesiąt następnych lat przetrwały prawie bez zmian. W związku z rozwojem badań elektrofizjologicznych ponowny wzrost zainteresowania wrzecionami mięśniowymi daje się zauważyć w latach trzydziestych i czterdziestych. Na następne lata przypada okres rozszerzania badań nad morfologią wrzeciona mięśniowego. Współczesne dane dotyczące budowy i czynności

wrzecion mięśniowych zawdzięczamy pracom Coërsa i Duranda (1956), Barkera i Cope (1962), Boyda (1962a), Coopera i Daniela (1963), Matthews (1964) oraz Coërsa (1964). Mimo wielu spornych kwestii, większość autorów zgadza się z następującą charakterystyką morfologiczną wrzeciona mięśniowego: *)

Wrzeciono mięśniowe ma zwykle kilka milimetrów długości, a szerokość jego w części równikowej nie przekracza 200 μ . Torebka wrzeciona utworzona jest z warstw tkanki włóknistej i jednej warstwy śródbłonka. Pomiedzy warstwami leżą naczynia krwionośne, cienkie nerwy oraz pewna ilość tkanki sprężystej. Wrzeciono mięśniowe zawiera od 2 do 14 tzw. wewnątrzwrzecionowych włókien mięśniowych (intrafuzalnych). Wyróżnia się dwa rodzaje włókien: „nuclear bag” oraz „nuclear chain” **)

Włókna I typu są szersze i w odcinku równika posiadają dużą ilość okrągłych jąder, które wypełniają prawie cały przekrój włókna, spychając na obwód nieliczne włókienka mięśniowe. W okolicy tej szerokość włókien wynosi około 50 μ , natomiast w odcinku między równikiem a biegunami 15—20 μ . Włókna tego typu często wychodzą poza torebkę. Włókna II typu są węższe i posiadają rząd centralnie położonych jąder w okolicy równika; w odcinku tym ilość włókienek mięśniowych jest mniejsza. Szerokość włókien tego typu waha się w granicach 6—10 μ . Włókna obu typów wykazują w odcinku pomiędzy biegunem a równikiem bardzo wyraźne poprzeczne prążkowanie. Włókna I typu otoczone są nieznaczną ilością pasm włókien sprężystych; czasem wewnątrz wrzeciona widoczne są wyraźne przegrody łączno-tkankowe.

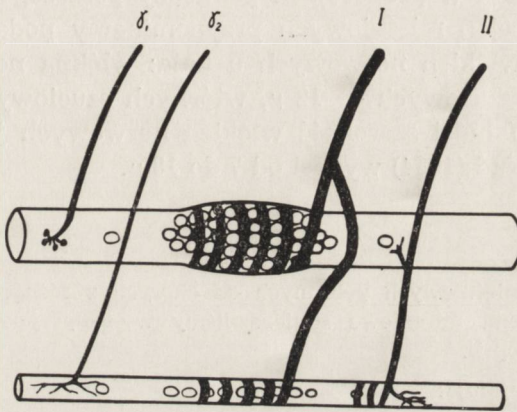
Podana powyżej charakterystyka nie wyczerpuje wszystkich odmian strukturalnych wrzeciona mięśniowego; ograniczono się jedynie do podania szczegółów anatomicznych, których ocena ma, naszym zdaniem, znaczenie w stanach chorobowych.

Wrzeciono mięśniowe posiada bardzo bogate unerwienie tak do- jak i odśrodkowe (Schemat 1, ryc. 1). Pojedyncze wrzeciono unerwione jest przeciętnie przez kilkanaście włókien nerwowych. Większość autorów uważa, że wrzeciono posiada 2 typy zakończeń ruchowych i 2 typy zakończeń czuciowych. W zakresie unerwienia czuciowego wyróżnia się zakończenia pierwotne i wtórne. Pierwotne odpowiadają dawnemu pojęciu zakończeń annulo-spiralnych i umiejscowione są tylko w części równiko-

*) Dane dotyczą wrzecion mięśniowych bezwzględnej większości mięśni szkieletowych. Niemniej, w niektórych mięśniach, jak np. zewnętrznych oka, wrzeciona mięśniowe wykazują inną budowę, co związane jest prawdopodobnie z ich inną czynnością (Sas i Appeltauer 1963).

**) Do czasu ustalenia polskiego mianownictwa proponujemy określenia: I typ włókien („nuclear bag”), II typ („nuclear chain”).

wej włókien mięśniowych obu typów (ryc. 2). Odchodzi od nich jedno lub dwa grube mielinowe włókna nerwowe. Wtórne zakończenia występują we włóknach II typu. Zagadnienie, czy znajdują się w kontakcie z włóknami I typu, jest sprawą sporną. Zakończenia te, w postaci cienkich rozchodzących się gałązek, umiejscowione są w odcinku pomiędzy równikiem a biegunem wrzeciona. Zwykle posiadają one jedno włókno odprowadzające, cieńsze od włókna odchodzącego od pierwotnych zakończeń.



Boyd 1962

Schemat 1.

Scheme 1.

Ogólnie przyjęty jest pogląd o istnieniu dwu typów zakończeń ruchowych we włóknach mięśniowych, natomiast sporną jest kwestia ich pochodzenia oraz dokładnego umiejscowienia. Jeden typ zakończeń to zakończenia płytkowe, podobne do ruchowych zakończeń włókien zewnątrzwrzecionowych. Zdaniem niektórych autorów (np. Coërsa 1964), zakończenia płytkowe znajdują się na całej długości włókien mięśniowych, inni natomiast twierdzą (np. Boyd 1962), że umiejscowione są raczej w odcinku przybiegunowym i widoczne są tylko we włóknach I typu. Drugi rodzaj zakończeń, określonych przez niektórych autorów jako zakończenia rozproszone, widoczny jest pod postacią cienkich włókien obficie rozgałęzionych. Umiejscowienie ich nie jest dostatecznie ustalone. Zdaniem Boyda (1962) dotyczą one wyłącznie włókien II typu i umiejscowione są w okolicy przybiegunowej, natomiast zdaniem Coërsa (1964) widoczne są głównie w okolicy okolorównikowej. Dyskusyjne jest również pochodzenie tych dwu typów zakończeń. Według niektórych auto-

rów (Cooper, Daniel 1963) zakończenia płytkowe należą do układu α , podczas gdy zakończenia rozproszone tworzą system γ . Natomiast według innych (Boyd 1962) oba typy zakończeń należą do układu γ , przy czym zakończenia płytkowe należą do układu γ_1 , a zakończenia rozproszone do układu γ_2 . Pogląd Boyda (1962) na temat unerwienia przedstawia powyższy schemat.

Szerokość włókien nerwowych w preparatach barwionych metodami srebrowymi nie odpowiada zapewne ich rzeczywistej szerokości; niemniej dla orientacji w proporcjach pomiędzy poszczególnymi włóknami nerwowymi wrzecion mięśniowych przypominamy podane przez Boyda (1962) wymiary włókien nerwowych u kota: włókna nerwowe pierwotnych zakończeń czuciowych — 12 μ , wtórnych czuciowych — 6 μ , γ_1 — 3 μ , γ_2 — 1 μ . U ludzi szerokość włókien nerwowych jest większa; wg Lapresle'a i Milhaud (1964) wynosi od 7 do 18 μ .

MATERIAŁ WŁASNY I METODA

Na 260 biopsji mięśniowych pobranych od chorych z różnymi postaciami chorób mięśni, wrzeciona mięśniowe stwierdziliśmy w 45 przypadkach, co stanowi 17,3% wszystkich biopsji.

Materiał nasz obejmuje:

postępującą dystrofię mięśniową	22 przyp.
dystrofię miotoniczną	1 „
inne miopatie	2 „
chorobę Charcot-Marie-Tooth	2 „
zanik mięśni pochodzenia rdzeniowego	
(choroba Werdnig-Hoffmanna, zanik mięśni	
typu Aran Duchenne'a, stwardnienie zanikowe	
boczne)	17 przyp.
ostre uszkodzenie neurogenne	1 „
	<hr/>
razem	45 przyp.

Wycinki mięśniowe pobierane były w znieczuleniu miejscowym, po nastrzyknięciu skóry, tkanki podskórnej i powięzi roztworem nowokainy. Następnie wycinek dzielono na dwie części: jedną utrwalono w 10% roztworze formaliny, drugą nastrzykiwano 0,05% wodnym roztworem błękitu metylenowego. Po utrwaleniu w formalinie wycinki zatapiało w parafinie i następnie rutynowo barwiono hematoxyliną i eozyną oraz metodą van Giesona. Jeżeli w preparatach znajdowano wrzeciona mięśniowe, przeprowadzano dodatkowo następujące barwienia met. Mallory'ego, Masona, Holmesa, Gros, Bielschowsky'ego, Bodiana, Heidenhaina.

Wycinki mięśniowe nastrzyknięte błękitem metylenowym przeprowadzano wg klasycznej metody Coërsa i Woolfa.

Barwienia rutynowe oraz barwienia metodą Mallory'ego i Massona pozwalały na ocenę elementów mięśniowych i łącznotkankowych wrzeciona mięśniowego. W ocenie ich brano pod uwagę:

- 1) wymiary wrzeciona i poziom przekroju (jeżeli poprzeczny),

- 2) grubość torebki,
- 3) ilość, szerokość i wygląd wewnątrzwrzecionowych włókien mięśniowych,
- 4) wygląd przestrzeni wewnątrztorebkowej.

(Grubość torebki oceniano w miejscach, gdzie pozbawiona była naczyń i nerwów).

Barwienia srebrowe poza oceną elementów pozwalały niekiedy na wgląd w unerwienie wrzeciona. W preparatach barwionych błękitem metylenowym możliwa była jedynie obserwacja unerwienia. Oceniając unerwienie wrzeciona mięśniowego, próbowano identyfikować włókna γ_1 na podstawie wyglądu i lokalizacji ich zakończeń (w odcinkach przybiegunowych włókien I typu) oraz włókna czuciowe tworzące zakończenia pierwotne.

Kontrolę naszego materiału stanowiły wycinki mięśniowe pobrane z rutynowych sekcji (z mięśnia naramiennego) oraz wycinki pobierane w czasie zabiegów chirurgicznych (z mięśnia piersiowego i prostego mięśnia brzucha). W przypadkach kontrolnych nie stwierdzano wyraźnych poprzednio objawów neurologicznych, a w pobranym wycinku mięśniowym pozawrzecionowe włókna mięśniowe oraz tkanka śródmiąższowa zmian nie wykazywały. Przypadków takich było 10. We wszystkich torebka była cienka — grubość jej wynosiła około 10μ . W obszarze pomiędzy biegunem a równikiem najszersze włókna nie przekraczały 25μ (I typ), najwęższe — $5-6 \mu$ (II typ). Ilość szerszych włókien wynosiła zwykle 2—3, węższych — 4—5. Obszar równika był możliwy do obserwacji zaledwie w 1 przypadku. Szerokość włókien I typu w tym miejscu wynosiła $33,6 \mu$, II typu — $10,2 \mu$. W 3 przypadkach włókna mięśniowe były zeszkliwiałe, z zatartym poprzecznym prążkowniem. W 2 przypadkach widoczny był pewien rozrost tkanki łącznej wewnątrz wrzeciona pomiędzy włóknami mięśniowymi (ostatnie dwa przypadki należały do materiału sekcyjnego).

WYNIKI

Postępująca dystrofia mięśniowa

Na 22 preparaty zawierające wrzeciona mięśniowe ocena elementów mięśniowych i łącznotkankowych była możliwa w 15, elementów nerwowych w 5 preparatach, jednych i drugich w 2.

Ocena elementów mięśniowych i łącznotkankowych. Na 17 przypadków w 5 wrzeciona mięśniowe nie wykazywały żadnych zmian. W 2 przypadkach zmiany były wyraźne i dotyczyły tak włókien mięśniowych, jak i torebki (ryc. 3). Włókna mięśniowe wykazywały nasilone zmiany zwyrodnieniowe, prowadzące do całkowitego ich rozpadu. Torebka była wyraźnie pogrubiła (w jednym przypadku do 40μ , w drugim do 30μ). Pogrubienie torebki spowodowane było rozrostem zarówno elementów włóknistych, jak i komórkowych tkanki łącznej. W jednym z tych przypadków wydawało się, że między warstwami torebki gromadzi się płyn obrzękowy. W pozostałych przypadkach zmiany we wrzecionie polegały na rozroście tkanki łącznej wewnątrz wrzeciona (w 5 przypadkach — ryc. 4) oraz miernym pogrubieniu torebki (w granicach od 10 do 30μ — również w 5 przypadkach — ryc. 5).

Wymiary wrzeciona mięśniowego oraz ilość włókien mięśniowych mieściły się w granicach normy. Natomiast szerokość włókien mięśniowych w jednym przypadku była wyższa od normy, a mianowicie w odcinku pomiędzy równikiem a biegunem (przy ściśle poprzecznym przekroju) widoczne było jedno włókno o szerokości 70 μ , drugie — 40 μ (ryc. 6). Zeszkliwienie włókien mięśniowych stwierdzono w 5 przypadkach. Żadnej zależności pomiędzy występowaniem zmian we wrzecionach a postacią choroby nie stwierdzono. Porównanie wyglądu wrzeciona mięśniowego z „charakterem” *) i zaawansowaniem procesu chorobowego w pozawrzecionowych włóknach mięśniowych wykazało:

1. Nie zmienione wrzeciona mięśniowe widoczne były w różnym okresie choroby (nawet w daleko posuniętym jej stadium) i przy obecności tak łagodnych, jak i ostrzejszych zmian dystroficznych.

2. Najwyraźniejsze zmiany we wrzecionach stwierdzono w przypadku wybitnie zaawansowanego procesu dystroficznego oraz w przypadku wyjątkowo „ostrzych” zmian w mięśniach (liczne nacieki, martwica, odczyn regeneracyjny).

3. Niezbyt zaawansowane zmiany widywane były w różnych okresach procesu chorobowego i towarzyszyły tak „ostrzejszym”, jak i „łagodniejszym” zmianom w pozawrzecionowych włóknach mięśniowych.

Obserwacje unerwienia wrzecion. Elementy nerwowe widoczne były w 7 przypadkach (5 — postaci Duchenne’a oraz po jednym przypadku postaci obręczowo-kończynowej i twarzowo-ramieniowo-łopatkowej). W 3 spośród 7 tych przypadków unerwienie uwidoczniło się w barwieniach srebrowych, w 4 — w barwieniu błękitem metylenowym.

W 3 przypadkach widoczne były w okolicy przybiegunowej kuliste zakończenia dość grubego włókna nerwowego (ryc. 7). W 2 przypadkach uwidoczniły się grube włókna nerwowe dochodzące do okolicy równika. W 1 zaś przypadku widoczne było regularne, nieduże zakończenie cienkiego włókna nerwowego w odcinku pomiędzy równikiem a biegunem**.

W dystrofii miotonicznej wrzeciona mięśniowe znaleziono w jednym przypadku. Grubość torebki trudna była do oceny ze względu na jej nadmierne rozwarstwienie. Wewnątrzwrzecionowe włókna mięśniowe uległy zwyrodnieniu wodniczkowemu (ryc. 8).

*) „Charakter” — w znaczeniu „łagodnych” czy „ostrzych” zmian dystroficznych, omówiony został w pracy „Patomorfologia chorób pierwotnie mięśniowych” (Jędrzejowska, Neuropatologia Polska, 1964, II, 2, 191—214).

**) W przypadku autopsyjnym dystrofii typu Duchenne’a, nie włączonym do tej pracy, włókna nerwowe we wrzecionie mięśniowym wykazywały zmiany zwyrodnieniowe. Przypadek ten zostanie opisany osobno. Zmiany w unerwieniu wrzeciona przedstawia ryc. 13.

W grupie innych miopatii wrzeciona mięśniowe widoczne były w 2 przypadkach. W jednym z nich (prawdopodobnie stan zejściowy po zapaleniu wielomięśniowym) wrzeciono było całkowicie bez zmian, natomiast w drugim widoczne było pogrubienie torebki (18 — 28 μ).

Rdzeniowy i neuralny zanik mięśni typu Werdniga-Hoffmanna

W rdzeniowym zaniku mięśni typu Werdniga-Hoffmanna wrzeciona mięśniowe stwierdzono w 12 przypadkach. W 11 możliwa była ocena elementów łącznotkankowych i włókien mięśniowych. W 4 przypadkach wrzeciona zmian nie wykazały, w dalszych 4 — widoczne było pewne zeszkliwienie węższych wewnątrzwrzecionowych włókien mięśniowych, natomiast w pozostałych 3 przypadkach zmiany były wyraźne. W dwu z nich polegały one na nasilonym zwyrodnieniu włókien mięśniowych prowadzącym do ich całkowitego rozpadu, bez żadnych zmian ze strony torebki wrzeciona. W ostatnim przypadku widoczny był rozwarstwiający obrzęk torebki i obrzęk okolicy podtorebkowej (ryc. 9). W żadnym przypadku nie stwierdzono rozrostu tkanki łącznej wewnątrz torebki. Wymiary wrzecion, ilość i szerokość włókien mięśniowych nie odbiegały od normy.

W rdzeniowym zaniku mięśni typu Aran-Duchenne'a wrzeciona mięśniowe widoczne były w 3 przypadkach. W jednym z nich stwierdzono zmiany we wrzecionie, polegające na zwyrodnieniu i rozpadzie włókien mięśniowych bez zmian w torebce.

W jednym z 2 przypadków stwardnienia zanikowego boczno widoczne były zmiany we wrzecionie mięśniowym, polegające na wybitnym pogrubieniu torebki wrzeciona, której liczne warstwy łącznotkankowe porozsuwane były przez płyn obrzękowy (ryc. 10).

W całej grupie zaników mięśni pochodzenia rdzeniowego żadnej zależności pomiędzy występowaniem zmian we wrzecionach a postacią choroby, stopniem zaniku włókien pozawrzecionowych oraz stopniem zaawansowania procesu chorobowego nie stwierdzono.

W grupie rdzeniowego zaniku mięśni elementy nerwowe widoczne były w 5 przypadkach: w 3 przypadkach choroby Werdniga-Hoffmanna i w 2 przypadkach postaci Aran-Duchenne'a. W 3 spośród tych 5 przypadków unerwienie uwidoczniło się w barwieniu srebrowym, w pozostałych 2 — w barwieniu błękitem metylenowym. W jednym przypadku (postać Aran-Duchenne'a) wydawało się, że obecne były zmiany zwyrodnieniowe w jednym z włókien nerwowych dochodzących do wrzeciona.

W chorobie Charcot-Marie-Tooth wrzeciona mięśniowe widoczne były w 2 przypadkach. W jednym z nich, poza dużą liczbą włókien wewnątrzwrzecionowych (18), zmian nie stwierdzono (ryc. 11). W drugim przypadku wewnątrz wrzeciona i torebki widoczne były pojedyncze, rozproszone limfocyty.

W jednym przypadku ostrego uszkodzenia neurogenego („Shoulder neuritis’?) wszystkie elementy wrzeciona mięśniowego były prawie całkowicie zniszczone (ryc. 12).

OMÓWIENIE

Materiał nasz wykazuje, że w niektórych przypadkach tak miopatii, jak i uszkodzeń neurogenych mięśni widuje się zmiany we wrzecionach mięśniowych. Określenie częstości występowania zmian we wrzecionach mięśniowych na podstawie piśmiennictwa jest bardzo trudne, ponieważ poza pracą Lapresle’a i Milhaud (1964) brak jest opracowań opartych na większym materiale. Istnieją wprawdzie w niektórych pracach, obok opisów zmian histopatologicznych w mięśniach, wzmianki dotyczące zachowania się wrzecion mięśniowych; nie może to jednak stanowić podstawy do wyciągania wniosków co do częstości występowania zmian we wrzecionach. Adams, Denny-Brown i Pearson (1962) podkreślają wybitną oporność wrzeciona mięśniowego na działanie czynników szkodliwych i w związku z tym, bardzo rzadkie występowanie w nich zmian. Greenfield i wsp. (1957) reprezentują podobny pogląd, aczkolwiek mniej skrajny. W świetle spostrzeżeń Lapresle’a i Milhaud (1964) i naszych własnych wydaje się, że stanowisko to nie jest całkowicie słuszne i zmiany we wrzecionach mięśniowych nie należą do rzadkości. Niemniej faktem pozostaje, że niejednokrotnie wrzeciona mięśniowe pozostają całkowicie nie zmienione (i to tak w uszkodzeniach neurogenych jak i pierwotnie mięśniowych) nawet w bardzo zaawansowanych stadiach choroby (Adams, Denny-Brown, Pearson — 1962, Bruce — 1911 i inni).

W przebiegu procesu chorobowego zarówno neurogenego, jak i pierwotnie mięśniowego wrzeciono może reagować w zbliżony sposób, tj. odczynem ze strony torebki, zmianami zwyrodnieniowymi włókien mięśniowych oraz rozrostem tkanki łącznej wewnątrz wrzeciona. Aczkolwiek tę ostatnią zmianę obserwowaliśmy jedynie w przypadkach dystrofii, to jednak inni autorzy (Lapresle i Milhaud — 1964 oraz Greenfield i wsp. — 1957) widywali ją tak w uszkodzeniach pierwotnie mięśniowych, jak i neurogenych. Greenfield i wsp. (1957) uważają zresztą rozrost tkanki łącznej wewnątrz wrzeciona i pogrubienie torebki za najbardziej charakterystyczne zmiany we wrzecionach mięśniowych. Ocena stopnia zaniku oraz zmian zwyrodnieniowych wewnątrzwrzecionowych

włókien mięśniowych wydaje się bardzo trudna. Różnice w szerokości włókien w poszczególnych wrzecionach, niejednakowa szerokość włókna na całej jego długości, niemożność dokładnego określenia przekroju wrzeciona — wszystko to sprawia, że ocena stopnia zaniku na podstawie pomiaru szerokości włókna mięśniowego ma wartość problematyczną. Określenie stopnia zaniku w wyniku pomiaru średnicy włókna w stosunku do średnicy wrzeciona poza powyżej omówionymi wątpliwościami kryje w sobie możliwość błędnej oceny, ponieważ szerokość wrzeciona zależy przede wszystkim od stopnia rozciągnięcia mięśnia w momencie utrwalania (Cooper i Daniel — 1963).

Podobnie i ocena zmian zwyrodnieniowych we włóknach mięśniowych budzi pewne wątpliwości. Szczególnie trudna jest ocena zmian szklistych, ze względu na możliwość artefaktycznego ich pochodzenia. Jednakże rozpad zeszkliwionych włókien mięśniowych w technicznie dobrych preparatach oceniliśmy jako rzeczywistą patologię. Jako wyraz zmian chorobowych przyjęliśmy nadto zmiany o typie zwyrodnienia wodniczkowego włókien mięśniowych (były one widoczne w jednym przypadku dystrofii miotonicznej; analogiczne zmiany w tej chorobie opisali poprzednio Lapresle i Milhaud 1964).

W jednym przypadku dystrofii wspominaliśmy o występowaniu bardzo szerokich włókien wewnątrzwrzecionowych (do 70 μ). Aczkolwiek wartość ta znacznie przekracza przyjęte normy, to jednak Smok (1951) musiał obserwować równie szerokie włókna, skoro napisał w swojej pracy, że niejednokrotnie szerokość włókien wewnątrzwrzecionowych dorównywała szerokością włóknom zewnątrzwrzecionowym. Wobec powyższego, jak również wobec szczupłości naszego materiału i braku danych u innych autorów o występowaniu przerostu włókien, nie jesteśmy w stanie ocenić tego zjawiska.

Zwiększenie ilości włókien do 18, spostrzegane w jednym przypadku choroby Charcot-Marie-Tooth, chyba nie może być również dowodem procesu chorobowego, bowiem górna granica wg niektórych autorów wynosi 16. Tak więc, na podstawie danych piśmiennictwa i własnych obserwacji, za rzeczywiście chorobowe i najczęściej występujące zmiany we wrzecionach mięśniowych byłibyśmy skłonni przyjąć: pogrubienie torebki, rozrost tkanki wewnątrz wrzeciona oraz zwyrodnienie szkliste lub wodniczkowe włókien mięśniowych, prowadzące do całkowitego ich rozpadu. Ponadto należałoby podkreślić, że wszystkie te zmiany mogą pojawić się tak w uszkodzeniu neurogennym mięśnia, jak i pierwotnie mięśniowym.

Nieswoistość zmian we wrzecionach nie jest oczywiście jednoznaczna z jednolitością zmian. Zarówno w uszkodzeniach neurogennych, jak

i pierwotnie mięśniowych, zmienione chorobowo wrzeciona mięśniowe różnią się między sobą stopniem zajęcia elementów tkanki łącznej i włókien mięśniowych oraz intensywnością uszkodzenia. Nieswoistość zmian we wrzecionach, jak również ich względna oporność na proces chorobowy stanowią niewątpliwie dwa podstawowe zagadnienia patologii wrzecion mięśniowych.

Występowanie we wrzecionach jednakowych zmian zarówno w uszkodzeniach neurogennych, jak i pierwotnie mięśniowych można tłumaczyć bądź ograniczoną odczynowością ze strony elementów wrzeciona i powstawaniem takich samych zmian w wyniku działania różnych czynników, bądź też podobnym mechanizmem powstawania zmian w obu tych procesach chorobowych.

Na podstawie dostępnego piśmienictwa możemy stwierdzić, że bezwzględnie pewną przyczyną powstania zmian we wrzecionach mięśniowych jest uszkodzenie ich unerwienia. Spośród wielu prac na ten temat czołowe miejsce zajmują doświadczenia Tower (1932). Wynika z nich, że czuciowo-ruchowe odnerwienie wrzeciona powodowało pogrubienie torebki oraz zanik i zmiany zwyrodnieniowe we włóknach mięśniowych, a w późnych okresach po odnerwieniu dochodziło do rozrostu tkanki łącznej wewnątrz wrzeciona. Czuciowe odnerwienie, wg tej autorki, prowadziło do pojawienia się zmian we włóknach mięśniowych, szczególnie w okolicy równika, bez wyraźnego pogrubienia torebki. Natomiast ruchowe odnerwienie odbijało się przede wszystkim na wyglądzie włókien mięśniowych w odcinku przybiegunowym oraz prowadziło do pogrubienia torebki. Doświadczenia te potwierdziły zatem charakter zmian obserwowanych w patologii ludzkiej w wyniku odnerwienia.

Rozważając teoretycznie, obecność zmian we wrzecionach mięśniowych w miopatiach winna świadczyć o działaniu innego, niż neurogeny, mechanizmu powodującego wystąpienie zmian. Na tym stanowisku stoją chyba Lapresle i Milhaud (1964), stwierdzając, że w przypadkach dystrofii mięśniowej unerwienie wrzecion było nie zmienione. Jednakże trzeba podkreślić, że ocena unerwienia wrzeciona jest niesłychanie trudna i wymaga zastosowania specjalnych metod barwień. Cytowani autorzy posługiwali się natomiast barwieniem hematoksyliną i eozyną i met. Massona, a w wyjątkowych przypadkach metodami srebrowymi. Wydaje się, że nie mogło to być całkowicie wystarczające dla oceny wszystkich elementów unerwienia wrzeciona.

Występowanie zmian w unerwieniu wrzeciona w przypadkach dystrofii miotonicznej zostało udowodnione przez Daniela i Strich (1964); (Daniel od wielu lat zajmuje się zresztą morfologią wrzecion mięśniowych). Szczegółowe badania wrzecion mięśniowych przeprowadzono na

materiale autopsyjnym przy użyciu różnych metod barwienia. Stwierdzono zarówno w grubszych, jak i w cieńszych włóknach nerwowych zmiany zwyrodnieniowe oraz tworzenie się odgałęzień. We wrzecionach mięśniowych, poza dobrze znanymi zmianami, takimi jak pogrubienie torebki, rozrost tkanki łącznej wewnątrz wrzeciona, zmiany dotyczące jąder włókien mięśniowych, obecność nacieków zapalnych wewnątrz wrzeciona, widoczne było ponadto wybitne zwiększenie ilości włókien wewnątrzwrzecionowych (do 60), powstałe najprawdopodobniej w wyniku rozszczepienia. Dalecy jesteśmy od twierdzenia, że jedyną przyczyną prowadzącą do powstania zmian we wrzecionach mięśniowych jest uszkodzenie unerwienia, ale wydaje się, że przed próbą poszukiwania innych czynników patogenetycznych należy we wszystkich przypadkach z całkowitą pewnością wyłączyć udział unerwienia w powstawaniu zmian we wrzecionach. Nasze obserwacje w tej dziedzinie są zbyt szczupłe, by zająć jakiegokolwiek stanowisko w tej sprawie. Stałe doskonalenie metod histologicznych oraz badania w mikroskopie elektronowym doprowadzą z pewnością do odpowiedzi na to pytanie. Zagadnienie względnej oporności wrzeciona na działanie czynników szkodliwych nie jest również rozstrzygnięte. Niestale występowanie zmian w uszkodzeniach neurogennych w patologii ludzkiej wynika chyba z wyjątkowo bogatego unerwienia (do- i odśrodkowego) poszczególnych wewnątrzwrzecionowych włókien mięśniowych. Jak ta sprawa przedstawia się w odniesieniu do uszkodzeń pierwotnie mięśniowych, zagadnienie to wiąże się z poprzednio postawionym pytaniem i w świetle powyższej dyskusji pozostaje tymczasem bez odpowiedzi.

Х. Енджеевска, А. Фидзянска

ИЗМЕНЕНИЯ В МЫШЕЧНЫХ ВЕРЕТЕНАХ В МИОПАТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Содержание

Материал состоял из 45 мышечных биопсий взятых от больных страдающих различными мышечными заболеваниями (прогрессирующая мышечная дистрофия, медуллярная мышечная атрофия, болезнь Шарко-Мари-Тус, миотоническая дистрофия и др.). В большинстве исследуемых случаев мышечные веретена отличались менее либо более выраженными изменениями. Самыми частыми изменениями были: уплотнение капсулы, дегенеративные изменения внутриверетенных мышечных волокон и разрастание фиброзной ткани внутри веретена. Данные изменения обнаруживались так в неврогенных, как и в первично мышечных изменениях. Дискутируется механизм образования изменений в мышечных веретенах. Неспецифичность изменений может объясняться било ограниченной реактивностью морфологических элементов веретена, либо одинако-

вым механизмом образования изменений так неврогенных, как и первично мышечных повреждений. Единственным несомненным фактором, вызывающим образование изменений в веретенах является повреждение иннервации.

По мнению авторов изменения в веретенах в течении первичных мышечных заболеваний не обязательно являются результатом повреждения иннервации мышечного веретена. Однако обращают внимание на необходимость тщательного исследования этого вопроса.

H. Jędrzejowska A. Fidziańska

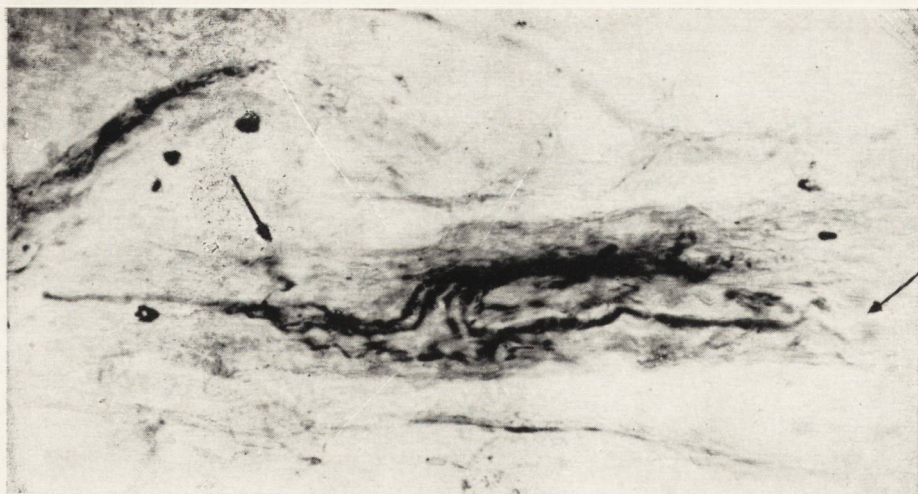
CHANGES IN THE MUSCLE SPINDLES IN NEUROMUSCULAR DISEASES

Summary

The study material consisted of 45 biopsies from patients with various neuro-muscular diseases (progressive muscular dystrophy, spinal muscular atrophy, Charcot-Marie-Tooth disease, myotonic dystrophy and others). Muscle spindles in most examined cases showed some pathological changes. Thickening of the capsule, degenerative changes in intrafusal muscle fibers, and proliferation of connective tissue inside the spindle were mostly observed. All these changes were seen in neurogenic as well as myogenic muscular atrophy. The authors discuss possible mechanism leading to the formation of the changes in the muscle spindle. Unspecificity of changes may have two explanations: first, limited manner of reacting of the spindle; second, similar mechanism which produce the changes involved in both neurogenic and myogenic atrophy. One factor undoubtedly produces the changes in muscle spindle — damage of innervation. The authors do not have any proof that this mechanism is responsible for the formation of the changes in myogenic lesions, but they think that at the beginning of the study of the problem of the changes in muscle spindles, the examination of innervation of muscle spindle should be done.

PIŚMIENNICTWO

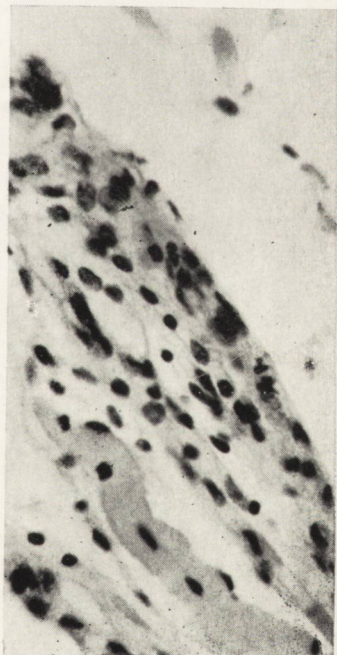
1. Adams R. D., Denny-Brown D., Pearson C. M.: Diseases of Muscle. Hoeber Medical Book, New York, 1962, 77—78.
2. Barker D., Cope M.: The Innervation of Intrafusal Muscle Fibres. Symposium on Muscle Receptors, Hong Kong University Press, 1962, 263—269.
3. Boyd I. A. — 1962, cyt. wg Matthews.
4. Boyd I. A.: The Nuclear — bag fibre and Nuclear — chain Fibre Systems in the Muscle Spindles of the Cat. Symposium on Muscle Receptors. Hong Kong University Press, 1962 a, 185—190.
5. Bruce A. N.: The Muscle Spindles in Pseude — hypertrophic paralysis. Rev. Neurol. and Psych., 1911, IX, 110—114.
6. Coërs C.: Morphologie de la jonction neuro — musculaire. Arch. Biol. (Liege), 1964, 75, 905—941.
7. Coërs C., Durand J.: Données morphologiques nouvelles sur l'innervation des fuseaux neuromusculaires. Arch. de Biologie, 1956, 67, 3—4, 685—715.
8. Cooper S., Daniel P. M.: Muscle Spindles in Man; Their morphology in the lumbricals and the deep muscles of the neck. Brain, 1963, 86, 3, 563—586.



Ryc. 1



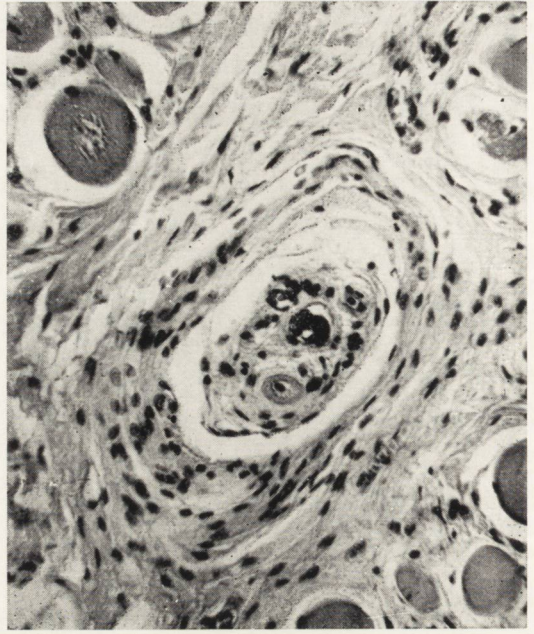
Ryc. 2



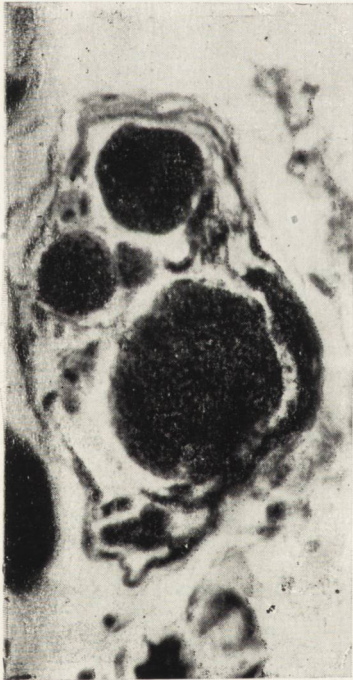
Ryc. 3



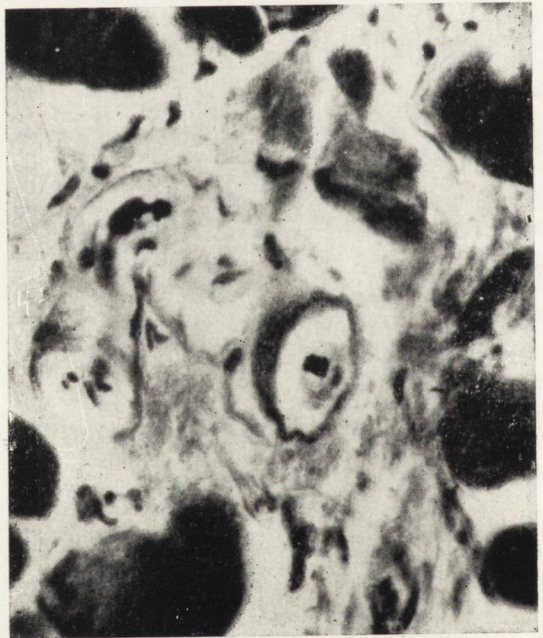
Ryc. 4



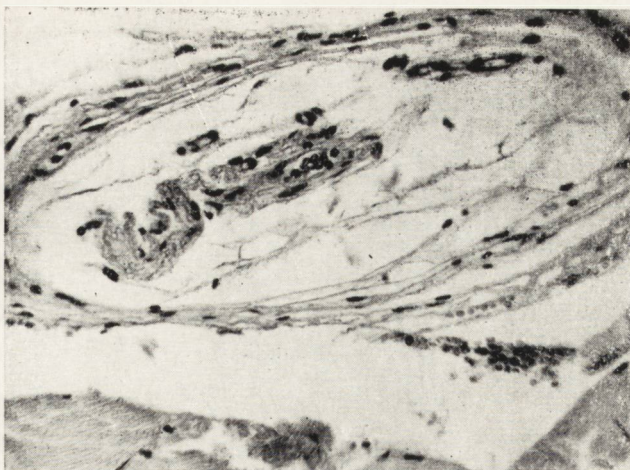
Ryc. 5



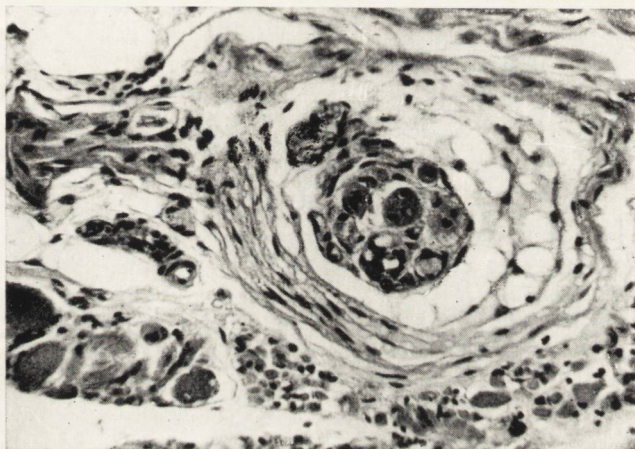
Ryc. 6



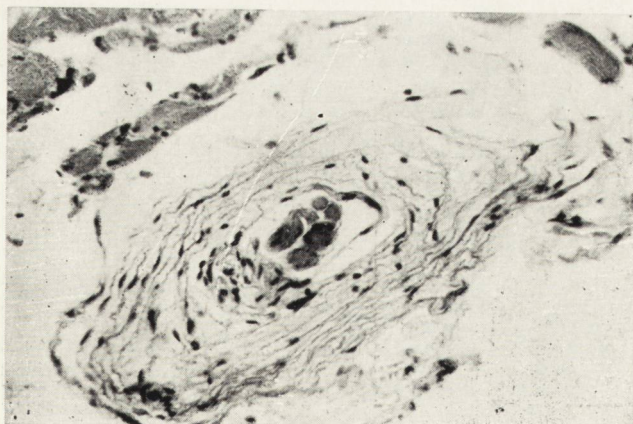
Ryc. 7



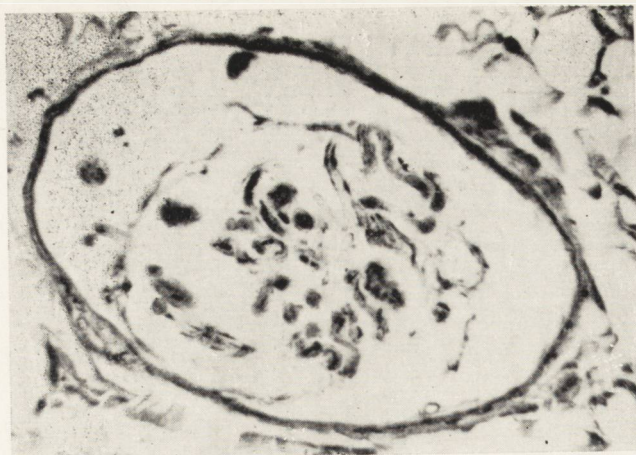
Ryc. 8



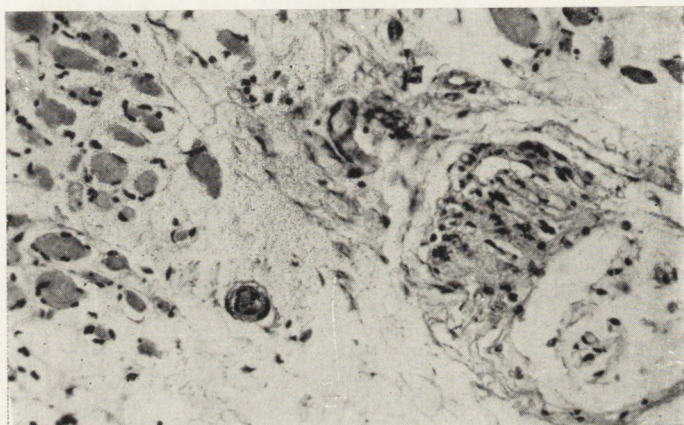
Ryc. 9



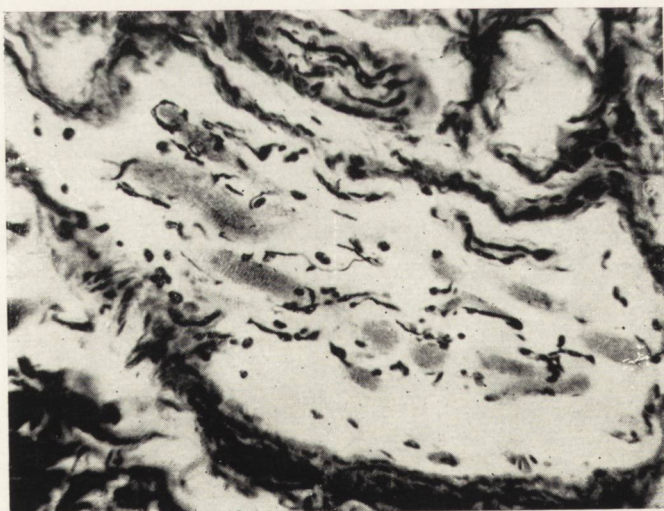
Ryc. 10



Ryc. 11



Ryc. 12



Ryc. 13

9. Daniel P. M., Strich S. J.: Abnormalities in the Muscle Spindles in Dystrophia Myotonica. *Neurology*, 1964, 14, 4, 310—316.
10. Greenfield J. G., Shy G. M., Alvord E. C., Berg L.: Atlas of Muscle Pathology in Neuromuscular diseases. E. i S. Livingstone Ltd. Edinburgh. London, 1957, 56—59.
11. Lapresle J., Milhaud M.: Pathologie du fuseau neuro-musculaire. *Rev. Neurol.*, 1964, 110, 2, 97—122.
12. Matthews P.B.C. Muscle Spindles and their motor control. *Physiol. Reviews*, 1964, 44, 2, 219—288.
13. Mumenthaler M.: Valeur de la biopsie pour le diagnostic des maladies neuro-musculaires. *Rev. Neurol.*, 1963, 108, 5, 462—469.
14. Sala G.: Die Motorischen Nervenendigungen und die neuromuskulären Spindeln. *Archiv. f. Psychiat. und Nervenkrankheiten*, 1915, 55, 420—431.
15. Sas J., Appeltauer C.: Atypical muscle spindles in the extrinsic eye muscles of man. *Acta anat.*, 1963, 55, 4, 311—319.
16. Smok J.: Wrzeciona mięśniowe u człowieka. *Folia Morphologica*, 1951, II, (X) 47—57.
17. Tower S. S.: Atrophy and degeneration in the Muscle Spindle. *Brain*, 1932, 55, 77—90.

