

DOROTA DZIEWULSKA

KLINIKA NEUROLOGICZNA AKADEMII MEDYCZNEJ W WARSZAWIE

**WPLYW PROCESU STARZENIA NA REAKTYWNOŚĆ
ASTROCYTÓW W PRZEBIEGU UDARU NIEDOKRWIENNEGO
MÓZGU CZŁOWIEKA - BADANIA IMMUNOCYTOCHEMICZNE.**

PRACA DOKTORSKA



25 238
H3018

PROMOTOR PROF.DR HAB.MED. JANINA RAFAŁOWSKA

Warszawa 1993

SPIS TREŚCI

1. Wykaz używanych skrótów	str. 2
2. Wstęp	str. 3
3. Przegląd piśmiennictwa	
-budowa astrocytów	str. 4
-funkcje astrocytów	str. 5
-reakcje astrocytów na czynniki patologiczne	str. 7
-właściwości i rola białka S-100	str. 8
-właściwości i rola GFAP	str. 9
-właściwości i rola wimentyny	str. 9
-przejawy procesu starzenia się w oun	str. 10
4. Materiał i metody	str. 13
5. Wyniki	
-wyniki badań immunocytochemicznych	str. 18
-dokumentacja fotograficzna	str. 22
-wyniki badań morfometrycznych	str. 32
6. Podsumowanie wyników	str. 34
7. Dyskusja	str. 36
8. Wnioski	str. 51
9. Addendum	
-tabela I - dane kliniczne i wyniki sekcji ogólnej	str. 53
-tabela II - materiał kontrolny	str. 57
-tabela III - wyniki badań morfologicznych	str. 57
10. Piśmiennictwo	str. 63

WYKAZ UŻYWANYCH SKRÓTÓW

DM	-cukrzyca (diabetes mellitus)
EGF	-czynnik wzrostu naskórka (epidermal growth factor)
aFGF	-kwaśny czynnik wzrostu fibroblastów (acidic fibroblast growth factor)
bFGF	-zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (basic fibroblast growth factor)
GFAP	-kwaśne włóknikowe białko gleju (glial fibrillary acidic protein)
GMP	-czynnik dojrzewania komórek glejowych (glial maturation factor)
GPF _{2,4}	-czynnik wspomagający komórki glejowe (glial promoting factor) 2 i 4
GSF	-czynnik stymulujący komórki glejowe (glial stimulating factor).
HA	-nadciśnienie tętnicze (hypertonia arterialis)
IL-1,6	-interleukiny 1 i 6
IFN _{gamma}	-interferon gamma
Ki-67	-antygen proliferujących komórek Ki-67
MBP	-zasadowe białko mieliny (basic myelin protein)
MIB-1	-przeciwciała przeciwko fragmentowi antygenu Ki-67
NGF	-czynnik wzrostu nerwu (nerve growth factor)
oun	-ośrodkowy układ nerwowy
PDGF	-czynnik wzrostu pochodzący z płytek krwi (platelet derived growth factor)
S-100	-białka S-100
S-100 beta	-białko S-100 zbudowane z dwóch łańcuchów polipeptydowych beta
TGF beta-1	-czynnik beta-1 przekształcający wzrost komórek (transforming growth factor)
VIM	-wimentyna

WSTĘP

Obserwacje kliniczne pacjentów z udarem niedokrwiennym mózgu wskazują, że przebieg udaru może być różny w zależności od wieku. Często spotyka się przypadki prawie bezobjawowego przebiegu zakrzepu tętnicy szyjnej wewnętrznej u ludzi starych i dramatycznego przebiegu zakończonego zgonem u ludzi młodych i w wieku średnim. Różnice w przebiegu klinicznym udaru znajdują swoje odbicie w odmiennym obrazie morfologicznym zmian w obu tych grupach wiekowych. Badania doświadczalne wskazują również, że reaktywność uszkodzonej tkanki jest zależna od wieku. Nasuwa się zatem pytanie, czy zaawansowana inwolucja ma także wpływ na odczynowość astrocytów - komórek reagujących najżywiej i biorących udział w większości procesów fizjologicznych i patologicznych toczących się w obrębie ośrodkowego układu nerwowego.