Nadesłano: 20.XI.1965.

Adres autorów: Klinika Neurologiczna AM, Warszawa, ul. Oczki 6.

PODPISY POD RYCINY

Ryc. 1. Wycinek z mięśnia naramiennego. Przekrój podłużny wrzeciona. Widać kilka włókien nerwowych dochodzących do wrzeciona. Dwa z nich tworzą dość duże zakończenia (strzałki). Przyżyciowe barwienie błękitem metylenowym. Pow. 200 ×.

Fig. 1. Longitudinal section of a spindle in m. deltoideus. A few nerves entering the spindle are seen. Two of them form rather large endings (arrows), which lie on the both sides of the spindle. Intravital methylene blue staining. Magn. × 200.

Ryc. 2. Wycinek z mięśnia czworogłowego uda. Przekrój poprzeczny wrzeciona w okolicy równikowej (widoczne „nuclear bag”). Dwa dość grube włókna nerwowe najprawdopodobniej czuciowe. Holmes. Pow. 400 ×.

Fig. 2. Transverse section of a spindle in m. quadriceps femoris taken through the nuclear bag region. Two nerves, probably sensory, are seen. Holmes' silver impregnation. Magn. × 400.

Ryc. 3. Postępująca dystrofia mięśniowa. Postać Duchenne'a. Wycinek z mięśnia naramiennego. Odcinek przybiegunowy wrzeciona mięśniowego w przekroju podłużnym. Włókno mięśniowe całkowicie zeszkliwiałe, pozbawione poprzecznego prążkowania. Torebka zgrubiała; wyraźny rozplm elementów komórkowych w obrębie torebki. Hematoksylina-eozyna. Pow. 400 ×.

Fig. 3. Duchenne type of progressive muscular dystrophy. Longitudinal section of a part of spindle in m. deltoideus. Intrafusal muscle fibre shows hyalinization and loss of cross striation. Thickening of the capsule, cellular proliferation within it is seen. Hematoxylin-eosin. Magn. × 400.

Ryc. 4. Postępująca dystrofia mięśniowa. Postać Duchenne'a. Wycinek z mięśnia naramiennego. Przekrój skośny wrzeciona. Rozrost tkanki łącznej wewnątrz wrzeciona. Masson. Pow. 400 ×.

Fig. 4. Duchenne type of progressive muscular dystrophy. Oblique section of a spindle in m. deltoideus. Proliferation of connective tissue inside the spindle. Masson. Magn. × 400.

Ryc. 5. Postępująca dystrofia mięśniowa. Postać Duchenne'a. Wycinek z mięśnia naramiennego. Przekrój poprzeczny wrzeczona w okolicy równikowej. Nieznaczne pogrubienie torebki; pewien rozrost tkanki łącznej wewnątrz wrzeczona. Hematoksylina-eozyna. Pow. 200 X.

Fig. Duchenne form of progressive muscular dystrophy. Transverse section of a spindle in m. deltoideus taken through the nuclear bag region. Slight thickening of the capsule; some proliferation of connective tissue inside the spindle. Hematoxylin - eosin. Magn. X 200.

Ryc. 6. Postępująca dystrofia mięśniowa. Postać Duchenne'a. Wycinek z mięśnia naramiennego. Przekrój poprzeczny wrzeczona w odcinku pomiędzy biegunem a równikiem. Średnia najszerszego włókna wynosi 70 μ . Holmes. Pow. 400 X.

Fig. 6. Duchenne form of progressive muscular dystrophy. Transverse section of a spindle in m. quadriceps femoris taken through the polar region. A thick nerve. The diameter of the biggest muscle fiber is 70 μ . Holmes' silver impregnation. Magn. X 400.

Ryc. 7. Postępująca dystrofia mięśniowa. Postać Duchenne'a. Wycinek z mięśnia czworogłowego uda. Przekrój poprzeczny wrzeczona w okolicy bieguna. Widoczne grube włókno nerwowe, zakończone okrągłym zgrubieniem. Holmes. Pow. 400 X.

Fig. 7. Duchenne type of progressive muscular dystrophy. Transverse section of a spindle in m. quadriceps femoris taken through the polar region. A thick nerve which ends in a round enlargement is seen. Holmes' silver impregnation. Magn. X 400.

Ryc. 8. Dystrofia miotoniczna. Wycinek z mięśnia naramiennego. Przekrój podłużny wrzeczona mięśniowego. Widoczne zwyrodnienie wodniczkowe wewnątrzwrzeczonowych włókien mięśniowych. Hematoksylina - eozyna. Pow. 200 X.

Fig. 8. Myotonic dystrophy. Longitudinal section of a spindle in m. deltoideus. Intrafusal muscle fibers show vacuolar degeneration. Hematoxylin - eosin X 200.

Ryc. 9. Choroba Werdniga-Hoffmanna. Wycinek z mięśnia naramiennego. Przekrój poprzeczny wrzeczona w okolicy równikowej. Pogrubienie i obrzęk torebki. Hematoksylina - eozyna. Pow. 200 X.

Fig. 9. Infantile spinal muscular atrophy (Werdnig - Hoffmann). Transverse section of a spindle in m. deltoideus taken through the nuclear bag region. Thickening of capsule, edema of intracapsular space. Hematoxylin - eosin. Magn. X 200.

Ryc. 10. Stwardnienie zanikowe boczne. Wycinek z mięśnia naramiennego. Nieznacznie skośny przekrój wrzeczona. Pogrubienie torebki z rozwarstwieniem jej przez płyn obrzękowy. Hematoksylina - eozyna. Pow. 200 X.

Fig. 10. Amyotrophic Lateral Sclerosis. Slightly oblique section of a spindle in m. deltoideus. Thickening of capsule, edema of intracapsular space. Hematoxylin - eosin. Magn. X 200.

Ryc. 11. Wycinek z mięśnia piszczelowego przedniego. Choroba Charcot-Marie-Tooth. Nieznacznie skośny przekrój wrzeczona. Zwiększenie ilości wewnątrzwrzeczonowych włókien mięśniowych. Holmes. Pow. 200 X.

Fig. 11. Charcot-Marie-Tooth disease. Slightly oblique section of a spindle in m. tibialis anterior. Intrafusal muscle fibers seem to be increased in number. Holmes' silver impregnation. Magn. X 200.

Ryc. 12. Przypadek ostrego uszkodzenia neurogennego („shoulder neuritis“?). Wycinek z mięśnia dwugłowego ramienia. Całkowite zniszczenie elementów łącznotkankowych i mięśniowych oraz wybitne zmiany w obrębie włókien nerwowych wrzeczona mięśniowego. Hematoksylina - eozyna. Pow. 200 X.

Fig. 12. Acute neurogenic lesion („shoulder neuritis“?). Section of a spindle in m. biceps brachii. Almost complete destruction of all constituents of the spindle. Hematoxylin - eosin. Magn. X 200.

Ryc. 13. Przypadek autopsyjny dystrofii mięśniowej typu Duchenne'a. Mięsień brzuchaty łydki. Nieco skośny przekrój wrzeczona. Wydaje się, że włókna nerwowe wykazują nieprawidłowe zgrubienia. Holmes. Pow. 400 X.

Fig. 13. Autopsy case of Duchenne type of progressive muscular dystrophy. Slightly oblique section of a spindle in m. gastrocnemius. The nerve fibers show some swellings. Holmes' silver impregnation. Magn. X 400.

MIROSLAW J. MOSSAKOWSKI

PATOMORFOLOGIA I HISTOCHEMIA
SPONTANICZNYCH I DOŚWIADCZALNYCH ENCEFALOPATII
POCHODZENIA WĄTROBOWEGO

Z Zakładu Neuropatologii PAN w Warszawie
Kierownik: prof. dr med. E. Osetowska

WPROWADZENIE

Określenie celu badań

Zagadnienie powiązań patogenetycznych pomiędzy głębokimi zaburzeniami ze strony ośrodkowego układu nerwowego a leżącymi u ich podłoża ciężkimi uszkodzeniami wątroby nie znalazło do dziś swojego pełnego i jednoznacznego rozwiązania, mimo przeszło stuletniego okresu badań klinicznych i laboratoryjnych poświęconych temu zagadnieniu.

Złożoną, ze względu na wielorakość funkcji metabolicznych wątroby, sytuację komplikuje dodatkowo fakt istnienia dwukierunkowego oddziaływania zaburzeń w zakresie układu: wątroba — mózg. Obok bowiem zmian w mózgu obserwowanych w przebiegu uszkodzeń wątroby, a omawianych szeroko w dalszej części pracy, znane są liczne obserwacje, zarówno kliniczne jak i doświadczalne, wskazujące na występowanie uszkodzeń wątroby wtórnych w stosunku do zmian w niektórych okolicach ośrodkowego układu nerwowego, takich jak np. zwoje podstawy, okolica lejkowo-przysadkowa i śródmózgowie (Heilbrunn i wsp. 1945, Kraus 1937, Morgan i Johnson 1930).

Poznany jest dokładnie obraz kliniczny zespołów neurologicznych i psychiatrycznych, związanych z różnymi postaciami uszkodzeń wątroby, znana jest ich dynamika i wykładniki laboratoryjne, istnieją liczne i szczegółowe opisy zmian morfologicznych spotykanych w układzie nerwowym, ukazują się liczne prace omawiające zaburzenia metaboliczne związane z uszkodzeniami wątroby, odpowiedzialne za powstawanie określonych zespołów klinicznych, ich dynamikę, przebieg i zejście.

Mimo istnienia licznych hipotez etiologicznych nie wyjaśniona pozostaje jednak zasadnicza przyczyna powstawania zespołów mózgowych,

nie znany jest patomechanizm zmian zachodzących w ośrodkowym układzie nerwowym ani dynamika jego uszkodzeń strukturalnych. Nie w pełni poznane są zaburzenia metaboliczne zachodzące na terenie tkanki nerwowej. Nie wyjaśniony pozostaje stosunek różnego typu encefalopatii pochodzenia wątrobowego do zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego, a ściślej wątrobowo-mózgowego Wilsona (Konowałow 1960). Bowiem obraz kliniczny, zmiany morfologiczne oraz zaburzenia metaboliczne niektórych odmian encefalopatii rozwijających się na podłożu nabytych, banalnych uszkodzeń wątroby jest tak dalece zbliżony do kliniki i patomorfologii choroby Wilsona, stanowiącej wrodzoną, genetycznie uwarunkowaną wadę metaboliczną, że sugeruje istnienie ścisłych powiązań pomiędzy obydwoma grupami chorób. Tym też należy tłumaczyć skrajnie unitarystyczne stanowisko autorów, takich jak Stadler (1936), Adams i Foley (1953) i Baltazan, Olszewski, Zerwas (1957), którzy uważają, że zmiany występujące w ośrodkowym układzie nerwowym, w chorobie Wilsona, mają pierwotnie wątrobowe pochodzenie.

Z szerokiego wachlarza przedstawionych problemów, w badaniach naszych podjęliśmy tylko jedno zagadnienie, dotyczące patomorfologii i wybranych zagadnień histochemii encefalopatii pochodzenia wątrobowego. Chodziło nam o prześledzenie zmian morfologicznych, zachodzących na terenie ośrodkowego układu nerwowego, w następstwie różnego typu i różnym czasie trwających uszkodzeń wątroby, wywołanych przez rozmaite czynniki zarówno w warunkach klinicznych, jak i doświadczalnych. Sądziliśmy, że prześledzenie dynamiki narastania zmian morfologicznych i histochemicznych pozwoli na uchwycenie ich mechanizmu patogenetycznego, znalezienie powiązań przyczynowych pomiędzy poszczególnymi elementami obrazu morfologicznego zespołu oraz udzielenie odpowiedzi na pytanie, jakie czynniki decydują o jego różnicach, które przy wspólnym zasadniczym wzorcu patomorfologicznym istnieją pomiędzy poszczególnymi typami uszkodzeń wątroby.

Określenie pojęcia „encefalopatia pochodzenia wątrobowego”

Złożoność i niejednoznaczność pojęcia „encefalopatia pochodzenia wątrobowego” wymaga ściślejszego określenia. Przez encefalopatię pochodzenia wątrobowego lub tzw. encefalopatię wątrobową rozumiemy zespół uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego, u których podłoża leżą nabyte uszkodzenia wątroby, prowadzące do jej czynnościowej niewydolności lub zaburzenia w systemie krążenia wrotnego, warunkujące nieprawidłowy, pomijający filtr wątrobowy przeciek krwi żyłnej z krążenia wrotnego do układu żyły próżnej. Pojęciem tym obejmujemy zarówno przypadki, w których rozwinął się kli-

niczny zespół neurologiczny lub psychotyczny, jak i te, w których istniejące na terenie ośrodkowego układu nerwowego uszkodzenia pozostawały klinicznie nieme. Ze spostrzeżeń wielu autorów, między innymi Scherera (1933), Stadlera (1936), Nikolajewa (1937), Waggonera i Malamuda (1942), Adamsa i Foleya (1953) i naszych własnych (Mossakowski 1965) wynika, że zespoły kliniczne rozwijają się jedynie w niewielkim stosunkowo odsetku chorych z niewątpliwymi uszkodzeniami strukturalnymi mózgu.

Tak określone pojęcie encefalopatii pochodzenia wątrobowego obejmuje grupę śpiączki wątrobowej, rozwijającej się na podłożu ostrej i przewlekłej niewydolności wątroby, swoistą postać encefalopatii wątrobowej Inose (1952), stanowiącą zespół identyczny z opisaną przez Sherlock i wsp. (1954) encefalopatią wrotno-układową oraz grupę przypadków przewlekłych banalnych uszkodzeń wątroby, neurologicznie bezobjawowych, charakteryzujących się jednak obecnością zmian strukturalnych w mózgu.

Odpowiednio, pojęciem doświadczalnej encefalopatii pochodzenia wątrobowego obejmujemy kliniczno-patologiczne zespoły rozwijające się u zwierząt doświadczalnych w następstwie uszkodzenia wątroby, wywołanego działaniem środków chemicznych lub nieprawidłowości dietetycznych, oraz w wyniku operacyjnie wytworzonego przecieku krwi wrotnej do dużego krążenia żylnego.

Zarys historyczny zagadnienia

Pierwsze, nowoczesne opisy kliniczne zaburzeń neurologiczno-psychiatrycznych, występujących w przebiegu ciężkich uszkodzeń wątroby, przedstawione zostały w pracach Brighta (1836), Frerichsa (1860), a następnie Bastiana (1886) (cyt. wg Walshea 1951).

W latach późniejszych zagadnieniem kliniki i patomorfologii śpiączki wątrobowej w przebiegu ostrych uszkodzeń wątroby zajmowali się: Rutledge i Neuberger (1942), Lescher (1944), Stockes i Holms (1945), Walshe (1957) i in.

Znajomość pełnego obrazu klinicznego i elektroencefalograficznego śpiączki wątrobowej zawdzięczamy pracom Adamsa i Foleya (1949, 1950 i 1953) oraz Parson-Smith i wsp. (1957). Bogate dane dotyczące zaburzeń biochemicznych, towarzyszących śpiączce wątrobowej, zawiera praca Murphy i wsp. (1948). Opiswane obrazy kliniczne obejmujące zarówno śpiączkę wątrobową sensu stricto, jak i bogate zespoły przedśpiączkowe, wiązała wymienieni autorzy z niewydolnością czynnościową wątroby.

W roku 1952 Inose opublikował przypadek zbliżony swoim obrazem klinicznym do choroby Wilsona, różniący się od typowego zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego brakiem charakteru rodzinnego, późnym wiekiem wystąpienia choroby, brakiem pierścienia Keiser-Fleischera i innych zaburzeń metabolizmu miedzi i białek. Ze względu na niemal identyczny charakter zmian morfologicznych jak w zwyrodnieniu wątrobowo-soczewkowym, autor określił swój przypadek jako swoistą postać choroby Wilsona.

McDermott i Adams (1954) opisali identyczny zespół kliniczny w następstwie zespolenia wrotno-czczego, przy nie uszkodzonej wątrobie. Podobne przypadki opisał następnie Mangum, Lamcus i Friedlander (1956) oraz Baltazan, Olszewski i Zervas (1957) pod nazwą przewlekłej encefalopatii wątrobowo-wrotnej (chronic portohepatic encephalopathy). W przypadku Baltazana i wsp. (1957), u podłoża zmian mózgowych leżał proces zakrzepowy pnia żyły wrotnej, z bogatą siecią połączeń obocznych między układem wrotnym i dużym krążeniem żylnym. Spostrzeżenia te zwróciły uwagę na rolę przecieków krwi wrotnej do żył próżnych, zarówno w przypadkach ich operacyjnego wytworzenia jak i wykształcenia spontanicznego przy istniejących utrudnieniach krążenia. Dokładne opracowanie obrazu klinicznego, morfologicznego i laboratoryjnego tego zespołu przyniosły badania Sherlock i wsp. (1954, 1956), Summerskill i wsp. (1956) oraz Parson-Smith i wsp. (1957). Opisany przez nich zespół kliniczny nazwany został encefalopatią wrotno-układową. Autorzy ci podkreślają, że typowy dla encefalopatii wrotno-układowej mechanizm patogenetyczny, tj. nieprawidłowy przeciek żylny, zachodzi praktycznie we wszystkich przypadkach encefalopatii wątrobowej. W przypadkach marskości wątroby, obok typowych dróg krążenia obocznego, prowadzącego do powstania rozszerzeń żyłakowych w ścianie przełyku i żołądka oraz w powłokach jamy brzusznej, powstaje bogata sieć anastomaz żylnych w przestrzeniach międzyzrakikowych wątroby. Ich obecność w przypadkach marskości wątroby wykazali Kremer (1959) oraz Shikata (cyt. za Inose 1963). Natomiast w warunkach ciężkiego uszkodzenia elementów miąższowych wątroby powstaje sytuacja czynnościowego przecieku żylnego, gdyż przepływająca przez prawidłowe łożo naczyniowa krew jelitowa nie zostaje poddana działalności filtru wątrobowego, ze względu na zniszczenie struktury narządu.

Nieprawidłowe przecieki krwi żylny z układu wrotnego charakteryzują również grupę przypadków motyliczności japońskiej, opisanych szczegółowo przez Okinaka i wsp. (1962), a wcześniej przez cytowanych przez niego Akimoto (1958) oraz Wakasaki (1948). Wszystkie przypadki tej grupy charakteryzowały się nieznacznym tylko uszkodzeniem wątroby lub jego całkowitym brakiem. Istotną nieprawidłowość stanowiło natomiast zablokowanie rozgałęzień śródwątrobowych żyły wrotnej lub jej głównego pnia przez jaja pasożyta, oraz wtórne wykształcenie się rozszerzeń żyłakowych w miejscach połączeń dorzecza wrotnego i czczego.

Cała grupa przypadków opisanych pod nazwą encefalopatii Inose, encefalopatii wrotno-układowej oraz encefalopatii motyliczowej charakteryzowała się identycznym niemal zespołem klinicznym, polegającym na okresowym występowaniu różnego nasilenia zaburzeń świadomości, do śpiączki włącznie, nakładających się na postępujący zespół pozapiramidowo-piramidowy z charakterystycznymi ruchami mimowolnymi, zaburzeniami wegetatywnymi i zespołem psychoorganicznym. Obraz ten odpowiada zespołowi opisanemu poprzednio przez Adamsa i Foleya (1949), pod nazwą zagrażającej śpiączki wątrobowej (impending hepatic coma). Identyczne są również zmiany elektroencefalograficzne.

U podłoża zaburzeń neurologicznych leży działanie niezbojętnionych przez wątrobę produktów zachodzącego w przewodzie pokarmowym rozpadu białek. Podstawową rolę przyczynową odgrywać ma w tym względzie amoniak (Kirk cyt. za Mangumen i wsp. 1957, McDermott i Adams 1954, Sherlock i wsp. 1954, 1956, Phillips i wsp. 1952 i in), który działa trująco na tkankę nerwową poprzez zakłócenie przemian w cyklu Krebsa na drodze aminacji alfa-ketoglutaranu do glutamianu,

lub też w wyniku zużycia zasobów ATP w procesie glutaminacji amoniaku na terenie ośrodkowego układu nerwowego (Bessman, Bessman 1955).

Za koncepcją tą przemawia większość obserwacji klinicznych i doświadczalnych, wskazujących na podwyższenie zawartości amoniaku we krwi u chorych, zwłaszcza w okresie zaburzeń świadomości (Sherlock i wsp. 1954, 1956, McDermott i Adams 1954, Baltazan i wsp. 1957, Okinaka i wsp. 1962) oraz na znaczną wrażliwość na dietę białkową (Havens i Child 1955) i podawanie związków amonowych (Bessman, Bessman 1955). Znane są jednak przypadki, gdzie nie obserwowano wzrostu amoniaku zarówno w przewlekłej fazie choroby, jak i w czasie jej ostrych epizodów (część przypadków z serii Sherlock i wsp. 1954, przypadek Cuillain i wsp. 1954, przypadek Okinaki i wsp. 1962 oraz przypadek Havensa i Childa 1955). Wskazuje to na obecność innych jeszcze, dodatkowych czynników uszkadzających.

Do lat dwudziestych bieżącego stulecia panował powszechnie akceptowany pogląd Rokitansky'ego (cyt. za Walshem 1951), że zaburzenia neurologiczno-psychiatryczne związane z uszkodzeniem wątroby nie znajdują swojego odbicia w obrazie morfologicznym układu nerwowego. W późniejszych zresztą latach pogląd ten reprezentował nadal Weltman (cyt. za Erbslöhem 1958).

Pierwsze spostrzeżenia dotyczące patomorfologii zmian mózgowych w nabytych chorobach wątroby przyniosły doniesienia Insabato (1924) i Pollaka (1927), wskazujące na ich podobieństwo do obrazu choroby Wilsona, w jego postaci rzekomostwardnieniowej. Dalsze lata przyniosły liczne opisy kazuistyczne (Lüthy 1931, Brouwer 1936, Gaupp jr. 1938, Alexander 1940, Andre i van Bogaert 1947, Zillig 1948, Herz i Drew 1950, Franklin i Bauman 1953, Greenfield 1954 i in.), a przede wszystkim cały szereg opracowań monograficznych (Scherer 1933, Stadler 1936, Nikolajew 1937, Omaru 1941, Hilleman 1948, Waggoner 1942, Baker 1949, Adams i Foley 1953, Erbslöh 1958), omawiających szczegółowo patomorfologię zmian mózgowych w przebiegu banalnych uszkodzeń wątroby.

Charakterystyczny zespół zmian morfologicznych obserwowano zarówno w przypadkach ostrej śpiączki wątrobowej, jak również w przebiegu różnorodnych chorób przewlekłych wątroby. Najpospoliej zmiany morfologiczne występowały w przebiegu marskości wątroby, w jej wszystkich typach, a więc w marskości wrotnej, żółciowej i pozapalnej (Scherer 1933, Stadler 1936, Nikolajew 1937, Waggoner i Mallamud 1942 i Adams i Foley 1953). Charakterystyczne zmiany obserwowano również w przypadkach marskości barwikowej (Cammermeyer 1947), w przerzutach nowotworowych do wątroby (Pollak 1927, Scherer 1933, Stadler 1936, Adams i Foley 1953) oraz w jej pierwotnych nowotworach (Adams i Foley 1953, Erbslöh 1958, Dymecki 1965).

Co się tyczy charakteru zmian morfologicznych, to na plan pierwszy wysuwa się rozplam i przerost komórek makrogleju, a przede wszystkim astrocytów protoplazmatycznych. Charakterystyczne jest występowanie przerosłych, dużych, ubogochromatynowych jąder astrocytów, zbliżonych swoim obrazem histologicznym do komórek Alzheimera typu II. Dla podkreślenia ich różnic morfologicznych od wilsonowskich nagich jąder Pollak (1927), Adams i Foley (1949) nazywają je przejściowymi komórkami glejowymi, a Erbslöh (1958) glejem wątrobowym. Typowe komórki Alzheimera II są zjawiskiem raczej rzadkim i mało pospolitym. Erbslöh (1958) spostrzegł je w 10% przypadków, a Nikolajew (1937) zaledwie w 4 przypadkach, na ogólną ilość 22 przebadanych. W serii Scherera (1937) liczne nagie jądra występowały tylko w 1 na 41 przypadków marskości wątroby. Jedynie Adams i Foley (1953) opisywali występowanie komórek Alzheimera typu I, a Stadler (1936) w 1 przypadku, na ogólną ilość 70, stwierdził

obecność komórek Opalskiego. Baker (1949) nie spostrzegł zmian glejowych w ogóle. Pozostali autorzy opisywali je w granicach od 75% Stadler (1936) do 30% Hilleman (1948). Erbslöh sądzi, że występują one w 70% wszystkich przypadków uszkodzeń wątroby, przy czym w 1/3 przypadków zmiany te przybierają bardzo znaczne nasilenie, w pozostałych natomiast mają charakter dyskretny, lub są ledwie zaznaczone.

Drugą grupę zmian morfologicznych stanowi zwyrodnienie gąbczaste tkanki nerwowej, umiejscowione przede wszystkim w korze mózgu, zwojach podstawy i jądrze zębatym. Większość autorów, opisując ich obecność, podkreśla wyjątkowość tego zjawiska (Erbslöh 1958, Scherer 1933, Stadler 1936, Waggoner i Mallamud 1942).

Gąbczaste zwyrodnienie tkanki nerwowej, głównie kory i okolicy zespolenia korowo-podkorowego, a w mniejszym stopniu jąder podstawy, istoty czarnej i jądra zębatego mózdzku, stanowi zasadniczy element strukturalny przypadków zaliczanych do encefalopatii Inose i encefalopatii wrotno-układowej. Zwyrodnienie gąbczaste, wykazujące predylekcję do kory płatów czołowych, zwojów środkowych i płatów skroniowych, wybitnie zaznaczony rozstęp gleju, obecność nagich jąder Alzheimera oraz uszkodzenia komórek nerwowych zbliżają te przypadki do korowo-podkorowej postaci zwyrodnienia wątrobowo-mózgowego (Richter 1948, Konowałow 1960, Schulman i Barbeau 1963 i Mossakowski i wsp. 1964).

Trzecim wreszcie elementem obrazu morfologicznego encefalopatii pochodzenia wątrobowego jest obecność zaników i zmian zwyrodnieniowych komórek nerwowych, dotyczących wszystkich praktycznie formacji szarych, z przewagą w korze mózgu i w zwojach podstawy. Zanik i zwyrodnienia komórkowe występują najobficiej w przypadkach śpiączki wątrobowej, w następstwie ostrej martwicy wątroby, rzadziej natomiast w uszkodzeniach przewlekłych, gdzie współistnieją raczej z dodatkowymi zaburzeniami hemodynamicznymi.

Poza grupą przypadków Bakera (1949), nie opisywano uszkodzenia osłonek mieliniowych. Związek okołonaczyniowych przejaśnień mieliny z uszkodzeniem wątroby w serii Bakera został zresztą zakwestionowany przez Adamsa i Foleya (1953).

W pojedynczych przypadkach opisywano ponadto obecność zmian krwotocznych w mózgach (Edelman i Leidler 1938 oraz Zillig 1948) oraz ognisk rozmiękania tkanki nerwowej (Woods i Pendleton 1925, Nordgren 1935) w przebiegu śpiączki wątrobowej, na tle ostrej martwicy wątroby. Do wyjątków należą opisy nacieków zapalnych w oponach lub w ścianach naczyń krwionośnych, jako element obrazu encefalopatii wątrobowej (Ostertag 1952, Nordgren 1934, Stockes Owen, Holmes 1945).

Badaniem histochemicznym stwierdzono obecność sroćjądrowych wtrętów glikogenowych w komórkach Alzheimera typu II, występujących w encefalopatii Inose (Inose 1952, Okinaka i swp. 1962) oraz w innych postaciach encefalopatii pochodzenia wątrobowego (Inose 1962, Shiraki 1965). Ponieważ nie występują one w przypadkach choroby Wilsona, uznano je za zasadniczy morfologiczny element różnicujący encefalopatię wrotno-układową z korowo-podkorową postacią zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego. Gaupp jr. (1838) opisał występowanie glikogenowych ziarnistości w protoplazmie astrocytów i komórek nerwowych prądkowia w przypadkach encefalopatii wątrobowej, nie przypisując im zresztą istotnego znaczenia.

Drugą grupę stanowią histochemiczne badania zawartości miedzi w mózgu, w przypadkach encefalopatii pochodzenia wątrobowego. W przeciwieństwie do zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego, charakteryzującego się obecnością astrocytar-

nych złogów miedzi (Okinaka i wsp. 1954, Uzman 1957) w przypadkach encefalopatii wątrobowej nie stwierdzono ich występowania (Baltazan i wsp. 1957, Mossakowski i wsp. 1964).

Erbzlöh (1958) opisał obecność związków żelaza w okołojądrowych złogach barwikowych w zwojach podstawy, występujących w niewielkim odsetku (8 na 55) przypadków encefalopatii pochodzenia wątrobowego.

Współistnienie uszkodzeń strukturalnych w układzie nerwowym ze zmianami patologicznymi w wątrobie u ludzi, oraz występowanie analogicznych zespołów u niektórych zwierząt domowych (bydło, świnię, owce i konie), opisanych przez Dobbersteina (1926) i Heideggera (1935), stało się bodźcem dla podejmowania licznych badań doświadczalnych.

Największą grupę stanowią doświadczenia z wytworzoną przetoką Ecka, będące modelem ostrej śpiączki wątrobowej. Grupę tę charakteryzuje znaczna rozbieżność wyników, w zakresie zaobserwowanych zmian w ośrodkowym układzie nerwowym, od obrazu zapalenia mózgu (meat encephalitis), opisanego przez Baló i Kapasy'ego (1932), poprzez rozsiane ogniska zwyrodnienia gąbczastego tkanki nerwowej (Crandal i Weil 1933) do nieswoistych zwyrodnień komórek nerwowych i oznak uogólnionego obrzęku (Kirschbaum 1924 i Rapoport 1930). Zarówno Kirschbaum (1924), jak i Crandal i Weil (1933) podkreślają brak jakichkolwiek zmian w obrazie makrogleju. U większości psów w okresie zatrucia mięsem stwierdzano podwyższenie zawartości amoniaku w surowicy krwi (Riddel i wsp. 1954).

Drugą grupę stanowią doświadczenia z chemicznym uszkodzeniem wątroby, prowadzone na różnorodnym materiale zwierzęcym, z użyciem takich związków chemicznych, jak mangan, chloroform, fosfor, arsen, guanidina i in. Zaliczyć do tej grupy należy prace Kirschbauma (1923 i 1924), Mella (1924), Hursta i Hurst (1928) oraz Niokołajewa (1937). Tu również uzyskano bardzo różnorodne i niejednoznaczne wyniki, bo od zupełnie ujemnych — aż do stwierdzenia rozległych ognisk rozmiękania tkankowego w zwojach podstawy, uogólnionych zwyrodnień komórek nerwowych i wybitnego odczynu glejowego. Nie stwierdzano natomiast zmian, które mogłyby stanowić zwierzęcy odpowiednik uszkodzeń występujących u ludzi.

Ostatnią wreszcie grupę stanowią doświadczenia przeprowadzone przez Bakera (1953) i Laphama (1961) na szczurach hodowanych na wysokośluszczowej a niskobiałkowej diecie. Obu autorom udało się uzyskać model doświadczalny encefalopatii wątrobowej, stanowiący materiał wyjściowy do dalszych badań morfologicznych, histochemicznych i farmakologicznych.

Ze względów historycznych wspomnę tylko o doświadczeniach z podwiązaniem tętnicy wątrobowej (Kirschbaum 1923), w których uzyskano ogniska rozmiękania w jądrach podstawy oraz z wytwarzaniem przetoki żółciowej i poprzetokowym podawaniem alkoholu (Mahaim 1920). W tej ostatniej grupie uzyskano zmiany zwyrodnieniowe komórek nerwowych i uszkodzenie naczyń mózgowych.

MATERIAŁ I METODA

Badania nasze prowadziliśmy w trzech zasadniczych grupach. Pierwszą stanowiły przypadki spontanicznych encefalopatii wątrobowych u ludzi, wśród których można było wyróżnić uszkodzenia mózgu na tle ostrej i przewlekłej niedomogi wątroby oraz małą grupę związaną

z istnieniem chirurgicznego zespolenia żyły wrotnej z żyłą prózną dolną lub jej rozgałęzieniami. Ta grupa wydawała się nam szczególnie interesująca, ze względu na coraz powszechniej stosowane leczenie nadciśnienia wrotnego, przy pomocy chirurgicznego zespolenia żył układu wrotnego i czczego.

Drugą grupę stanowiły doświadczenia przeprowadzone na szczurach, u których uzyskano przewlekłe uszkodzenie wątroby, poprzez zastosowanie niskobiałkowej diety. Grupa ta stanowiła doświadczalny odpowiednik encefalopatii związanej z przewlekłymi, nabytymi uszkodzeniami wątroby, typu marskości u ludzi.

Trzecia grupa, składająca się z psów, którym założono przetoki Ecka, stanowiła w założeniu doświadczalny analog encefalopatii wrotno-układowej.

Grupa I. Spontaniczne encefalopatie pochodzenia wątrobowego

Materiał i metoda

Przebadano morfologicznie i histochemicznie mózgi w 36 przypadkach różnego typu nabytych uszkodzeń wątroby. Przebadany materiał w większości pochodził z I Kliniki Chirurgicznej AM w Warszawie. Pojedyncze przypadki pochodziły z Miejskiego Szpitala Bielańskiego i Miejskiego Szpitala Grochowskiego w Warszawie.

Makroskopowe i mikroskopowe badanie wątroby, przedstawione w dalszej części pracy, wykonane były w Zakładzie Anatomii Patologicznej AM w Warszawie (doc. dr med. S. Kruś), Zakładzie Anatomii Patologicznej S. D. L. w Warszawie (doc. dr med. M. Kobuszewska-Farynowa) i w Prosekturze Miejskiego Szpitala nr 4 w Warszawie (dr med. M. Beskid).

Przytoczone dane kliniczne zaczerpnięto z historii chorób oddziałów klinicznych i szpitalnych, z których pochodzili chorzy.

Badanie makroskopowe mózgów wykonano w Zakładzie Neuropatologii PAN, na materiale utrwalonym w 10% formalinie, posługując się Spielmeyerowską techniką sekcijną.

Badanie mikroskopowe przeprowadzono na dużych skrawkach topograficznych, pobieranych z półkul mózgu z zasady na trzech poziomach, przechodzących przez płaty czołowe do przodu od zwojów podstawy, przez w pełni rozwinięte zwoje podstawy oraz przez okolicę styku skroniowo-ciemieniowo-potylicznego, a poza tym na skrawkach pobieranych z pozostałych okolic półkul mózgu, pnia mózgowego, na poziomie śródmózgowia, mostu i opuszki oraz mózdzku.

Skrawki przygotowano techniką parafinową i mrozikową. Preparaty barwiono przy pomocy następujących metod przeglądowych i specjalnych: hematoksylina i eozyna, fiolet krezyłu, metoda von Gieson Heidenhaina lub Klüvera na osłonki mielinowe, Kanzler-Arendta lub Holzera na włókienka glejowe, Cajala na astrocyty, a w pojedynczych przypadkach Bielschowsky'ego na włókna osiowe. Wykaz stosowanych testów histochemicznych przedstawia tabela 1.

Tabela 1. Wykaz zastosowanych metod histochemicznych*)
Table 1. List of histochemical methods*)

Metoda Method	Substancja wykrywana Substance detected
Sudan III	Tłuszcze obojętne i estry cholesterolu
Sudan III	Neutral lipids and cholesterol esters
Sudan czarny B	Ciała tłuszczowe, lipoproteiny
Sudan Black B	Lipids, lipoproteine
PAS	Polisacharydy, glikoproteiny, glikolipidy
PAS	Polysaccharides, glucoproteins, glucolipids
Test acetylacynjny	Test kontrolny
PAS	Control test
PAS acetylation test	Control test
Test reacetylacynjny PAS	Test kontrolny
PAS reacetylation test	Control test
Karmin Besta	Glikogen
Best's carmine	Glycogen
PAS poprzedzony trawieniem w diastazie	Test kontrolny na glikogen
PAS after diastase digestion	Control test for glycogen
Błękit alcjanu	Kwaśne mukopolisacharydy
Alcian blue	Acid mucopolysaccharides
Luxol fast blue wg Klüvera	Związki fosfolipidowe
Luxol fast blue according to Klüver	Phospholipid compounds
Kwas rubeanowowodorowy wg Uzmana**)	Miedź
Hydrorubeanic acid according to Uzman**)	Copper

*) Według Pearse'a
According to Pearse

***) Tylko w wybranych przypadkach
Only in selected cases.

Charakterystyka materiału

Wiek i płeć. Wiek chorych zamykał się w granicach od 8 do 83 lat, średnia wieku wynosiła 55 lat (tabela 2), 22 przypadki dotyczyły kobiet, a 14 mężczyzn.

Tabela 2. Wiek chorych z encefalopatią wątrobową
Table 2. Age of the patients with hepatic encephalopathy

Dekada wieku Age decade	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Ilość przypadków No. of cases	1	1	3	—	5	10	11	4	1

Przebadany materiał obejmował 27 przypadków różnego typu i pochodzenia marskości wątroby, stanowiącej w 26 przypadkach pierwotne uszkodzenie narządu. W 1 przypadku marskość miała charakter pozastoinowy i związana była z przewlekłą niewydolnością krążenia. W 3 przypadkach występowała ostra martwica wątroby, w przebiegu jej wirusowego zapalenia, w 6 przypadkach nowotworowe nacieczenie wątroby, przy czym w 2 przypadkach występował pierwotny złośliwy nabłoniak wątroby, a w 4 nowotwór pęcherzyka żółciowego, z wtórnym naciekaniami mięszu narządu.

W grupie 26 przypadków marskości wątroby (po wyłączeniu przypadku marskości pozastoinowej) w 22 stwierdzono przyżyciowo zespół nadciśnienia żyły wrotnej, charakteryzujący się obecnością wodobrzusza, obrzękami dolnych odcinków ciała i wytworzeniem krążenia obocznego, poprzez rozszerzenia żyłne, w dolnej części przelyku. Ponadto zespół nadciśnienia wrotnego występował w 1 przypadku pierwotnego nowotworu wątroby. Objawów nadciśnienia wrotnego nie stwierdzono: w 3 przypadkach ostrej martwicy wątroby, w 5 przypadkach nowotworu wątroby (w tym w 4 wtórnych i w 1 pierwotnym), w 1 przypadku marskości pozastoinowej i w 4 przypadkach marskości pierwotnej.

Objawy niewydolności wątroby, manifestujące się klinicznie śpiączką wątrobową, obecne były w 25 przypadkach, przy czym w 3 przypadkach ostrej martwicy, w 3 uszkodzenia nowotworowego i w 17 marskości wątroby. We wszystkich tych przypadkach chorzy zmarli wśród objawów śpiączki wątrobowej. W 4 przypadkach epizody śpiączkowe powtarzały się ze zmienną częstotliwością, w okresie $1\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{2}$ roku przed śmiercią. W pozostałych, śpiączka wątrobowa stanowiła epizod jednorazowy w zejściowym okresie choroby. Czas trwania śpiączki wahał się w granicach od 2 do 11 dni. Dwie chore z ciężkim uszkodzeniem wątroby zmarły w śpiączce pochodzenia mózgowego: 1 w następstwie śródoperacyjnego zatrzymania akcji serca, a druga w wyniku uogólnionej zakrzepicy naczyń mózgowych, która rozwinęła się w kilka dni po zabiegu zespalającym żyłę wrotną z żyłą prózną dolną.

Wyniki badań laboratoryjnych, stanowiące biochemiczne wykładniki uszkodzenia mięszu wątrobowego, nie były osiągalne we wszystkich przypadkach, ze względu na niewykonanie ich z powodu zbyt krótkiego pobytu chorych na oddziale klinicznym, lub też z braku możliwości ich wykonania na oddziałach szpitalnych.

Jedenastu chorych zmarło bez objawów śpiączki wątrobowej, w tym 4 wśród objawów krwotoku z przewodu pokarmowego, 3 w stanie wyniszczenia i zatrucia nowotworowego, 2 wśród objawów niewydolności krążenia, a 2 z innych przyczyn.

Zjawiskiem stosunkowo pospolitym w naszym materiale było krwawienie z żyłaków przelyku. Występowało ono w 18 przypadkach, przy czym wyłącznie w grupie z marskością wątroby. W 18 przypadkach marskości „pierwotnie wątrobowej” i w 1 przypadku marskości pozastoinowej nie występowało krwawienie z przewodu pokarmowego, jakkolwiek w tej grupie mieszczą się również 4 przypadki z żyłakami przelyku, stwierdzonymi w badaniu sekcyjnym. Krwawienia z żyłaków przelyku u większości chorych występowały wielokrotnie w okresie ostatnich kilkunastu miesięcy przed śmiercią. W pojedynczych tylko przypadkach stanowiły one jednorazowy epizod zejściowy. Nawracające krwotoki z przewodu pokarmowego były zasadniczym czynnikiem, decydującym o pośdaniu się chorych zabiegowi zespolenia żylnego między układem wrotnym i żyłą prózną

dolną. Zespoleń żyłne wykonano w 8 przypadkach marskości wątroby, przy czym podkreślić należy, że wszyscy chorzy tej grupy zginęli wśród objawów śpiączki wątrobowej. U 2 chorych, u których zabieg operacyjny wykonano na 2 i 5 lat przed śmiercią, rozwinął się typowy zespół encefalopatii wrotno-układowej, kończący się śpiączką wątrobową. U pozostałych 6 śpiączka wystąpiła w 2 — 6 dni po wykonaniu zespolenia.

Objawy neurologiczne odnotowano w 16 przypadkach, przy czym z wyjątkiem 1 przypadku występowały one wyłącznie w tej grupie chorych, którzy zginęli w śpiączce wątrobowej. Z grupy tej należy jednak wyłączyć wspomniane 2 przypadki śpiączki mózgowej. W pozostałych 14 przypadkach objawy neurologiczne występowały u 12 chorych z marskością wątroby oraz u 2 chorych z nowotworowym uszkodzeniem narządu.

W 6 przypadkach objawy neurologiczne wystąpiły w końcowym okresie choroby, poprzedzając bezpośrednio śpiączkę. Miały one charakter uogólnionych lub ogniskowych drgawek kloniczno-tonicznych, nawracających stanów zaburzeń świadomości o typie zamroczenia lub *delirium*, drżeń pozapiramidowych oraz zrywań mięśniowych. W 1 przypadku stwierdzono niedowład połowiczny. Należy przy tym podkreślić, że objawy pozapiramidowe, takie jak drżenia i mioklonie, występowały również i w okresie śpiączkowym.

W pozostałych 8 przypadkach objawy neurologiczne utrzymywały się długotrwale lub nawracały w okresie do 4 tygodni przed śmiercią.

Na odrębną uwagę zasługują 2 wspomniane już przypadki marskości wątroby, z chirurgicznie wytworzonym zespoleniem żylnym pomiędzy układem wrotnym i żyłą próżną dolną, w których po upływie 4 i 1 roku rozwinął się klasyczny zespół encefalopatii wrotno-układowej. Zespół neurologiczny w obu wymienionych przypadkach charakteryzował się występowaniem ckresowych zaburzeń świadomości różnej głębokości, od lekkich zamroczeń do stanów głębokiej śpiączki, prowokowanych zwykle spożyciem pokarmów wysokobiałkowych. Zaburzenia świadomości występujące z różną, narastającą w miarę przebiegu choroby częstotliwością, nakładały się na postępujący zespół pozapiramidowo-piramidowy z wielokrotnym współdziałaniem objawów mózdkowych i wyraźnym zespołem psychoorganicznym. W obrazie klinicznym obu przypadków dominowały ruchy mimowolne w zakresie twarzy, języka i kończyn górnych. W obu przypadkach występowały charakterystyczne zmiany w zapisie elektroencefalograficznym, polegające na obecności fal wolnych o częstotliwości 1—3 na sek., często o rysunku iglicy z falą, o amplitudzie 40 — 80 miliwolt, nakładające się na płaski zapis podstawowy. Zmiany te najsilniej wyrażone były w odprowadzeniach przednich części mózgu. W obu też przypadkach stwierdzono wybitnie dodatnie próby wątrobowe (tymolowa od 11 do 24 j. McL₂), podwyższony poziom bilirubiny do 1,5 mg^o/o oraz obniżony poziom białek surowicy ze względnie podwyższoną zawartością gamma-globulin. Poziom amoniaku w okresie międzyśpiączkowym zamykał się w granicach 84—98 mg^o/o.

Podobny zespół z mniej wyrażoną składową pozapiramidową, a dominującymi nawracającymi zaburzeniami świadomości obserwowano w przypadku 98/63, dotyczącym 69-letniej kobiety z wieloletnim wywiadem kamicowym i rocznym wywiadem nadciśnienia wrotnego, u której nie wykonano zespolenia wrotno-czczege, oraz w przypadku 239/64* dotyczącym 22-letniego mężczyzny z pierwotnym ra-

* Przypadek ten stanowi przedmiot odrębnego doniesienia J. Dymckiego pt. „Encefalopatia wątrobowa w przebiegu pierwotnego raka wątroby”. *Neurologia, Neurochirurgia i Psychiatria Polska*, 1965.

kiem wątroby. W przypadku kobiety obok zespołu nawracających zaburzeń świadomości stwierdzało się obecność drobnych, rozsianych neurologicznych objawów ogniskowych, wskazujących na uszkodzenie dróg piramidowych. W przypadku mężczyzny z 1 $\frac{1}{2}$ -rocznym wywiadem chorobowym, obok ilościowych zaburzeń świadomości prowokowanych w sposób demonstracyjny spożyciem pokarmów białkowych, występowały dyskretne objawy piramidowe i pozapiramidowe. Objawy pozapiramidowe o charakterze drżeń i zrywań mięśniowych nasilały się wybitnie w okresach śpiączkowych. Badanie EEG wykonane w okresie śpiączkowym wykazało zmiany zbliżone swoją morfologią do opisywanych w przypadkach encefalopatii wrotno-układowej. W obu przypadkach stwierdzono znaczne obniżenie poziomu białek surowicy, ze względny wzrostem gamma-globulin. Poziom amoniaku w surowicy krwi w pierwszym przypadku był nie podwyższony, w drugim nie wykonano jego oznaczenia. W przypadku kobiety próby wątrobowe wykazywały znaczne odchylenia od stanu prawidłowego, wyniki u mężczyzny mieściły się w granicach normy.

W jednym przypadku (65/63), dotyczącym 24-letniego mężczyzny z dwuletnim wywiadem chorobowym, obecny był zespół pozapiramidowy, przypominający typowy obraz choroby Wilsona, przy ujemnych wynikach badań biochemicznych, dotyczących przede wszystkim poziomu miedzi i ceruloplazminy we krwi. Jest to zresztą jedyny przypadek zespołu neurologicznego w grupie chorych bez śpiączki wątrobowej.

W pozostałych trzech przypadkach objawy neurologiczne obserwowano w okresie kilku tygodni poprzedzających śpiączkę wątrobową. Miały one charakter sporadycznych epizodów kilkudniowego zamroczenia. Towarzystwo im niecharakterystyczne, rozsiane objawy ogniskowe.

Grupa II. Encefalopatia w następstwie doświadczalnego uszkodzenia wątroby

Celem tej części pracy było uzyskanie doświadczalnego, przewlekłego uszkodzenia wątroby i prześledzenie, czy zmiany te prowadzą do uchwytynych morfologicznych zmian w ośrodkowym układzie nerwowym, mogących stanowić analogię do uszkodzeń układu nerwowego, które występują w przebiegu różnego typu marskości wątroby u ludzi.

Materiał i metoda

Doświadczenie przeprowadzono na 66 szczurach białych rasy Wistar. Materiał doświadczalny obejmował 29 samców i 37 samic. Wiek zwierząt w momencie rozpoczęcia doświadczenia zamykał się w granicach od 6 tygodni do 4 miesięcy. Grupa doświadczalna składała się z 35 zwierząt (15 i 20); 30 zwierząt stanowiło grupę kontrolną.

Opis doświadczenia. Uszkodzenie wątroby u zwierząt doświadczalnych otrzymano przez stosowanie diety niskobiałkowej, zawierającej 10,8% biał-

ka. Skład karmy podawanej zwierzętom doświadczalnym przedstawiał się następująco (Rakowska 1962) w gramach na 1 000:

kazeiny podpuszczkowej	— 108,0 g
skrobi pszennej	— 532,0 „
cukru	— 200,0 „
oleju sojowego	— 100,0 „
tranu	— 20,0 „
soli mineralnych	— 40,0 „

Podawane sole mineralne składały się z 4,78% chlorku sodu, 15,04% siarczanu magnezu, 9,55% dwuzasadowego fosforanu potasu, 26,29% jednozasadowego fosforanu potasu, 14,88% kwaśnego fosforanu wapnia, 17,93% mleczanu wapnia, 8,27% węgłanu wapnia oraz 3,26% cytrynianu żelaza. Na każdy kilogram soli podawano ponadto 2,62 g mikroelementów o następującym składzie: siarczan magnezu (0,4 g), uwodniony siarczan miedzi (0,78 g), alun glinowo-potasowy (0,180 g), fluorek sodu (1,130 g), uwodniony arsenian sodu (0,017 g), uwodniony chlorek kobaltu (0,040 g) oraz jodek potasu (0,1 g). Dietę uzupełniano 5 kroplami alkoholowego roztworu witamin z kompleksu B. Roztwór sporządzano w 20% alkoholu etylowym wg następujących proporcji na 400 ml roztworu: tiaminy 64 mg, ryboflawiny 64 mg, niacyny 400 mg, chlorowodoru pirydoksyny 32 mg, pantotenianu sodu 200 mg, kwasu paraminobenzoowego 200 mg, chlorowodoru cholicy 2 000 mg, inozytolu 1 600 mg, biotyny 160 mcg, witaminy B₁₂ 229 mcg, i kwasu foliowego 2,5 mg.

Dieta podawana w grupie kontrolnej zwierząt różniła się jedynie procentową zawartością białka. Kazeina podpuszczkowa stanowiła 24,3% pokarmu, ilość skrobi wynosiła odpowiednio mniej (39,7%). Pozostałe elementy diety były nie zmienione. Pokarm podawano *ad libitum*. Podobnie bez ograniczeń podawano wodę.

Po upływie 3 miesięcy podawania wymienionej diety część zwierząt w grupie doświadczalnej (10) i kontrolnej (10) zamiast wody otrzymało do picia 30% alkohol etylowy.

Na 3 tygodnie przed zakończeniem doświadczenia 10 samicom w grupie doświadczalnej i 8 w grupie kontrolnej podano dodatkowo octan miedzi w dawce 5 g/kg wagi pokarmu.

Doświadczenie zakończono po upływie 9 miesięcy. Część zwierząt (po 2 w każdej grupie) uśpiono po upływie 3 i 6 miesięcy od rozpoczęcia doświadczenia. Część zwierząt padła przed zakończeniem doświadczenia (łącznie 11 sztuk).

Obserwacje kliniczne. Przez cały okres obserwacji zwierzęta w grupie doświadczalnej zachowywały się normalnie. Nie zdradzały cech uszkodzenia układu nerwowego. Apetyt miały dobry. Nie stwierdzano zmian skórnych. Zwierzęta, które padły samoistnie, na kilka dni przed śmiercią traciły apetyt, stały się apatyczne i senne.

Podobnie wszystkie zwierzęta grupy kontrolnej, z wyjątkiem jednego, przez cały okres doświadczenia nie wykazywały cech uszkodzenia układu nerwowego. Wyjątek stanowiła samica, która zginęła w 8 miesiącu doświadczenia. Na kilka dni przed śmiercią schudła, przestała jeść, stała się apatyczna. Obserwowano zataczanie się przy chodzeniu i napadowe drżenie całego ciała.

Technika badań morfologicznych. Zwierzęta usypiano eterem i zabijano przez dekapitację. Do badania mikroskopowego pobierano mózg, wą-

trobę, śledzionę i nerki. Pobierany materiał utrwalano w 10% formalinie, a następnie sekcjonowano.

Do badania mikroskopowego pobierano wycinki z 3 poziomów mózgu, z których pierwszy przechodził przez w pełni rozwinięte zwoje podstawy, drugi przez śródmózgowie, a trzeci przez mózdzek i rdzeń przedłużony. Z poziomu I i III pobierano po dwa wycinki, z których jeden zatapiany był w parafinie, drugi służył do technik mrozikowych. Z pozostałych narządów pobierano po jednym wycinku.

Preparaty barwiono przy pomocy metod histologicznych i histochemicznych, stosowanych w badaniu materiału ludzkiego.

Preparaty z narządów wewnętrznych barwiono hematoksyliną i eozyną, a wątroby dodatkowo karminem Besta i Sudanem czarnym B.

Grupa III. Encefalopatia w następstwie doświadczalnie wykonanej przetoki Ecka

Celem tej części pracy było prześledzenie zmian w ośrodkowym układzie nerwowym, wywołanych przedostawaniem się do krążenia ogólnoustrojowego krwi jelitowej z pominięciem filtra wątrobowego, w następstwie doświadczalnie wytworzonej przetoki pomiędzy układami żyły wrotnej i żyły próżnej dolnej. W założeniu przedstawiona grupa zwierząt miała stanowić doświadczalny odpowiednik zespołu określonego u ludzi nazwą *encephalopathia porto-systemica*. W założeniu istniała jednak podstawowa różnica między modelem doświadczalnym a jego odpowiednikiem ludzkim (pomijając różnice gatunkowe). U ludzi zespolenie przeprowadza się w przypadkach pierwotnie uszkodzonej wątroby, podczas gdy materiał doświadczalny obejmował zwierzęta całkowicie zdrowe, bez cech jakichkolwiek uszkodzeń wątroby.

Do pracy wykorzystano mózgi psów, którym zespolenie żyły wrotnej z żyłą próżną dolną wykonywał zespół pracowników Zakładu Chirurgii Doświadczalnej PAN (kierownik prof. dr J. Nielubowicz), tam też prowadzono całokształt obserwacji klinicznych i badań biochemicznych. Przedmiotem zainteresowania autora niniejszej pracy była jedynie patomorfologia i histochemia uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego, rozwijających się w następstwie zakłóceń w krążeniu wrotnym. W tym celu posłużono się materiałem doświadczalnym służącym poza tym do prowadzenia szerokiego wachlarza badań klinicznych i biochemicznych.

Wydawało się nam jednakże, że dla pełniejszego zrozumienia patomorfologii uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego, niezbędna jest znajomość podstawowych elementów doświadczenia, jego przebiegu klinicznego i wyników badań biochemicznych, stanowiących skądinąd przedmiot szeregu odrębnych opracowań. Przedstawione poniżej dane,

dzięki uprzejmości prof. dra J. Nielubowicza, zaczerpnęliśmy z obserwacji prowadzonych przez zespół jego współpracowników z Zakładu Chirurgii Doświadczalnej PAN.

Materiał i metoda

Doświadczenie przeprowadzono na psach różnych ras. Grupa doświadczalna uwzględniona w naszej części badań składała się z 10 samców w wieku od 2 do 5 lat, wagi od 10 do 22 kg. Wszystkie zwierzęta, przed przystąpieniem do doświadczenia, były zdrowe. Zwierzętom wykonano zespolenie operacyjne pomiędzy żyłą wrotną i żyłą czczą dolną.

Siedem spośród zwierząt po założeniu przetoki Ecka prowadzono na diecie niskobiałkowej, z czego u 2 w okresie pooperacyjnej obserwacji klinicznej zastosowano szok skrwawieniowy, obniżając na okres 30 min. ciśnienie krwi do 50 mm Hg, po czym ciśnienie wyrównywano przez przetoczenie odpowiedniej ilości krwi.

Trzem psom po wyprowadzeniu z okresu choroby pooperacyjnej podano dietę mięsną.

Okres przeżycia zwierząt po założeniu przetoki Ecka zamykał się w granicach 191 — 9 dni, w tym okresy te dla zwierząt prowadzonych na diecie niskobiałkowej wynosiły 191 — 67 dni (średnio 133 dni), a dla zwierząt, którym podano dietę mięsną 9 — 24 dni (średnio 18 dni).

Wszystkie zwierzęta zginęły spontanicznie. Wszystkie psy, którym podano dietę mięsną, zginęły w śpiączce wątrobowej. Czas stosowania diety mięsnej do wystąpienia objawów śpiączki wynosił 8 — 2 dni. Czas trwania pełnej śpiączki nie przekraczał 24 godzin. W grupie zwierząt z dietą niskobiałkową śpiączka rozwinęła się u 3 psów. Jej wystąpienie poprzedzał kilkudniowy okres ustraty apetytu, apatii oraz senności. Okres pełnej śpiączki wynosił 24 — 72 godziny. Cztery psy zginęły bez objawów śpiączki wśród stopniowo postępującego wyniszczenia i apatii. Tabela 3 przedstawia podstawowe dane dotyczące obrazu klinicznego doświadczenia.

W grupie poczynionych obserwacji biochemicznych, zwracały uwagę zaburzenia w stężeniu amoniaku we krwi oraz nieprawidłowości w zawartości białek surowicy i ich frakcji. U wszystkich psów, z wyjątkiem 2, obserwowano się znaczne podwyższenie poziomu amoniaku we krwi, w okresie pierwszego tygodnia po zabiegu operacyjnym. Po wyjściu z okresu choroby pooperacyjnej utrzymywał się również podwyższony poziom amoniaku, przy niższych jednak jego wartościach niż bezpośrednio po zabiegu. Poziom amoniaku w okresie przedśmiertnym, przekraczając ogólnie jego prawidłową zawartość, był niższy niż w okresie bezpośrednio i późno pooperacyjnym. Co się tyczy zawartości białek i ich frakcyjnego rozrzutu w surowicy krwi, to przy bardzo znacznym rozstrzeleniu wyników, zwraca uwagę na ogół obniżenie zawartości białek całkowitych i przesuwanie się ich elektroforetycznego *spektrum* w kierunku narastania zawartości gamma-globulin.

Technika badań morfologicznych. Do badania mikroskopowego układu nerwowego pobrano wycinki z półkul mózgu, przechodzące na wysokości jąder podstawy, oraz poprzez okolice czołową i potyliczną, a ponadto wycinki ze śródmózgowia i mózdzku łącznie z rdzeniem przedłużonym.

Zastosowano identyczną jak w grupie ludzkiej technikę badań histologicznych i histochemicznych.

Tabela 3. Podstawowe dane kliniczne psów z przetoką Ecka
Table 3. Basic clinical data on the dogs with Eck fistula

Lp. No	Płeć Sex	Wiek w latach Age	Czas trwania przetoki (dni) Duration of the fistula in days	Dieta mięsna czas trwania (dni) Meat diet, duration	Skrwawienie, ilość krwi i ciśnienie Bleeding, volume of blood lost and blood pressure	Śpiączka Coma	Czas trwania śpiączki (godz) Duration of coma in hours	Uwagi Remarks
459	M	4	191	—	—	+	24	
607	M	2	31	—	900 ml RR 50/30	—	—	Zginął w 22 dni po upuście died 22 days after bleeding
523	M	5	67	—	—	+	24	
493	M	4	182	—	—	+	72	
581	M	2	22	+8	—	+	24	
555	M	4	148	—	—	—	—	
467	M	3	77	—	—	—	—	chudł — nie jadł lost weight and appetite
590	M	5	9	+2	—	+	24	
568	M	3	24	+3	—	+	24	
689	M	3	36	—	300 ml	—	—	zginął w 8 dni po upuście died 8 days after bleeding

WYNIKI BADAŃ WŁASNYCH

Grupa I. Spontaniczne encefalopatie pochodzenia wątrobowego

A. Badania morfologiczne

W obrazie morfologicznym przypadków nie stwierdzono zasadniczych jakościowych różnic uwarunkowanych charakterem uszkodzenia wątroby. Dlatego też nie przedstawiamy patomorfologii zmian w mózgu w układzie zależnym od typu uszkodzenia wątroby. Wydawało się nam słuszniejsze wyodrębnienie w materiale naszym dwóch podstawowych grup, w oparciu o główne kryterium kliniczne — obecność śpiączki wątrobowej, na grupę śpiączkową i bezśpiączkową. W grupie śpiączki wątrobowej wyodrębniliśmy przypadki ze śpiączką w następstwie ostrej martwicy wątroby, w przypadkach encefalopatii wrotno-układowej i w przebiegu przewlekłego uszkodzenia wątroby.

Przypadki ze śpiączką wątrobową.

Śpiączka w przebiegu ostrej martwicy wątroby (3 przypadki)

B a d a n i e m a k r o s k o p o w e. Wszystkie przypadki charakteryzuje znaczny obrzęk mózgu, wyrażający się poszerzeniem istoty białej, zatarciem granicy pomiędzy istotą białą i szarą mózgu, szczelinowatym obrazem układu komorowego, a w 1 przypadku wgłobieniem migdałów mózdzku do otworu potylicznego wielkiego. W 2 przypadkach stwierdza się wyraźne zażółcenie opon miękkich mózgu, ścian żył śródmózgowych i spłotów naczyniastych komór bocznych.

B a d a n i e m i k r o s k o p o w e. Podstawowym elementem obrazu mikroskopowego przypadków tej grupy są wybitnie nasilone cechy obrzęku mózgu, wyrażającego się w istocie białej porozsuwaniem pasm oligodendrogleju wyznaczających przebieg włókien nerwowych, a we wszystkich formacjach mózgowych znacznym poszerzeniem przestrzeni okołonaczyniowych. Sąsiadujące, wybitnie poszerzone przestrzenie okołonaczyniowe, łącząc się z sobą, tworzą drobne ogniska rozrzedzenia utkania tkanki nerwowej. Zmiany tego typu spotyka się przede wszystkim na pograniczu korowo-podkorowym. Mimo znacznego nasilenia zmian w żadnym przypadku nie dochodzi do wytworzenia typowego obrazu stanu gąbczastego. W poszerzonych przestrzeniach około naczyń niekiedy występują pojedyncze limfocyty. Drugim miejscem predylekcyjnego nasilenia zmian obrzękowych są okolice okołokomorowe, a w szczególności okolica rogu dolnego komory bocznej. W 2 przypadkach tej grupy w otoczeniu komór występuje bardzo znaczne rozrzedzenie struktury tkanki nerwowej oraz rozlane zblednięcie osłonek mielino-wych, któremu nie towarzyszy ich rozpad sudanofilny. Podobne rozrzedzenie stwierdzono w jednym przypadku w skorupie i przylegającej części torebki wewnętrznej.

Drugą grupę zmian stanowią wybitne cechy uszkodzenia komórek nerwowych, a przede wszystkim kory mózgu, oraz w mniejszym stopniu formacji podkorowych i mózdzku. Zmiany komórkowe najczęściej nie mają typowych postaci nisslowskich schorzeń komórkowych. Najpowszelej występuje rozpad tigroidu, dotyczący przede wszystkim dużych komórek piramidowych III i V warstw kory mózgu. W korze amonalnej występują „zmiany niedokrwienne” komórek dwupiramidowych, a w mózdzku tzw. schorzenie homogenizacyjne komórek Purkiniego. Gdziekolwiek tylko spotyka się pojedyncze komórki z obkurczonym i zagęszczonym tigroidem, przypominające schorzenie przewlekłe Spielmejera.

Stosunkowo rozległe i masywne zaniki komórek nerwowych nie powodują jednak wyraźnych zaburzeń warstwowego układu kory ani za-

tarcia prawidłowej struktury formacji podkorowych. W 1 przypadku stwierdzono obraz rozplywnej martwicy warstwy ziarnistej kory mózdku.

Zjawiskiem wspólnym dla wszystkich przypadków tej grupy są natomiast zmiany w obrazie makrogleju. W korze mózgu, a w mniejszym stopniu w jądrach podstawy i w istocie białej półkul, stwierdza się ogólne pomnożenie ilości astrocytów, najwyraźniejsze na pograniczu korowo podkorowym. Wśród licznych widocznych w barwieniach przeglądowych jąder astrocytów, pewna ich ilość charakteryzuje się znacznymi rozmiarami, przewyższającymi niekiedy dwukrotnie wymiary prawidłowych astrocytów. Jądra te mają nieregularne zarysy, często stwierdza się pofałdowanie błony jądrowej. Zwraca uwagę ubogość chromatyny jądrowej oraz obecność 1 — 2 wyraźnie metachromatycznych grudek chromatynowych, sprawiających wrażenie jąderek.

Te przerosłe komórki makrogleju widoczne były we wszystkich formacjach szarych, a w mniejszym stopniu i w istocie białej. Przeważały w głębokich pokładach kory mózgu, we wzgórzu, skorupie, w istocie czarnej, oliwach i jądrze zębatym mózdku. Typowe komórki Alzheimera typu II, występowały tylko w dwóch przypadkach. Były stosunkowo nieliczne i spotykało się je w tych samych formacjach, co opisane poprzednio przejściowe postaci astrogleju. W ani jednym przypadku nie znaleziono komórek Alzheimera typu I oraz komórek Opalskiego. Podobnie nie stwierdzono okołojądrowych skupień szarozielonkawego barwika w otoczeniu astrocytów, ani włókienkowego odczynu glejowego, pomimo znacznego nasilenia zmian obrzękowych. W impregnacji sposobem Cajala spostrzegano dość liczne, przerosłe astrocyty włókienkowe i protoplazmatyczne. Znaczna ilość spośród nich wykazywała nasilone cechy uszkodzenia wypustek tzw. kłazmatodendrozę (ryc. 1). W głębokich warstwach kory spotykało się pojedyncze bezwypustkowe astrocyty.

Śpiączka w przebiegu encefalopatii wrotno-układowej (2 przypadki)

Badanie makroskopowe. W jednym z dwóch przypadków tej grupy stwierdzono drobne korowe ognisko naczyniopochodnego uszkodzenia tkanki nerwowej, położone w górnym zawoju czołowym po stronie prawej, oraz miernego nasilenia stan jamisty prawych jąder podstawy. W przypadku drugim zmian makroskopowych w mózgu nie stwierdzono.

Badanie mikroskopowe. W obu przypadkach obok znacznych rozlanych ubytków komórek nerwowych, występujących we wszystkich strukturach szarych, przede wszystkim korze (warstwy III

i V), prążkowiui (duże komórki) oraz we wzgórzu (komórki jąder bocznych), spostrzegano liczne neurocyty, wykazujące różnego typu uszkodzenie ich struktury. Przeważały zmiany typu ischemicznego (kora amonalna) i homogenizacyjnego (komórki Purkinjego).

Zmiany w obrazie tkanki glejowej polegały głównie na ogólnym zwiększeniu ilości astrocytów, występowaniu licznych form przerosłego astrogleju oraz typowych nagich jąder glejowych (ryc. 2). Zarówno zwiększenie ilości komórek glejowych, jak i obecność ich nieprawidłowych postaci obserwowano w istocie szarej i białej, ze zdecydowaną przewagą pierwszej. Największe zmiany wykazywała kora mózgu, gdzie prawie cała populacja glejowa występowała w postaci drugiego typu komórek Alzheimera. Ilość ich wyraźnie wzrastała w kierunku głębokich warstw kory. Bardzo liczne, nagie jądra występowały również w prążkowiui, gałce bladej, wzgórzu, w szarych formacjach pnia, a przede wszystkim w istocie czarnej, nakrywce konarów, jądrach mostu i oliwach oraz jądrze zębatym mózdzku. Obok typowych komórek Alzheimera tyu II, stwierdzano bardzo liczne przejściowe postaci astrocytów. Wiele spośród nagich jąder, jak również jąder gleju przejściowego, a nawet prawidłowego, otoczonych było skupieniami szarozielonkowego barwnika. Niekiedy w większych nagich jądrach spostrzegano duże, wybitnie kwasochłonne ciała wtrętowe. W impregnacji sposobem Cajala większość astrocytów wykazywała bądź zmiany przerostowe, bądź też różnego nasilenia klazmatodendrozę. W korze prawie w ogóle nie spotykało się komórek z prawidłowo zachowanymi wypustkami. Przeważały tu astrocyty bezwypustkowe, o typowym obrazie tzw. zwyrodnienia pełzakowatego. Podobnie przedstawiały się komórki glejowe na poziomie zespolenia korowo-podkorowego. W istocie białej, obok komórek uszkodzonych, występowały liczne ich formy przerosłe, a nawet prawidłowe.

Drugim zjawiskiem determinującym obraz morfologiczny przypadków były ogniska stanu gąbczastego. Zwyrodnienie gąbczaste charakteryzowało się występowaniem skupień drobnych jamek, łączących się niekiedy z sobą w większe systemy, przypominające obraz plastra miodu (ryc. 3). Zasadniczą cechą tych zmian był brak odczynu rozbiórkowego ze strony mikrogleju oraz wytwórczego ze strony makrogleju i tkanki łącznej. Jamki nie wykazywały na przekrojach żadnego związku z naczyniami. Tkanka nerwowa w ich otoczeniu była nie uszkodzona, tak dalece, że w brzegach jamek leżały prawidłowe komórki nerwowe, a osłonki mielinowe włókien nerwowych przebiegających pomiędzy jamkami nie wykazywały żadnych cech uszkodzenia (ryc. 4). W przypadku pierwszym, z 2-letnim okresem pooperacyjnym, zwyrodnienie gąbczaste tkanki dotyczyło wybiórczo V warstwy kory i istoty

białej bezpośrednio podkorowej zawoju środkowego przedniego i tylnych odcinków zawojów czołowych (ryc. 5). Towarzyszyły im mniej nasilone zmiany w górną-zewnętrzną część skorupy i jądra ogoniastego oraz we wzgórzu i jądrze zębatym mózdzku. W przypadku drugim, z 5-letnim czasokresem przeżycia pooperacyjnego, zwyrodnienie gąbczaste tkanki nerwowej było bardziej rozległe i obejmowało przede wszystkim skorupę i jądro ogoniaste, niszcząc na znacznej przestrzeni ich przednio-grzbietowe odcinki z charakterystycznym zaoszczędzeniem przebiegających między nimi włókien torebki wewnętrznej (ryc. 6). Drobniejsze ogniska zgąbczenia występowały we wzgórzu, jądrze podwzgórzowym, jądrze zębatym i głębokich warstwach kory. Zmiany korowe były w tym przypadku stosunkowo nieznaczne i nigdzie nie osiągały rozległości i natężenia zmian podkorowych.

W obu przypadkach zwracał uwagę brak włókienkowego odczynu glejowego zarówno w otoczeniu ognisk zgąbczenia, jak i wokół pogrubiałych naczyń. Na uwagę ponadto zasługuje fakt, że otoczenie ogniska naczyniopochodnego w przypadku pierwszym wykazywało bardzo nikły glejowy odczyn komórkowy, a całkowity brak włókienkowego, mimo że wykładniki morfologiczne ogniska jak i dane kliniczne wskazywały na jego wiek, w którym należałoby oczekiwać odczynu włókniastego ze strony makrogleju.

Śpiączka w przebiegu przewlekłego uszkodzenia wątroby (19 przypadków)

Badanie makroskopowe. W obrazie makroskopowym tej grupy nie stwierdzono zmian charakterystycznych. 8 przypadków wolnych było całkowicie od jakichkolwiek nieprawidłowości. W 5 obecny był obrzęk mózgu, przy czym w 2 z wgłobieniem migdałków do otworu potylicznego wielkiego. W 2 przypadkach występowało podbarwienie barwikami żółciowymi splotów naczyniastych układu komorowego i dużych pni żylnych.

W 6 przypadkach obecne były zmiany miażdżycowe w naczyniach podstawy mózgu, przy czym zaledwie w 1 osiągnęły one znaczne nasilenie, w pozostałych ograniczały się do występowania pojedynczych blaszek miażdżycowych w ścianie dużych naczyń tętniczych podstawy mózgu. W 3 przypadkach obecne były drobne jamki okołonaczyniowe w zwojach podstawy, składające się na obraz umiarkowanego stanu jamistego.

Na odrębne omówienie zasługuje przypadek 252/62 dotyczący kobiety 49-letniej, która zmarła w 11 dniu po zespoleniu żyły wrotnej z żyłą próżną dolną, wśród głębokiej śpiączki mózgowej. Obraz sekcyjny mózgu wykazywał uogólnioną zakrzepicę naczyń korowych z nasępczym rozmiękaniem rozległych obszarów półkul mózgowych.

Obraz morfologiczny przypadku ze śródoperacyjnym zatrzymaniem akcji serca charakteryzował się przekrwieniem naczyń oponowych i znacznym obrzękiem tkanki mózgowej.

B a d a n i e m i k r o s k o p o w e. Zmiany patologiczne obecne były we wszystkich przypadkach tej grupy. W sposób typowy współistniały ze sobą zmiany dotyczące komórek nerwowych i gleju, przy czym uszkodzenie astrogleju stanowiło dominujący element patomorfologiczny.

Zmiany dotyczące komórek nerwowych miały charakter ubytków komórkowych, występujących w różnym nasileniu w poszczególnych formacjach mózgowia, bądź też różnej intensywności i rozległości zmian zwyrodnieniowych.

Zaniki komórek nerwowych, obecne we wszystkich przypadkach, dotyczyły przede wszystkim kory mózgu. W 10 przypadkach miały one charakter zaników rozsianych. Zwracał uwagę brak ich związku z układem naczyniowym. Spostrzegano się natomiast wyraźną predylekcję do umiejscowienia w głębokich warstwach kory. W niektórych przypadkach (5) natężenie zaników komórek nerwowych było większe. Rozlane pola ubytków komórkowych zajmowały wówczas rozległe połacie kory mózgu, obejmując niekiedy jej wszystkie warstwy na całej głębokości. W 5 przypadkach zaniki dotyczyły wybiórczo pewnych warstw kory, przede wszystkim warstwy V i III. Najczęściej i najciężej uszkodzona była kora płatów czołowych i rogu Amona, zwłaszcza w sektorze H₅. Dalsze miejsca zajmują płaty skroniowe, okolica zawojów środkowych. Najłżejsze zmiany obserwowano w płatach ciemieniowych i potylicznych. Poza korą zaniki komórek nerwowych występowały w formacjach podkorowych, w pniu mózgowym i w mózdku. Częstość ich występowania i natężenie zmian można uszeregować następująco: prążkowie (duże komórki), jądro zębate mózdku, formacja siateczkowata pnia mózgowego. Stosunkowo rzadko występowały ubytki komórek Purkinjego i komórek wzgórze. Na szczególną uwagę natomiast zasługują uszkodzenia warstwy ziarnistej mózdku. W 8 przypadkach występowała jej skrzepowa martwica, której ogniska obejmowały niekiedy rozległe obszary kory mózdku.

Z wyjątkiem jednego przypadku nie obserwowano neuronofagii.

Drugą pospolitą grupę uszkodzeń komórkowych obecnych we wszystkich przypadkach stanowiły zmiany zwyrodnieniowe neurocytów*. Najczęstszy był rozpad tigroidu — *tigrolysis*, obejmujący bądź rów-

* W ocenie zmian komórkowych nie uwzględniono 2 przypadków, z których jeden wykazywał zmiany typowe dla encefalopatii po zatrzymaniu akcji serca, a drugi rozległą martwicę kory, w następstwie uogólnionej zakrzepicy naczyń mózgowych.

nomiennie całe ciało komórkowe, bądź tylko poszczególne jego części, przybierając wówczas postać tzw. ciężkiego schorzenia komórkowego. Obok nich występowały liczne komórki nerwowe obkurczone, ciemne z jednolicie lub grudkowato zagęszczonym tigroidem — odpowiadające obrazowi przewlekłego schorzenia komórkowego. Zmiany te najczęściej dotyczyły kory mózgu, zwłaszcza warstw piramidowej wewnętrznej i zewnętrznej oraz warstwy komórek wielokształtnych. Rzadziej zmiany tego typu obserwowano w neuronach zwojów podstawy i wzgórza wzrokowego. Ponadto, dość pospolicie spotykało się zmiany komórkowe typu schorzenia ischemicznego. Występowały one niemal wyłącznie w korze mózgu, a przede wszystkim, w warstwie komórek dwupiramidowych rogu Amona. Najmasywniejsze zmiany typu ischemicznego w korze amonalnej obserwowano w tych przypadkach, w których ciężki krwotok z żyłaków przełyku poprzedzał zejście śmiertelne. Względnie często występowało stłuszczenie komórek. Najrzadziej spotykało się tzw. schorzenie homogenizacyjne komórek Purkiniego i zwyrodnienie wodniczkowe neuronów, występujące prawie wybiórczo, w dużych komórkach ruchowych pnia mózgowego.

Dominujące w obrazie mikroskopowym wszystkich przypadków uszkodzenia makrogleju polegały na współistnieniu ciężkich zmian zwyrodnieniowych astrocytów z ich rozplemem i przerostem oraz na występowaniu specjalnych form komórkowych, znanych pod nazwą komórek Alzheimera typ II i komórek Opalskiego.

Pomnożenie komórek astrogleju widoczne było w 17 przypadkach, zaledwie w 2 nie stwierdzono jego oznak, a w 1 było ono ledwie zaznaczone. Rozplem gleju występował zarówno w istocie szarej, jak i białej, z tym, że w 2 przypadkach ograniczony był wyłącznie do formacji szarych, a w 4 przeważał w istocie białej. Najczęściej rozplem astrogleju obserwowano w korze i podkorowej istocie białej, nieco rzadziej w jądrze zębatym. Rzadko dotyczył on pnia mózgowego i jądra ogoniastego, najrzadziej zaś wzgórza i mózdzku. Podobnie kształtował się rozkład zmian, jeśli idzie o nasilenie procesów rozrostowych.