po co w obrębie
wytwaru w ośrodkowym
układzie nerwowym

PRZEGLĄD PIŚMIENICTWA

BUDOWA ASTROCYTÓW

Komórki neurogleju stanowią obok neuronów podstawowy składnik tkanek ośrodkowego układu nerwowego (oun). Zostały one odkryte przez Virchova w 1846 roku (Virchow 1846), jednakże podstawowe dane o ich budowie i funkcji - a zwłaszcza o budowie i funkcji astrocytów - zawdzięcza się pracom Cajala (Cajal 1913, 1916) i Rio Hortegi (Rio Hortega 1919), którzy dzięki wprowadzeniu metod impregnacyjnych pierwsi wyodrębnili astrocyty z grupy komórek glejowych. Astrocyty stanowiące 25% komórek i około 35% objętości tkanek oun (Eng i wsp. 1992) charakteryzują się dużą ilością wypustek cytoplazmatycznych (20 - 50) odchodzących promieniście od perikarionu. Wypustki komórek gwiazdzistych tworzą sieć przestrzenną w której rozmieszczone są inne elementy strukturalne oun, jak również tworzą błony wokół układu komorowego oraz w obszarach kontaktujących się z przestrzenią podpajęczą. Część z tych wypustek przylega do ściany naczyń tworząc tak zwane stópki ssące, co stanowi jedno z kryteriów pozwalających na odróżnienie astrocytów od innych komórek glejowych (Peters i wsp. 1976). Dość skąpa cytoplazma astrocytów zawiera nieliczne organelle śródplazmatyczne, złogi glikogenu oraz liczne włókienka glejowe (gliofibrylle), których obecność stanowi kolejną cechę różnicującą komórki gwiazdziste od innych komórek oun (Peters i wsp. 1976). W mikroskopie elektronowym włókienka te mają strukturę tubularną, średnicę 8-9nm i w ich skład wchodzi m.in. takie białka jak: kwaśne włókienkowe białko gleju (GFAP) oraz wimentyna (Chiu i wsp. 1981). Istnieją dwa podstawowe typy astrocytów (astrocyty protoplazmatyczne i włókniste), które różnią się budową morfologiczną, lokalizacją i właściwościami. Astrocyty włókniste występują głównie w warstwie drobinowej kory mózgu i w istocie białej. Charakteryzują się obecnością nieregularnego, niewielkiego jądra komórkowego oraz stosunkowo nielicznych, ale długich i cienkich wypustek o okrągłych, owalnych lub wielokątnych przekrojach. W mikroskopie elektronowym cytoplazma astrocytów włóknistych jest ciemniejsza niż astrocytów protoplazmatycznych, zawiera więcej gliofibrylli, mniej rybosomów i częściej spotyka się w niej centriole (Peters i wsp. 1979). Astrocyty protoplazmatyczne zlokalizowane są głównie w istocie szarej. Perikariony tych komórek są zwykle nieregularne w zarysie, ich jądra okrągłe lub owalne, a wypustki - liczniejsze, krótsze i bardziej rozgałęzione niż astrocytów włóknistych - posiadają na swojej powierzchni kolce. Kształt wypustek astrocytów protoplazmatycznych wydaje się być narzucony przez otaczające elementy neuropilu i często na przekroju mają one formę płaskich blaszek.

FUNKCJE ASTROCYTÓW

Funkcje astrocytów mimo wieloletnich badań nie zostały jeszcze do końca poznane. Już w swoich klasycznych pracach Rio Hortega i Penfield (Rio Hortega 1921; Rio Hortega, Penfield 1927) postulowali funkcje mechaniczną i troficzną astrocytów. Funkcja mechaniczna komórek gwiaździstych związana jest z wytworzeniem przez nie środowiska dla elementów komórkowych oun. Obecnie uważa się, że funkcja mechaniczna obejmuje również zabezpieczenie przewodnictwa nerwowego poprzez zapobieganie pozasynaptycznemu stykaniu się błon komórkowych oraz poprzez wytworzenie struktur błoniastych otaczających synapsy (Gonzales-Aquilar, De Robertis 1963; Suarez Najera i wsp. 1980).

Funkcja troficzna astrocytów jest związana z ich pośrednią lokalizacją między naczyniami krwionośnymi a neuronami. Komórki astrogleju stanowią anatomiczny i czynnościowy składnik bariery krew-mózg (Lee 1982) i mają wpływ na jej powstanie (Beck i wsp. 1985; Maxwell i wsp. 1986; Janizer, Raff 1987; Lattera, Goldstein 1991). Astrocyty odgrywają bowiem rolę w tworzeniu się tzw. ścisłych połączeń między komórkami śródbłonka (Tao-Cheng i wsp. 1987), a pojawienie się w trakcie rozwoju naczyń tzw. śródbłonkowego antygenu barierowego (EBA - endothelial barrier antigen) ściśle koreluje z pojawieniem się wypustek astrocytarnych wokół kapilarów (Rosenstein i wsp. 1992). Dzięki wypustkom dochodzącym z jednej strony do ściany naczyń krwionośnych, a z drugiej do perikarionu komórki nerwowej, astrocyty biorą udział w procesach metabolicznych zachodzących w neuronach, pełniąc funkcję transportową i detoksykacyjną (Jurlink, Devon 1990), jak również odgrywają rolę mechanizmu buforującego między neuronami a środowiskiem zewnątrzkomórkowym (Steward, Rosenberg 1979).

Rola, jaką pełnią astrocyty ujawnia się już w okresie ontogenezy, kiedy to komórki gwiaździste wspomagają migrację neuronów (Rakic 1971, 1972; Levitt, Rakic 1980) i prawdopodobnie odgrywają rolę w procesie mielinizacji (Rafałowska, Krajewski 1993). Wiadomo również, że astroglej wpływa na morfologiczne i czynnościowe różnicowanie się komórek nerwowych m.in. poprzez wydzielanie różnych substancji aktywnych. Substancjami tymi mogą być tzw. czynniki neuronotroficzne (neuronotrophic factors), będące białkami niezbędnymi do wzrostu komórek nerwowych i zapobiegające ich obumieraniu, oraz tzw. czynniki wpływające na rozwój neurytów (neurite promoting factors), stymulujące wydłużanie się wypustek neuronów (Manthorpe i wsp. 1986).