Rozplemowi astrogleju towarzyszył znaczny przerost pojedynczych astrocytów zarówno protoplazmatycznych, jak i włókienkowych. Zmiany te wykazywały znaczną równoległość natężenia i rozkładu z opisanymi powyżej procesami rozplemowymi gleju. Przerost komórek glejowych przejawiał się przede wszystkim powiększeniem ich jąder, niejednokrotnie do rozmiarów dwukrotnie przewyższających ich wielkość prawidłową. Charakteryzowało je przy tym zubożenie sieci chromatynowej, wrębowate zarysy błony jądrowej oraz obecność 1 — 2 grudek chromatynowych, o wyraźnie metachromatycznym zabarwie-

niu, przypominających jąderka. W impregnacji Cajala ciała komórkowe były często dwukrotnie większe niż normalnie, podobnie zachowywały się ich grube, nieregularne wypustki. Nie spotykano natomiast gemistocytarnych postaci astrogleju tak w polach stwierdzanego rozplemu glejowego, jak i w sąsiedztwie ognisk naczyniopochodnych, obecnych w 3 przypadkach. Nie spotykano również w tych obszarach włóknistego odczynu glejowego. W barwieniu Holzera zagęszczenie pilśni glejowej widoczne było jedynie w brzeźnych warstwach gleju — podoponowej i podwyściółkowej, przy stosunkowo minimalnym zagęszczeniu włóknienek dokoła naczyń nawet w tych przypadkach, gdy wykazywały one zaawansowane stwardnienie ścian.

Widocznym zjawiskiem były zmiany w obrazie astrogleju, obserwowane w impregnacji złotowej. Znaczny odsetek astrocytów, zarówno prawidłowych jak i przerosłych, wykazywał wybitne uszkodzenie wypustek. Obserwowało się bardzo znaczną nieregularność ich odejścia, obecność wrzecionowatych i paciorkowatych zgrubień na ich przebiegu oraz zmienną w swoim nasileniu ich fragmentację (ryc. 7). Zmiany tego typu obecne były w formacjach szarych i białych. Przeważały w głębszych warstwach kory, w istocie białej bezpośrednio podkorowej, w skorupie i w jądrze zębatym mózdzku. W korze i w formacjach podkorowych występowały liczne bezwypustkowe astrocyty, z zaznaczonymi tylko stożkami odejścia wypustek. Wybitnie nasilone objawy kłazmatodendrozy obecne były w 14 przypadkach, w pozostałych intensywność zmian była niewielka. Obok uszkodzeń wypustek astrocytów obecne były zmiany w ich protoplazmie, polegające na jej obrzmieniu, gromadzeniu się wodniczek oraz zmniejszeniu zdolności impregnowania się solami złota.

Następną postacią obserwowanych zmian glejowych były tzw. komórki Alzheimer'a typu II (ryc. 8). Występowały one we wszystkich przypadkach z wyjątkiem jednego. W 2 przypadkach ograniczone były do kory mózgu, w 6 występowały w postaci rozsianej, gromadząc się po kilka do kilkunastu, w poszczególnych strukturach mózgowia, w 10 natomiast stanowiły one zjawisko uogólnione. Najczęściej i najobficiej nagromadzone były w jądrze zębatym mózdzku, korze mózgu we wzgórzu i w istocie czarnej. Zwoje podstawy oraz istota biała półkuli znacznie rzadziej stanowiły siedzibę tego typu zmian.

Liczne spośród nagich jąder zawierały w swoim otoczeniu drobne skupienia szarozielonkowatego barwika, którego histochemiczne właściwości zostaną omówione oddzielnie. Wiele nagich jąder zawierało kwasochłonne wtręty śródnajdrowe, przypominające swoim wyglądem i rozmiarami jąderko (ryc. 9). Przybierając znaczne rozmiary, wypełniały one niekiedy całe wnętrza komórki Alzheimer'a (ryc. 10).

Poza typowo ukształtowanymi komórkami Alzheimerera typu II, występowały liczne formy pośrednie. Podobnie jak nagie jądra, wiele spośród nich otoczonych było skupieniami szarozielonkowego barwika. W nich również stwierdzono obecność wtrętów śródjądrowych.

W ani jednym przypadku nie znaleziono komórek Alzheimerera typu I. W 7 przypadkach obecne były komórki Opalskiego, nie różniące się swoją morfologią od komórek występujących w zwyrodnieniu wątrobowo-soczewkowym. Protoplazma komórek Opalskiego wypełniona była drobnoziarnistym, kwasochłonnym materiałem. W niektórych widoczne były stożkowate punkty odejścia wypustek, jakkolwiek większość z nich nie miała wypustek, charakteryzując się okrągłym lub owalnym kształtem i nieproporcjonalnie małym, odśrodkowo położonym obkurczonym jądrem (ryc. 11). Komórki Opalskiego były zjawiskiem bardzo rzadkim; występowały co najwyżej po kilka w całym przypadku. Stwierdzono ich obecność w korze mózgu, jądrach podstawy i w formacjach pniowych. Nieco obficie występowały w jednym z przypadków, w otoczeniu dużego ogniska zgąbczenia tkanki nerwowej.

Obraz oligodendrogleju nie odbiegał od stanu prawidłowego. Nie zmienione oligodendrocyty leżały w zwykłej ilości nawet wśród ognisk stanu gąbczastego. Podobnie, z wyjątkiem 1 przypadku, nie występowały odczyny mikroglejowe. We wspomnianym przypadku dotyczącym 49-letniej kobiety z długotrwałym wywiadem kamicowym, złośliwym nabłoniakiem pęcherzyka żółciowego z przerzutami do wątroby i kilkudniową śpiączką wątrobową w okresie zejściowym, obserwowano wybitny odczyn mikroglejowy, polegający na uogólnionym pomnożeniu komórek Hortegi, występowaniu ich form przerosłych z tendencją do okołonaczyniowych zagęszczeń. Obraz ten przypominał nieco zmiany spotykane w przyzakaźnym zapaleniu mózgu.

Ostatnią grupę zjawisk obserwowanych w opisywanych przypadkach, stanowiły ogniska stanu gąbczastego. Ich rozległość wahała się w dość znacznych granicach, od drobnych ognisk zajmujących nieznaczną część uszkodzonej formacji, do rozległych, zajmujących po kilka sąsiadujących ze sobą struktur. Wspólną cechą wszystkich ognisk stanu gąbczastego był brak komórkowego i włókienkowego odczynu glejowego w ich otoczeniu, brak powiązania z układem naczyniowym oraz stosunkowo nieznaczne natężenie uszkodzeń tkankowych w sąsiedztwie ogniska (ryc. 12). Morfologia ognisk zgąbczenia różniła się znacznie od przypadku do przypadku, od drobnych delikatnych rozrzedzeń tkankowych ze źle obrysowanymi granicami jamek, do w pełni wykształconego stanu gąbczastego z dużymi, łączącymi się z sobą, ostro obrysowanymi jamkami (ryc. 13). Wydaje się, że zmiany te stanowią kolejne fazy wykształcania się

stanu gąbczastego. Ogniska zgąbczenia tkanki występowały pojedynczo lub wielogniskowo. Wielogniskowe zgąbczenia były jednak bardzo rzadkie i obecne były jedynie w 2 przypadkach, na ogólną ilość 9 przypadków, z tym typem zmian. Zgąbczenia najpospoliciej występowały w podkorowej istocie białej i w głębokich warstwach kory, przede wszystkim płatów czołowych i skroniowych. Następnie w kolejności zajęte były: jądro zębate, skorupa, gałka błada. Najrzadziej występowały one w pniu mózgu.

Uszkodzenia osłonek mielinowych nie stanowiły istotnego elementu obrazu morfologicznego tej grupy przypadków. W 5 jednak przypadkach obserwowano drobne, źle ograniczone przejaśnienia mieliny, najczęściej okołonaczyniowe. W 2 przypadkach występowały dodatkowo rozleglejsze przykomorowe przejaśnienia osłonek rdzennych.

Biorąc pod uwagę wiek znacznej części przypadków, oczywiste jest występowanie zmian patologicznych w ścianach naczyń oraz stanowiących ich następstwo, naczyniopochodnych uszkodzeń tkankowych. Zmiany te w większości przypadków stanowiły zjawisko drugoplanowe. W 2 jedynie przypadkach wysuwały się one na czoło obrazu patologicznego. Zwłóknienie ścian drobnych naczyń, ich pogrubienie, nieprawidłowości struktury i zeszkliwienie obserwowano ogółem w 10 przypadkach. We wspomnianych 2 istniały ponadto objawy nasilonego stanu jamistego w jądrach podstawy. W 3 przypadkach ponadto obecne były ogniska rozmiękania tkanki nerwowej. Znamienne dla obu była uboga reakcja tkanki glejowej.

II. Przypadki bez śpiączki wątrobowej (11 przypadków)

Badanie makroskopowe. W 5 przypadkach nie stwierdzono makroskopowych odchyłeń od stanu prawidłowego. W pozostałej grupie 6 przypadków, w 3 stwierdzono znaczny obrzęk mózgu, w 2 z objawami wgłobienia migdałków mózdzku do otworu potylicznego wielkiego i z zażółceniem splotów naczyniastych komór bocznych i ścian żył śródmózgowych. W 3 przypadkach stwierdzono zmiany miażdżycowe w tętnicach podstawy mózgu, w 1 przypadku bardzo znacznie nasilone. W żadnym przypadku nie stwierdzono ogniskowych uszkodzeń tkanki nerwowej.

Badanie mikroskopowe. Zmiany patologiczne obecne były we wszystkich przypadkach, różniąc się znacznie od przypadku do przypadku swoim nasileniem i rozległością. Zasadniczy typ zmian nie różnił się istotnie od grupy poprzedniej. Podobnie jak w tamtej, współistniały tu uszkodzenia komórek z głębokimi zmianami w obrazie tkanki glejowej.

Zaniki komórek nerwowych w korze mózgu obecne były we wszystkich przypadkach, przy czym w 5 były to zmiany nieznaczne, nie wpływające na obraz jej struktury anatomicznej. Zaledwie w 2 przypadkach istniał niewątpliwy związek ubytków komórkowych z układem naczyniowym kory. W 4 przypadkach rozlane zaniki komórek nerwowych kory prowadziły do wyraźnego zatarcia jej budowy warstwowej. W 2 natomiast ograniczone były do III i V warstwy korowej. Dominowały ubytki w okolicach czołowych, skroniowych i w rogu Amona. Poza korą, wyraźne zmiany stwierdzano we wzgórzu, oliwach dolnych i jądrze zębatym. W 3 przypadkach stwierdzono wyraźne ubytki komórek Purkinjego mózdzku. Podobnie jak w grupie poprzedniej, zwracało uwagę uszkodzenie warstwy ziarnistej mózdzku. Jej wybiórcza skrzepowa martwica obecna była aż w 7 przypadkach.

Wśród uszkodzeń komórkowych dominowały zmiany, których charakter i rozkład w układzie nerwowym wskazywały na ich związek z niedotlenieniem tkanki nerwowej. Były to uszkodzenia typu schorzenia ischemicznego, przeważające wśród komórek piramidowych kory mózgu zwłaszcza okolicy amonalnej, lub schorzenia homogenizacyjnego komórek Purkinjego. Poza tym spostrzegano inne typy zwyrodnień komórkowych, manifestujące się nieprawidłową barwliwością i rozkładem ziarnistości Nissla. Zwyrodnienia komórkowe, podobnie jak zaniki, występowały najczęściej w korze mózgu, a dalej w kolejności w zwojach podstawy (skorupa!), wzgórzu i formacji siateczkowatej pnia mózgu. W kilku przypadkach spotykano zwyrodnienie wodniczkowe komórek ruchowych pnia mózgowego. Na uwagę zasługuje brak odczynu glejowego, który można by wiązać z ubytkami komórkowymi. Warto również podkreślić już w tym miejscu, że rozległe ubytki komórkowe i zwyrodnienia występowały przede wszystkim w przypadkach ze znacznymi krwotokami z przewodu pokarmowego, poprzedzającymi zejście śmiertelne.

W obrazie tkanki glejowej, podobnie jak w grupie ze śpiączką, charakterystycznie współlistniały ze sobą zmiany postępujące i wsteczne. Znacznego stopnia rozplem gleju stwierdzono w 8 przypadkach, przy czym w 4 dotyczył on w równej mierze formacji szarych i białych, w 2 przeważał w istocie białej i w 2 w szarej. Podobnie jak poprzednio, największe zmiany obserwowano w głębokich warstwach kory i w istocie podkorowej oraz wzgórzu, jądrze zębatym i oliwach dolnych. Objawy przerostu komórek glejowych obserwowano w 10 przypadkach. W połowie współlistniały one w istocie białej i szarej, w pozostałych przypadkach ograniczały się do formacji szarych.

Cechy znacznego uszkodzenia komórek glejowych stwierdzono w 8 przypadkach. W 2 jego nasilenie było nieznaczne. Zmiany te polegały

na wodniczkowym zwyrodnieniu protoplazmy komórek astrocytów i jej obrzmieniu aż do form amebowatych, a przede wszystkim na znacznym uszkodzeniu wypustek astrocytów, w postaci nieregularnych, wrzecionowatych lub paciorkowatych zgrubień oraz ich fragmentaryzacji. Podobnie jak zmiany progresywne, tak i klazmatodendroza dotyczyła przede wszystkim kory mózgu oraz okolicy podkorowej, a następnie zwojów podstawy i pnia. Cechy uszkodzenia gleju można było obserwować już w barwieniach przeglądowych, w postaci ciemnych pyknotycznych, niekiedy wykazujących drobnoziarnisty lub pyłkowy rozpad jąder.

Zmiany astrocytów typu komórek Alzheimera II, zarówno w ich postaci klasycznej, jak i w tzw. formie przejściowej obecne były w 9 przypadkach. W połowie przypadków ograniczone one były do jednej lub dwóch formacji anatomicznych, stanowiąc przy tym zjawisko bardzo rzadkie. W 4 przypadkach spostrzegano je praktycznie we wszystkich częściach mózgowia. Ich rozkład w poszczególnych strukturach układu nerwowego był identyczny jak w grupie śpiączek.

W żadnym przypadku nie spotkano komórek Alzheimera typu I. Komórki Opalskiego znaleziono tylko w 1 przypadku, w którym wprawdzie śmierć nie była następstwem śpiączki wątrobowej, ale w jego przebiegu klinicznym obserwowano powtarzające się epizody śpiączkowe.

Komórki oligodendrogleju i mikrogleju na ogół nie wykazywały odchyleń od obrazu prawidłowego, z wyjątkiem 3 przypadków, gdzie ostry obrzęk oligodendrogleju towarzyszył oznakom obrzęku mózgu.

Ogniska zgąbczenia tkanki nerwowej występowały w 6 przypadkach. W połowie miały one charakter jedno- w połowie zaś wielogniskowy. W 2 przypadkach zmiany dotyczyły kory mózgu, w 2 istoty białej. Pień mózgowy uszkodzony był w 4 przypadkach, a mózdzek w 1. Podobnie jak w grupie poprzedniej, zgąbczeniu tkanki nerwowej nie towarzyszył ani włókienkowy, ani komórkowy odczyn glejowy. Niezależnie od opisanych ognisk zgąbczenia nie wykazujących związku z układem naczyniowym, w 2 przypadkach występowały typowe okołonaczyniowe zaniki tkanki nerwowej, składające się na obraz naczyniopochodnego stanu sitowatego i jamistego. Zmiany te występowały w przypadkach zaawansowanego stwardnienia naczyń.

Uszkodzenie osłonek mielinowych nie występowało w ani jednym przypadku, jeśli nie liczyć drobnych okołonaczyniowych zblednięć mieliny, występujących w 2 przed chwilą omówionych przypadkach.

W 6 przypadkach stwierdzono mikroskopowe objawy obrzęku mózgu, których nasilenie tylko w 3 osiągało znaczny stopień. Były to przede wszystkim przypadki z makroskopowo stwierdzonym wgłobieniem migdałków mózdzku.

W 8 przypadkach naczyńia śródmózgowe wykazywały objawy stwardnienia ich ścian, którego natężenie wahało się w granicach stopni 1 — 3 wg klasyfikacji Wiśniewskiej (1965). Zwraca uwagę charakterystyczne zachowanie się okołonaczyniowych błon glejowych, a mianowicie ich stosunkowo mała akcentacja w otoczeniu stwardniałych naczyń. Jedyne w 3 przypadkach wybitnie zaawansowanych zmian stwardnieniowych obecne było znaczne pogrubienie okołonaczyniowej błony glejowej. W 1 przypadku stwierdzono stare ognisko naczyniopochodnego uszkodzenia tkanki, znajdujące się w stanie zbliznowacenia glejowo-łącnotkankowego. Włóknisty odczyn glejowy stanowił istotny element jego struktury.

B. Badanie histochemiczne

Badanie histochemiczne przeprowadzono w celu bliższego określenia charakteru trzech elementów obrazu morfologicznego encefalopatii pochodzenia wątrobowego, a mianowicie:

- 1) złogów szarozielonkawego barwika, skupionego w otoczeniu części komórek Alzheimer'a typu II, a niekiedy również w sąsiedztwie morfologicznie nie zmienionych jąder astrogleju;

- 2) opisanych przez Inose (1953) i Okiną i wsp. (1962) PAS-dodatnich wtrętów śródjądrowych, występujących w komórkach Alzheimer'a II;

- 3) ziarnistości wypełniających protoplazmę komórek Opalskiego, dla ich porównania z tego samego rodzaju zmianami w zwyrodnieniu wątrobowo-soczewkowym.

Jeśli idzie o badania ostatniej grupy, zasadniczą trudnością w przeprowadzeniu pełnej serii badań histochemicznych była niezwykle rzadkość komórek Opalskiego. Przy bardzo dużej serii przeprowadzonych badań, tylko w niektórych barwieniach udało się znaleźć pojedyncze komórki Opalskiego. Wydawało się jednak, że uzyskane w ten sposób, niepełne wprawdzie, wyniki pozwalają w przybliżeniu określić charakter wypełniających ich protoplazmę substancji.

Wyniki badań histochemicznych obejmują materiał ze wszystkich grup spontanicznej encefalopatii wątrobowej, a więc zarówno przypadki powikłane śpiączką wątrobową, jak i przebiegające bez śpiączki. Śródjądrowe wtręty w komórkach glejowych występowały we wszystkich przypadkach powikłanych śpiączką i w 5 z grupy bezśpiączkowej. Nie spotykano ich w przypadkach ostrej martwicy wątroby.

Okołojądrowe skupienia ziaren barwиковych występowały praktycznie we wszystkich przypadkach, z wyjątkiem 4 z grupy bezśpiączkowej. Skupienia barwika spotykano we wszystkich formacjach mózgowia, najob-

ficiej w korze mózgu i w warstwie komórek Bergmana kory mózdzku. Uzyskane wyniki przedstawia tabela 4.

Tabela 4. Właściwości histochemiczne badanych substancji
Table 4. Histochemical properties of the studied substances

Metoda Method	Wtręty śródnukleowe Intranuclear inclusions	Ziarnistości okołonukleowe Perinuclear grains	Komórki Opalskiego Opalski cells
Sudan III	—	—	O
Sudan III	—	—	O
Sudan czarny B Sudan black B	—	+	—
PAS	+	+	+
PAS	+	+	+
PAS po acetylacji PAS after acetylation	—	—	O
PAS po reacetylacji PAS after reacetylation	+	+	O
PAS po trawieniu diastazą PAS after diastase diges- tion	część + partly	+	+
Błękit alcjanu Alcian blue	część + partly	śladowa trace	+
Karmin Besta Best's carmine	+	śladowa trace	—
Luxol fast blue Luxol fast blue	—	+	O
Kwas rubeanowo-wodo- rowy Hydrorubeanic acid	—	—	—

O = nie znaleziono komórek Opalskiego.

O = Opalski cells not found.

Wykonane testy histochemiczne wskazują na złożony i nieco odmienny w poszczególnych położeniach charakter gromadzących się substancji. Ich wspólną cechą jest obecność składowej węglowodanowej, na co wskazuje dodatni odczyn reakcji z odczynnikiem Schiffa, zweryfikowany testem acetylacynym i reacetylacynym.

Dodatni odczyn z odczynnikiem Besta oraz wrażliwość na trawienie diastazą wskazuje na glikogen jako materiał budulcowy śródnukleowych wtrętów w komórkach Alzheimerera II. Jednakże oporność części ciał wtrętowych na działanie diastazy (ryc. 14) — jakkolwiek reakcja po trawieniu diastazą była zawsze osłabiona — przy równoczesnym ich dodatnim wybarwianiu się błękitem alcjanowym, wskazuje na obecność

ich drugiego składnika węglowodanowego, którym, jak można przypuszczać, jest związek o charakterze mukopolisacharydu. Ujemne wyniki barwienia odczynnikami z grupy sudanów wskazują na brak komponenty lipidowej w strukturze chemicznej wtrętów. Ujemna reakcja Uzmana wyłącza miedź jako ich składnik chemiczny.

Odmienny charakter mają okołojądrowe złogi barwika. Równoczesna dodatniość odczynu PAS (ryc. 15) i barwienia Sudanem czarnym B (ryc. 16) wskazuje na jego złożony, lipidowo-węglowodanowy skład. Dodatni odczyn, z Luxol fast blue, może z kolei wskazywać na fosfolipidowy charakter składnika tłuszczowego. Wydaje się jednak, że złogi te nie są ciałem jednorodnym. Dodatnia reakcja części z nich z karminem Besta wskazuje również na udział glikogenu w ich strukturze chemicznej, a słaba i tylko w niewielkiej ilości dodatnia reakcja z błękitem alcjanu może wskazywać z kolei na udział komponenty mukopolisacharydowej. Bezsporny natomiast jest brak miedzi w składzie chemicznym barwika.

Ziarnistości wypełniające protoplazmę komórek Opalskiego (ryc. 17), jak można sądzić z niepełnego zestawu badań histochemicznych, wydają się mieć charakter związku węglowodanowego z grupy mukopolisacharydów. Nie zawierają one w swoim składzie glikogenu, ciał tłuszczowych ani miedzi.

Należy dodać, że ponadto w badaniu histochemicznym stwierdzono obecność Sudano- i PAS-dodatnich substancji w komórkach nerwowych, zwłaszcza dużych komórkach piramidowych kory mózgu, w neuronach wzgórza wzrokowego, ciała kolankowatego, oliw dolnych i jądra zębatego mózdzku. Oporność reakcji Schiffa na acetylację oraz występowanie zmian histochemicznych w tych formacjach anatomicznych, które w barwieniach przeglądowych wykazywały zaawansowane zwyrodnienie tłuszczowe, pozwala na łączenie dodatniego wyniku wymienionych reakcji z obecnością lipochromu komórkowego. Część dużych komórek ruchowych pnia mózgu, komórki Purkiniego i jądra zębatego wykazywały w wielu przypadkach dodatnią reakcję z błękitem alcjanowym.

C. Omówienie wyników

Zestawienie obserwacji morfologicznych wszystkich grup spontanicznych encefalopatii pochodzenia wątrobowego wykazuje, że nie ma między nimi istotnych jakościowych różnic. Istniejące różnice są natury ilościowej i dotyczą zazwyczaj przewagi jednego elementu patologicznego nad innymi, przy wspólnym dla wszystkich przypadków wzorcu patomorfologicznym.

Istotnym elementem naszych spostrzeżeń wydaje się fakt, że praktycznie we wszystkich przypadkach ze śpiączką i w przeważającej większości przypadków bez śpiączki wątrobowej obecne były morfologiczne wykładniki uszkodzenia tkanki nerwowej, związanego — przy całej nieswoistości zmian — z podstawową patologią wątrobową.

W grupie przypadków bez śpiączki wątrobowej zaledwie w 2 nie stwierdziliśmy w ogóle objawów morfologicznych encefalopatii wątrobowej. Dotyczyły one przypadków z nowotworem złośliwym pęcherzyka żółciowego, z przerzutami do wątroby i z długotrwałym zapaleniem dróg żółciowych, któremu towarzyszyły objawy marskości zanikowej wątroby. W 4 przypadkach cechy morfologiczne encefalopatii wątrobowej schodziły na plan dalszy, przesłonięte objawami naczyniopochodnych uszkodzeń tkanki lub też wybitnie nasilonymi objawami niedokrwienia i obrzęku.

Natężenie zmian patologicznych, we wszystkich przebadanych grupach, wahało się w szerokich granicach od przypadku do przypadku. Nie stwierdzono istotnych różnic morfologicznych w grupie przypadków ze śpiączką wątrobową, w porównaniu z grupą bezśpiączkową. Jedynie obserwowane tu zmiany były bardziej powszechne, uogólnione i ciężkie w przypadkach, gdy śmierć była wynikiem śpiączki wątrobowej. Również w grupie śpiączkowej częściej i obficiej występowały glikogenowe wtręty śródjądrowe oraz komórki Opalskiego. Wydaje się, że również częstsze były tu objawy obrzęku mózgu, jakkolwiek nie stanowiło to bezwzględnego objawu różnicującego, gdyż w grupie bezśpiączkowej obserwowano również szereg przypadków z masywnym obrzękiem, prowadzącym w 2 spośród nich do wgłobienia migdałków mózdzku.

Istotne różnice morfologiczne stwierdzono natomiast w obrazie przypadków ostrej śpiączki wątrobowej, rozwijającej się w przebiegu wirusowego zapalenia wątroby, w porównaniu z pozostałymi grupami przypadków. W grupie tej dominowały objawy ciężkiego obrzęku mózgu oraz uszkodzenia komórek nerwowych, nad zmianami w tkance glejowej. Spostrzegane w tych przypadkach rozrzedzenia tkanki nerwowej nosiły bardziej znamiona martwicy obrzękowej Jacoba, niż stanu gąbczastego, występującego w uszkodzeniach związanych z chorobami wątroby. Jednakże i w tych przypadkach widoczne były charakterystyczne zmiany w obrazie gleju, stanowiące niewątpliwie element „pochodzenia wątrobowego”. Spostrzeżenie to jest nowe w stosunku do opinii wielu autorów, którzy uważają, że ostre uszkodzenie wątroby prowadzi jedynie do niewielkich, nieswoistych uszkodzeń tkankowych (Kirschbaum 1922, Rapoport 1930, Erbslöh 1958). Przypadek opisanego przez André i van Bogaerta (1947) zespołu neurologicznego w przebiegu ostrej marskości wątroby jest do dziś uznawany za wyjątkowy.

Wydaje się, że podstawowym czynnikiem modelującym patomorfologię tej grupy jest gwałtowność i ostrość uszkodzenia wątroby, prowadząca do uogólnionego stanu zatrucia, w którym obok czynników związanych z niewydolnością wątroby, zasadniczą rolę odgrywać mogą podkreślane przez Nikołajewa (1937) produkty autolizy tkanki wątrobowej. Tym ogólnotoksycznym przebiegiem choroby, wydaje się, należy tłumaczyć przewagę elementów toksycznej encefalopatii, w obrazie morfologicznym ośrodkowego układu nerwowego.

Przypadki z chirurgicznie wykonanym zespoleniem żylnym reprezentują najpełniejszy zespół zmian uznanych za charakterystyczne dla encefalopatii pochodzenia wątrobowego (Erbslöh 1958). Zwłaszcza typowo występowało tu gąbczaste zwyrodnienie tkanki nerwowej. Analiza naszego materiału wykazuje jednak, że zmiana ta, uznawana za typową dla encefalopatii wrotno-układowej, występuje również i w prostej postaci encefalopatii pochodzenia wątrobowego, zarówno kończącej się śpiączką jak i nie powikłanej epizodami śpiączkowymi. Wydaje się, że nie można mówić o odrębnościach patomorfologii encefalopatii wrotno-układowej. Stanowi ona po prostu wyraz bardziej zaawansowanych uszkodzeń, charakterystycznych dla całego zespołu encefalopatii pochodzenia wątrobowego. Przebadany przez nas materiał zawiera pełny przekrój zmian, dających się ułożyć w kolejne sekwencje narastającego zespołu uszkodzeń: od ledwo uchwytnych zmian patologicznych gleju, poprzez narastanie wstecznych i progresywnych zmian w astrocytach, z niewielkimi ogniskami zgąbczenia tkanki nerwowej, aż do masywnego zespołu uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego, nie różniącego się morfologicznie od obrazu zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego.

W przypadkach przewlekłych uszkodzeń wątroby, zmiany glejowe stanowią najwcześniejszy i najbardziej stały element morfologiczny encefalopatii pochodzenia wątrobowego. Obraz zmian morfologicznych gleju jest wypadkową jego procesów rozrostowych i zmian wstecznych, przy czym proporcja ta zawsze wydaje się przesunięta na rzecz zwyrodnienia gleju.

Pochodzenie masywnych, w szeregu przypadków, zaników i zwyrodnień komórek nerwowych trudne jest do rozstrzygnięcia ze względu na przeważający starszy wiek chorych; współistnienie zaawansowanych zmian naczyniowych lub obecność — w klinicznym przebiegu przypadków — masywnych krwawień z przewodu pokarmowego. W tej ostatniej grupie przypadków uszkodzenia komórek nerwowych były największe. W ocenie powiązania uszkodzeń komórek nerwowych z podstawowym procesem chorobowym wątroby, ze względu na wielokrotność dodatkowych czynników uszkadzających, na które każdy z naszych chorych mógł być narażony w ciągu całego życia, musieliśmy się od-

wołać do doświadczeń na zwierzętach, którym poświęcona jest dalsza część pracy.

Na dodatkową uwagę zasługuje ponadto stosunkowo częsta martwica skrzepowa warstwy ziarnistej mózdzku. Obecna ona była zarówno w grupie przypadków ze śpiączką wątrobową, jak i bez śpiączki. Przy tym, przypadki te nie dotyczyły wyłącznie chorych z nowotworami wątroby czy pęcherzyka żółciowego (*cerebellopathia carcinogenes* Greenfield 1954), lecz również występowały i u chorych w przypadkach banalnej marskości wątroby. W 2 przypadkach z nowotworem złośliwym pęcherzyka, udało się nam stwierdzić obecność zagęszczenia pilsni glejowej w osi zrazików, których kora wykazywała zmiany martwicze. Wskazywałoby to na przyżyciowy, a nie preagonalny lub wręcz pośmiertny charakter zmian (Osetowska 1963).

Badanie histochemiczne pozwoliło potwierdzić spostrzeżenia Inose (1953, 1963) i Okinaki i wsp. (1962) co do występowania śródjądrowych wtrętów glikogenowych w komórkach Alzheimerera typu II, oraz w komórkach tzw. gleju wątrobowego zarówno w przypadkach typowej encefalopatii wrotno-układowej, jak i w innych grupach przewlekłego uszkodzenia wątroby. Z dotychczasowych doniesień z piśmiennictwa wynika, że są one zjawiskiem raczej typowo związanym z uszkodzeniami wątroby. Również i nasze obserwacje potwierdzają ich brak w przypadkach choroby Wilsona. Wydaje się, że obecność glikogenowych wtrętów śródjądrowych w astrocytach w przypadku układowego *lupus erythematodes*, opisanym przez Shiraki'ego (1965), zależało również od obecnego w tym przypadku ciężkiego uszkodzenia wątroby. Opisane natomiast przez Miquela i Haymakera (1965) ziarnistości glikogenowe w astrocytach u zwierząt naświetlanych promieniami jonizującymi nie tworzyły wtrętów śródjądrowych, gromadząc się raczej w cytoplazmie komórek.

Nasze badania histochemiczne wskazywałyby, że glikogen nie jest jedynym składnikiem wtrętów śródjądrowych i że — przynajmniej w części przypadków — towarzyszą mu inne substancje węglowodanowe, o charakterze mukopolisacharydów.

Drobnoziarniste złogi barwika, gromadzące się wokół jąder astrogleju, mają charakter złożony. Obok substancji glikolipidowej występują tu w niewielkiej ilości złogi glikogenu, a zapewne również związków z grupy mukopolisacharydów. Ich występowanie przede wszystkim w otoczeniu nagich jąder i przejściowych komórek glejowych sugeruje, że stanowią one mogą produkt zwyrodnienia wypustek i protoplazmy komórkowej (Konowałow 1960). Nierzadka jednak ich obecność w otoczeniu morfologicznie nie zmienionych jąder astrocytów pozwala przypuszczać, że gromadzą się one w ich protoplazmie.

Obecność glikogenowych i mukopolisacharydowych wtretów w jądrach astrogleju, okołojądrowe skupienia substancji zawierających węglowodany, nie przesądzając ich charakteru, oraz mukopolisacharydowy charakter substancji gromadzących się w protoplazmie komórek Opalskiego, wskazuje na obecność zaburzeń przemiany węglowodanowej w astrocytach. Trudno jest natomiast przesądzić, czy zaburzenia te stanowią zjawisko pierwotne, czy też są następstwem uszkodzenia komórki glejowej. Jeśli idzie o komórki Opalskiego, to substancje zawarte w ich protoplazmie wykazują — poza brakiem miedzi — właściwości identyczne jak w chorobie Wilsona. Podobnie identyczne histochemicznie są okołojądrowe złogi barwikowe w otoczeniu nagich jąder.

Zestawiając nasze spostrzeżenia z danymi piśmiennictwa (Scherer 1933, Stadler 1936, Nikołajew 1937, Waggener i Malamud 1942, Adams i Foley 1953, Erbslöh 1958) stwierdza się, że przy identycznym wzorcu patomorfologicznym, w naszym materiale częściej występowały ogniska stanu gąbczastego oraz znacznie wyraźniejsze były oznaki uszkodzenia gleju, o którym niektórzy autorzy, np. Adams i Foley (1953), w ogóle nie wspominają. Materiał nasz ogólnie wykazuje największe podobieństwo do przypadków Stadlera (1936).

Grupa II. Encefalopatia w przebiegu doświadczalnego uszkodzenia wątroby

Wyniki badań morfologicznych omawiamy oddzielnie dla każdej grupy zwierząt.*

A. Grupa zwierząt doświadczalnych

Grupa ta obejmowała 25 zwierząt, z czego 2 padły samoistnie, 4 uśpiono dla kontroli przed zakończeniem doświadczenia. Doświadczenie zakończono z 19 zwierzętami.

Badanie morfologiczne

Badanie makroskopowe. U 11 zwierząt przy oględzinach makroskopowych stwierdzono zmiany patologiczne w wątrobie. Charakteryzowała ją w tych przypadkach wzmożona spoistość, nierówna,

* Po histologicznym opracowaniu materiału u 18 zwierząt, w tym 10 w grupie doświadczalnej i 8 w grupie kontrolnej, stwierdzono obecność zmian gruźliczych w wątrobie, a u części z nich również i w mózgu. Zwierzęta te wyłączono z omawianego materiału. Nadmienić należy przy tym, że poza zmianami gruźliczymi w mózgu u wszystkich zwierząt stwierdzono zmiany typowe dla odpowiedniej grupy.

nieczo guzkowata powierzchnia oraz nieco szarawe zabarwienie powierzchni przekroju. W pozostałych przypadkach wątroba podobnie jak śledziona i nerki nie zdradzała makroskopowych nieprawidłowości. W żadnym przypadku nie stwierdzano również makroskopowych odchyłeń od normy w obrazie ośrodkowego układu nerwowego.

Badanie mikroskopowe. Wątroba.* W 11 przypadkach, w których obraz makroskopowy zdradzał już niewątpliwe nieprawidłowości, stwierdzono bardzo znaczne uszkodzenie komórek wątrobowych, ich wybitne zwyrodnienie tłuszczowe, zatarcie prawidłowej struktury zrazików wątrobowych, zmniejszenie ich rozmiarów, rozplem międzyzrazikowej tkanki łącznej, powiększenie ilości kanalików żółciowych oraz wyraźny zastój żółci w przestrzeniach wrotnych (ryc. 18, 19). Niekiedy obecne były niewielkie skupienia elementów drobno-okrągłokomórkowych w przestrzeniach wrotnych wątroby. Torebka włóknista wątroby była pogrubiła. Zmiany tego typu obecne były w 10 przypadkach zwierząt z 9-miesięcznym okresem przeżycia. W 1 występowały u szczura uśpionego po 3 miesiącach diety niskobiałkowej. W 7 przypadkach dotyczyły zwierząt, którym wyłącznie podawano dietę niskobiałkową, a w 4 szczurów, którym dietę uzupełniono podawaniem 30% alkoholu.

W pozostałych przypadkach tej grupy stwierdzono również cechy uszkodzenia wątroby, wyrażające się przede wszystkim rozlanym zwyrodnieniem tłuszczowym komórek wątrobowych, najbardziej nasilonym w części środkowej zrazika i stąd zmniejszającym się ku jego obwodowi. Ponadto, obserwowano się różnego natężenia zatarcia prawidłowej struktury zrazików oraz rozplem fibroblastów, a w mniejszym stopniu włókien kolagenowych w przestrzeniach międzyzrazikowych. W niektórych przypadkach ponadto stwierdzono drobne ogniska martwicy tkanki wątrobowej. W pojedynczych przypadkach obecne były poza tym drobne nacieki limfocytarne. W 2 przypadkach spostrzegano rozplem kanalików żółciowych w przestrzeniach wrotnych. Natężenie zmian wykazywało dość znaczne różnice intensywności, żaden jednak z przypadków nie był wolny od zmian patologicznych. W najłżejszych przypadkach (5) zmiany polegały na obecności rozlanego lub ogniskowego zwyrodnienia tłuszczowego komórek wątrobowych, któremu nie towarzyszył rozplem elementów łącznotkankowych. Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic w obrazie morfologicznym wątroby u zwierząt, które otrzymywały wyłącznie dietę niskobiałkową w porównaniu z tymi, którym dodatkowo podawano alkohol i sole miedzi.

* Materiał mikroskopowy z narządów wewnętrznych konsultowany był z doc. dr med. A. Głuszczem, z Zakładu Anatomii Patologicznej AM w Łodzi.

Sledziona. Na ogół nie wykazywała uchwytnych nieprawidłowości mikroskopowych. W 6 przypadkach rozrost tkanki łącznej beleczek sledzionowych. W grupie zwierząt, którym podawano miedź, stwierdzono rozrost elementów układu siateczkowo-śródbłonkowego.

Nerki. Zmiany patologiczne stwierdzono jedynie w grupie zwierząt, których dieta zawierała sole miedzi. Stwierdzono tu znacznego stopnia przekrwienie narządu, przyćmienie mięszone nabłonka kanalików krętych (ryc. 20) oraz złuszczenie nabłonka kanalików krętych i pętli Henlego. Ponadto obecnie były ogniska martwicy kanalików zbiorczych w istocie rdzennej (ryc. 21).

Mózg. Spostrzegane zmiany dotyczyły zarówno komórek nerwowych, jak i gleju. W 4 przypadkach stwierdzono rozległe ubytki komórek w korze mózgu, prowadzące do zatarcia odcinkowego jej warstwowej budowy, w innych przypadkach (13) ubytki komórek nerwowych były mniej uogólnione i słabiej nasilone. Miały one charakter plackowatych, okołonaczyniowych lub częściej nieregularnie rozrzuconych ubytków komórkowych. Oprócz kory, znacznie zresztą rzadziej, występowały one również w szarych formacjach podkorowych i dotyczyły tu przede wszystkim zwojów podstawy.

Liczne spośród zachowanych komórek nerwowych wykazywały różnego stopnia zmiany zwyrodnieniowe. Występowały one w 13 przypadkach, przy czym proporcja uszkodzonych komórek w pojedynczych przypadkach była zmienna. Na ogół były to zmiany rozsiane, występujące przede wszystkim w korze mózgu, w mniejszym stopniu w formacjach podkorowych, a najslabiej w pniu mózgowym i mózdzku. Wyjątek w tym względzie stanowiło jądro zębate. W grupie zwyrodnień komórek nerwowych przeważała tigroliza, obejmująca bądź równomiernie całą protoplazmę komórkową, bądź tylko częściowo, prowadząc w tych razach do obrazu tzw. schorzenia ciężkiego Nissla. W 3 przypadkach występowały typowe zmiany ischemiczne komórek nerwowych, dotyczące przede wszystkim kory zawoju hipokampa. Dość również często spotykano zwyrodnienie wodniczkowe komórek i drobnoziarnisty rozpad jądra (*kariorrhesis*). Nie spostrzegano różnic w natężeniu ani częstości występowania uszkodzeń komórkowych w poszczególnych podgrupach doświadczalnych zwierząt.

W obrazie morfologicznym astrogleju spostrzegano się występowanie zarówno zmian wstecznych, jak i postępujących, dotyczących w równej mierze formacji szarych, jak i istoty białej. Pomnożenie ilości komórek glejowych w korze i jądrach podkorowych było zjawiskiem stosunkowo rzadkim, obserwowanym zaledwie w 7 przypadkach (ryc. 22). Częściej, bo w 11 przypadkach, rozplem komórek glejowych występo-

wał w istocie białej, zajmując przede wszystkim okolicę bezpośrednio podkorową (ryc. 23). W trzech czwartych zwierząt tej grupy występowały, z różną zresztą obfitością, przerosłe formy gleju gwiaździstego. W barwieniach przeglądowych przerost ten manifestował się powiększeniem rozmiarów jądra, pyłkowatym charakterem chromatyny jądrowej, układającej się na obwodzie jądra, pojawieniem się wyraźnych metachromatynowych jąderek, a niekiedy również uwidocznieniem się wąskiego rąbka protoplazmy. Szczególnie demonstratywnie cechy przerostu komórkowego występowały w preparatach impregnowanych solami złota. Spotykało się tu liczne bogato-wypustkowe komórki gwiaździste, niekiedy dwukrotnie przewyższające rozmiary prawidłowych astrocytów protoplazmatycznych kory (ryc. 24). — rzadko uwidoczniających się w warunkach prawidłowych — oraz astrocytów włókienkowych istoty białej (ryc. 25).