Astrocyty nie tylko wpływają na rozwój komórek nerwowych, ale również same podlegają ich oddziaływaniu (Hatten 1985), dzięki czemu dochodzi do wytworzenia się bardzo skomplikowanych współzależności między obu rodzajami komórek. Uważa się, że astrocyty rozpoznają sygnały pochodzące od neuronów i odpowiadają na nie w różnorodny sposób poprzez:

- zmianę aktywności własnych enzymów
- zmianę potencjału błonowego własnej komórki
- inicjowanie procesów fosforylacji białek zależnych od c-AMP i wapnia
- zmianę morfologii własnej komórki
- prezentację receptorów dla różnych neurotransmiterów

oraz wspomniane już wyżej uwalnianie substancji wielkocząsteczkowych, w tym i czynników neurooaktywnych (Lauder, McCarthy 1986).

Wzajemna współzależność astrocytów i neuronów obejmuje również proces transmisji impulsów nerwowych. Wzrostowi aktywności neuronów towarzyszy bowiem spadek

potencjału błonowego sąsiednich komórek astrogleju (Ransom, Goldring 1973 a,b,c) oraz zmiany poziomu wapnia w astrocytach (Dani i wsp. 1992). Dane te mogą więc sugerować, że astrocyty stanowią jedno z ogniw mechanizmu modyfikującego przewodzenie impulsów przez komórki nerwowe.

Astrocyty pełnią ważną rolę w utrzymaniu homeostazy tkanek oun. Biorą one udział w regulacji środowiska jonowego przestrzeni zewnątrzkomórkowej poprzez wpływ na stężenie jonów potasu (Hertz 1978; Trachtenberg, Pollen 1970; Jendelova, Sykova 1991) oraz wodoru (Ransom, Carlini 1986; Jendelova, Sykova 1991). Astrocyty biorą również udział w metabolizmie amoniaku (Benjamin, Quastel 1975; Cooper i wsp. 1979; Mossakowski, Weinrauder 1984), kreatyny (Thompson i wsp. 1980; Yoshimine i wsp. 1983) i lipidów (Volpe, Marasa 1975; Kanfer 1986; Moore i wsp. 1991). Ponadto uczestniczą one w przemianach takich amin biogennych i aminokwasów jak: tryptofan (Bauman i wsp. 1974), tauryna (Schrier, Thompson 1974; Semenoff, Kimelberg 1985), arginina, leucyna, walina, lizyna, fenyloalanina i seryna (Logan 1976), beta-alanina, glicyna, aspargina (Schubert i wsp. 1975), L-tyrozyna i L-fenyloalanina (Richelson, Thompson 1973), histamina (Garbarg i wsp. 1976). Komórki gwiaździste uczestniczą także w przemianach metabolicznych niektórych neurotransmiterów, wychytując je ze szczeliny synaptycznej, a następnie inaktywując. Zjawisko to odgrywa dużą rolę w cyklu przemian kwasu gamma-aminomasłowego (GABA) i glutaminowego, który przy udziale syntetazy glutaminowej przekształcany jest w glutaminę, a następnie ponownie transportowany do neuronów, gdzie stanowi substrat do wytwarzania nowych cząsteczek neurotransmiterów (Henn i wsp. 1974; Schrier, Thompson 1974; Benjamin, Quastel 1975; Norenberg, Martinez-Hernandez 1979; Rothman, Olney 1986). Podobną rolę pełnią astrocyty w metabolizmie dopaminy, noradrenaliny i serotoniny, rozkładając je po wychyceniu ze szczeliny synaptycznej przy pomocy monoaminooksydazy (MAO) i metylotransferazy katecholaminowej (COMT) (Kimelberg, Katz 1986). Rola, jaką odgrywają komórki gwiaździste w metabolizmie wydzielanych przez neurony neurotransmiterów, stanowi jeszcze jeden dowód na istnienie ścisłego związku między tymi obydwoma rodzajami komórek. Rola astrocytów nie ogranicza się tylko do funkcji metabolicznych. Ze względu na obecność na swojej powierzchni ponad 20 receptorów dla różnych związków biologicznie czynnych (Hertz i wsp. 1990), oraz dzięki uwalnianiu takich substancji aktywnych jak: interleukina-1 (Fontana i wsp. 1982) i interleukina-3 (Frei i wsp. 1985, -1988), interferon (Tedeschi i wsp. 1986), czynnik beta properdyny, prostaglandyna E-2, tromboksan, leukotrieny B₄ i C₄ (Hertz i wsp. 1990), komórki gwiaździste stanowią ważne ogniwo w reakcjach immunologicznych przebiegających w oun. Posiadają one także zdolność do prezentacji antygeny, wspomagając stymulowaną przez ten antygen proliferację limfocytów T (Fierz i wsp. 1985; Frei i wsp. 1988).

Astrocyty odgrywają ważną funkcję w reakcjach towarzyszących uszkodzeniu tkanek oun. Dzięki wytwarzanym przez nie nowym włóknom glejowym i wypełnianiu nimi drobnych ubytków, zachowana zostaje częściowo strukturalna integralność oun. Wzrost aktywności enzymów lizosomalnych stwierdzany w reaktywnych astrocytach (Vijayan, Cotman 1988) oraz przypisywane komórkom gwiaździstym właściwości fagocytarne (Vaughn, Pease 1970; Fernando 1973; Shuahgshoti i wsp. 1979) mogą odgrywać pomocniczą rolę przy usuwaniu fragmentów uszkodzonych tkanek. Fakt, że pewne subpopulacje astrocytów posiadają zdolność do migracji (Goldberg, Bernstein 1988; Janeczko 1989; Zhou i wsp. 1990) wskazuje również na możliwość udziału astrogleju w reakcjach towarzyszących uszkodzeniu tkanek oun.