We wszystkich przypadkach, z wyjątkiem 2, obserwowano charakterystyczne postaci jąder makrogleju odpowiadające swoim obrazem typowym komórkom Alzheimera typu II (ryc. 26), a jeszcze częściej tzw. formom przejściowym gleju (ryc. 27). Ilość tzw. nagich jąder była zmienna od przypadku do przypadku. Niekiedy przeważały one wśród populacji komórkowej, niekiedy znów występowały jako pojedyncze egzemplarze. Ich rozkład w przypadkach typowych przedstawiał się następująco: kora mózgu, jądra podstawy, wzgórze, część nakrywkowa śródmózgowia, opuszka (zwłaszcza jądra przedSIONKOWE) i jądro zębate mózdzku. W przypadkach z małą ilością występowały przede wszystkim we wzgórzu, nakrywce śródmózgowia i jądrze zębatym. Jedynie w 2 przypadkach typowe komórki Alzheimera występowały również w istocie białej.

Zmiany wsteczne komórek glejowych występowały przede wszystkim w postaci tzw. zwyrodnienia pełzakowatego astrogleju, oraz fragmentacji jego wypustek komórkowych (*klazmatodendrosis*) (ryc. 28). W korze mózgu przeważały zmiany grupy pierwszej, w istocie białej klazmatodendroza. Nasilenie zmian było bardzo zmienne, od lekko zaznaczonej nieregularności przebiegu wypustek i ich fragmentacji, do całkowitego ich rozpadu, aż do postaci tzw. astrocytów bezwypustkowych. Zmiany zwyrodnieniowe występowały w formacjach szarych w 9 przypadkach, a w istocie białej podkorowej w 24 przypadkach, czyli praktycznie u wszystkich zwierząt. W ani jednym przypadku nie obserwowano form komórkowych odpowiadających obrazowi komórek Alzheimera typu I i Opalskiego.

Nie obserwowano również żadnych uszkodzeń osłonek mielinowych ani też, z wyjątkiem 3 przypadków, włókienkowego zglejowacenia tkan-

ki. W 2 zaledwie przypadkach występowały ogniskowe rozrzedzenia struktury utkania tkanki nerwowej, odpowiadające obrazowi stanu gąbczastego (ryc. 29). Ogniska te położone były w bocznej części opuszki. U 2 szczurów stwierdzono objawy obrzęku mózgu. W obydwu wypadkach występował on u zwierząt, których niskobiałkową dietę uzupełniono octanem miedzi. Układ naczyniowy mózgu nie wykazywał zmian.

Zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym spostrzegano już u zwierząt uśpionych po 3 i 6 miesiącach prowadzenia doświadczenia. Obecne były również u zwierząt, które padły spontanicznie.

Badanie histochemiczne

Badanie histochemiczne wykazało obecność drobnych ziarenek skupionych dokoła nagich jąder oraz niekiedy w sąsiedztwie prawidłowo wyglądających jąder astrocytów. Ziarnistości te wybarwiały się dodatnio Sudanem czarnym B i odczynnikiem Schiffa. Traciły one zdolność wybarwienia się fuksyną w odczynniku Schiffa po acetylacji w bezwodniku kwasu octowego; zdolność tę przywracała inkubacja w roztworze KOH. Trawienie diastazą nie wywierało wpływu na barwliwość ziaren w PAS. Ziarna te były ujemne przy barwieniu Sudanem III, karminem Besta i błękitem alcjanowym. Dość często udawało się stwierdzić ich ciemnogrnatowe zabarwienie, w barwieniu metodą Klüvera. U wszystkich zwierząt były ujemne w barwieniu metodą Uzmana na miedź. Okołoastrocytarne skupienia PAS-dodatnich ziarnistości obecne były w 3/4 przypadków i najobficiej występowały w otoczeniu jąder gleju Bergmana kory mózdzku.

B. Grupa zwierząt kontrolnych

Grupa ta obejmuje 22 zwierzęta, z czego 4 uśpiono dla kontroli w czasie prowadzenia doświadczenia, 3 padły przed jego zakończeniem z powodu innych chorób. Doświadczenie zakończono z 15 zwierzętami.

Badanie morfologiczne

Badanie makroskopowe. Z wyjątkiem opisanej poprzednio samicy, nie obserwowano makroskopowych nieprawidłowości w obrazie narządów wewnętrznych, poza znacznym przekrwieniem przewodu pokarmowego, wątroby i śledziony u 8 zwierząt, których dieta zawierała octan miedzi. U wspomnianej wyżej samicy znaczną część wątroby zajmował duży otorbiony pasożyt, uciskający zachowaną część narządu. Ośrodkowy układ nerwowy nie przedstawiał makroskopowych nieprawidłowości.

Badanie mikroskopowe narządów wymaga odrębnego omówienia dla podgrupy kontrolnej prowadzonej na diecie normalno-białkowej oraz dla tych podgrup, których dieta zawierała alkohol i sole miedzi.

W podgrupie z dietą normalnobiałkową bez uzupełnień nie stwierdzano uchwytnych odchyłeń od stanu prawidłowego w obrazie mikroskopowym wątroby, nerek i śledzony. U omawianej poprzednio samicy z pasożytem wątroby stwierdzono znaczne zniszczenie utkania narządu, spowodowane obecnością pasożyta oraz uciskiem na zachowane części wątroby, prowadzącym do zaniku komórek wątrobowych i rozplemu międzyzrazikowej tkanki łącznej.

W grupie zwierząt, którym podawano długotrwanie alkohol, stwierdzono w wątrobie obecność drobnych ognisk stłuszczenia, obejmujących zazwyczaj komórki położone w części środkowej zrazika (w 7 na 10 przypadków), przy czym tylko w 1 przypadku obserwowano jednoczesny niewielki rozplem fibroblastów.

U zwierząt, których dieta zawierała miedź, poza wspomnianym poprzednio przekrwieniem, obecne były ogniska stłuszczenia wątroby, przyćmienie mięszone nabłonka kanalików nerkowych oraz złuszczenie się nabłonka kanalików krętych i pętli Henlego.

Badanie mikroskopowe mózgu. U zwierząt prowadzonych wyłącznie na diecie niskobiałkowej i uzupełnionej solami miedzi — poza samicą z pasożytem wątroby — nie stwierdzono istotnych odchyłeń od stanu prawidłowego. W pojedynczych przypadkach występowały tu niewielkie rozsiane ubytki komórek nerwowych, pojedyncze egzemplarze komórek z tigrolizą i nieliczne przerosłe komórki glejowe w korze i podkorowej istocie białej. Nie występowały tu komórki Alzheimera ani zwyrodniałe postaci astrocytów, nie obserwowano rozplemu ani uogólnionego przerosłu komórek glejowych.

U zwierząt prowadzonych z dodatkiem alkoholu, u 4 na 10, obserwowano również niewielkie ubytki komórek nerwowych, a w 2 wyraźne oznaki zwyrodnienia neurocytów. W 3 przypadkach występowały przerosłe astrocyty w formacjach szarych mózgu, a w 2 obecne były również w istocie białej półkul. W 5 przypadkach ilość gleju w istocie białej była wyraźnie zwiększona. Aż w 6 przypadkach (każdorazowo w tych, w których obecne były zmiany w wątrobie) spotykano nieliczne, lecz typowo ukształtowane nagie jądra glejowe. Obecne były zawsze w jądrach podstawy i w jądrze zębatym, a w pojedynczych przypadkach we wzgórzu i w pniu mózgowym. W 3 przypadkach występowały również nieliczne zwyrodniałe komórki glejowe, z oznakami typowej klastodendrozy.

Zmiany morfologiczne w mózgu samicy z pasożytem wątroby były identyczne z opisanymi w grupie doświadczalnej zwierząt. Wydaje się, że uzasadniają one wyłączenie tego przypadku z grupy kontrolnej i potraktowanie go jako spontanicznej encefalopatii pochodzenia wątrobowego. Należy dodać, że był to jedyny przypadek zdradzający przyżyciowo cechy uszkodzenia układu nerwowego.

Badanie histochemiczne

Ziarenka barwika skupiającego się w sąsiedztwie jąder astrocytów obserwowano jedynie w 3 przypadkach zwierząt prowadzonych z podawaniem alkoholu i w spontanicznej encefalopatii (wyłącznie w otoczeniu komórek Bergmana). Odczyny histochemiczne tych ziarenek nie różniły się od opisanych w grupie doświadczalnej.

C. Omówienie wyników

Podstawowym zagadnieniem, wymagającym omówienia w tej grupie doświadczalnej, jest sprawa wyboru metody uszkodzenia wątroby. Istnieje bardzo duża ilość opisanych metod uszkodzania doświadczalnego wątroby, opartych o działanie różnorodnych środków chemicznych. Obok wymienionych już poprzednio, a polegających na podawaniu substancji takich jak fosfor lub arsen (Nikołajew 1937), wykazujących oprócz działania szkodliwego dla mięszu wątroby również bezpośredni szkodliwy wpływ na tkankę nerwową, w nowszym piśmiennictwie opisano stosowanie takich substancji, jak safrol wywołujący marskość wątroby (Hemburger i wsp. 1962) lub kwas orotowy, prowadzący do rozległego stłuszczenia komórek wątrobowych (Standerfer i Handler 1955). Nie jest jednak znany bezpośredni wpływ wymienionych substancji na tkankę nerwową. Z tego też względu w badaniach naszych woleliśmy stosować metodę diety niskobiałkowej, używanej z pełnym powodzeniem przez Bakera (1953) i Laphama (1961). Metoda ta wobec podania pełnego zestawu składników pokarmowych, poza białkiem, wydawała się nam najbardziej „fizjologiczna”. Kryła ona jednak zasadniczą wadę w stosunku do naszych założeń. Jeśli bowiem przyjmujemy, że istotnym czynnikiem uszkodzającym tkankę nerwową, przy zniszczeniu mięszu wątrobowego, jest amoniak lub inne produkty jelitowej przemiany białek, to zmniejszając podaż białka, automatycznie obniża się ilość substancji uznanych za toksyczne dla tkanki nerwowej.

Doświadczenie z dietą niskobiałkową uzupełniliśmy podaniem alkoholu etylowego, stosowanego również z powodzeniem w patologii doświadczalnej wątroby (Zahorska i wsp. 1953, 1955), a którego bez-

pośredni wpływ na układ nerwowy jest dobrze znany z piśmiennictwa neuropatologicznego.

Podanie miedzi o znanym wpływie uszkodzającym dla mięszu wątroby (Howell 1959), w końcowym okresie doświadczenia miało w założeniu odpowiedzieć na pytanie, czy dodatkowe uszkodzenie wątroby przez miedź pogłębi istniejące zmiany mózgowe oraz czy w warunkach uszkodzonej wątroby podana w pożywieniu miedź przejdzie do ośrodkowego układu nerwowego.

Na podstawie uzyskanych wyników mogliśmy stwierdzić, że obraz morfologiczny wątroby i mózgu w doświadczalnej grupie zwierząt nie różnił się istotnie w zależności od zastosowania dodatkowych czynników uszkodzających. Jediną wyraźną różnicą u zwierząt karmionych z dodatkiem miedzi, zarówno w grupie doświadczalnej jak i kontrolnej, była obecność ogniskowych zwyrodnień nabłonka kanalików nerkowych i złuszczenie się nabłonka kanalików zbiorczych nerek. Stwierdzone tu zmiany morfologiczne, identyczne w swoim obrazie ze zmianami opisanymi przez Vogla (1960), oraz obecność ziarenek miedzi w badaniu z kwasem rubeanowo-wodorowym, sugerowały wchłanianie się soli miedzi z przewodu pokarmowego i jej wydalanie drogą nerek.

Istotnym zagadnieniem jest sprawa zmian stwierdzanych u tej części zwierząt z grupy kontrolnej, którym podawano alkohol. Uszkodzenie wątroby w tych przypadkach było nieznaczne, polegało na mało stosunkowo nasilonym stłuszczeniu jej komórek i niewielkim rozplemie fibroblastów w przestrzeniach wrotnych. Spostrzegane na terenie ośrodkowego układu nerwowego zmiany, choć nieznaczne w swoim nasileniu, miały charakter identyczny z uszkodzeniami w grupie doświadczalnej. Wydaje się przeto, że mimo nieznacznych uszkodzeń wątroby zmiany te należy uznać za uzależnione od nich, tym bardziej że grupa kontrolna bezalkoholowa nie wykazywała praktycznie żadnych nieprawidłowości morfologicznych. Nie wydaje się jednak możliwe, żeby uszkodzenia wątrobowe w tej grupie mogły być odpowiedzialne za niewydolność wątroby. Powstaje w związku z tym pytanie, czy w mechanizmie uszkodzeń układu nerwowego nie należy uwzględniać również działania produktów rozpadu tkanki wątrobowej, jak to sugerował Nikołajew (1937).

Na odrębną uwagę zasługuje również opisana poprzednio samica z pasożytem wątroby. Wydaje się, że przypadek ten należy uznać za przykład spontanicznej encefalopatii pochodzenia wątrobowego u szczura, analogicznej do opisywanych przez Heideggera (1935) u zwierząt domowych.

Co się tyczy obrazu morfologicznego, stwierdzanego w ośrodkowym układzie nerwowym w grupie doświadczalnej, to na podkreślenie zasługują następujące jego elementy:

- 1) przewaga zmian w obrazie astrogleju,
- 2) stosunkowo nieznaczne uszkodzenie komórek nerwowych,
- 3) wyjątkowa rzadkość występowania ognisk zgąbczenia tkanki nerwej,
- 4) przewaga uszkodzeń gleju w podkorowej istocie białej.

Zwracała uwagę względną rzadkość proliferacji astrogleju w korze i innych szarych formacjach podkorowych, uznanej w piśmiennictwie za jeden z podstawowych objawów encefalopatii wątrobowej (Stadler 1936, Adams i Foley 1953), przy jej względnie częstszym stwierdzeniu w istocie białej. Przerost elementów glejowych był zjawiskiem bardzo pospolitym, ale jego najbardziej typowe przykłady występowały również w okolicy podkorowej. Przeważające nad oznakami rozrostu tkanki glejowej, objawy jej uszkodzenia dominowały również w istocie białej. Stosunkowo często występowały tu przejściowe komórki glejowe i komórki Alzheimera. Wskazuje to, że uszkodzenie aparatu glejowego w przebiegu encefalopatii wątrobowej dotyczy również astrocytów włóknienkowych, których udział w obrazie patomorfologicznym encefalopatii był zwykle pomijany. Obecność nagich jąder w istocie białej sugeruje, że nie stanowią one swoistej dla gleju protoplazmatycznej formy uszkodzenia (Spielmeyer 1922). Przewaga zmian w istocie białej stanowi zjawisko typowe wyłącznie dla szczurów i wydaje się, że jest związana z ich cechami gatunkowymi.

Zjawiskiem, jak wspominaliśmy, wyjątkowo rzadkim były ogniska stanu gąbczastego, obecne właściwie tylko w dwóch przypadkach. Wykazując cechy morfologiczne wspólne z tego typu zmianami u ludzi, występowały one w niespotykanym w materiale ludzkim umiejscowieniu.

Wydaje się, że uszkodzenia komórek nerwowych, wobec braku różnorodnych czynników uszkadzających, wchodzących w rachubę w materiale ludzkim, należy uznać za zmiany związane z uszkodzeniem wątroby. Ich stosunkowo małe natężenie może wskazywać na ich względną oporność u szczurów na powolne, stopniowe działanie czynników związanych z uszkodzeniem wątroby.

Analiza całokształtu zjawisk morfologicznych spostrzeganych u tej grupy zwierząt doświadczalnych pozwala przypuszczać, że mamy tu do czynienia ze stosunkowo mało zaawansowanym procesem encefalopatii. Stwarza to jednak możliwość oceny pierwotności lub wtórności poszczególnych elementów obrazu patomorfologicznego. Wydaje się być bezspornym, że uszkodzenie gleju stanowią tu: czynnik wiodący i pierwotny. Zmiany na terenie ośrodkowego układu nerwowego występują już bardzo wcześnie, na co wskazuje ich obecność u zwierząt uspionych

w trakcie doświadczenia. Pojawiają się one również przy bardzo wielkim uszkodzeniu wątroby, za czym przemawia ich obecność w grupie kontrolnej, której podawano alkohol.

Porównując uzyskane przez nas obrazy z danymi piśmiennictwa (Lapham 1961), zwraca uwagę większe bogactwo patomorfologii zaobserwowanych zmian, a przede wszystkim głębsze cechy uszkodzenia gleju, współistniejące ze zmianami o typie jego rozrostu, na który wyraźnie zwracają uwagę Baker (1953) i Lapham (1961).

Badaniem histochemicznym stwierdziliśmy obecność drobnych ziarnistych złogów substancji węglowodanowo-fosfolipidowych, gromadzących się wokół jąder astrogleju, w większości przypadków reprezentujących tzw. formy przejściowe lub nagie jądra. Przemawia to za traktowaniem ich jako produktów zwyrodnienia komórki glejowej. Ich wyłączne występowanie w istocie szarej sugeruje, że mogą one stanowić produkt zwyrodnienia gleju protoplazmatycznego. Brak histochemicznie stwierdzanych złogów miedzi w mózgach szczurów, którym podawano octan miedzi, potwierdza pogląd Vogla (1961), że metal ten przedostaje się do układu nerwowego jedynie w przypadkach przerwania bariery naczyniowo-mózgowej.

Grupa III. Encefalopatia w następstwie wytworzenia przetoki Ecka

Ze względu na stwierdzenie pewnych odrębności morfologicznych oddzielnie omawiamy grupę psów utrzymywanych na diecie niskobiałkowej i grupę zwierząt z obrazem zatrucia mięsnego (meat intoxication).

Wykonane badanie sekcyjne wykazało u wszystkich psów pełną drożność zespolenia żylnego oraz zanik wątroby i śledziony. W ani jednym przypadku nie stwierdzono makroskopowo uchwytanych nieprawidłowości w obrazie morfologicznym ośrodkowego układu nerwowego, poza nasilonymi cechami obrzęku stwierdzonego w 8 przypadkach.

A. Grupa psów z dietą nieskobiałkową (7 psów)

Badanie morfologiczne

Zasadniczym elementem obrazu morfologicznego mózgowia w tej grupie zwierząt są uszkodzenia komórek nerwowych. W korze oraz w formacjach podkorowych stwierdza się różnego nasilenia ubytki komórek nerwowych, niekiedy rozsiane w postaci plackowatych, okołonaczyniowych lub warstwowych zaników, niekiedy znów, rzadziej i w mniejszym natężeniu, rozlanych, obejmujących całe połacie kory lub formacji podkorowych (ryc. 30, 31). Rozkład zmian w zależności od ich na-

teżenia przedstawia się następująco: kora mózgu, zwłaszcza warstwy III i VI, wzgórze, skorupa, formacja siateczkowa pnia mózgu, gałka blada, jądro zębate mózdzku i kora mózdzku. Drugim obok zaników wykładnikiem uszkodzenia komórek nerwowych jest występowanie ich nieprawidłowych, zwyrodniałych form. Zachowane komórki nerwowe charakteryzuje obecność zmian wstecznych, przybierających bądź postać typowych Nisslowskich schorzeń komórkowych, wśród których przeważają cechy schorzenia ciężkiego i przewlekłego, a w jednym przypadku niedokrwiennego, bądź też nie mieszczących się w kategoriach klasyfikacyjnych typowych schorzeń komórkowych. Przeważa różnego stopnia rozpuszczanie się ziarnistości Nissla. Obficie występują tzw. cienie komórkowe. W 4 przypadkach występowało zwyrodnienie wodniczkowe neuronów. Prawie w ogóle nie obserwowano odkładania się lipochromu w protoplazmie komórek nerwowych. Rozkład zmian zwyrodnieniowych komórek nerwowych pokrywał się z rozmieszczeniem zaników.

W 5 przypadkach obserwowano rozsiane, drobne ogniska zgąbczenia tkanki nerwowej, bez towarzyszącego mu wytwórczego odczynu glejowego (ryc. 32, 33). Zmiany te w 3 przypadkach dotyczyły kory mózgu, w 1 kory mózgu i skorupy, a w 1 kory mózgu i jądra zębatego mózdzku. W 3 przypadkach drobnym ogniskom zgąbczenia w istocie szarej towarzyszyło rozrzedzenie utkania przykomorowej istoty białej, współprzebiegające z rozległym otaczającym zblednięciem mieliny.

W 6 na 7 przypadków występowały morfologiczne wykładniki obrzęku mózgu pod postacią porozsuwania pasm oligodendrogleju w istocie białej (ryc. 34) i poszerzenia przestrzeni okołonaczyniowych.

Zwraca uwagę nieproporcjonalnie nikły w stosunku do uszkodzenia elementów nerwowych odczyn glejowy. Dysproporcja ta jest szczególnie uderzająca w przypadkach 2 psów, które przeszły półgodzinny wstrząs hemostatyczny. U tych zwierząt ubytki komórek nerwowych są największe, podczas gdy odczyn glejowy ma najniższe natężenie.

U pozostałych zwierząt tej grupy obserwuje się niewątpliwy wzrost ilości komórek glejowych w korze i w formacjach podkorowych (ryc. 35, 36). Wśród komórek glejowych przeważają postaci charakteryzujące się dużymi, jasnymi, ostro, niekiedy podwójnie obrysowanymi wrębowatymi jądrami (ryc. 37), zaledwie jednak w 3 przypadkach obserwowano typowe, charakterystyczne komórki Alzheimerera typu II (ryc. 38). Glej gwiaździsty w istocie białej nie wykazywał w barwieniach przeglądowych istotnych odchyień od normy, poza 3 przypadkami zwiększenia jego ilości. W 1 z nich rozplem astrogleju był bardzo znaczny. Występowały tu przerosłe, gemistocytarne postaci komórek gwiaździstych.

Zmiany w tym przypadku umiejscowione były głównie w osi zawojów kory mózgu, która w tym odcinku była prawie całkowicie pozbawiona komórek nerwowych. W impregnacji sposobem Cajala uwidoczniły się liczne, przerosłe astrocyty kory (ryc. 39), wzgórze, istoty białej mózgu (ryc. 40) i mózdzku. Jednakże wśród przerosłych form komórkowych występowały bardzo obficie postaci pełzakowatego astrogleju oraz komórki z nieregularnie paciorkowatymi lub wręcz pofragmentaryzowanymi wypustkami (ryc. 41). Liczne były całkowicie bezwypustkowe astrocyty. Uszkodzenie komórek glejowych najobficiej występowało w korze i wzgórzu. Najwięcej amebowatych postaci gleju i największe natężenie klazmatodendrozy obserwowano w głębokich warstwach kory i w istocie białej bezpośrednio podkorowej. Nie znaleziono komórek Alzheimerera typu I, ani komórek Opalskiego.

Obraz morfologiczny ośrodkowego układu nerwowego u psów, które w okresie po założeniu przetoki Ecka przeżyły wstrząs hemodynamiczny (na 8 i 22 dni przed śmiercią), różnił się od opisanego poprzednio jeszcze większym natężeniem i rozległością ubytków komórek nerwowych oraz nikłością wytwórczego odczynu glejowego. W obu natomiast były obecne zmiany wsteczne w gleju oraz tzw. nagie jądra.

Badanie histochemiczne

W badaniach histochemicznych zwracało uwagę stłuszczenie śródbłonka naczyń oraz dodatnie wybarwienie się jąder i protoplazmy oligodendrogleju błękitem alcjanu. W 4 zaledwie przypadkach obserwowano obecność PAS-dodatnich ziarnistości otaczających jądra astrocytów kory mózgu i mózdzku. Ziarenka te nie ulegały wytrawieniu diastazą, a traciły swoją PAS-dodatniość po acetylacji. Wybarwiały się dodatnio Sudanem czarnym B oraz Luxol fast blue wg Klüvera.

B. Grupa psów z zatruciem mięsnym (3 psy)

Badanie morfologiczne

Natężenie zaników komórek nerwowych kory i jąder podstawy jest bardzo znaczne. Rozlane ubytki komórkowe w korze prowadzą odcinkowo do całkowitego zatarcia jej warstwowych układów (ryc. 42). Równie duże zmiany występują w korze mózdzku. Zachowane komórki nerwowe wykazują cały wachlarz zmian zwyrodnieniowych, wśród których wyróżnić można zmiany o cechach schorzenia niedokrwiennego, ciężkiego i przewlekłego, oraz zwyrodnienie wodniczkowe i ziarnisty rozpad jąder. Zmiany te występują praktycznie we wszystkich formacjach szarych.

Rozplem komórek glejowych jest nikły, występują natomiast dość obficie jego formy przerosłe i to przede wszystkim w istocie szarej. Bardzo liczne są różnorodne postaci zwyrodnieniowe gleju gwiazdźstego, wśród których przeważają zmiany pełzakowate i drobnoziarnisty rozpad wypustek. Komórki Alzheimerera dość obfite w jednym przypadku, w drugim nieliczne, spotykano jedynie w nakrywce śródmózgowia.

We wszystkich przypadkach obserwowano natomiast rozsiane ogniska zgąbczenia tkanki, umiejscowione w korze mózgu (warstwa III i VI), jądrze zębatym mózdzku i w ramionach mostu. Dwa spośród omawianych przypadków charakteryzował znaczny obrzęk tkanki, w 1 z dużym zastojem żylnym i licznymi drobnymi krwotoczkami okołonaczyniowymi.

Badanie histochemiczne

Odczyny histochemiczne w tej grupie były identyczne jak u psów prowadzonych na diecie niskobiałkowej, z tym tylko, że nagromadzenie okołojądrowych ziarnistości PAS- i Sudan-dodatnich było tu wyraźniejsze i obfitsze.

C. Omówienie wyników

W omawianej grupie doświadczeń u wszystkich psów znajdowaliśmy elementy zespołu encefalopatii pochodzenia wątrobowego. W ich obrazie morfologicznym zwracały uwagę trzy zasadnicze cechy, a mianowicie:

- 1) bardzo znaczne uszkodzenie komórek nerwowych,
- 2) stosunkowo niewielkie oznaki rozplemu gleju,
- 3) przewaga zmian wstęcznych gleju nad procesami wytwórczymi.

Zaniki i zwyrodnienie komórek nerwowych, porównywalne w swoim natężeniu i rozległości do zmian stwierdzanych w materiale ludzkim, w grupie ostrych śpiączek wątrobowych i w przypadkach masywnych krwotoków z przewodu pokarmowego, występowały zarówno u psów utrzymywanych na diecie niskobiałkowej, jak i w grupie z zatruciem mięsny. Ich natężenie było największe u 2 psów poddanych wstrząsowi hemodynamicznemu, co jest rzeczą oczywistą, w świetle znanej wrażliwości komórek nerwowych na niedobór tlenu.

Analiza naszych spostrzeżeń przemawia za tym, że nieprawidłowy przeciek jelitowej krwi żyłnej stanowi istotny czynnik uszkadzający komórki nerwowe. Potwierdza to również fakt, że zatrucie mięsem pogłębia ich uszkodzenie. Oczywista rola czynnika hemodynamicznego sprowadza się w tych warunkach do działania jako istotny, lecz dodatkowy tylko czynnik uszkadzający. Spostrzeżenie to jest o tyle ważne, że

możliwość oddzielenia działania poszczególnych czynników uszkodzających komórki nerwowe jest w materiale ludzkim bardzo ograniczona. Z tego też wynikają istotne zastrzeżenia szeregu autorów, między innymi Erbslöha (1958), co do możliwości uznania związku przyczynowego uszkodzeń mięszkowych elementów tkanki nerwowej z działaniem czynników hepatogennych.

W porównaniu z materiałem ludzkim i grupą doświadczalną szczurów uderza nikłość odczynów proliferacyjnych ze strony gleju. Uzyskane obrazy są pod tym względem podobne do grupy ostrych śpiączek u ludzi, przy czym w przeciwieństwie do szczurów, istniejące oznaki niewielkiego rozrostu glejowego dotyczyły przede wszystkim formacji szarych. Szczególnie zwracała uwagę dysproporcja odczynu glejowego i natężenia uszkodzenia neuronów. W 1 zaledwie przypadku i to dotyczącym psa o najdłuższym okresie przeżycia pooperacyjnego, obserwowano rozplem gleju w osi zawojów ciężko uszkodzonej kory.

W obrazie morfologicznym gleju dominowały nade wszystko objawy jego uszkodzenia, obejmującego zarówno formacje szare, jak i białe, przesłaniając niewątpliwie zresztą oznaki jego przerostu. Zarówno przerost astrocytów, jak i ich uszkodzenie rozwijały się stosunkowo szybko. Obecne były już w 9 dobie pooperacyjnej. Nasilenie uszkodzeń glejowych było znacznie większe u psów, którym podano dietę mięsna.

Zwraca uwagę stosunkowa rzadkość typowych komórek Alzheimerera. Przy czym wydaje się, że czynnik czasu odgrywa stosunkowo niewielką rolę w ich tworzeniu się. W grupie z dietą ubogobiałkową najobficiej występowały one u psa z 182-dniowym przeżyciem po zabiegu, ale obecne były również u psa po 36 dniach istnienia przetoki, podczas gdy nie stwierdzano ich u psów z pośrednimi wartościami czasokresu przeżycia pooperacyjnego. Nie stwierdzono również związku ich występowania z obecnością lub brakiem śpiączki, jakkolwiek w grupie psów po zatruciu mięsem obecne były już po 22 i 9 dniach od zabiegu.

Wydaje się natomiast, że czynnik czasu odgrywał istotną rolę w kształtowaniu się ognisk zgąbczenia tkanki nerwowej. W grupie psów z dietą niskobiałkową zgąbczenia występowały jedynie u osobników z najdłuższym, ponad 5-miesięcznym przeżyciem pooperacyjnym.

Badanie histochemiczne pozwoliło jedynie na stwierdzenie węglowodanowo-fosfolipidowych skupień ziarnistego barwika w otoczeniu jąder gleju, wykazujących wyraźną równoległość ze stopniem uszkodzenia komórek. W żadnym przypadku nie stwierdzono śródjądrowych wtrętów glikogenowych w astrocytach. Nie stwierdzono również zależności natężenia zmian glejowych od wysokości stężenia amoniaku we krwi.

Odrębności obrazu morfologicznego tej grupy doświadczalnej, wydaje się, można tłumaczyć nagłością zadziałania czynnika uszkodzającego

na „nieprzygotowany” układ nerwowy. W przypadkach ludzkich przetoka żylna wykonywana jest u osobników z długotrwałym zazwyczaj uszkodzeniem wątroby i, jak można sądzić, z wolno rozwijającym się już przed zabiegiem procesem encefalopatii wątrobowej, gdy zdążyły rozwinąć się w tkance nerwowej zarówno mechanizmy adaptacyjne, jak i kompensacyjne. U zwierząt doświadczalnych natomiast, czynnik uszkadzający działa ostro na „niezaadaptowany” układ nerwowy. Pod tym względem model psów z przetoką Ecka zbliżony jest bardziej do grupy ludzkiej z ostrą martwicą wątroby w przebiegu jej wirusowego zapalenia. U zwierząt, które przeżyły pierwszy okres „szoku”, jakim dla układu nerwowego jest zadziałanie produktów nie przepuszczonej przez filtr wątrobowy krwi jelitowej, w następnym dopiero okresie uruchamiane są mechanizmy kompensacyjne. Ich wyrazem jest pojawiający się później rozplem i przerost elementów glejowych. Podanie diety mięsnej pogłębia natomiast stan uszkodzenia tkanki.

W zestawieniu wyników naszych spostrzeżeń z danymi piśmiennictwa stwierdza się zasadniczą zgodność co do występowania uogólnionych zmian wstecznych w obrazie komórek nerwowych, rozsianych ognisk zgałczenia i objawów obrzęku mózgu (Kirschbaum 1924, Crandal i Weil 1933). Różnią się one natomiast w sposób istotny co do oceny zmian w astrogleju. Kirschbaum (1924) oraz Crandal i Weil (1933) podkreślają z całym naciskiem brak zmian w obrazie astrogleju. Wydaje się, że rozbieżność ta wynika z faktu, iż autorzy ci zwracali uwagę przede wszystkim na występowanie proliferacji gleju oraz obecność komórek Alzheimera typu II, uznawanych w tym czasie za wyłączne wykładniki „wątrobowego” pochodzenia uszkodzeń. Zarówno rozplem gleju, jak i tzw. nagie jądra stanowią w tym modelu doświadczalnym zjawisko niedominujące.

W żadnym natomiast przypadku nie obserwowaliśmy objawów tzw. „meat encephalitis”, opisanego przez Balo i Kapasy’ego (1932).

OMÓWIENIE WYNIKÓW UZYSKANYCH WE WSZYSTKICH GRUPACH BADAŃ

Zestawienie wyników obserwacji morfologicznych i histochemicznych przeprowadzonych na 3 grupach materiału, obejmującego encefalopatie pochodzenia wątrobowego spontaniczne i doświadczalne pozwoliło na stwierdzenie ich wspólnego wzorca patomorfologicznego oraz wysuwanie wniosków, co do przypuszczalnego mechanizmu powstawania uszkodzeń tkanki nerwowej.

Zasadnicze elementy obrazu morfologicznego encefalopatii wątrobowej, takie jak zmiany w ukształtowaniu gleju, przede wszystkim astrocytarnego, ogniska stanu gąbczastego i zwyrodnienie komórek nerwowych obecne były we wszystkich grupach. Patomorfologiczny obraz układu nerwowego modyfikowany był, oczywiście, różnicami gatunkowymi badanego materiału, sposobem uszkodzania wątroby lub zakłócania krążenia wrotnego, przebiegiem choroby lub doświadczenia oraz działaniem dodatkowych czynników patologicznych, takich, jak np. ostry spadek ciśnienia krwi w następstwie masywnego krwotoku z żyłaków przelyku u ludzi, czy w wyniku doświadczalnie zastosowanego wykrwawienia u psów.

Wydaje się, że podstawowe znaczenie dla patologii mózgowej w encefalopatii pochodzenia wątrobowego ma uszkodzenie gleju. Czynnikiem uszkodzającym, niezależnie od tego czy uznamy, że jest nim amoniak (Sherlock i wsp. 1954, McDermott i Adams 1954, Havens i Child 1956, Bessman i Bessman 1958), czy jakiegokolwiek inne ciało lub ciała chemiczne, przedostające się do układu nerwowego, w wyniku uszkodzenia miąższu wątroby lub wytworzenia nieprawidłowych przecieków krwi jelitowej do dużego krążenia żylnego, oddziałuje w pierwszym rzędzie na tkankę glejową, uszkodzając przede wszystkim bogatą sieć wypustkową astrocytów. Uszkodzenie to z kolei prowadzi do czynnościowej niewydolności astrogleju. Morfologicznym wykładnikiem tej niewydolności w materiale naszym była uderzająca nikłość włókien glejowych w otoczeniu ognisk naczyńpochodnych, występujących w niektórych przypadkach ludzkich, brak włókienkowego odczynu w otoczeniu stwardniałych naczyń krwionośnych, stanowiącego zjawisko typowe w mózгах, których naczynia dotknięte są zaawansowanym procesem stwardnieniowym (Wiśniewska 1965). Nie obserwowaliśmy również fibroglejozy w otoczeniu ani wśród ognisk stanu gąbczastego. Z wyjątkiem 1 przypadku, nie spotykaliśmy również gemistocytarnego odczynu glejowego, towarzyszącego zazwyczaj większości uszkodzeń tkanki nerwowej, prowadzących do jej rozpadu.

Wydaje się jednak, że o wiele istotniejszą rolę w procesie związanych z chorobami wątroby uszkodzeń tkanki nerwowej odgrywa zaburzenie metaboliczno-transportowej czynności astrogleju stanowiące wynik jego uszkodzenia. Badania morfologiczne przeprowadzone w mikroskopie elektronowym (Farquer i Hartmann 1957, Palay 1958, Hartmann 1961) wskazujące na ścisłe otoczenie ścian naczyń włosowatych mózgu przez wypustki astrocytów wskazują, że glej stanowi jedyny, lub prawie jedyny łącznik elementów nerwowych ze ścianą naczyniową, poprzez którą odbywa się dwukierunkowy transport metabolitów. Badania Pomera-

ta (1952) *in vitro*, a Klatzo i wsp. (1960) *in vitro* i *in vivo* wykazały drogi transportu metabolicznego poprzez wypustki i ciało komórkowe astrocytów na drodze tzw. aktywnego transportu. Hyden (1960) w serii swoich badań wykazał ścisłą więź metaboliczną komórki nerwowej i gleju. Uszkodzenie transportowej drogi metabolicznej musi rzutować na przemiany szlachetnych elementów tkanki nerwowej.

Mozna w tym miejscu postawić pytanie, dlaczego uszkodzenia komórek nerwowych obserwowane w encefalopatii wątrobowej są w większości przewlekłych przypadków drugoplanowe? Wydaje się, że jedyną możliwą odpowiedzią jest fakt niezwykłego i nadmiernego, w stosunku do potrzeb tkanki nerwowej w warunkach normalnych, bogactwa wypustek glejowych (Glees 1958) oraz możliwość uruchomienia przez tkankę glejową mechanizmów kompensacyjnych. Taki charakter mają, w naszym przeświadczeniu, obserwowany rozplem i przerost elementów glejowych. Oczywiście, jest sprawą dyskusyjną pierwotność morfologicznych wykładników uszkodzenia gleju czy jego przerostu i rozplemu. Wydaje się, że zjawiska te przebiegają równolegle. Z obserwacji naszych, przeprowadzonych przede wszystkim w grupie ostrych uszkodzeń wątroby u ludzi i u zwierząt z krótkim czasem przeżycia, wskazujących na obecność wyraźnych uszkodzeń astrocytów tu gdzie nie ma jeszcze oznak zwiększenia populacji komórkowej astrogleju, wynikałoby wcześniejsze pojawianie się morfologicznych wykładników uszkodzenia gleju. W dotychczasowych opisach patomorfologii encefalopatii pochodzenia wątrobowego zwracano przede wszystkim uwagę na uderzające cechy przerostu i rozplemu gleju astrocytarnego. Jedynie Erbslöh (1958) wspomina o klazmatodendrozie obserwowanej w metodach impregnacyjnych. Również obecność komórek Alzheimerera typu II traktowano jako wyraz procesów rozrostowych. Tymczasem, jak wykazują spostrzeżenia Scharenberga i Drew (1954) i Konowałowa (1960) nad genezą nagich jąder w zwyrodnieniu wątrobowo-soczewkowym i nasze własne obserwacje na materiale encefalopatii pochodzenia wątrobowego, komórki Alzheimerera typu II stanowią wyraz zwyrodnienia komórki glejowej. W impregnacji złotowej ujawniają się one jako pozbawione wypustek, otoczone fragmentami rozpadłego ciała komórkowego, jądra. Spostrzegane stosunkowo często w ich otoczeniu skupienia szarozielonkowego barwika stanowią, jak się wydaje, nagromadzone produkty ich zwyrodnienia, które badanie histochemiczne pozwala określić jako związki gliko-fosfolipidowe.

Obserwowane pośrednie formy jąder glejowych, tzw. glej wątrobowy Stadlera, stanowią w świetle naszych obserwacji kolejne sekwencje przeobrażania się prawidłowego jądra astrocytu w komórkę Alzheimerera typu II.

Uszkodzenie gleju leży również u podstaw drugiego zasadniczego elementu obrazu morfologicznego encefalopatii pochodzenia wątrobowego, a mianowicie stanu gąbczastego tkanki nerwowej. Charakter morfologiczny ognisk zgąbczenia oraz brak ich bezpośredniego związku z naczyńiami, różnicuje spostrzegane przez nas zmiany od stanu gąbczastego, rozwijającego się w wyniku rozległych ubytków komórek nerwowych oraz stanowiącego następstwo okołonaczyniowego zaniku tkanki, spotykanego w przebiegu zaawansowanego stwardnienia naczyń. Stan gąbczasty, spotykany w przypadkach encefalopatii wątrobowej, stanowi wyraz daleko posuniętych uszkodzeń tkankowych i jest następstwem metaboliczno-transportowej niewydolności gleju. Stojąc na stanowisku powszechnie akceptowanego poglądu, że astrocyty stanowią drogę transportu elektrolitów, wody i koloidów do i od neuronów (Bignami i Palladini 1965), należy przyjąć, że uszkodzenie astrogleju jako kanału transportu metabolitów, a przede wszystkim wody i elektrolitów (Gerschenfield i De Robertis 1961), może z łatwością prowadzić do zakłóceń tego transportu, których wyrazem jest powstawanie stanu gąbczastego. Potwierdzeniem tego poglądu są najnowsze prace Bignami i Palladiniego (1965) nad doświadczalnym wywołaniem stanu gąbczastego.

Wybitne zdolności kompensacyjne tkanki glejowej, wyrażające się morfologicznie jej przerostem i rozplemem, powodują, że przez długi okres czasu nie dochodzi do tak głębokiego zakłócenia czynności transportowej gleju, której wyrazem byłoby powstawanie stanu gąbczastego. Przy ciągłym działaniu czynnika uszkodzającego, jakie ma miejsce w przypadkach przewlekłych marskości wątroby, lub innych zakłóceń krążenia wrotnego, a zwłaszcza przy jego pogłębieniu przez założenie chirurgicznego zespolenia żylnego, dochodzi do wyczerpania mechanizmów kompensacyjnych i do powstawania ognisk zgąbczenia tkanki. Ogniskowy charakter stanu gąbczastego, a zwłaszcza jego predylekcyjne występowanie w pewnych okolicach mózgowia, takich jak głębokie warstwy kory, okolica bezpośrednio podkorowa, skorupa i jądro zębate mózdzku, wskazują na możliwość istnienia drugiego czynnika, biorącego udział w mechanizmie kompensacyjnym, a mianowicie czynnika naczyniowego. Sieć naczyniowa mózgu, a zwłaszcza kory mózgowej, charakteryzuje się znacznym bogactwem i obfitością połączeń obocznych, zapewniających pełne ukrwienie tkanki nawet w przypadkach zamknięcia dopływu krwi z głównych źródeł ukrwienia. Badania Lazorthesa i wsp. (1960) i van den Bergha (1961), Zülcha (1955) i Lindenberga (1957) wykazały, że istnieją na terenie ośrodkowego układu nerwowego okolice charakteryzujące się uboższym unaczynieniem i mniejszymi możliwościami wyrównania zaburzeń w krążeniu.

Są to, między innymi, okolica pogranicza korowo-podkorowego stanowiąca styk powierzchniowego i głębokiego systemu naczyń mózgowych, oraz styki zakresów unaczynienia tętnic mózgowych. Poprzednie badania Brzeżickiego (1937) i Konowałowa (1960) wykazały podobne stosunki w szeregu innych okolic, najczęściej zajętych przez ogniska zgąbczenia, przede wszystkim grzbietowo-zewnętrznej części skorupy. Okolice te, w naszym materiale, wykazywały charakterystyczne nasilenie procesów rozrostowych gleju. Wydaje się, że w okolicach tych (zwłaszcza w styku korowo-podkorowym) przy mniejszych możliwościach kompensacyjnych układu naczyniowego, wynikających ze specjalnych stosunków anatomicznych, dochodzi wcześniej do ujawnienia się dekompenсации transportowej niewydolności gleju i pojawiania się ognisk zgąbczenia. Możliwości tego patomechanizmu zgąbczenia tkanki nerwowej w przypadkach korowo-podkorowej postaci choroby Wilsona podnosiliśmy uprzednio (Mossakowski, Kasperek, Rościszewska 1964).

Wydaje się również, że w niewydolności metaboliczno-transportowej gleju należy szukać patogenetycznych źródeł występowania w znacznej ilości przypadków encefalopatii pochodzenia wątrobowego, zwłaszcza w grupie powikłanej śpiączką, obrzęku mózgu.

Zagadnienie komórek Opalskiego wymaga odrębnego omówienia ze względu na fakt, że uważane one były przez ich odkrywcę za patognomiczne dla zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego. Lehoczky (1934), van Bogaert i Wilkoeck (1936), Scharenberg i Drew (1954), Boudin i Pepin (1959) i Konowałow (1960), poddając w wątpliwość ich odrębność w stosunku do I typu komórek Alzheimerera, nie kwestionowali ich swoistości. Wyłom w tych poglądach stanowiły obserwacje Kryspina Exnera (1930), który opisywał podobne elementy komórkowe w przypadkach kiły mózgu, oraz Stadlera (1936), który znalazł komórkę Opalskiego w przypadku młodzieńczej marskości wątroby. Wydaje się, że fakt ich znalezienia w 9 przypadkach encefalopatii pochodzenia wątrobowego w naszym materiale przesądza w sensie ujemnym ich patognomiczność dla choroby Wilsona.

Przeprowadzona przez nas histochemiczna analiza zarówno przypadków zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego (Mossakowski 1965), jak i encefalopatii pochodzenia wątrobowego wskazuje, że w obu przypadkach mamy do czynienia z nagromadzeniem w protoplazmie komórek Opalskiego związków o charakterze mukopolisacharydów. Jediną stwierdzaną różnicą w chemicznej strukturze tych substancji była zawartość miedzi w przypadkach choroby Wilsona, a jej brak — w encefalopatii pochodzenia wątrobowego. Fragmentaryczność naszych danych histochemicznych, spowodowana rzadkością występowania komórek

Opalskiego w encefalopatii wątrobowej, wymaga dalszego potwierdzenia dotychczasowych obserwacji.

Otwartą pozostaje sprawa pochodzenia komórek Opalskiego w encefalopatii pochodzenia wątrobowego. Potwierdzając na podstawie własnych obserwacji pogląd, że w chorobie Wilsona powstają one w wyniku przekształcenia komórek Alzheimera typu I, sugerowałem równocześnie możliwość ich bezpośredniego pochodzenia z astrocytów. Ta droga ich powstawania w encefalopatii wątrobowej, wobec niestwierdzenia w żadnym z naszych przypadków komórek Alzheimera typu I, wydaje się jedyną.

Podkreślić przy tym wypada, że komórki Opalskiego, stosunkowo pospolite w większości przypadków zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego, są niezmiernie rzadkie, w przypadkach encefalopatii wątrobowej, stanowiąc przy tym zjawisko spotykane wyłącznie w patologii ludzkiej.

Największą ilość dyskusji i kontrowersji do dziś budzi sprawa stosunku encefalopatii pochodzenia wątrobowego do zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego. U jej źródeł leży podobieństwo obrazu klinicznego oraz wybitna zbieżność patomorfologii układu nerwowego, a w pewnej mierze również i zmian elektroencefalograficznych. Podobieństwo obrazu klinicznego i morfologicznego jest niekiedy tak duże, że cały szereg przypadków, które dziś możemy niewątpliwie zaklasyfikować jako encefalopatie wątrobowe, opisane zostały jako specjalna postać zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego; wymienię tylko przypadki Baltazana (1936), Inose (1952) czy Guillaína i wsp. (1954).

Podobieństwo patomorfologii obu zespołów wynika z faktu, że elementy obrazu morfologicznego są dla nich obu wspólne. W obu przypadkach występuje bogaty zespół zmian glejowych, typowy dla obu jest stan gąbczasty, występujący w utkaniu tych samych struktur układu nerwowego, jak również w obu występują różnego nasilenia nieswoiste zwyrodnienia komórek nerwowych. Zwyrodnienie wątrobowo-soczewkowe charakteryzuje się ponadto znamienym uszkodzeniem naczyń mózgowych, które na ogół nie występują w encefalopatii wątrobowej. Niekiedy jednak komponenta naczyniowa w chorobie Wilsona jest bardzo mało zaznaczona. Dotychczasowe obserwacje potwierdzają zawodność większości morfologicznych kryteriów różnicujących. Uważane przez Opalskiego (1936, 1949) i Greenfielda (1958) za patognomiczne dla choroby Wilsona, komórki Opalskiego występują również w encefalopatiach wątrobowych (Stadler 1936, Mossakowski 1965). Wydaje się w chwili obecnej, że występowanie komórek Alzheimera typu I jest bardziej znamieną cechą różnicującą. Jak wynika z danych piśmiennictwa i naszych własnych obserwacji, nie występują

one nigdy poza zwyrodnieniem wątrobowo-soczewkowym. Pomocniczym elementem różnicującym jest obecność wtrętów glikogenowych w nagich jądrach w encefalopatii wątrobowej, a ich brak, w chorobie Wilsona. Ich względną jednak wartość podkreśla fakt znalezienia takich samych wtrętów śródjądrowych, w przypadkach zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego (Shiraki 1965).

Jedynym pewnym obecnie elementem różnicującym (poza obrazem klinicznym i całokształtem badań laboratoryjnych) oba zespoły jest stwierdzenie podwyższonego poziomu miedzi w mózgu. Kapryśność metod histochemicznych na miedź oraz jej wrażliwość na działanie całego szeregu czynników utrwalających, odpowiedzialnych za uzyskanie ujemnych wyników badań histochemicznych w całym szeregu przypadków niewątpliwej choroby Wilsona (Green 1955, Howell 1955, Okinaka i wsp. 1961) powodują, że pewne i jednoznaczne zróżnicowanie obu zespołów w przypadkach skrajnych przekracza granice badań morfologicznych. Jedynie chemiczne badanie zawartości miedzi w mózgu pozwala na pełne zróżnicowanie zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego i encefalopatii wątrobowej. Dla ilustracji tego zagadnienia przedstawiamy wyniki badań chemicznych, przeprowadzonych na naszym materiale przez Smiałka i wsp. (1965), a mających na celu określenie zawartości miedzi w mózgach chorych z objawami encefalopatii pochodzenia wątrobowego. Wykonano badanie zawartości miedzi w różnych okolicach ośrodkowego układu nerwowego, w przedstawionych w tej pracy 2 przypadkach encefalopatii wrotno-układowej i w 1 przypadku zwykłej encefalopatii wątrobowej, porównując uzyskane wyniki z danymi z 1 przypadku choroby Wilsona i 1 przypadku choroby nieneurologicznej, traktowanego jako wzorzec norm pracownianych. Zaczerpnięte z pracy Smiałka i wsp. (1965) wyniki przedstawione są w tabeli 5. Otrzymane w przypadkach encefalopatii wrotno-układowej i zwykłej encefalopatii wątrobowej wyniki, jakkolwiek wyższe niż w przypadku kontrolnym, są znacznie niższe niż w zwyrodnieniu wątrobowo-soczewkowym i mieszczą się w granicach normy zawartości miedzi w mózgu (Warren, Earl, Thompson 1960). Dane te uzyskane na naszym materiale potwierdzają wcześniejsze spostrzeżenia Gublera i wsp. (1957). Do wyjątków natomiast należą przypadki (jak opisany przez Mozai i wsp. 1962), w których obok motyliczności układu wrotnego, stanowiącej częste podłoże encefalopatii wrotno-układowej, istniał pełny kliniczny, morfologiczny i biochemiczny zespół zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego. Wydaje się, że przypadek ten mimo mylących zmian w układzie żyły wrotnej i sporadycznego charakteru, należy traktować jako chorobę Wilsona, powikłaną motylicznością japońską wątroby.

Tabela 5. Zestawienie zawartości miedzi w poszczególnych strukturach mózgu w encefalopatii wrotno-układowej i encefalopatii wątrobowej w $\gamma/1$ g

Table 5. Copper content of different brain structures in portosystemic and hepatic encephalopathy in $\gamma/1$ g

Okolica mózgu Brain region	Encefalopatia wrotno-układowa Portosystemic encephalopathy		Encefalopatia wrotno-układowa Portosystemic encephalopathy		Encefalopatia wątrobowa Hepatic encephalopathy		Zwyrod. wątrobo- wo-soczewkowe Hepatolenticular degeneration		Choroba nieneuro- logiczna Nonneurologic disease	
	Zawar- tość	Zawar- tość	Zawar- tość	Zawar- tość	Zawar- tość	Zawar- tość	Zawar- tość	Zawar- tość	Zawar- tość	Zawar- tość
	Cu na 1 g mokrej wagi	Cu na 1 g suchej tk.	Cu na 1 g mokrej wagi	Cu na 1 g suchej tk.	Cu na 1 g mokrej wagi	Cu na 1 g suchej tk.	Cu na 1 g mokrej wagi	Cu na 1 g suchej tk.	Cu na 1 g mokrej wagi	Cu na 1 g suchej tk.
	Content of Cu per g moist weight	Content of Cu per g dry weight	Content of Cu per g moist weight	Content of Cu per g dry weight	Content of Cu per g moist weight	Content of Cu per g dry weight	Content of Cu per g moist weight	Content of Cu per g dry weight	Content of Cu per g moist weight	Content of Cu per g dry weight
Okolica czołowa (kora) Frontal region (cortex)	4,4	27,29	16,28	111,27	6,35	32,4	17,27	109,0	4,21	23,4
Okolica czołowa (ist. biała) Frontal region (white sub- stance)	7,92	28,87	8,0	27,7	11,4	33,7	64,42	198,0	7,33	22,1
Spoidło wielkie mózgu Corpus callosum	15,11	48,63	8,93	30,21	15,2	49,3	52,2	174,6	4,15	12,9
Okolica potyliczna (kora) Occipital region (cortex)	4,33	23,3	7,9	47,16	15,36	97,74	62,05	389,86	4,33	23,3
Okolica potyliczna (ist. biała) Occipital region (white sub- stance)	12,62	45,4	9,05	33,11	13,66	65,02	63,98	224,55	5,33	16,36
Skorupa Putamen	—	—	6,47	33,13	7,63	38,8	52,24	370,0	7,85	35,1
Jądro ogoniaste Caudate nucleus	—	—	—	—	—	—	51,12	310,81	—	—
Gałka biała Globus pallidus	—	—	11,14	50,93	21,31	65,02	43,77	205,8	9,83	33,9
Wzgórze Thalamus	14,29	67,32	—	—	12,55	51,9	26,5	139,68	5,76	24,04
Móżdżek (kora) Cerebellum (cortex)	6,78	31,92	7,72	52,43	—	—	17,89	95,13	4,93	28,9
Móżdżek (ist. biała) Cerebellum (white substance)	5,57	18,34	5,41	20,12	—	—	47,78	168,7	10,84	35,1

Podkreślić przy tym należy istotną wartość badania miedzi w mózgu, a nie wyłącznie w wątrobie, gdyż jak wykazały badania Okamoto i wsp. (1939), Portera i Adamsa (1956), Gublera i wsp. (1957) oraz Butta i wsp. (1958), poziom miedzi w wątrobie w przypadkach banalnych marskości zanikowych może być znacznie podwyższony, jakkolwiek nie osiąga nigdy tak wysokich wartości, jakie spotyka się w zwyrodnieniu wątrobowo-soczewkowym. Z drugiej zaś strony, opisywano niewątpliwe przypadki choroby Wilsona z normalną zawartością miedzi w wątrobie (Okinaka i wsp. 1961). W żadnym natomiast z opublikowanych przypadków encefalopatii wątrobowej (w których wykonano badanie chemiczne) nie stwierdzono podwyższonej zawartości miedzi w mózgu.

O podobieństwie patomorfologii układu nerwowego w chorobie Wilsona i encefalopatii wątrobowej nie decydują podobieństwa etiologiczne, lecz zbieżność mechanizmu patogenetycznego tych uszkodzeń. Na podstawie naszych obserwacji nad encefalopatią pochodzenia wątrobowego i w wyniku konfrontacji ich ze spostrzeżeniami patomorfologicznymi nad chorobą Wilsona, poczynionymi przez takich autorów jak: Scharenberg i Drew (1954), Konowałow (1960) i Inose i Tsuda (1963) wydaje się, że w obu przypadkach, u podstaw zmian tkankowych leży pierwotne głębokie uszkodzenie astrogleju, prowadzące do jego czynnościowej niewydolności. Istotną różnicą patogenetyczną między obu zespołami jest współistnienie w chorobie Wilsona równoległego do gliopatii uszkodzenia naczyń, podkreślanego w szeregu prac poświęconych zwyrodnieniu wątrobowo-soczewkowemu (Braunmühl 1930, Brzezicki 1936). Ten czynnik naczyniowy (Angioplastische Faktor Brzezickiego) decydowałby o większym bogactwie i nasileniu zmian morfologicznych w chorobie Wilsona, w porównaniu z encefalopatią wątrobową.

Określenie mechanizmu uszkodzenia gleju i odpowiedzialnego za nie czynnika etiologicznego, jak również ocena powiązań etiopatogenetycznych pomiędzy gliopatią wilsonowską i gliopatią w encefalopatii wątrobowej przekracza możliwości morfologa. Wydaje się natomiast godna uwzględnienia hipoteza Portera (1964), który przypuszcza, że możliwość blokowania przez miedź nagromadzoną w mózgu w chorobie Wilsona układów enzymatycznych przemiany amoniaku w mózgu, może stanowić ogniwo zespalające mechanizmy patogenetyczne obu zespołów chorobowych. Do tego samego sprowadza się zestawienie obserwacji Vogla i Kemperera (1963) nad działaniem miedzi na tkankę nerwową i Bessmana i Bessmana (1955) nad mechanizmem działania na nią amoniaku, uważanego za czynnik uszkadzający tkankę, w ence-

falopatii wątrobowej. Z badań wymienionych autorów wynika, że zarówno miedź, jak i amoniak wykazują toksyczność dla biologicznego transportu elektronów zachodzącego w cyklu Krebsa. Obie substancje wykazują powinowactwo do sąsiadujących ze sobą ogniw tego cyklu, a mianowicie miedź do dehydrogenazy bursztynowej, a amoniak do kwasu alfa-ketoglutazarowego. Wydaje się że uszkodzenie przemian w cyklu Krebsa może leżeć również u podstaw obserwowanych przez nas, wspólnych dla zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego i encefalopatii wątrobowej, identycznych histochemicznie zaburzeń metabolizmu węglowodanowego gleju.

Morfologiczno-opisowy charakter pracy nie zakłada dyskusji nad zagadnieniami klinicznymi encefalopatii pochodzenia wątrobowego. Wydaje się jednak, że obserwacje nasze upoważniają do wysunięcia pewnych sugestii, dotyczących rokowania w leczeniu operacyjnym chorych z długotrwałym przewlekłym uszkodzeniem wątroby, wynikających z morfologicznego stanu ośrodkowego układu nerwowego.

Spostrzeżenia nasze wskazują, że praktycznie w każdym przypadku przewlekłej choroby wątroby znajdujemy oznaki uszkodzenia układu nerwowego, które w znacznej większości przypadków nie znajdują odbicia w ich obrazie klinicznym. Obserwacje nasze stanowią morfologiczne potwierdzenie elektroencefalograficznych spostrzeżeń Parson-Smith i wsp. (1957), oraz Foleya i wsp. (1950), którzy stwierdzali pospolite występowanie nieprawidłowości w zapisie EEG u ludzi z banalnymi i przewlekłymi chorobami wątroby, nie zdradzających klinicznie objawów neurologicznych. Stan ten można by określić jako stan równowagi chwiejnej. W przypadku zaawansowanym zadziałanie dodatkowych czynników uszkadzających prowadzi do jej załamania, przejawiającego się wystąpieniem objawów klinicznych.

Do powszechnie uznanych czynników uszkadzających należy przeciążenie dietą bogatobiałkową (Summerskill i wsp. 1956), zaburzenia żołądkowo-jelitowe, prowadzące do wzmożonej produkcji substancji azotowych, krwotoki do przewodu pokarmowego (Sherlock i wsp. 1956).

Spostrzeżenia kliniczne poczynione na naszym materiale ludzkim wskazują, że śpiączka wątrobowa w wielu przypadkach poprzedzona była krwawieniem do przewodu pokarmowego, podobnie 6 chorych zmarło wśród obrazu śpiączki wątrobowej, która rozwinęła się wkrótce po wykonaniu zabiegu operacyjnego. Wydaje się, że zabieg operacyjny stanowi taki sam dodatkowy czynnik uszkadzający. Jego mechanizm jest złożony. Podstawowe znaczenie ma — jak można przypuszczać — skierowanie, w wyniku operacji, do krążenia układowego peł-

nego strumienia krwi jelitowej, która przed zabiegiem przynajmniej częściowo była detoksykowana przez wątrobę. Dodatkową rolę odgrywa sam uraz operacyjny, powstawanie produktów rozpadu tkankowego, obniżenie ciśnienia krwi, śród- i pooperacyjne krwawienie i in. Wszystkie te czynniki działają na uszkodzony już poprzednio układ nerwowy. Los pooperacyjny chorego w tym przypadku uzależniony jest w dużej mierze od stanu wyjściowego jego układu nerwowego. Wnioskiem nasuwającym się z tego rozumowania jest konieczność dokładnego badania układu nerwowego przed zabiegiem operacyjnym. Poza klinicznym badaniem neurologicznym powinno ono obejmować również czulsze na zachodzące zmiany w układzie nerwowym badanie elektroencefalograficzne.

Znajdujący się w naszym posiadaniu materiał chorych po wykonaniu zespolenia wrotno-ciecznego jest zbyt mały, żeby pozwalał na wyciąganie wniosków ogólnych, co do dalszych losów chorych po zabiegu. U obu jednak chorych z kilkuletnim okresem przeżycia pooperacyjnego rozwinął się pełny kliniczny i morfologiczny zespół encefalopatii wrotno-układowej. Podobne obserwacje na większym materiale poczynili Sherlock i wsp. (1954) i Summerskill i wsp. (1956), którzy podkreślają istotny udział w rozwijaniu się zespołu klinicznego dodatkowych czynników uszkodzających, przede wszystkim zwiększonej przemiany ciał azotowych. Wydaje się, że w jednym z naszych przypadków odmiedniczkowe zapalenie nerek ze związanymi z nim zaburzeniami w gospodarce elektrolitowej stanowiło czynnik precypitujący zespół kliniczny. Na tę rolę dodatkowej patologii nerkowej wskazuje ujawnianie się zespołu psychiatryczno-neurologicznego przy każdorazowym zaostrzeniu procesu nerkowego. Na tego typu rolę czynników dodatkowych wskazują również nasze obserwacje na psach. Większość z psów przedstawionych w pracy zginęła wśród objawów śpiączki wątrobowej. Przy tym, nie tylko dieta mięsna — co jest faktem oczywistym, od pierwszych doświadczeń przeprowadzonych z przetoką Ecka — ale również przejściowe, znaczne obniżenie ciśnienia krwi pogłębiało uszkodzenie morfologiczne układu nerwowego. Zmiany morfologiczne w mózgach psów poddanych diecie mięsnej lub szokowi hemostatycznemu były identyczne, lub cięższe, niż w pozostałej grupie zwierząt, mimo krótszego czasokresu przeżycia po założeniu przetoki Ecka.

WNIOSKI KOŃCOWE

1. Ostre i przewlekłe uszkodzenia wątroby i zaburzenia w krążeniu wrotnym, powstające u ludzi w wyniku różnorodnych chorób wątroby i układu żyły wrotnej, a odtworzone w doświadczeniu na zwierzętach,

prowadzą do powstawania zmian patologicznych na terenie ośrodkowego układu nerwowego, które przy znacznym zaawansowaniu procesu chorobowego lub w niekorzystnych warunkach ogólnoustrojowych ujawniają się w postaci zespołu klinicznego encefalopatii wątrobowej (encefalopatii wrotno-układowej) lub śpiączki wątrobowej.

2. Obraz zmian mózgowych jest identyczny w podstawowym wzorcu reakcji tkankowej we wszystkich przypadkach, niezależnie od rodzaju uszkodzenia wątroby lub zakłócenia krążenia wrotnego, u ludzi, a rodzaju czynnika uszkadzającego u zwierząt doświadczalnych.

3. Obraz morfologiczny zmian mózgowych jest modyfikowany w sposób istotny ostrością procesu uszkadzającego wątrobę lub zakłócającego krążenie wrotne, zespołem dodatkowych czynników ogólnoustrojowych, takich np., jak znaczny spadek ciśnienia krwi, nasilenie procesów miażdżycowych itp., oraz różnicami gatunkowymi zwierząt doświadczalnych.

4. Nie ma istotnych jakościowych różnic w obrazie morfologicznym przypadków, w których uszkodzenie wątroby prowadzi do śpiączki wątrobowej, w porównaniu z grupą bezśpiączkową. Nie istnieje również odrębny jakościowo obraz morfologiczny zespołu zwanego *encephalopathia porto-systemica*. Występujące tu zmiany stanowią pogłębienie uszkodzeń spotykanych w przebiegu zwykłej encefalopatii pochodzenia wątrobowego.

5. Podstawową rolę w encefalopatii pochodzenia wątrobowego odgrywa pierwotne uszkodzenie gleju tak protoplazmatycznego, jak i włókienkowego. Ta pierwotna gliopatia, której wyrazem morfologicznym jest współistnienie zmian wstecznych i rozrostowych gleju, stanowiących wyraz jego czynności kompensacyjnych, oraz występowanie specjalnych form komórkowych, znanych pod nazwą komórek Alzheimera typu II, gleju przejściowego i komórek Opalskiego, prowadzi do niewydolności czynnościowej astrogleju, dotyczącej przede wszystkim jego czynności metaboliczno-transportowej i reparacyjnej. Ta czynnościowa niewydolność gleju leży u podstaw zaburzeń mózgowych w encefalopatii pochodzenia wątrobowego.

6. Pozostałe elementy patomorfologii encefalopatii wątrobowej, a przede wszystkim stan gąbczasty tkanki nerwowej, stanowią następstwo zdekompensowanej niewydolności gleju. Rozkład ognisk zgęszczenia wskazuje na dodatkową rolę patogenetyczną czynnika naczyniowego, uwarunkowaną odrębnościami anatomicznymi sieci naczyniowej w poszczególnych okolicach mózgu.

7. Komórki Opalskiego nie stanowią swego rodzaju elementu morfologicznego zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego, ponieważ występują także w encefalopatii pochodzenia wątrobowego.

8. Uszkodzenie wątroby prowadzi do zaburzeń metabolizmu węglowodanowego astrocytów, którego wyrazem morfologicznym jest obecność śródjądrowych wtrętów glikogenowych i mukopolisacharydowych w komórkach Alzheimerera typu II i w gleju przejściowym, skupienia ziarnistego barwika, zawierającego związki wielocukrowe, w otoczeniu jąder makrogleju, jak również mukopolisacharydowa zawartość protoplazmy komórek Opalskiego.

9. Podobieństwa patomorfologii encefalopatii wątrobowej i choroby Wilsona wynikają ze zbieżności patomechanizmu uszkodzeń, które przy zasadniczych różnicach etiologicznych sprowadzają się w jednym i drugim przypadku, do pierwotnej gliopatii. Obraz morfologiczny zaawansowanej encefalopatii pochodzenia wątrobowego może być identyczny ze zmianami w zwyrodnieniu wątrobowo-soczewkowym. Jedyнным czynnikiem różnicującym jest wówczas biochemiczne oznaczenie zawartości miedzi w mózgu.

10. Obecność zmian patologicznych w mózgu większości chorych z przewlekłymi uszkodzeniami wątroby nakazuje ostrożność przy podejmowaniu decyzji, co do chirurgicznego leczenia nadciśnienia wrotnego oraz zachowania specjalnego trybu postępowania u chorych z wykonaną przetoką żylną. Dekompensacja czynnościowej niewydolności gleju prowadzi bądź do śpiączki wątrobowej w okresie bezpośrednio pooperacyjnym, bądź do wystąpienia zespołu encefalopatii wrotno-układowej w okresie późniejszym.

М. Я. Моссаковский

ПАТОМОРФОЛОГИЯ И ГИСТОХИМИЯ СПОНТАННЫХ
И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЭНЦЕФАЛОПАТИЙ ПЕЧЕНОЧНОГО
ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Содержание

Исследования проводились на материале 36 случаев различных приобретенных острых и хронических повреждений печени у людей и на 36 крысах, у которых воспроизводили повреждение печени путем подавания малобелковой диеты и 10 собаках, у которых хирургически производили портокавальный анастомоз. Исследование центральной нервной системы проводилось с помощью гистологических и гистохимических методов.

На основании проведенных результатов автор приходит к следующим заключениям:

1. Острые и хронические повреждения печени и расстройства портального кровообращения, образующиеся у людей в течении различных заболеваний печени и воротной вены, воспроизводимые в эксперименте на животных, приводят к образованию патологических изменений в центральной нервной системе, которые при далеко зашедшем процессе, либо в неблагоприятных общеоргани-

ческих условиях проявляются в виде клинического синдрома почечной энцефалопатии (портальной-системной энцефалопатии) либо почечной комы.

2. Картина мозговых изменений в основном образце тканевой реакции идентична для всех случаев, независимо от вида повреждения печени либо нарушения портального кровообращения у людей и, вида патогенного фактора у подопытных животных.

3. Морфологическая картина мозговых изменений существенно модифицируется остротой процесса повреждающего печень, либо нарушающего портальное кровообращение, совокупностью дополнительных общеорганических факторов, таких как значительное падение кровяного давления, выраженность атероматозного процесса и др., а также видовыми отличиями экспериментальных животных.

4. В случаях, в которых повреждение печени вызывает коматозное состояние, в сравнении с группой без комы нет существенных качественных различий морфологической картины. Не существует также качественно самостоятельной морфологической картины синдрома называемого *encephalopatia porto-systemica*. Наблюдаемые здесь изменения представляют собой усугубление тех изменений, которые наблюдаются в течении обыкновенной энцефалопатии почечного происхождения.

5. Основное значение в почечной энцефалопатии имеет первичное повреждение так протоплазматической, как и фиброзной глии. Эта первичная глиопатия, которой морфологическим проявлением является сосуществование регрессивных и пролиферационных изменений глии, являющихся доказательством ее компенсаторны функций, а также появление специальных клеточных форм, известных под названием клеток Алцгеймера II типа, переходной глии и клеток Опальского, ведет к функциональной недостаточности астроглии, которая относится прежде всего к ее метаболическо-транспортной и репараторной функции. Эта функциональная недостаточность глии и является базисом мозговых расстройств в почечной энцефалопатии.

6. Остальные элементы патоморфологии почечной энцефалопатии, а прежде всего спонгиозное состояние нервной ткани, являются последствием декомпенсированной недостаточности глии. Распределение очагов спонгиоза указывает на дополнительное патогенетическое значение сосудистого фактора, обусловленное анатомическими особенностями сосудистой сети в отдельных участках мозга.

7. Клетки Опальского не являются специфическим морфологическим элементом печеночно-чечевичной дегенерации, поскольку они наблюдаются также и в почечной энцефалопатии.

8. Повреждение печени приводит к расстройству углеводного метаболизма астроцитов, которого морфологическим проявлением является наличие внутриядерных гликогеновых и мукополисахаридных инклюзий в клетках Алцгеймера II типа и в переходной глии, накоплений зернистого пигмента, содержащего полисахаридные соединения в окружении ядер макроглии, а также мукополисахаридного содержимого протоплазмы клеток Опальского.

9. Сходство патоморфологии почечной энцефалопатии и болезни Вилсона объясняется сходством патомеханизма повреждений, которые при принципиально разных этиологических факторах в одном и во втором случае сводятся к первичной глиопатии. Морфологическая картина сильно выраженной энцефалопатии

печеночного происхождения может быть идентична с изменениями в печеночно-чечевичной дегенерации. Единственным дифференцирующим фактором является в тех случаях определение содержания меди в мозгу.

10. Наличие патологических изменений в мозгу большинства больных с хроническими повреждениями печени указывает на необходимость осторожного подбора больных к операционному лечению портальной гипертензии и на проведение специального режима у больных с выполненным портокавальным анастомозом. Декомпенсация функциональной недостаточности глии либо приводит к печеночной коме в непосредственном послеоперационном периоде, либо к развитию синдрома портально-системной энцефалопатии в более позднем периоде.

M. J. Mossakowski

PATHOMORPHOLOGY AND HISTOCHEMISTRY OF SPONTANEOUS AND EXPERIMENTAL ENCEPHALOPATHY OF HEPATIC ORIGIN

Summary

The study material consisted of 36 cases of various types of acquired acute and chronic liver diseases in human patients, 66 rats in which hepatic lesions were induced by means of a low-protein diet, and 10 dogs in which the portal vein was anastomosed operatively with the vena cava or its branches. The central nervous system was studied with histological and histochemical methods. The following conclusions were reached:

1. Acute and chronic hepatic lesions and disorders in the portal circulation in humans in various diseases of the liver and portal vein, or induced experimentally in animals, lead to pathologic changes in the central nervous system. When these lesions are advanced, or under unfavorable conditions, they give rise to the clinical syndrome of hepatic encephalopathy (portal system encephalopathy) or hepatic coma.

2. The pattern of the cerebral lesions is identical with basic pattern of tissue reactions in all cases, regardless of the type of hepatic lesions or disorders of portal circulation in humans, and type of injury in animals.

3. Acute character of the process damaging the liver or portal circulation and additional systemic factors such as marked drop in blood pressure, intensity of atherosclerotic lesions, and species of the animal, significantly modify the morphologic pattern of the cerebral lesions.

4. No significant qualitative differences in the morphologic pattern were observed in cases in which the liver damage led to hepatic coma, compared with cases without coma. Also, the so-called syndrome of portosystemic encephalopathy is not accompanied by qualitatively different lesions. The lesions in these cases represent only more advanced damage than in ordinary hepatic encephalopathy.

5. Primary damage of the protoplasmatic and fibrous astroglia plays the fundamental role in encephalopathy of hepatic origin. This primary gliopathy, manifested morphologically in the form of degenerative and proliferative changes of the glia, constituting an expression of compensatory hypertrophy and proliferation and the appearance of special cell forms known as type Alzheimer cells, transitional

glia and Opalski cells, leads to functional insufficiency of the astroglia, mainly of its metabolic-transport and reparative functions. Functional insufficiency of the astroglia underlies the cerebral disorders in hepatic encephalopathy.

6. The remaining pathomorphologic elements in hepatic encephalopathy, especially spongy degeneration of the nervous tissue, are results of uncompensated glial insufficiency. Distribution of spongy foci points to an additional pathogenetic role of vascular factors, in accordance with the specific anatomic properties of the vascular network in different parts of the brain.

7. Opalski cells are not a specific morphologic element of hepatolenticular degeneration, since they occur also in hepatic encephalopathy.

8. Liver damage leads to disorders in the carbohydrate metabolism of astrocytes, which is manifested morphologically by intranuclear glycogen and mucopolysaccharide inclusions in the type II Alzheimer cells and transitional glia, accumulation of granular pigments containing polysaccharides around macroglial nuclei, and mucopolysaccharide content of the Opalski cells.

9. The pathomorphologic similarities between hepatic encephalopathy and Wilson's disease result from the convergence of the pathomechanism of the damage, which, despite fundamentally different etiology, lead to primary gliopathy in case of both conditions. The morphologic pattern of advanced hepatic encephalopathy may be identical with the pattern of the lesions in hepatolenticular degeneration. Estimation of the copper content of brain tissue is the only differential test in such cases.

10. Occurrence of pathologic brain lesions in most patients with liver damage indicates the need of caution when deciding on surgical treatment of portal hypertension, and special care of patients with surgical porto-caval shunt. Decompensated functional insufficiency of the glia leads to hepatic coma in the early postoperative period, respectively to portosystemic encephalopathy in later periods.

PISMIENNICTWO

1. Adams R. D., Foley J. M.: The neurological changes in the more common types of severe liver disease. *Trans. Amer. Neurol. Soc.*, 1949, 74, 217—225.
2. Adams R. D., Foley J. M.: The neurological disorders associated with liver disease. *Res. Publ. Ass. nerv. ment. Dis.*, 1953, 32, 198—237.
3. Alexander L.: The fundamental types of histopathologic changes encountered in cases of athetosis and paralis agitans. *Res. nerv. ment. dis. Proc.*, 1940, 21, 334.
4. Andre M. J., van Bogaert L.: Sur des hypercinesies symetriques et des mouvements-choreo-athetiques apparus au cours de la degenerescence aigue du foie. *Mtsch. Psychiat.*, 1947, 113, 71—78.
5. Baker A. B.: The central nervous system in hepatic disease. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1949, 8, 283—294.
6. Baker A. B.: Dyskusja nad referatem R. D. Adamsa i J. M. Foleya w *Res. Publ. Ass. nerv. ment. Dis.*, 1953, 32, 233—234.
7. Balc J., Kapassy B.: The encephalitis in dog with Eck fistula fed on meat. *Arch. Path.*, 1932, 13, 80—97.
8. Baltazan D. M.: Hepato-cerebral syndrome (Wilson's disease). *Can. Med. Ass.*, 1936, 34, 544—545.

9. Baltazan M. A., Olszewski J., Zervas N.: Chronic porto-hepatic encephalopathy. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1957, 16, 410—421.
10. van den Bergh R.: La vascularisation arterielle intracerebrale. *Acta Neurol. Belg.*, 1961, 11, 1013—1023.
11. Bessman S. P., Bessman A. N.: Cerebral and peripheral uptake of ammonia in liver disease with hypothesis for mechanism of hepatic coma. *J. Clin. Inv.*, 1955, 34, 622—628.
12. Bignami A., Palladini G.: Subacute spongyform encephalopathy (an exp. study). Vth. International Congress of Neuropathology. Abstracts. Zürich, 1965, 127.
13. van Bogaert L., Wilkoeck E.: Etude anatomo-clinique sur la degenerescence hepato-lenticulaire. *Rev. Neurol.*, 1936, 66, 461—497.
14. Boudin G., Pepin B.: Degenerescence hepato-lenticulaire. Masson et Cie. Paris, 1959.
15. Braunmühl A.: Die Rinden-Markkomponente in anatomischen Bild der Wilson-Pseudosklerosegruppe. *Ztsch. ges. Neurol. Psychiat.*, 1930, 130, 1—65.
16. Brouwer B.: The spleen, the liver and the brain. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1936, 29, 579—603.
17. Brzezicki E.: Über angio- und gliopatische Eigenschaften der Wilsonischen Krankheit u. der Pseudosklerose. *Zentrbl. ges. Neurol. Psychiat.*, 1937, 86, 119—120.
18. Butt E. M., Nusbaum R. E., Gilmour T. C. di Dic S. L.: Trace metal patterns in disease states: III Copper storage disease with consideration of juvenile cirrhosis, Wilson's disease and hepatic copper of the newborn. *Am. J. Clin. Path.*, 1958, 30, 479—497.
19. Cammermeyer J.: Deposition of iron in paraventricular areas of the human brain in hemochromatosis. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1947, 6, 111—127.
20. Crandal L. A. jun. Weil A.: Pathology of the central nervous system in diseases of the liver. *Arch. Neurol. Psych.*, 1933, 29, 1066—1083.
21. Dobberstein W.: Über einen Fall von Leberkoller der Pferde und dabei gefundenen Hirnveränderungen. *Dtsch. Tierartl.*, 1926, 34, 28—39.
22. Dymecki J.: Encefalopatia wątrobowa w przebiegu pierwotnego raka wątroby. *Neurologia, Neurochirurgia i Psychiatria Polska*, 1965 (w druku).
23. Edelmann A., Leidler R.: Ein Fall von pankreo-hepatischem Syndrom mit toxisch encephalitischen Herden in den beiden hinteren Langsbindeln und im periaqueduktuelle Grau der hinteren Vierhügel. *Confinia Neurol.*, 1938, 1, 202—216.
24. Erbslöh F.: Das Zentralnervensystem bei Leberkrankheiten. w *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie u. Histologie* red. F. Henke, O. Lubarsch, R. Rossle. 1958. Springer. Berlin, 13/2 B. 1645.
25. Farquer M. G., Hartmann J. F.: Neurological structures and relationships as revealed by electro microscopy. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1957, 16, 18—39.
26. Foley M. J., Watson C. W., Adams R. D.: Significance of the electroencephalographic changes in hepatic coma. *Trans. Amer. Neurol. Ass.* 1950, 161—165.
27. Franklin E. C., Bauman A.: Liver disfunction in hepato-lenticular degeneration. *Am. J. Med.*, 1953, 15, 450—458.
28. Gaupp R. jr.: Zur Frage hepato-encephaler Krankheitsbild. *Arch. f. Psychiat.*, 1938, 107, 422—438.
29. Gerschenfeld H. M., De Robertis E.: Submicroscopic morphology and function of glial cells. *International Review of Neurobiology*, 1961, 3, 1—35.

30. Glees P.: The biology of the neuroglia. w *Biology of Neuroglia* red. W. F. Windle. Ch. C. Thomas. Springfield, 1958.
31. Green C. L.: Histochemical demonstration of copper in a case of hepato-lenticular degeneration. *Am. J. Path.*, 1955, 31, 545—555.
32. Greenfield J. G.: *The spino-cerebellar degeneration*. Blackwell. Oxford, 1954.
33. Greenfield J. G.: Is hepato-lenticular degeneration a clinicopathological entity? *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1954, 57, 150—172.
34. Greenfield J. G.: *Neuropathology*. Arnold Ltd. London. 1958.
35. Gubler C. J., Brown H., Markowitz H., Cartwright G. E.: Studies on copper metabolism. Portal (Laennec's) cirrhosis of the liver. *J. Clin. Invest.*, 1957, 36, 1208—1216.
36. Guillain G., Bertrand I., Godet-Guillain: Etude anatomique d'un cas de „syndrome, hepato-lenticulaire”. *Revue Neurol.*, 1954, 90, 169—186.
37. Hartmann J. F.: Identification of neuroglia in electron micrographs of normal nerve tissue. *Proceedings of the IV International Congress of Neuropathology*. Thieme G. Stuttgart, 1962, 3, 32—34.
38. Havens L. L., Child G. G.: Recurrent psychosis associated with liver disease and elevated blood ammonia. *New England J. Med.*, 1955, 252, 756—759.
39. Heidegger E.: Das Zentralnervensystem bei parasitären Lebererkrankungen. *Arch. Tierheilk.*, 1935, 69, 329—342.
40. Heilbrunn G., Felsenfeld O., Scato P. (1945) — przytoczony za Erbslöhem F. poz. 24.
41. Herz E., Drew A. L.: Hepato-lenticular degeneration. Analysis of dyscinetic phenomena, relation of degrees of hepatic damage to course of the disease, nervous disorders in ordinary diseases of liver. *Arch. Neurol. Psychiat.*, 1950, 63, 843—874.
42. Hilleman H.: Beitrag zur Frage der Gliaveränderungen bei Lebererkrankungen mit besonderer Berücksichtigung der Entstehung der Alzheimer — glia und ihre Bedeutung für die Westphal-Wilson Pseudosklerose. 1948. Inaug. Diss. Hamburg. — Przytoczone za Erbslöhem 1958, poz. 24.
43. Homburger F., Kelly T., jr., Naker T. R., Russfield A. B.: Sex effect on hepatic pathology from deficient diet and Safrol in rats. *Arch. Path.*, 1962, 73, 118—125.
44. Howell J. S.: Histochemical demonstration of copper in copper-fed rats in hepato-lenticular degeneration. *J. Path. Bacteriol.*, 1959, 77, 473—484.
45. Hurst E. W., Hurst P. E.: The aetiology of hepato-lenticular degeneration: exp. liver cirrhosis: poisoning with manganese and chloroform. *J. Path. Bacteriol.*, 1928, 31, 303—342.
46. Hyden H. S., Pigoñ A.: A cytophysiological study of the functional relationship between oligodendroglial cells of Deiters nucleus. *J. Neurochemistry*, 1960, 6, 57.
47. Inose T.: Hepato-cerebral degeneration. A special type. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1952, 11, 401—408.
48. Inose T.: Neuropathologie der hepatozerebralen Erkrankungen nebst einigen histochemischen Bemerkungen. *Proceedings of the IV International Congress of Neuropathology*. G. Thieme. Stuttgart, 1953, V, 1, 170—173.
49. Inose T., Tsuda M.: Neuroglia in hepato-lenticular degeneration. *Morphology of neuroglia*. Glia Research Group. Red. Nakai J., Ch. C. Thomas. Springfield, 1963, 151—164.