REAKCJE ASTROCYTÓW NA CZYNNIKI PATOLOGICZNE

Reakcja komórek gwiaździstych na czynniki patologiczne, uszkodzające tkanki oun wyraża się ich przerostem (hypertrofią), proliferacją (hyperplazją) oraz wzrostem liczby wypustek komórkowych. Od nieregularnego w kształcie perikarionu przerosłego astrocyta odchodzą liczne wypustki, często tylko z jednej strony ciała komórki. Jądro jest lekko powiększone, zlokalizowane ekscentrycznie po stronie przeciwnej do największej koncentracji wypustek. Cytoplazma zawiera liczne organelle śródkomórkowe: mitochondria, filamenty, ziarna glikogenu i kompleksy aparatu Golgiego.

Kolejnym wykładnikiem reaktywności astrocytów jest ich proliferacja. Podziały komórek glejowych poprzez mitozę w okresie już po urodzeniu były przedmiotem badań i kontrowersji od czasu prac Robertsona (Robertson 1897), który jako pierwszy sugerował możliwość podziałów komórek neurogleju przez cały okres życia osobniczego. Mimo, że od dawna znany jest fakt obecności mitoz w komórkach astrogleju w mózgach zwierząt (Hamilton 1901; Allen 1912; Bryans 1959), wielu badaczy uważało, że wzrost liczby komórek gwiaździstych zachodzi poprzez podziały amitotyczne (Rio Hortega, Penfield 1927; Lapham 1962). Dopiero liczne późniejsze badania z użyciem radioaktywnych prekursorów DNA, metod immunocytochemicznych oraz mikroskopu elektronowego, potwierdziły słuszność pierwotnych koncepcji i wykazały, że w odpowiedzi na uszkodzenie tkanek dochodzi do wzmożonej syntezy DNA w astrocytach oraz do pojawiania się w nich figur mitotycznych (Hommes, Leblond 1967; Mori, Leblond 1969; Cavanagh 1970; Skoff, Vaughn 1971; Latov i wsp. 1979; Manuelidis, Manuelidis 1988; Takamiya i wsp. 1988; Janeczko 1991).

Procesy doprowadzające do uszkodzenia tkanek nie są jedynymi, w których stwierdza się proliferację astrogleju. Występuje ona bowiem również w warunkach prawidłowych, chociaż jej nasilenie jest wówczas niewielkie. Fizjologiczna proliferacja astrogleju jest prawdopodobnie związana z wymianą populacji komórek gwiaździstych (Lindsay 1986; McCarthy, Leblond 1988; Fedoroff i wsp. 1990). Nadal jednak nie wiadomo, jakie komórki linii astrocytarnej proliferują. Z zagadnieniem tym związane są co najmniej dwie hipotezy. Jedna z nich zakłada, że podziałom mitotycznym ulegają reaktywne, dojrzałe astrocyty, ale o zmienionym np. przez niedokrwienie metabolizm (Latov i wsp. 1979; Schiffer i wsp. 1986). Według drugiej hipotezy proliferacji ulegają obecne w tkankach oun nieliczne komórki prekursorowe (Vaughn, Pease 1970; Fedoroff 1983; McCarthy, Leblond 1988; Norton, Farooq 1989). Istnieje nawet koncepcja, że w trakcie rozwoju osobniczego część glioblastów z których nie powstały astro- i oligoblasty, przekształca się w mikroglejopodobne komórki o zachowanych zdolnościach do podziału i tylko te komórki proliferują po uszkodzeniu tkanek, dając początek nowym astrocytom (Kitamura 1985).

Reaktywne astrocyty ulegają nie tylko zmianom morfologicznym, ale przede wszystkim zmienia się ich metabolizm. W normalnych, spoczynkowych astrocytach aktywność enzymów utleniających jest niewielka. W reaktywnych komórkach astrogleju aktywność tych enzymów wybitnie wzrasta (Nathaniel, Nathaniel 1981). Reaktywne komórki gwiaździste wykazują nie tylko wzmożoną aktywność enzymatyczną (Mossakowski, Penar 1972; Petrescu 1972) i zwiększoną akumulację glikogenu (Friede 1962), ale również zaczynają syntetyzować różnego rodzaju substancje biologicznie czynne. Takimi substancjami są: czynnik wzrostu nerwu (NGF - nerve growth factor), czynnik nekrotyczny guza (TNF - tumor necrosis factor), interleukiny 1, 3 i 6, czynnik wzrostu fibroblastów (FGF - fibroblast growth factor), białko amyloidu, gangliozyd GD₃, białko

związane z kanałem sodowym, białka szoku cieplnego (HSP - heat shock proteins), kwas gamma-aminomasłowy oraz kwaśne włókienkowe białko gleju (GFAP), białko S-100 i wimentyna (Bowolenta i wsp. 1992; Eng i wsp. 1992; Lin i wsp. 1993).

Wzrost immunoreaktywności astrocytów w stosunku do przeciwciał przeciwko GFAP, białku S-100 oraz wimentynie obserwowano w różnego typu uszkodzeniach oun spowodowanych między innymi : niedokrwieniem (Takamiya i wsp. 1988; Janeczko 1991; Rafałowska i wsp. 1991), demielinizacją (Smith i wsp. 1983; Rafałowska i wsp. 1992); urazami (Amaducci i wsp. 1981; Mathewson, Berry 1985; Schiffer i wsp. 1986), zaburzeniami metabolicznymi (Mossakowski, Weinrauder 1984).

WŁAŚCIWOŚCI I ROLA BIAŁKA S-100

Białko S-100 odkryte przez Moore'a (Moore 1965) było początkowo uważane za specyficzne dla oun. Jednakże dalsze badania wykazały jego obecność także w obwodowym układzie nerwowym w komórkach Schwanna oraz w komórkach pochodzenia nieneurodermalnego: melanocytach, adipocytach, komórkach Leydiga, komórkach rdzenia nadnerczy (Welsh 1988).

W oun S-100 występuje głównie w astrocytach, chociaż jego niewielkie ilości stwierdza się także w neuronach, oligodendrocytach (Zomzely-Neurath, Walker 1980) oraz w komórkach śródbłonna (Cocchia 1980). Białko to zlokalizowane jest śródkomórkowo w siateczce śródplazmatycznej, mitochondriach, cytoplazmie i mikrotubulach (Marshak 1990), jak również w błonie komórkowej astrocytów (Ronnback 1975). Kwestią sporną jest jego obecność w jądrze komórki.

Białko S-100 nie jest jednorodne. Jest to cała grupa kwaśnych polipeptydów o podobnej budowie i właściwościach. Zbudowane są one z dwóch łańcuchów polipeptydowych alfa i beta, zawierających odpowiednio 93 i 91 aminokwasów (Isobe i wsp. 1981). Dimer zbudowany z dwóch łańcuchów alfa (S-100 a) jest zlokalizowany głównie w neuronach, podczas gdy dimery beta/beta (S-100 b) i alfa/beta (S-100 a) znajdują się w astrocytach (Isobe i wsp. 1984).

Funkcja, jaką pełni białko S-100 nie została jeszcze całkowicie wyjaśniona. Wiadomo, że S-100 posiada zdolności do wiązania jonów cynku (Baundier, Gerard 1983; Baundier i wsp. 1983) i wapnia (Welsh 1988). Uważa się zatem, że S-100 może odgrywać rolę w regulacji stężenia jonów wapnia w przestrzeni zewnątrzkomórkowej oraz w zależnych od wapnia procesach śródkomórkowych jak np. w gromadzeniu się i rozpraszaniu mikrotubul w komórce (Na 1988), czy też w zależnej od wapnia aktywacji enzymów śródkomórkowych (Heizman 1992).

Ilość białka S-100 rośnie wraz ze wzrostem funkcjonalnej dojrzałości poszczególnych obszarów oun (Zukerman i wsp. 1970, Hershman i wsp. 1971). W związku z tym przypisuje się mu nie określoną jeszcze bliżej rolę w procesach uczenia się i zapamiętywania (Hyden, Lange 1970), jak również i w innych procesach neurofizjologicznych (Robertis 1967; Singh, Talwar 1969). Być może S-100 odgrywa także rolę w różnicowaniu się komórek glejowych (Na 1988). Postuluję się też jego udział w procesie translacji (Michetti i wsp. 1974; Ludwin i wsp. 1976), w fosforylacji białek (Patel i wsp. 1983; Qi, Kuo 1984), w mielinizacji (Hershman i wsp. 1971; Mata i wsp. 1990) oraz funkcje kontrolne w czasie cyklu proliferacyjnego komórki (Marks i wsp. 1990). Ponadto dimer beta/beta, dla którego gen znajduje się w dystalnej części długiego ramienia chromosomu 21 (Allore i wsp. 1988) prawdopodobnie spełnia rolę

czynnika neurotroficznego wydzielanego przez astrocyty i indukującego wzrost wypustek komórek nerwowych (Kligman, Marshak 1985; Whitaker-Azmita i wsp. 1990).

WŁAŚCIWOŚCI I ROLA GFAP

Drugim białkiem uważanym za marker komórek gwiaździstych jest kwaśne włóknkowe białko gleju (GFAP) (Eng i wsp. 1971; Bignani i wsp. 1972). Białko to zbudowane jest z 16 aminokwasów i występuje w komórce w dwóch formach: rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej (Eng 1980). GFAP zlokalizowane jest w cytoszkielecie i stanowi główny składnik filamentów pośrednich astrocytów (Eng, Kosek 1974). Białko to występuje również w niewielkich ilościach w cytoplazmie komórki.

W czasie ontogenezy GFAP pojawia się w 10-11 tygodniu życia płodowego człowieka (Antanitus i wsp. 1976) i jego ilość rośnie w miarę dojrzewania i różnicowania się komórek gwiaździstych. Zależność między ilością GFAP a stopniem dojrzałości astrocytów znalazła swoje praktyczne zastosowanie w diagnostyce różnicowej guzów (Lach, Weinrauder 1978; Jacque i wsp. 1979; Duffy i wsp. 1980; Szymaś 1985).

Rola GFAP podobnie jak białka S-100 nadal nie jest jeszcze całkowicie wyjaśniona. W świetle dotychczasowych badań wydaje się, że GFAP ma wpływ na ruchliwość komórek (Duffy 1982). Stwierdzono bowiem, że wzrostowi ilości GFAP w komórce towarzyszy usztywnienie się wypustek i perikarionu oraz utrata zdolności do migracji (Abd-el-Basset i wsp. 1991).