50. Insabato L.: Alcune osservazioni sull' etiopatogenesi della degenerazioni epatolenticulari. L'alcoolismo come causae di degenerazioni epatonevroglica. Arch. gen di Neurol. Psychiat. Psychoanal., 1924, 4/5, 14—22.
51. Kirschbaum W.: Über eine Einfluss schweren Leberschädigungen auf das Zentralnervensystem. 1. Mitt. Gehirnbefunde bei acuter gelber Leberatrophy. Z. Neurol., 1922, 77, 536—582.
52. Kirschbaum W.: Einfluss schwerer Leberschädigungen auf das Zentralnervensystem. 2. Mitt. Gehirnbefunde nach tierexperimenteller Leberschäden. Leberschädigungen nach Unterbindung der a. hepatica und Guanidinvergiftung. Z. Neurol., 1923, 87, 50—83.
53. Kirschbaum W.: Einfluss schweren Leberschädigungen auf das Zentralnervensystem 3. Mitt. Gehirnbefunde nach tierexperimentellen Leberschäden. Leberschädigungen nach Eck'schen Fisteloperationen und Phosphorvergiftung. Z. Neurol., 1924, 88, 487—532.
54. Klatzo I., Miquel J.: Observations on pinocytosis in nervous tissue. J. Neuropath. Exp. Neurol., 1960, 19, 475—487.
55. Konowalow N. W.: Gepatolentikularnaja degeneracija. Medgiz. Moskwa, 1960.
56. Kraus E. J.: Chronischer Hirndruck und Leberverfettung. Virchows Arch., 1937, 300, 617—640.
57. Kremer M. : Neurological disorders in liver disease. Biochemical Aspects of Neurological Disorders. Oxford. Blackwell Sci Publ., 1959.
58. Kryspin-Exner. W.: Anatomische Befunde in einen Fall von Westphal-Strümpelschen Pseudosklerose. Jb. Psychiat., 1930, 47, 251—275.
59. Lapham L. W.: A study of protoplasmic astrocytes in experimentally produced hepatic encephalopathy. J. Neuropath. Exp. Neurol., 1961, 20, 305—309.
60. Lazorthes G., Poulhes J., Bastide G., Rouleau J., Amaral-Gomes F.: Les grands courants arteriels du cerveau. Recherche anatomique et deductions sur la pathogenie et la topographie des hemorrhagies cerebrales. La Presse Medicale, 1960, 68, 137—140.
61. Lehoczky T.: Beiträge zur Pathogenese der Wilson-Pseudosklerose Gruppe auf Grund von zwei Fällen. Arch. Psychiat., 1934, 102, 260—271.
62. Lescher F. G.: The nervous complications of infective hepatitis. British Med. J., 1944, 1, 554—556.
63. Lindenberg R.: Die Gefäßversorgung und ihre Bedeutung für Art und Ort von Kreislaufbedingten Gevebschäden und Gefassprozessen. Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie — O. Lubarsch. F. Henke, R. Rössle. Springer. Berlin, 1957, 13/1.
64. Lüthy F.: Über die hepato-lenticulare Degeneration. Dtsch. Zeitsch. Nervenheilk., 1931, 123, 101—123.
65. McDermott W. V., Adams R. D.: Episodic stupor associated with an Eck fistula in the human with particular reference to the metabolism of ammonia. J. Clin. Invest., 1954, 33, 1—9.
66. Mahaim J.: La degenerescence hepato-lenticulaire. Arch. Suisses Neurol. Psychiat., 1920, 17, 283—306.
67. Mangum J., Lamous D., Friedlander W. J.: Neurologic changes in a patient with porto-caval shunt and the relationship to hepatic coma. Am. J. Med. 1956, 21, 306—311.
68. Mella H.: The experimental production of basal ganglia symptomatology in Macacus Rhesus. Arch. Neurol. Psychiat., 1924, 11, 405—417.

69. Miquel J., Haymaker W.: Glycogen accumulation in brain exposed to ionizing radiation and hyperoxemic conditions. Vth International Congress of Neuropathology. Abstracts. Zürich, 1965, 186.
70. Morgan L. O., Johnson C. A.: Experimental lesions in the tuber cinereum of the dog. Arch. Neurol. Psychiat., 1930, 24, 697—707.
71. Mossakowski M. J., Szymchel-Paluszkiwicz J.: Encephalopathia porto-systemica. Neuropatologia Polska, 1964, 2, 179—192.
72. Mossakowski M. J., Kasperek S., Rościszewska D.: Zwyrodnienie wątrobowo-soczewkowe z przewagą uszkodzeń korowo-podkorowych. Neuropatologia Polska, 1964, 2, 145—166.
73. Mossakowski M. J.: Some aspects of the morphology and histochemistry of the cerebral changes in hepatic coma. Vth. International Congress of Neuropathology. Abstracts. Zürich, 1965, 240.
74. Mossakowski M. J.: Some remarks on the morphology and histochemistry of the so-called Opalski cells. Acta Neuropath., 1965, 4, 659—668.
75. Mozai T., Watanabe., Yoshizawa K., Kaneto A., Fujii J., Ozawa T., Terao T., Ogiwara K., Tsubaki T., Yoshikawa M., Okinaka S.: Abnormal copper metabolism and Keiser Fleischer corneal ring associated with schistosoma infection. Neurology, 1962, 12, 540—546.
76. Murphy T. L., Chalmers T. C., Eckhardt D., Davison C. S.: Hepatic coma: clinical and laboratory observations on 40 patients. New England J. Med., 1948, 239, 605—612.
77. Nikolajew V.: Zur Frage der Beziehungen zwischen Leber und Gehirn. Virchows Archiv., 1937, 299, 309—315.
78. Nordgren B.: Lebercirrhose und Hirnveränderungen beim Säugling. Dtsch. Z. Nervenheilk., 1934, 133, 298—303.
79. Oka-moto K., Utamura M., Mikami G. (1939) — przytoczono za Okinaka i wsp. 1954 (poz. 80).
80. Okinaka S., Yoshika-wa M., Mozai T., Ogiwara K., Watanabe H., Terao T., Ueda S., Hirai S.: Studies on hepato-cerebral disease. IV. Porto- systemic encephalopathy in chronic schistosomiasis Japonica. Arch. Neurol., 1962, 7, 1—9.
81. Okinaka S., Yoshikawa M., Toyoda M., Mozai T., Toyokura Y., Kameyama M.: Pathogenesis of hepato-cerebral disease in Wilson's disease. Histochemical study of copper in liver and brain. Arch. Neurol. Psychiat., 1954, 72, 573—578.
82. Okinaka S., Yoshikawa M., Toyokura Y., Mozai T., Uono M., Kameyama M., Watanabe H., Terao T., Muro T., Igata A., Ogiwara K., Tanabe H., Ueda T., Tsubaki T.: Studies on hepato-cerebral disease. III. Hepatolenticular degeneration in Japan with studies on copper metabolism. Neurology, 1961, 11, 792—799.
83. Omaru L.: Zur Histopathologie des Gehirns in Leberkranken. Fukuoka Acta Med., 1941, 34, 22—23.
84. Opalski A.: Über eine besondere Art von Gliazellen bei der Wilson — Pseudosklerose Gruppe. Z. ges. Neurol. Psychiat., 1930, 124, 420—425.
85. Opalski A.: Histopatologia układu nerwowego. PZWL, Warszawa, 1949.
86. Osetowska E.: Zaniki kory mózdzku w przebiegu raka narządów wewnętrznych. Neuropatologia Polska, 1963, 1, 91—100.
87. Ostertag B. (1952) — przytoczony za Erbslöhem F. (poz. 24).
88. Polay S. L.: An electron microscopical study of neuroglia, Biology of Neuroglia. red. W. F. Windle. Ch. C. Thomas. Springfield, 1958.

89. Parson-Smith B. G., Summerskill W.H.J., Dawson H. M., Sherlock S.: The electroencephalograph in liver disease. *Lancet*, 1957, II, 867—871.
90. Pearse A.G.E.: *Histochemistry theoretical and applied*. Little Brown co. Boston, 1959.
91. Phillips G. B., Schwartz R., Gabuzda G. J., Davidson C. D.: The syndrome of impending hepatic coma in patients with cirrhosis of the liver given certain nitrogenous substances. *New England J. Med.*, 1952, 247, 239—246.
92. Pollak E.: Zur Frage der Beziehungen von Leber und Gehirnerkrankungen. *Arb. Neurol. Inst. Wien Univers.*, 1927, 30, 148—162.
93. Pomerat Ch. M.: Functional concepts based the tissue culture studies on neuroglial cells. *Biology of Neuroglia*. red. W. F. Windle. Ch. C. Thomas. Springfield, 1958, 162—175.
94. Porter H., Adams R. D.: The copper content of brain and liver in hepatic encephalopathy. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1956, 15, 61—64.
95. Porter H.: Tissue copper proteins in Wilson's disease. *Arch. Neurol.*, 1964, 11, 341—349.
96. Rakowska J.: *Konsultacja osobista*. 1962.
97. Rapport B.J.: Über Wechselbeziehungen zwischen Leber und Gehirn. *Z. Neurol.*, 1930, 126, 473—498.
98. Richter R. B.: The pallial component in hepatolenticular degeneration. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1948, 7, 1 — 18.
99. Riddel A. G., Kopple P. N., McDermott W. V. jr.: The etiology of meat intoxication in the Eck fistula dog. *Surgery*, 1954, 36, 675—684.
100. Rutledge R. F., Neubuerger K. L.: Icterus of adult brain. *Am. J. Path.*, 1942, 18, 153—162.
101. Scharenberg K., Drew A. L. jr.: The histopathology of Wilson's disease. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1954, 13, 181—190.
102. Scherer H. J.: Zur Frage der Beziehungen zwischen Leber und Gehirnveränderungen. *Virchows Archiv.*, 1933, 288, 333—345.
103. Schulman S., Barbeau A.: Wilson's disease: A case with almost total loss of cerebral white matter. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1963, 22, 105—119.
104. Sherlock S., Summerskill W. H. J., White L. P., Phear A. E.: Portal systemic encephalopathy: neurological complication of liver disease. *Lancet*, 1954, II, 454.
105. Sherlock S., Summerskill W. H. J., Dawson A. M.: The treatment and prognosis of hepatic coma. *Lancet.*, 1956, II, 689—694.
106. Shikata S.: *Przytoczony wg Inose T.* (poz. 48).
107. Shiraki H.: Neuropathology of systemic lupus erythematodes in comparison with rheumatic encephalopathy. II International Colloquium on Actual Encephalitides. *Neuropatologia Polska*, 1965 (w druku).
108. Shiraki H.: *Konsultacja osobista*. 1965.
109. Spielmeyer W.: *Histopathologie des Nervensystem*. Springer. Berlin, 1922.
110. Stadler H.: Histopathologische Untersuchungen zur Frage der Beziehungen zwischen Leber und Gehirnveränderungen. *Z. Neurol.*, 1936, 154, 626—657.
111. Standerfer S. B., Handler P.: Fatty liver induced by orotic acid feeding. *Proc. Soc. Exp. Biol., Med.*, 1955, 90, 270—271.
112. Stockes J. F., Owen J. R., Holmes E. G.: Neurological complications of infective hepatitis. *Brit. Med. J.*, 1945, 2, 642—644.

113. Summerskill W. H. J., Davidson E. A., Sherlock S., Steiner R. E.: The neuropsychiatric syndrome associated with hepatic cirrhosis and an extensive portal collateral circulation. *Quart. J. Med.*, 1956, 25, 245.
114. Smiałek M., Wiśniewski H., Zalewska T.: Topografia ilościowa miedzi w chorobie Wilsona i w encefalopatii wrotno-układowej. *Neuropatologia Polska*, 1965 (w druku).
115. Uzman L. L.: Histochemical localization of copper with rubeanic acid., 1956, 5, 299—305.
116. Vogel F. S.: Nephrotoxic properties of copper under experimental conditions in mice. *Am. J. Path.*, 1960, 26, 699—712.
117. Vogel F. S., Evans J. W.: Morphologic alternations produced by copper in neural tissues with consideration of the role of the metal in the pathogenesis of Wilson disease. *J. Exp. Med.*, 1961, 113, 997—1004.
118. Vogel F. S., Kemper L.: Biochemical reactions of copper with in neural mitochondria with consideration of the role of the metal in the pathogenesis of Wilson disease. *Lab Invest.*, 1963, 12, 171—179.
119. Waggoner R. W., Malamud N.: Wilson's disease in light of cerebral changes following ordinary liver disorders. *J. Nerv. Ment. Dis.*, 1942, 96, 410—423.
120. Walshe J. M.: Observations on the symptomatology and pathogenesis of hepatic coma, 1951, 20, 421—438.
121. Warren P. J., Earl C. J. Thompson R. H. S.: The distribution of copper in human brain. *Brain*, 1960, 83, 709—717.
122. Weltman B.: przytoczony za Erbslöhem F. (poz. 24).
123. Wiśniewska K.: Badanie morfologiczne nad zachowaniem się granicznej błony glejowej okołonaczyniowej w przypadkach miażdżycy naczyń mózgowych z nadciśnieniem i bez nadciśnienia. *Neuropatologia Polska*, 1965 (w druku).
124. Woods A. H., Pendleton L.: Fourteen simultaneous cases of acute degenerative striatal disease. *Arch. Neurol. Psychiat.*, 1925, 13, 549—572.
125. Zahorska A., Berger S., Kruś S.: Zmiana zawartości wit. A w chorobach i uszkodzeniach wątroby. *Odbitka PTL*, 1953, 8,
126. Zahorska A., Berger S., Kruś S.: Badania nad wit. A w chorobach wątroby. *Odbitka PTL*, 1955, 10/4.
127. Zillig G.: Neurologische und Psychopathologische Befunde bei Lebererkrankungen. *Arch. Psychiat. u. Z. Neurolog.*, 1948, 181, 21—40.
128. Zülch K. J.: On the circulatory disturbances in the borderline zones of the cerebral and spinal vessels. *Proc. of the II International Congress of Neurology 1955 Excerpta Med. Foundation. Amsterdam*, 1955.

Nadesłano: 11.X.1965.

Adres autora: Zakład Neuropatologii PAN, Warszawa, ul. Pasteura 3.

PODPISY POD RYCINY

Ryc. 1. Uszkodzone astrocyty w impregnacji metodą Cajala w przypadku ostrej śpiączki wątrobowej w przebiegu wirusowego zapalenia wątroby. Widoczny nieregularny przebieg i fragmentacja wypustek. Bardzo znaczne uszkodzenie komórki widoczne w prawym dolnym rogu ryciny. Pow. obj. 40 × ok. 15.

Fig. 1. Damaged astrocytes, impregnated by the method of Cajal, from a case of acute hepatic coma in the course of viral hepatitis. Irregular course and fragmentation of the process. A very markedly damaged cell in the lower left corner of the figure. Magn. obj. × 40, oc. × 15.

Ryc. 2. Typowe komórki Alzheimerera typ II w przypadku encefalopatii wrotno-układowej. Ostro obrysowana gruba błona jądrowa, „puste” wnętrze komórki z widoczną na obwodzie metachromatyczną grudką chromatynową, naśladującą jąderko. Hematoksylina — eozyna. Pow. obj. 40 × ok. 15.

Fig. 2. Typical Alzheimer cells, type II, from a case of portosystemic encephalopathy. Sharply outlined, thick nuclear membrane, „empty” interior of the nucleus with a peripherally situated metachromatic chromatin granule imitating a nucleolus. H. E. Magn. obj. × 40, oc. × 15.

Ryc. 3. Ognisko zgałczenia tkanki nerwowej w przypadku encefalopatii wrotno-układowej. W sąsiedztwie jamek nie uszkodzone komórki nerwowe. Hematoksylina — eozyna. Pow. 135 ×.

Fig. 3. A focus of spongiosis of nervous tissue from a case of portosystemic encephalopathy. Intact nerve cells among the cavities. H. E. Magn. × 135.

Ryc. 4. Ognisko zgałczenia tkanki nerwowej w podkorowej istocie białej w przypadku encefalopatii wrotno-układowej. Zwraca uwagę prawidłowe zabarwienie mieliny w otoczeniu i wśród jamek zgałczanej tkanki. Heidenhain. Pow. 75 ×.

Fig. 4. A focus of spongiosis of nervous tissue in the subcortical white matter from a case of portosystemic-encephalopathy. Myelin surrounding the cavities and within them is normally stained Heidenhain. Magn. × 75.

Ryc. 5. To samo pole co na rycinie 4, w barwieniu hematoksyliną — eozyną. Ognisko zgałczenia ciągnie się wąskim pasmem bezpośrednio pod korą mózgową. Pow. 75 ×.

Fig. 5. The same field as in Fig. 4, stained with hematoxylin-eosin. The spongiotic focus extends as a narrow band just under the cerebral cortex. Magn. × 75.

Ryc. 6. Rozległe pole zgałczenia w grzbietowej części skorupy w przypadku encefalopatii wrotno-układowej. Zwraca uwagę nie zmieniona torebka wewnętrzna. Heidenhain. Pow. obj. 4 × ok. 5.

Fig. 6. Extensive area of spongiosis in the dorsal part of the putamen from a case of portosystemic-encephalopathy. The internal capsule is intact. Heidenhain. Magn. obj. × 4, oc. × 5.

Ryc. 7. Przerosłe astrocyty z pogranicza korowo-podkorowego z charakterystycznym uszkodzeniem ich wpustek. Przypadek encefalopatii w przebiegu zanikowej marskości wątroby. Cajal. Pow. obj. 40 × ok. 15.

Fig. 7. Hypertrophic astrocytes from the cortico-subcortical junction with characteristic arrangement of processes. From a case of encephalopathy in the course of atrophic liver cirrhosis. Cajal. Magn. obj. × 40, oc. × 15.

Ryc. 8. Typowe „nagie jądra” glejowe. Obok widoczne prawidłowe jądro oligodendrogleju. Przypadek encefalopatii w przebiegu zanikowej marskości wątroby. Hematoksylina — eozyna. Pow. obj. 40 × ok. 15.

Fig. 8. Typical glial „naked nuclei”. Normal nucleus of oligodendroglia. Encephalopathy in the course of atrophic liver cirrhosis. H. E. Magn. obj. × 40, oc. × 15.

Ryc. 9. Komórka Alzheimerera typ II, zawierająca charakterystyczny PAS-dodatni wtęret śródjądrowy. Na obwodzie jądra pod błoną komórkową gromadzą się resztki chromatyny jądrowej. PAS. Pow. im. obj. 100 × ok. 15.

Fig. 9. Alzheimer type II cell containing characteristic PAS-positive intranuclear inclusion. Remnants of nuclear chromatin are accumulated in the peripheral part of the nucleus under the cell membrane. Magn. imm. obj. × 100, oc. × 15.

Ryc. 10. PAS-dodatnie ciało wtęretowe wypełniające znaczną część jądra komórki Alzheimerera typu II. PAS. Pow. im. obj. 100 × ok. 15.

Fig. 10. PAS-positive inclusion body filling most of the nucleus in a type II Alzheimer cell. PAS. Magn. imm. obj. × 100, oc. × 15.

Ryc. 11. Komórka Opalskiego z charakterystyczną ziarnistą protoplazmą i obwodowo położonym jądrem. Hematoksylina-eozyna. Pow. obj. 40 × ok. 15.

Fig. 11. Opalski cell with characteristic granular protoplasm and peripheral nucleus. H. E. Magn. obj. × 40, oc. × 15.

Ryc. 12. Ognisko mało zaawansowanego stanu gąbczastego na pograniczu kory mózgu. W jednej z jamek zgąbczenia widoczna komórka Opalskiego. Przypadek encefalopatii w przebiegu przerzutowego nowotworu złośliwego wątroby. Hematoksylina — eozyna. Pow. obj. 8 × ok. 15.

Fig. 12. Focus of early spongy degeneration on the boundary of the cerebral cortex. In one of the spongy cavities there is an Opalski cell. Encephalopathy in the course of a malignant liver tumor metastasis. H. E. Magn. obj. × 8, oc. × 15.

Ryc. 13. Ognisko zaawansowanego stanu gąbczastego w zwojach podstawy. Przypadek encefalopatii w przebiegu marskości wątroby. Hematoksylina — eozyna. Pow. obj. 8 × ok. 15.

Fig. 13. Focus of advanced spongy degeneration in the basal ganglia. Encephalopathy in the course of hepatic cirrhosis. H. E. Magn. obj. × 8, oc. × 15.

Ryc. 14. PAS-dodatnie ciało wtrętowe w przejściowej komórce glejowej. Barwienie metodą PAS po trawieniu diastazą. Wtręt zachowuje swoje zdolności barwienia się odczynnikiem Schiffa. Obok widoczne, leżące w innej płaszczyźnie, jąderko. Pow. im. obj. 100 × ok. 15.

Fig. 14. PAS-positive inclusion body in a transitional glial cell, stained with Schiff's reagent. The nucleolus is in another plane nearby. Magn. obj. imm. × 100, oc. × 15.

Ryc. 15. Skupienie drobnych PAS-dodatnich ziarnistości w otoczeniu jądra astrogleju w korze mózgu. PAS. Pow. obj. 100 × ok. 15.

Fig. 15. Cluster of small PAS-positive grains around the nucleus in an astroglial cell in the cerebral cortex. Magn. obj. × 100, oc. × 15.

Ryc. 16. Analogiczne jak na rycinie 15 okołojądrowe ziarenka przy komórce Alzheimer'a typ II, dodatnio wybarwione Sudanem czarnym B. Pow. im. obj. 100 × ok. 15.

Fig. 16. As in Fig. 15, perinuclear grains in an Alzheimer type II cell stained with Sudan black B. Magn. imm. obj. × 100, oc. × 15.

Ryc. 17. Komórka Opalskiego wypełniona PAS-dodatnimi ziarnistościami. PAS. Pow. obj. 40 × ok. 15.

Fig. 17. Opalski cell filled with PAS-positive grains. PAS. Magn. obj. × 40, oc. × 15.

Ryc. 18. Szczur. Grupa doświadczalna (dieta niskobiałkowa). Rozlane uszkodzenie mięszu wątroby. Niewielkie poszerzenie przestrzeni wrotnej. Rozplem kanalików żółciowych. Niewielkie skupienie elementów drobno-okrągło-komórkowych w przestrzeni wrotnej. Hematoksylina — eozyna. Pow. obj. 20 × ok. 10.

Fig. 18. Rat. Experimental group (low-protein diet). Diffuse damage of the liver parenchyma. Slightly dilated portal space. Proliferating bile canals. Slight accumulation of small round cells in the portal space. H. E. Magn. obj. × 20, oc. × 10.

Ryc. 19. Ten sam preparat co na rycinie 18. Widoczne całkowite zatarcie struktury beleczkowej zrazika wątrobowego i wybitne uszkodzenie komórek wątrobowych. Hematoksylina — eozyna. Pow. obj. 40 × ok. 10.

Fig. 19. The same preparation as in Fig. 18. Loss of trabecular structure of the hepatic lobule and advanced damage of the liver cells. H. E. Magn. obj. × 40, oc. × 10.

Ryc. 20. Szczur. Grupa doświadczalna (dieta niskobiałkowa — octan miedzi). Część korowa nerki. Widoczne delikatne uszkodzenie nabłonka kanalików krętych. Hematoksyлина-eozyna. Pow. obj. $40 \times$ ok. 15.

Fig. 20. Rat. Experimental group (low-protein diet and copper acetate). Cortical portion of the kidney. Delicate damage of the epithelium of the convoluted tubules. H. E. Magn. obj. $\times 40$, oc. $\times 15$.

Ryc. 21. Ten sam przypadek co na rycinie 20. Część rdzenna nerki. Ogniskowe złuszczenie nabłonka kanalików nerkowych. Hematoksyлина-eozyna. Pow. obj. $40 \times$ ok. 15.

Fig. 21. The same case as in Fig. 20. Medullary portion of the kidney. Focal desquamation of the epithelium in the renal tubules. H. E. Magn. obj. $\times 40$, oc. $\times 15$.

Ryc. 22. Szczur. Grupa doświadczalna (dieta niskobiałkowa). Rozplem komórek satelitowych gleju wokół komórki jądra zębatego mózdzku. Fiolet krezyłu. Pow. obj. $40 \times$ ok. 15.

Fig. 22. Rat. Experimental group (low-protein diet). Proliferation of satellite cells in the glia around a cell of the dentate nucleus of the cerebellum. Cresyl violet. Magn. obj. $\times 40$, oc. $\times 15$.

Ryc. 23. Szczur. Grupa doświadczalna (dieta niskobiałkowa). Rozplem gleju międzypęczkowego w podkorowej istocie białej. Hematoksyлина — eozyna. Pow. obj. $20 \times$ ok. 7.

Fig. 23. Rat. Experimental group (low-protein diet). Proliferation of interfascicular glia in the subcortical white substance. H. E. Magn. obj. $\times 20$, oc. $\times 7$.

Ryc. 24. Szczur. Grupa doświadczalna (dieta niskobiałkowa). Przerośnięte astrocyty kory mózgu, wykazujące cechy daleko posuniętego uszkodzenia ich wypustek. Cajal. Pow. obj. $20 \times$ ok. 15.

Fig. 24. Rat. Experimental group (low-protein diet). Hypertrophic astrocytes in the cerebral cortex with advanced damage of their processes. Cajal. Magn. obj. $\times 20$, oc. $\times 15$.

Ryc. 25. Szczur. Grupa doświadczalna (dieta niskobiałkowa). Przerosłe astrocyty włóknikowe w podkorowej istocie białej, wykazujące cechy uszkodzenia ich wypustek. Cajal. Pow. obj. $20 \times$ ok. 15.

Fig. 25. Rat. Experimental group (low-protein diet). Hypertrophic fibrillar astrocytes in the subcortical white substance with damaged processes. Cajal. Magn. obj. $\times 20$, oc. $\times 15$.

Ryc. 26. Szczur. Grupa doświadczalna (dieta niskobiałkowa). Komórka Alzheimera II w głębokiej warstwie kory. Hematoksyлина-eozyna. Pow. obj. $40 \times$ ok. 15.

Fig. 26. Rat. Experimental group (low-protein diet). Alzheimer type II cell in the deep cortical layer. H. E. Magn. obj. $\times 40$, oc. $\times 15$.

Ryc. 27. Szczur. Grupa doświadczalna (dieta niskobiałkowa). Przejściowa komórka glejowa z istoty szarej około wodociągu mózgu. Hematoksyлина — eozyna. Pow. obj. $40 \times$ ok. 15.

Fig. 27. Rat. Experimental group (low-protein diet). Transitional glial cell from the gray substance around the aqueduct. H. E. Magn. obj. $\times 40$, oc. $\times 15$.

Ryc. 28. Szczur. Grupa doświadczalna (dieta niskobiałkowa). Przerośnięty astrocyt kory mózgu z prawie całkowitym rozpadem wypustek. Nierównomierne przejaśnienie protoplazmy spowodowane jest nagromadzeniem drobnych pęcherzyków wodniczkowych. Cajal. Pow. obj. $40 \times$ ok. 15.

Fig. 28. Rat. Experimental group (low-protein diet). Hypertrophic astrocyte in the cerebral cortex with almost completely disintegrated processes. Irregular translucence of the protoplasm caused by numerous small vacuolar vesicles. Cajal. Magn. obj. $\times 40$, oc. $\times 15$.

Ryc. 29. Szczur. Grupa doświadczalna (dieta niskobiałkowa). Ognisko gąbczastego rozrzedzenia tkanki nerwowej. Zwracają uwagę prawidłowo utrzymane osłonki mielinowe i brak odczynu glejowego w otoczeniu ogniska. Klüver. Pow. obj. 20 × ok. 15.

Fig. 29. Rat. Experimental group (low-protein diet). Focus of spongy rarefaction of nervous tissue. Normal myelin sheaths and absence of glial reaction around the focus. Klüver. Magn. obj. × 20, oc. × 15.

Ryc. 30. Pies. Przetoka Ecka. Dieta niskobiałkowa. Okres przeżycia 77 dni. Plackowate ubytki komórek nerwowych w korze mózgu. Fiolet krezyłu. Pow. obj. 20 × ok. 15.

Fig. 30. Dog. Eck fistula. Low-protein diet. Survived 77 days. Plaque-like defects of nerve cells in the cerebral cortex. Cresyl violet. Magn. obj. × 20, oc. × 15.

Ryc. 31. Pies. Przetoka Ecka. Dieta niskobiałkowa. Wstrząs hemodynamiczny. Okres przeżycia 31 dni. Ubytek komórek dwupiramidowych w korze zawoju hipokampa. Fiolet krezyłu. Pow. obj. 4 × ok. 5.

Fig. 31. Dog. Eck fistula. Low-protein diet. Hemodynamic shock. Survived 31 days. Loss of bipyramidal cells in the hippocampal gyurs. Cresyl violet. Magn. obj. × 4, oc. × 5.

Ryc. 32. Pies. Przetoka Ecka. Dieta niskobiałkowa. Wstrząs hemodynamiczny. Okres przeżycia 36 dni. Żle ograniczone ognisko zgąbczenia tkanki w podkorowej istocie białej. Klüver. Pow. obj. 8 × ok. 15.

Fig. 32. Eck fistula. Dog. Low-protein diet. Hemodynamic shock. Survived 36 days. Poorly outlined focus of spongy rarefaction of nerve tissue in the subcortical white substance. Klüver. Magn. obj. × 8, oc. × 15.

Ryc. 33. Pies. Przetoka Ecka. Dieta niskobiałkowa. Okres przeżycia 148 dni. Ognisko rozrzedzenia gąbczastego tkanki nerwowej w pniu mózgu. Zachowane prawidłowo osłonki mielinowe w otoczeniu ogniska. Klüver. Pow. obj. 8 × ok. 15.

Fig. 33. Dog. Eck fistula. Low-protein diet. Survived 148 days. Focus of spongy rarefaction in the nerve tissue of the brain stem. Normal myelin sheaths around the focus. Klüver. Magn. obj. × 8, oc. × 15.

Ryc. 34. Pies. Przetoka Ecka. Dieta mięsna. Okres przeżycia 9 dni. Porozsuwane pasma oligodendrogleju w obrzękłej istocie białej mózgu. Porozsuwane są również pasma włókien nerwowych z prawidłowo utrzymanymi osłonkami mielinowymi. Klüver. Pow. obj. 20 × ok. 15.

Fig. 34. Dog. Eck. fistula. Meat diet. Survived 9 days. Displaced oligodendroglial cells in edematous white matter of the brain. Nerve fibers with normal myelin sheaths. Klüver. Magn. obj. × 20, oc. × 15.

Ryc. 35. Pies. Dieta niskobiałkowa. Okres przeżycia 77 dni. Rozlany rozplem gleju w istocie białej. Gdzieś widoczne okołonaczyniowe zagęszczenie komórek. Hematoksylina — eozyna. Pow. obj. 20 × ok. 15.

Fig. 35. Dog. Low-protein diet. Survived 77 days. Diffuse glial proliferation in the white substance. Groups of cells forming scattered clusters around blood vessels. H. E. Magn. obj. × 20, oc. × 15.

Ryc. 36. Ten sam przypadek co na rycinie 35. Okołonaczyniowy rozplem komórek glejowych, wśród których przeważają duże, jasne jądra astrocytów. Hematoksylina — eozyna. Pow. obj. 20 × ok. 15.

Fig. 36. The same case as in Fig. 35. Perivascular proliferation of glial cells, among which the large, clear astrocytic nuclei predominate. H. E. Magn. obj. × 20, oc. × 15.

Ryc. 37. Pies. Przetoka Ecka. Dieta niskobiałkowa. Śpiączka wątrobowa. Okres przeżycia 191 dni. Przejściowa komórka glejowa w sąsiedztwie dużych komórek ruchowych kory mózgu. Klüver — fiolet krezyłu. Pow. obj. 40 × ok. 15.

Fig. 37. Dog. Eck fistula. Low-protein diet. Hepatic coma. Survived 191 days. Transitional glial cell near large cortical motor cells in the brain. Klüver. Cresyl violet. Magn. obj. × 40, oc. × 15.

Ryc. 38. Pies. Przetoka Ecka. Dieta niskobiałkowa. Wstrząs hemodynamiczny. Okres przeżycia 31 dni. Typowe komórki Alzheimerera w korze mózgowej. Fiolet krezyłu. Pow. obj. 40 × ok. 15.

Fig. 38. Dog. Eck fistula. Low-protein diet. Hemodynamic shock. Survived 21 days. Typical Alzheimer cells in the cerebral cortex. Cresyl violet. Magn. obj. × 40, oc. × 15.

Ryc. 39. Pies. Przetoka Ecka. Dieta niskobiałkowa. Śpiączka wątrobowa. Okres przeżycia 182 dni. Przerosłe astrocyty kory mózgu. Cajal. Pow. obj. 40 × ok. 15.

Fig. 39. Dog. Eck fistula. Low-protein diet. Hepatic coma. Survived. 182 days. Hypertrophic astrocytes in the cerebral cortex. Cajal. Magn. obj. × 40, oc. × 15.

Ryc. 40. Pies. Przetoka Ecka. Dieta niskobiałkowa. Śpiączka wątrobowa. Okres przeżycia 67 dni. Przerosłe astrocyty istoty białej. Część z oznakami uszkodzenia wypustek. Cajal. Pow. obj. 20 × ok. 15.

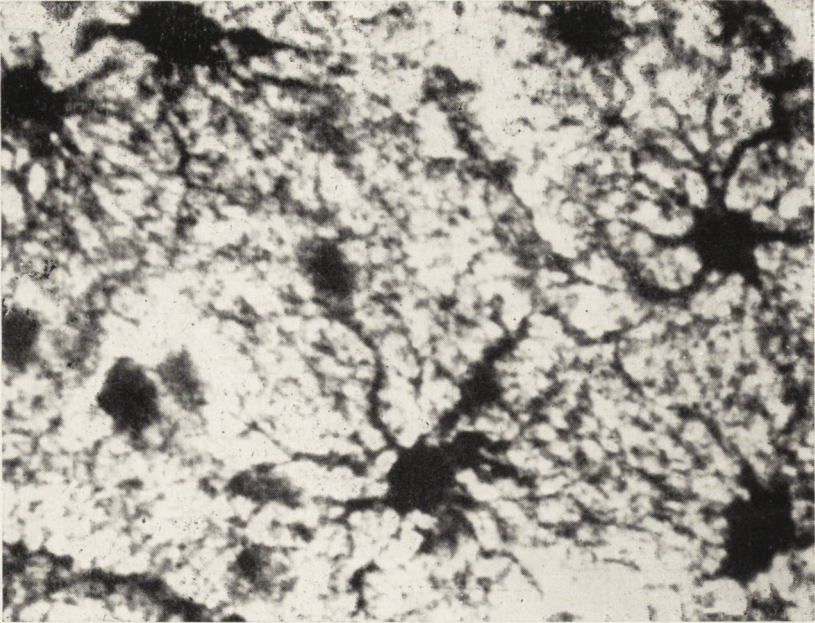
Fig. 40. Dog. Eck fistula. Low-protein diet. Hepatic coma. Survived 67 days. Hypertrophic astrocytes in the white substance, some with damaged processes. Cajal. Magn. obj. × 20, oc. × 15.

Ryc. 41. Pies. Przetoka Ecka. Dieta niskobiałkowa. Wstrząs hemodynamiczny. Okres przeżycia 36 dni. Bardzo znaczne uszkodzenie wypustek przerosłych astrocytów kory. Cajal. Pow. obj. 40 × ok. 15.

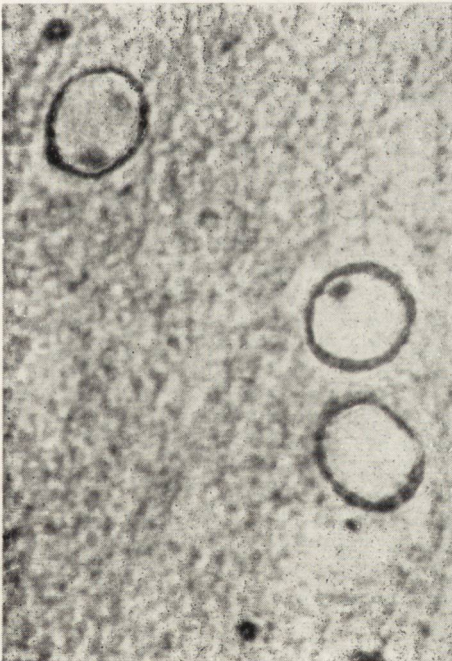
Fig. 41. Dog. Eck fistula. Low-protein diet. Hemodynamic shock. Survived 36 days. Markedly damaged cell processes of hypertrophic astrocytes in the cortex. Cajal. Magn. obj. × 40, oc. × 15.

Ryc. 42. Pies. Przetoka Ecka. Dieta mięsna. Śpiączka wątrobowa. Okres przeżycia 9 dni. Rozlane ubytki komórek nerwowych w korze mózgu, zacierające jej warstwową budowę. Fiolet krezyłu. Pow. obj. 4 × ok. 7.

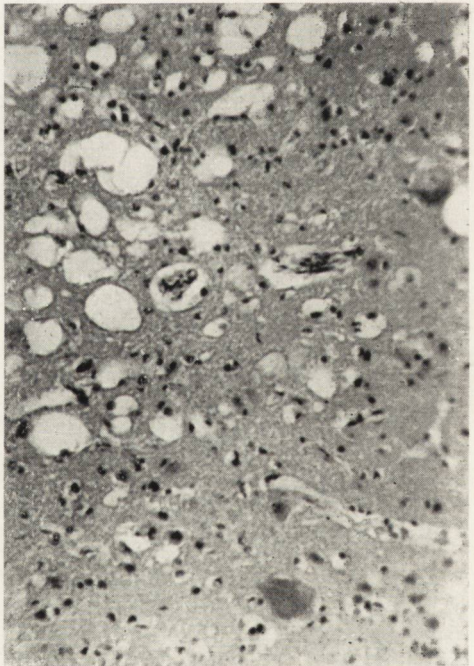
Fig. 42. Dog. Eck fistula. Meat intoxication. Hepatic coma. Survived 9 days. Diffuse loss of nerve cells in the cerebral cortex obliterating its structure. Cresyl violet. Magn. obj. × 4, oc. × 7.