WŁAŚCIWOŚCI I ROLA WIMENTYNY

GFAP nie jest jedynym składnikiem astrocytarnych filamentów pośrednich. Innym białkiem wchodzącym w ich skład jest wimentyna (Chiu i wsp. 1981; Schnitzer i wsp. 1981). Wimentyna jest obecna w komórkach prekursorowych astrogleju (Fedoroff 1983; Pixley, De Vellis 1984; Abd-el-Basset i wsp. 1992), w komórkach Müllera, w gleju Bergmana oraz tanicytach (Pixley i wsp. 1984). Ponadto wimentynę wykryto również w śródbłonkach naczyń, komórkach wyściółki i splotu naczyniówkowego oraz opon (Pixley i wsp. 1984; Yamada i wsp. 1992). Prawdopodobnie białko to wraz z neurofilamentem wchodzi w skład śródkomórkowych włókienek neuronów (Difenchbach i wsp. 1991).

W rozwoju osobniczym wimentyna pojawia się wcześniej niż GFAP, a następnie stopniowo zanika (Dahl 1981; Pixley, De Vellis 1984). Zmniejszeniu się liczby komórek VIM(+) towarzyszy wzrost komórek reaktywnych w stosunku do przeciwciał anty-GFAP oraz morfologiczne ich dojrzewanie (Fedoroff 1983). Uważa się zatem, że pojawiająca się przejściowo wimentyna może być markerem młodych, niedojrzałych astrocytów.

W dojrzałym mózgu synteza wimentyny może zostać wznowiona (Ciesielski-Treska i wsp. 1988). Ponowne pojawienie się wimentyny w astrocytach jest prawdopodobnie związane z ich proliferacją i powstawaniem potomnych, niedojrzałych komórek gwiaździstych (Schiffer i wsp. 1986; Takamiya i wsp. 1988; Petito i wsp. 1990). Dlatego też wimentyna jest uważana przez niektórych badaczy za pośredni wskaźnik proliferacji astrogleju (Pixley, De Vellis 1984; Takamiya i wsp. 1988; Petito i wsp. 1990).

PRZEJAWY PROCESU STARZENIA SIĘ W OUN

Uważa się, że reaktywność uszkodzonej tkanki jest funkcją zaawansowania rozwojowego (Janeczko 1986). Proces starzenia doprowadza do różnych zmian biochemicznych, immunologicznych i morfologicznych w tkankach, co w efekcie powoduje regresję podstawowych funkcji fizjologicznych. Zmiany te dotyczą też oun, gdzie w miarę starzenia się dochodzi do zaniku mózgu w postaci: ubytku jego wagi i objętości, pogłębienia rowków, zwężenia zwojów i poszerzenia układu komorowego (Coffey i wsp. 1992). Badania mikroskopowe starczych mózgów wykazały obecność rozmaitych zmian komórkowych (tabela 1) oraz charakterystycznych, ale nie patognomicznych dla procesu starzenia się zmian, takich jak: występowanie blaszek starczych, ciał skrobiowatych, zwyrodnienia neurofibrylarnego, barwnikowego i ziarnisto-wodniczowego Sýmchowicza oraz angiopatii amyloidowej (Iwanowski, Kulczycki 1981).

Wiadomo również, że w miarę starzenia się organizmu dochodzi do zmian w składzie i metabolizmie lipidów, w tym także i lipidów osłonek mielinowych (Sun i wsp. 1985; Niebrój-Dobosz i wsp. 1986, 1989). Stwierdza się spadek poziomu lub aktywności wielu neurotransmiterów i enzymów (tabela 2), spadek gęstości różnego rodzaju receptorów komórkowych w oun (Enna, Strong 1981; Hess, Roth 1984; Amenta i wsp. 1991) oraz zmniejszony przepływ mózgowy (Naritomi i wsp. 1979; Frackowiak i wsp. 1980; Melamet i wsp. 1980; Martin i wsp. 1991). Dotychczasowe badania wykazały również, że przebieg rozmaitych reakcji towarzyszących udarowi niedokrwinnemu mózgu jest różny w zależności od wieku pacjenta. Wzrost przepuszczalności naczyń narasta bowiem wolniej i jest mniej nasilony u pacjentów w wieku starczym (Rafałowska i wsp. 1990), a proces rozbiórki tkanek martwiczych w starczych przypadkach jest opóźniony i również mniej nasilony (Barcikowska-Litwin 1984; Rafałowska i wsp. 1991).

W świetle dotychczasowych badań wydaje się zatem prawdopodobne, że zaawansowana inwolucja może mieć także wpływ na odczynowość astrocytów, co stanowi przedmiot niniejszej pracy.

TABELA 1

ZMIANY STRUKTURALNE - *czego* ← *wszystkich komórek?*
W PRZEBIEGU PROCESU STARZENIA SIĘ MÓZGU *astrocytów? neuronów?*

- * jądro komórkowe: -zmniejszenie wielkości
-nieregularny kształt
-kondensacja chromatyny
-zwiększenie liczby wtrętów śródjądrowych
- * mitochondria: -zmniejszenie liczby
-fragmentacja grzebieni
- * aparat Golgiego: -poszerzenie cystern - *zwiększenie?*
-fragmentacja struktur
- * rybosomy: -zmniejszenie liczby
- * szorstka siateczka śródplazmatyczna: -zmniejszenie liczby cystern
- * błona komórkowa: -usztynienie
-zwiększenie lepkości
- * dendryty: -zmniejszenie liczby kolców
-zmniejszenie liczby rozgałęzień - *?*
- * synapsy: -zmniejszenie liczby
-zmniejszenie liczby pęcherzyków synaptycznych - *} nie we wszystkich okolicach; typalne komórek,*
- * naczynia: -kręty przebieg
-tworzenie się workowatych struktur okołonaczyniowych
-zwiększenie ilości włókien kolagenowych w przestrzeni okołonaczyniowej

opracowano na podstawie:

Samuel i wsp.1982; Fried 1983;
Miquel i wsp.1983;

TABELA 2

ZMIANY BIOCHEMICZNE W PRZEBIEGU PROCESU STARZENIA SIĘ MÓZGU

NEUROTRANSMITERY I ENZYMY ZWIĄZANE Z ICH METABOLIZMEM

- * **Układ dopaminergiczny**
-obniżenie poziomu: dopaminy
hydroksylazy tyrozyny
dekarboksylazy tyrozyny
- * **Układ noradrenergiczny**
-obniżenie poziomu noradrenaliny
- * **Układ serotoninoergiczny**
-obniżenie poziomu: serotoniny
hydroksylazy tryptofanu
- * **Układ gabaergiczny** *GABA*
-obniżenie poziomu: kwasu gamma-aminomasłowego ?
dekarboksylazy kwasu glutaminowego
- * **Układ cholinergiczny**
obniżenie poziomu acetylotransferazy cholinowej
obniżenia tempa przemian metabolicznych acetylocholinyl
zmniejszone wydzielanie acetylocholinyl

LIPIDY

- * obniżenie ilości mieliny *? mielina nie jest lipidem*
- * zmiany w składzie zasadowego białka mieliny *to też nie lipid.*
- * obniżenie ilości fosfolipidów
- * zmiany w składzie gangliozydów

BIAŁKA I ENZYMY

- * obniżenie ogólnej ilości białka
- * obniżenie powinowactwa kinazy tymidynowej do substratu i zmiany w budowie molekularnej enzymu
- * obniżenie poziomu neuronalnej enolazy (NSE-neuron specific enolase)
- * obniżenie poziomu $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATP}$ -azy w błonach komórkowych

KWASY NUKLEINOWE

- * obniżenie tempa fosforylacji histonów
- * obniżenie ilości RNA
- * zmiany współczynnika RNA/DNA

opracowano na podstawie:

Enna, Strong 1981; Hahn 1981;
Horrock i wsp. 1981; McGeer, McGeer 1981;
Shelansky, Selkoe 1981;
Degrell i wsp. 1985; Sun i wsp. 1985
Niebrój-Dobosz i wsp. 1989;
Giuffrida Stella 1991

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 67 mózgach pacjentów zmarłych w przebiegu udaru niedokrwienego w obszarze unaczynienia tętnicy środkowej mózgu.

Przy doborze materiału kierowano się następującymi kryteriami:

- ognisko zawałowe obejmowało tylko obszar unaczynienia tętnicy środkowej mózgu
- udar mózgu był pierwszym w życiu incydem zaburzeń krążenia mózgowego
- początek choroby można było jednoznacznie ustalić
- sekcję ogólną wykonano do 24 godzin po zgonie

Materiał podzielono na dwie grupy: grupę przypadków w wieku średnim (33 przypadki w wieku 40-65 lat) i grupę przypadków starczych (34 przypadki w wieku 80-101 lat). Porównywano zmiany występujące w obu grupach wiekowych w pierwszych 17 oraz w 19, 20, 22, 28, 30 i 32 dniu choroby.

Reakcję astrocytów oceniano w mikroskopie świetlnym w obrębie przyległej do ogniska martwicy istoty białej oraz warstwy drobinowej kory mózgu na przekrojach przechodzących przez hipokamp. Takie zawężenia pola obserwacji miało na celu ograniczenie oceny reakcji astrogleju do jednej tylko subpopulacji komórek gwiaździstych. Jak wynika bowiem z dotychczas przeprowadzonych badań, astrocyty protoplazmatyczne i włókniste różnią się nie tylko budową i lokalizacją w obrębie oun, ale również pochodzeniem (Raff i wsp. 1983), właściwościami (Malhotra i wsp. 1990) i nieco odmiennymi reakcjami na uszkodzenie tkanek (Latov i wsp. 1979; Mathewson, Berry 1985).

Kontrole reakcji stanowiły skrawki pobrane z przeciwległej do zawału półkuli mózgu (po 10 skrawków półkulowych z każdej grupy wiekowej) oraz dodatkowo skrawki pobrane z 5 mózgow pacjentów zmarłych w przebiegu chorób nie dotyczących oun. Dane kliniczne i wyniki badań pośmiertnych przedstawiają tabele I i II zamieszczone w addendum.

BADANIA MORFOLOGICZNE

Bloki tkankowe pobrane z ognisk zawałowych i ich otoczenia oraz z odpowiednich okolic przeciwległej półkuli mózgu utrwalano w 10% formalinie i zatapiano w parafine. Skrawki parafinowe o grubości 8 ~~mikronów~~ ^{mikromet} barwiono rutynowo hematoksyliną i eozyną oraz według metody Klüvera-Barrera w celu oceny mieliny. Reaktywne astrocyty uwidacziano za pomocą reakcji immunocytochemicznych z użyciem przeciwciał przeciwko kwaśnemu włóknkowemu białku gleju (GFAP), białku S-100 i wimentynie w oparciu o metodę z użyciem kompleksu peroksydazy antyperoksydazy (PAP) według Sternbergera (Sternberger i wsp. 1970).