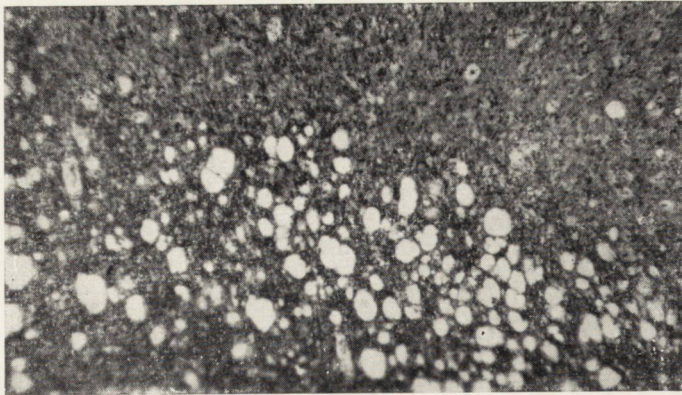
Ryc. 1



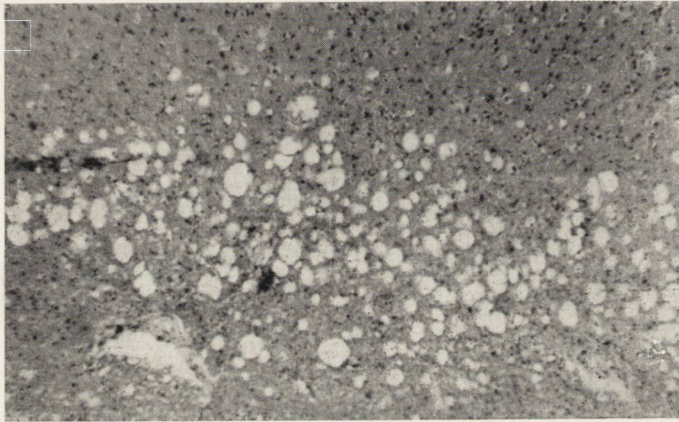
Ryc. 2



Ryc. 3



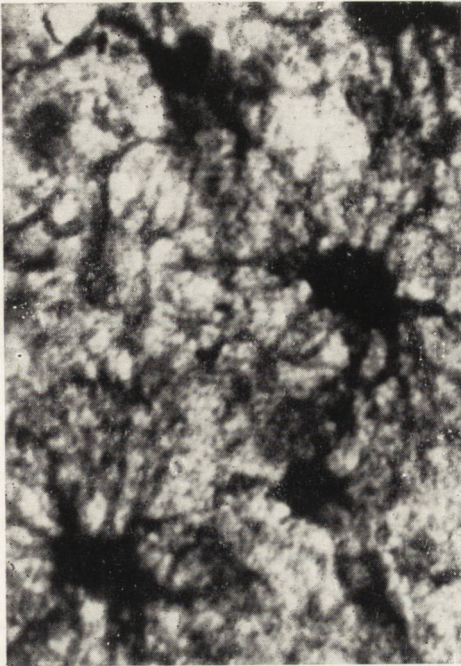
Ryc. 4



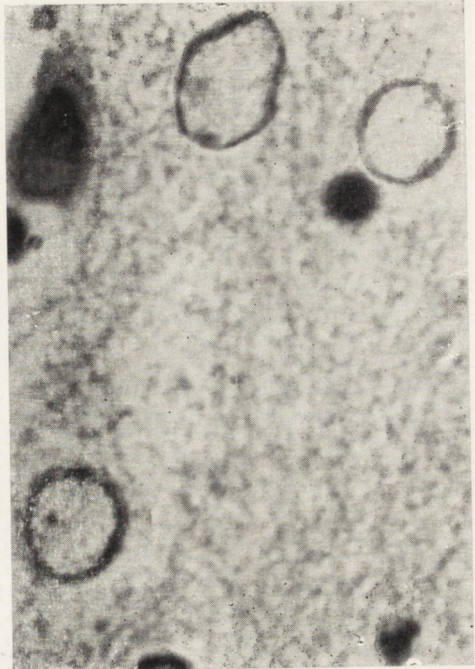
Ryc. 5



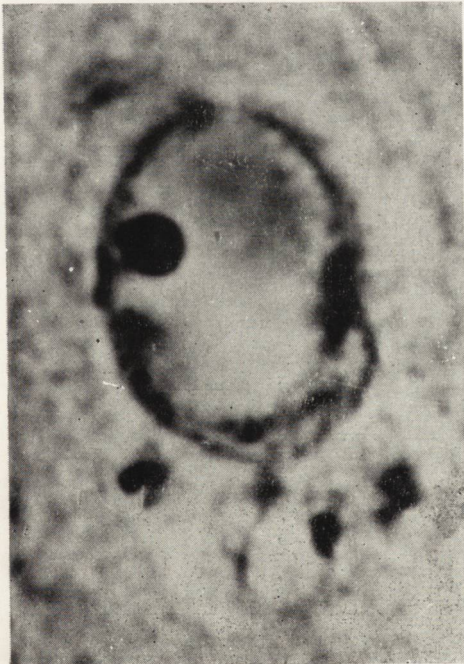
Ryc. 6



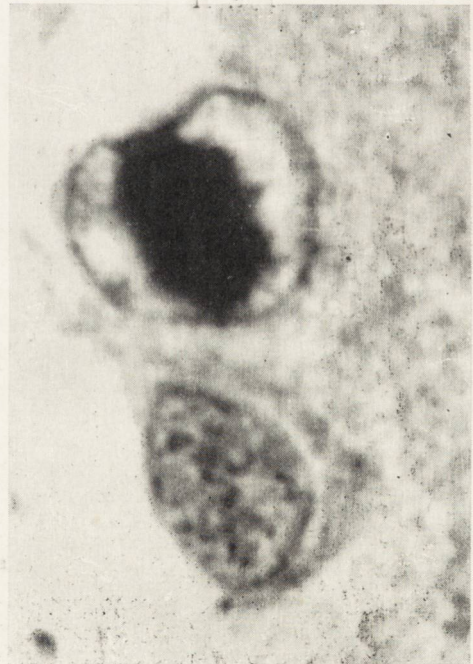
Ryc. 7



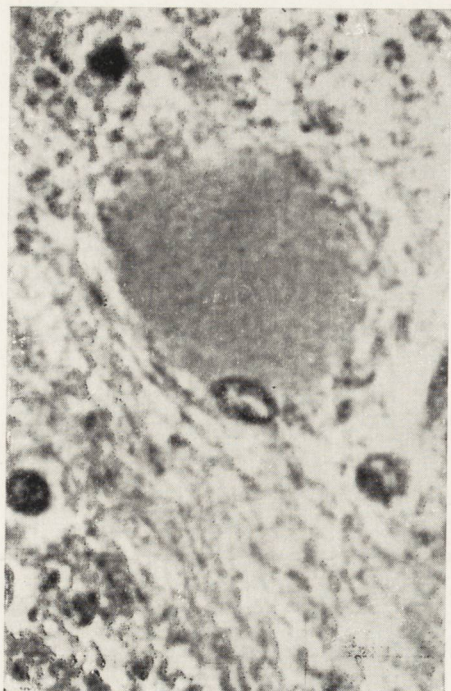
Ryc. 8



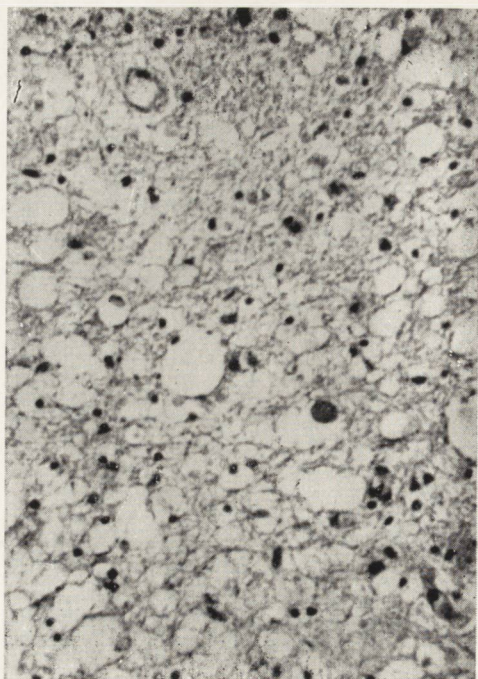
Ryc. 9



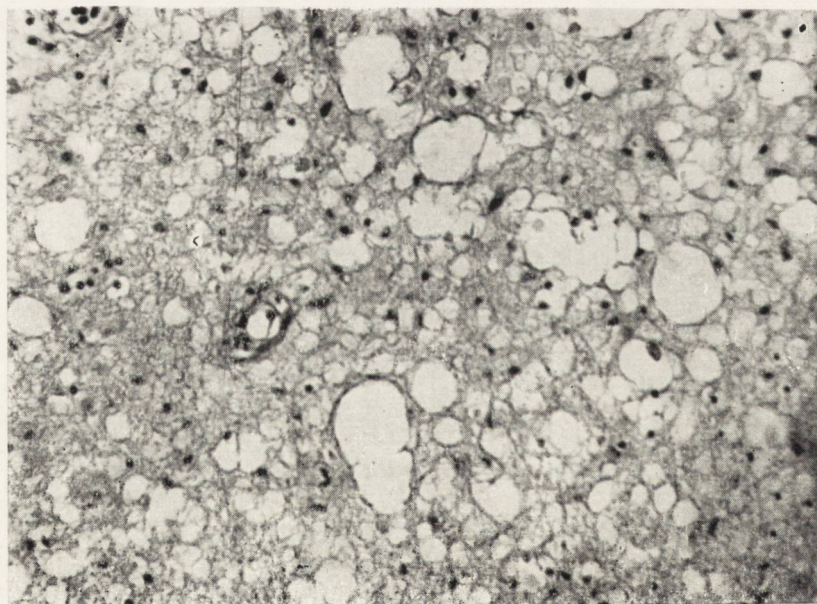
Ryc. 10



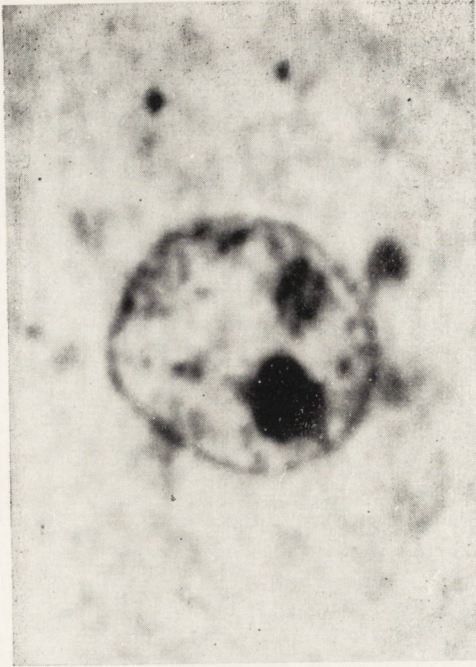
Ryc. 11



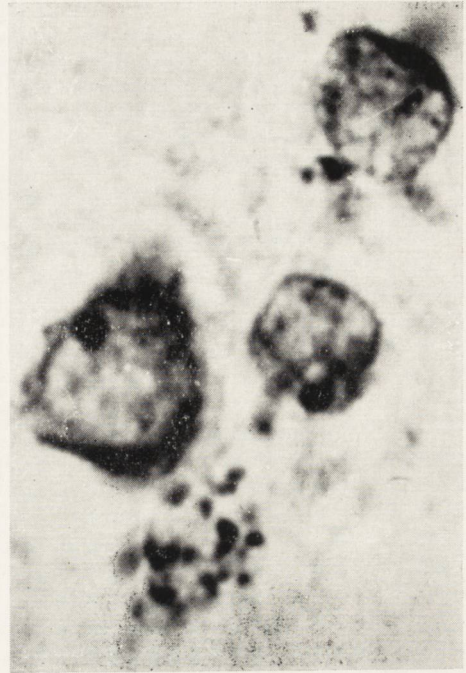
Ryc. 12



Ryc. 13



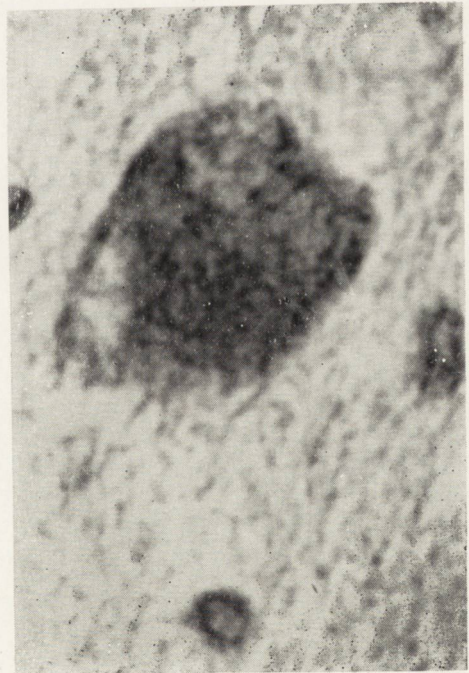
Ryc. 14



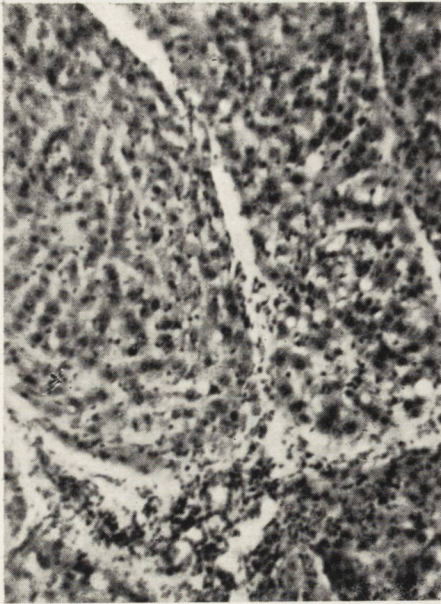
Ryc. 15



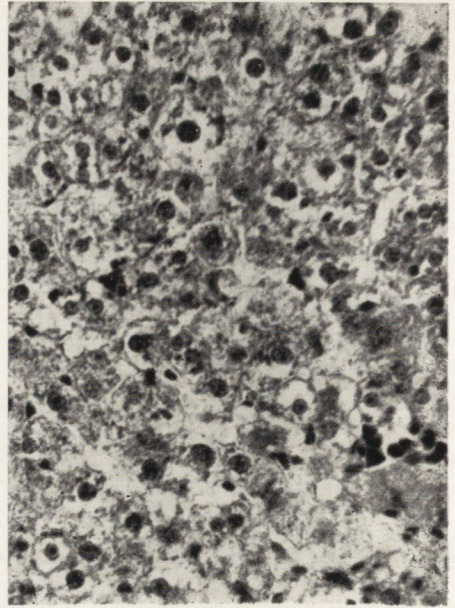
Ryc. 16



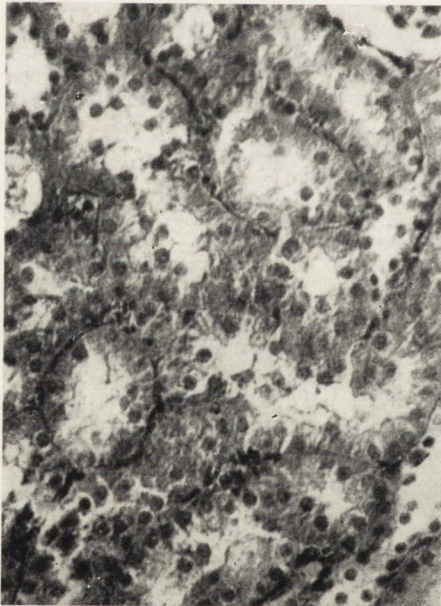
Ryc. 17



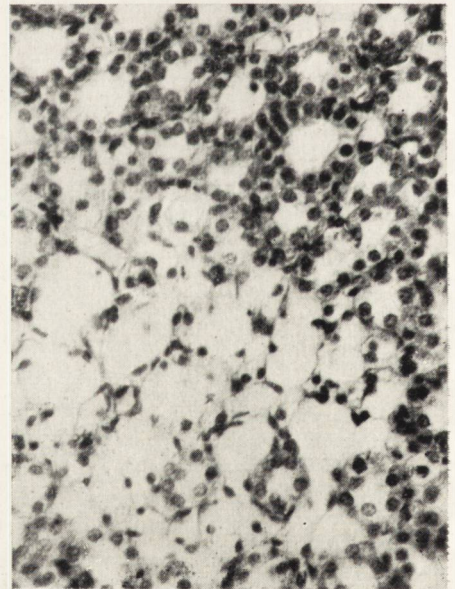
Ryc. 18



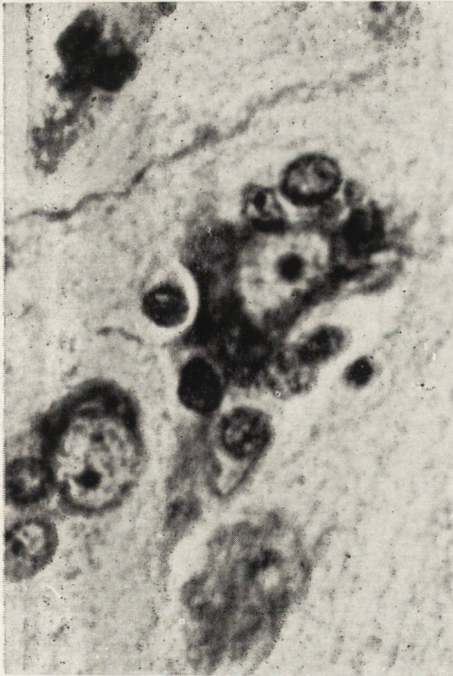
Ryc. 19



Ryc. 20



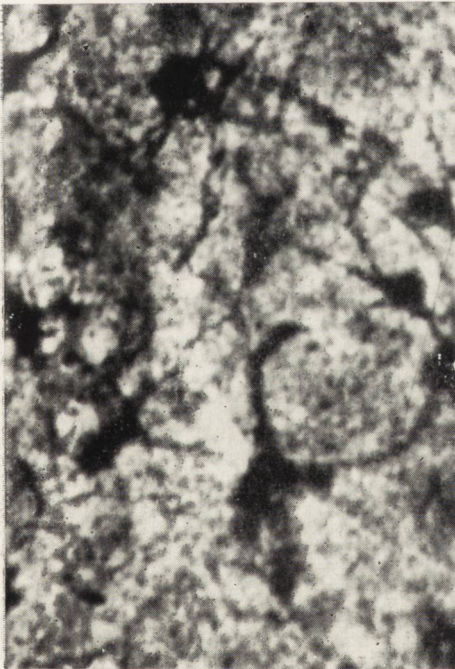
Ryc. 21



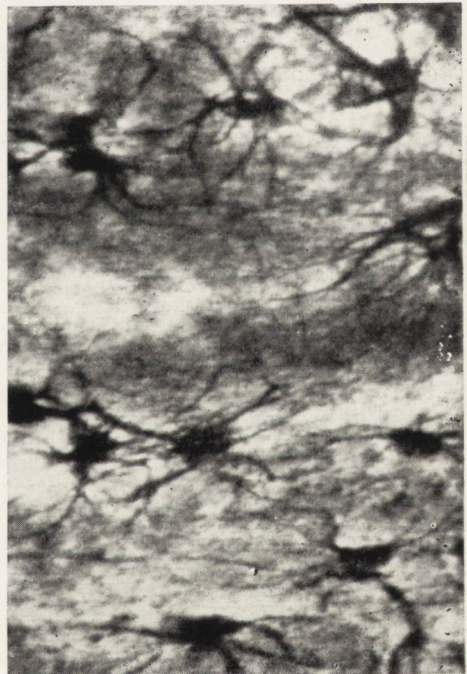
Ryc. 22



Ryc. 23



Ryc. 24



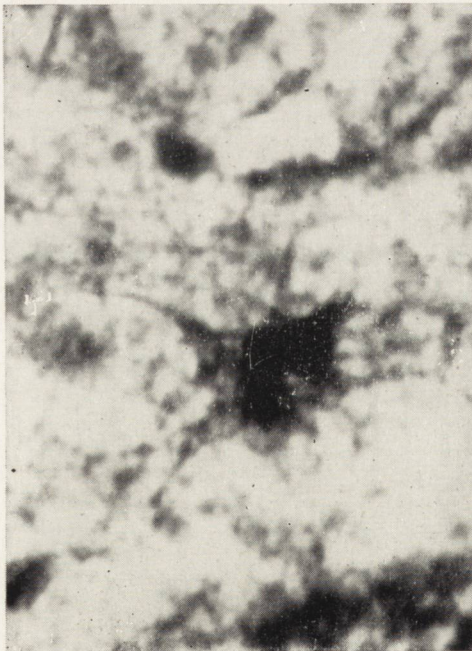
Ryc. 25



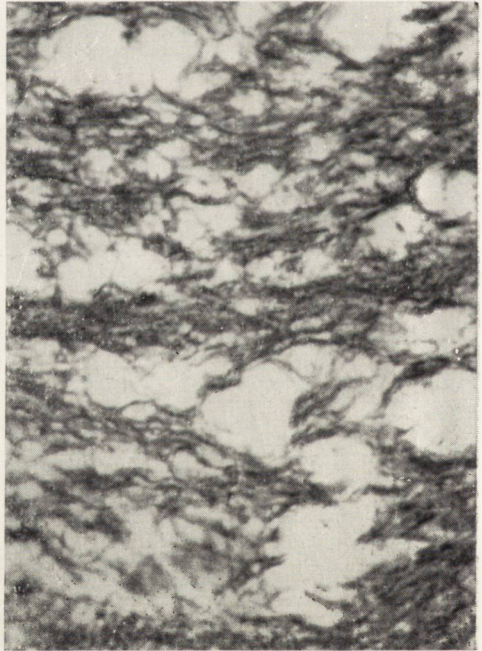
Ryc. 26



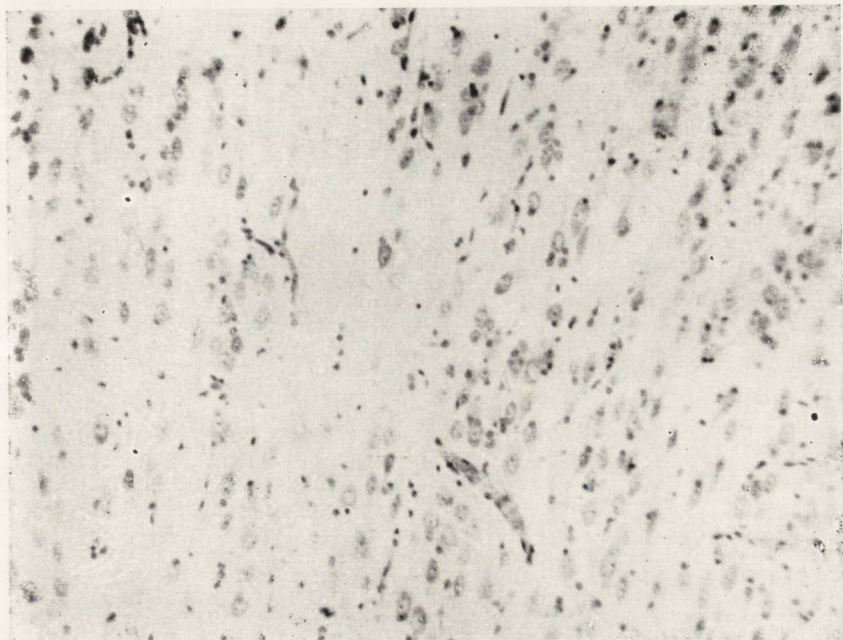
Ryc. 27



Ryc. 28



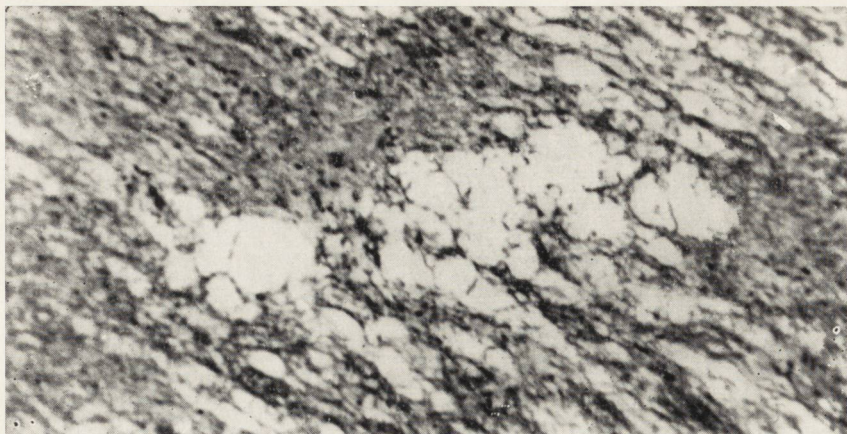
Ryc. 29



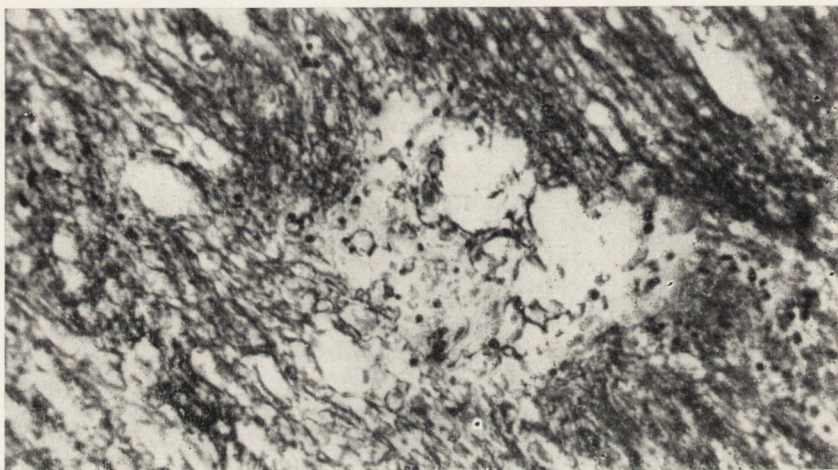
Ryc. 30



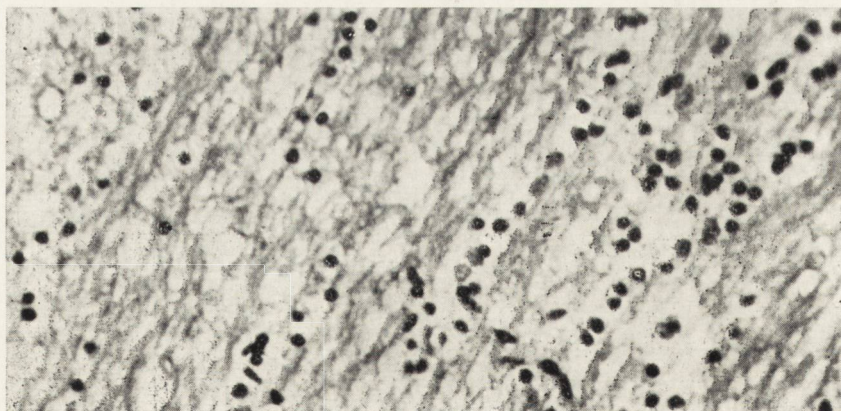
Ryc. 31



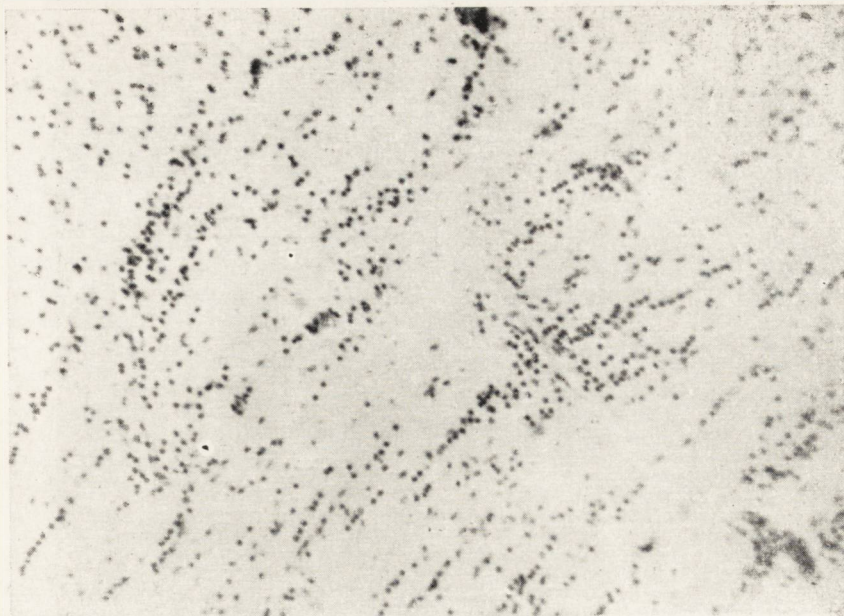
Ryc. 32



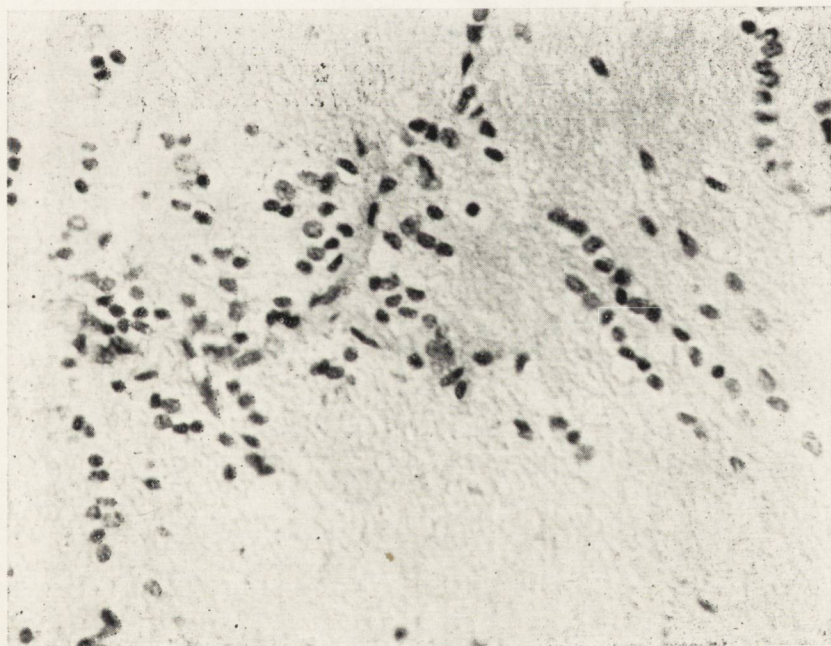
Ryc. 33



Ryc. 34



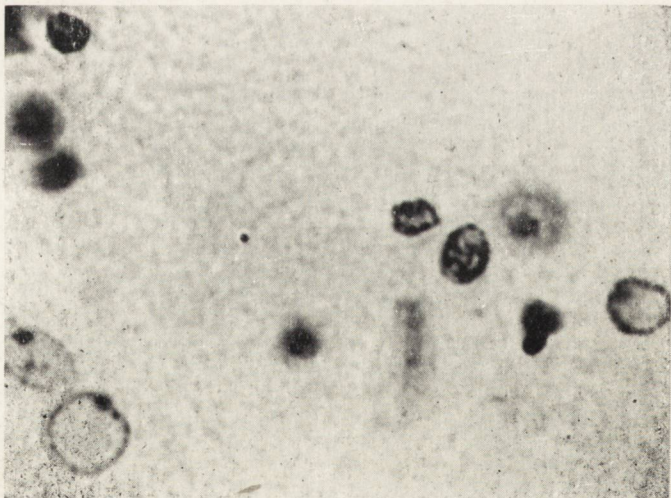
Ryc. 35



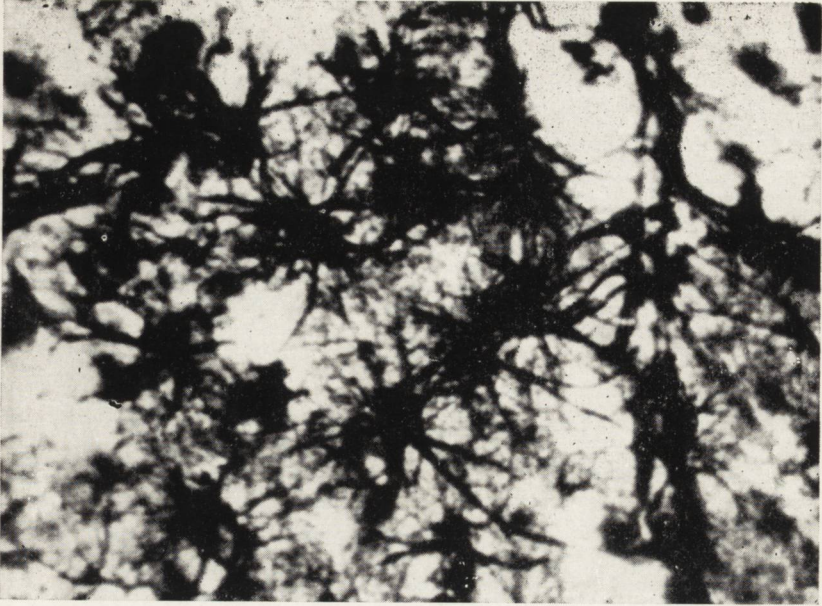
Ryc. 36



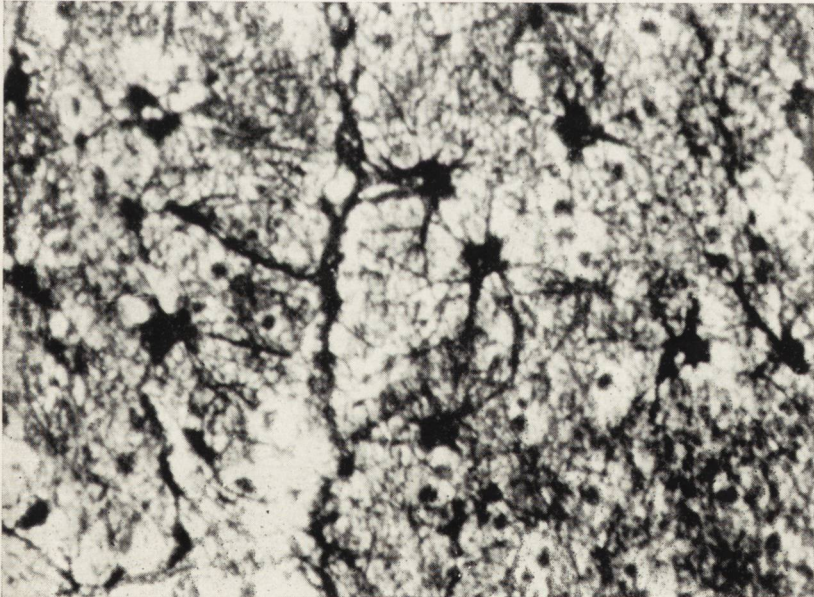
Ryc. 37



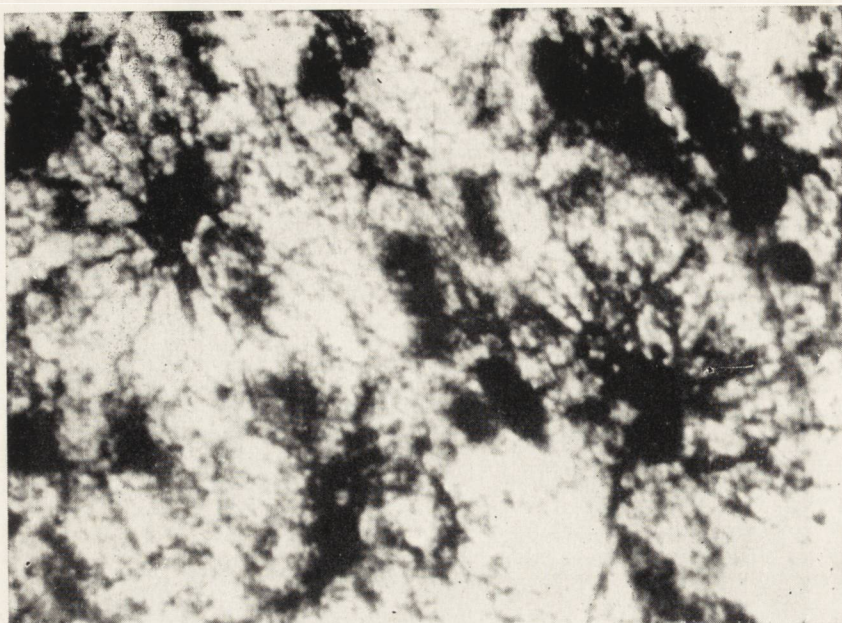
Ryc. 38



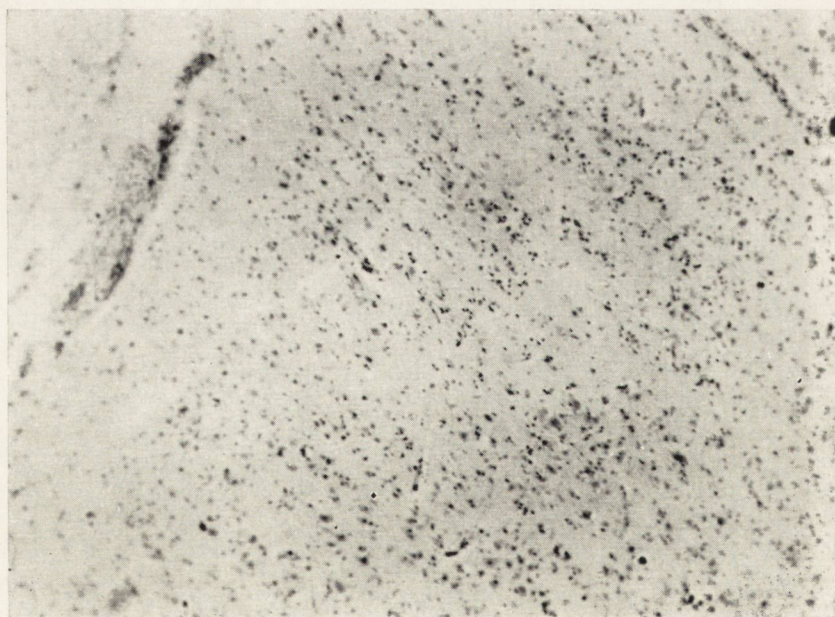
Ryc. 39



Ryc. 40



Ryc. 41



Ryc. 42

SPIS TREŚCI

E. Osetowska: Neuropatologia wirusowych zapaleń mózgu u dzieci	133
K. Wiśniewska, D. Tytułska: Morfologiczne wykładniki „zapalenia” w <i>sclerosis lateralis amyotrophica</i> i ich znaczenie biologiczne	151
A. Głuszczyk: Lokalizacja histochemiczna fosfataz hydrolizujących pyrofosforan tiaminy w ośrodkowym układzie nerwowym	171
H. Szydłowska: Badania nad oranżofilią niektórych struktur w guzach glejopochodnych barwionych polichromami	187
M. Smiałek, K. Wiśniewska: Czynność niektórych dehydrogenaz w okołona-czyniowym gleju reaktywnym w miążdżycy zwojów podstawy	203
H. Szydłowska, J. Kałuża: On the Possibility of Selective Staining of DNA and RNA Using Toluidine Blue and Related Dyes	211
H. Jędrzejowska, A. Fidziańska: Zmiany we wrzecionach mięśniowych w cho-robach mięśni	217
M. J. Mossakowski: Patomorfologia i histochemia spontanicznych i doświadczalnych encefalopatii pochodzenia wątrobowego	231

СОДЕРЖАНИЕ

Э. Осетовска: Невропатология вирусных энцефалитов у детей	133
К. Висьневска, Д. Тытульска: Морфологические показатели „воспаления” в <i>sclerosis lateralis amyotrophica</i> и их биологическое значение	151
А. Глущик: Гистохимическая локализация гидролизующих фосфатаз пиро-фосфат-тиамина в центральной нервной системе	171
Г. Шыдловска: Исследования оранжефилии некоторых структур в глиген-ных опухолях окрашиваемых полихромами	187
М. Смялек, К. Висьневска: Активность некоторых дегидрогеназ в около-сосудистой реактивной глии в атероматозе ганглиев основания	203
Г. Шыдловска, Ю. Калужа: К вопросу о возможности селективной окраски дезоксирибонуклеиновой (ДНК) и рибонуклеиновой (РНК) кислот с помощью толуидинблау и производных красителей	211
Х. Енджеевска, А. Фидзянска: Изменения в мышечных веретенах в мио-патических заболеваниях	217
М. Я. Моссаковский: Патоморфология и гистохимия спонтанных и экспе-риментальных энцефалопатий печеночного происхождения	231

CONTENTS

E. Osetowska: Neuropathology of Viral Encephalitis in Children	133
K. Wiśniewska, D. Tytułska: Morphologic Manifestations of "Inflammation" in <i>Sclerosis Lateralis Amyotrophica</i> and their Biologic Significance	151
A. Głuszczyk: Histochemical Localization of Phosphatases Hydrolyzing Thiamine Pyrophosphate in the Central Nervous System	171
H. Szydłowska: Studies on Orangophilic Structures in Glial Tumors Stained with Polychromes	187
M. Śmiałek, K. Wiśniewska: Activity of Some of the Dehydrogenases in Perivascular Reactive Glia in Atherosclerosis of the Basal Ganglia	203
H. Szydłowska, J. Kałuża: On the Possibility of Selective Staining of DNA and RNA Using Toluidine Blue and Related Dyes	211
H. Jedrzejewska, A. Fidziańska: Changes in the Muscle Spindles in Neuromuscular Diseases	217
M. J. Mossakowski: Pathomorphology and Histochemistry of Spontaneous and Experimental Encephalopathy of Hepatic Origin	231

WARUNKI PRENUMERATY

Cena prenumeraty krajowej:

półrocznie	— 50.—
rocznie	— 100.—

Prenumeraty przyjmowane są do 10 dnia miesiąca poprzedzającego okres prenumeraty.

Prenumeratę na kraj dla czytelników indywidualnych przyjmują urzędy pocztowe oraz listonosze.

Czytelnicy indywidualni mogą dokonywać wpłat również na konto PKO Nr 1-6-100020 — Centrala Kolportażu Prasy i Wydawnictw „Ruch”, Warszawa, ul. Wronia 23.

Wszystkie instytucje państwowe i społeczne mogą zamawiać prenumeratę wyłącznie za pośrednictwem Oddziałów i Delegatur „Ruch”.

Prenumeratę ze zleceniem wysyłki za granicę, która jest o 40% droższa od krajowej, przyjmuje Biuro Kolportażu Wydawnictw Zagranicznych „Ruch”, Warszawa, ul. Wronia 23, konto PKO Nr 1-6-100024 tel. 20-46-88.

Egzemplarze zdezaktualizowane można nabyć w Punkcie Wysyłkowym Prasy Achiwalnej „Ruch” — Warszawa, ul. Nowomiejska 15/17, konto PKO nr 114-6-700041 VII O/M Warszawa.