Wykonanie reakcji immunocytochemicznych poprzedziło sporządzenie standardowych buforów : PBS, TBS oraz buforu cytrynianowego.

<u>bufor fosforanowy PBS:</u>	woda destylowana	-2000 ml
pH 7,6-7,8	KH ₂ PO ₄	-8 g
	Na ₂ HPO ₄	-46 g
	KCl	-8 g
	NaCl	-320 g

<u>Bufor TBS:</u>	Trisma-base (Sigma USA)	-60,55 g
pH 7,4	NaCl	-85,2 g
	HCl 1n	-370 ml
	woda destylowana	-500 ml
<u>bufor cytrynianowy:</u>	cytrynian sodu	-0,55 g
pH 6,0	kwasy cytrynowy	-2,7 g
	woda destylowana	-1500 ml

Materiał przeznaczony do badań immunocytochemicznych po odparafinowaniu w ksylenie, odwodnieniu w roztworach etanolu o stężeniach 100%, 96%, 70% i wodzie destylowanej, poddawano następnie działaniu metanolu z dodatkiem 0,5% H₂O₂ przez 30 minut. Na tak przygotowanych skrawkach tkankowych wykonywano następujące reakcje immunocytochemiczne /wszystkie etapy reakcji zachodziły w temperaturze pokojowej, a przeciwciała były rozcieńczane w 2% roztworze albuminy (Biomed, Polska) w buforze fosforanowym PBS/ :

1. inkubacja z normalną surowicą świni (Swine Serum Normal 1:100, DAKO Dania, X-901) przez 1 godzinę
2. inkubacja z poliklonalnymi przeciwciałami pierwotnymi anti-GFAP (1:1500, DAKO Dania, Z-334) i anti-S-100 (1:3000, DAKO Dania, Z-311) przez 14-16 godzin
3. płukanie w PBS 3 x 10 minut
4. inkubacja z antyglobulinami skierowanymi przeciwko przeciwciałom króliczym SAR (Swine Anti-Rabbit Immunoglobulins 1:500, DAKO Dania, Z-196) przez 1 godzinę
5. płukanie w PBS 2 x 10 minut
6. inkubacja z kompleksem peroksydazy-antyperoksydazy (PAP Rabbit, 1:200, DAKO Dania, Z-113) przez 1 godzinę
7. płukanie w PBS 2 x 10 minut
8. uwidocznienie reakcji przy użyciu 0,05% roztworu diaminobenzyny (DAB, Sigma USA, D-5905) rozcieńczonej w TBS z dodatkiem 0,01% H₂O₂

Po skonstrastowaniu hematoksyliną, odwodnieniu w roztworach etanolu o wzrastających stężeniach (70%, 96%, 100%) i płukaniu w ksylenie, preparaty zamykano za pomocą DePeX-u (Serva, Niemcy).

Reakcję immunocytochemiczną z monoklonalnymi przeciwciałami przeciwko wimentynie (1:100, DAKO Dania, M-725) przeprowadzono podobnie, jak w przypadku przeciwciał poliklonalnych anti-GFAP i anti-S-100. Różnice polegały jedynie na:

- a) - opuszczeniu etapu 1, ponieważ zastosowanie monoklonalnych przeciwciał nie wymagało użycia surowicy świńskiej w celu wygaszenia nieswoistego tła reakcji
- b) - na zastosowaniu w 4 i 6 etapie reakcji antyglobulin skierowanych przeciwko przeciwciałom mysim a nie króliczym, czyli zamiast SAR i PAP Rabbit odpowiednio Rabbit Anti-Mouse Immunoglobulins (1:200, DAKO Dania, Z-109) i PAP Mouse (1:100, DAKO Dania, P-850), ponieważ przeciwciała pierwotne pochodziły od myszy

Jednocześnie z powyższymi reakcjami wykonywano reakcje kontrolne. Kontrola miała na celu :

- a) - wykluczenie aktywności endogennej peroksydazy
W tym celu odparafinowane i odwodnione skrawki poddawano tylko reakcji z roztworem DAB z dodatkiem 0,01% H_2O_2 .
- b) - wykluczeniu niespecyficznego wiązania się wtórnych przeciwciał z innymi białkami niż GFAP, S-100 czy wimentyna
W celu oceny swoistości reakcji preparaty nie poddawano inkubacjom z przeciwciałami pierwotnymi (etap 2). Dalsze etapy reakcji (4-8) nie ulegały zmianom.

W celu oceny proliferacji komórek oun zastosowano po raz pierwszy w materiale ludzkim przeciwciała monoklonalne MIB-1 przeciwko fragmentowi antygeny Ki-67. Antygen Ki-67 jest ściśle związany z chromatyną jądrową i chromatydami (Bockstaele i wsp. 1991). Przeciwciała anti-Ki-67 wykazują reaktywność w stosunku do dwóch białek jądrowych o masach 345 i 395 kD (Gerdes i wsp. 1991). Funkcja tych białek nie jest jeszcze dokładnie poznana, jednakże wiadomo już, że są one obecne tylko w komórkach znajdujących się w trakcie cyklu proliferacyjnego (Gerdes i wsp. 1991). W wyniku pozytywnie zakończonych ostatnio doświadczeń nad sklonowaniem genu dla fragmentu antygeny Ki-67, udało się również wyprodukować przeciwciała monoklonalne (MIB-1) skierowane przeciwko temu fragmentowi, których reaktywność jest identyczna z dotychczas stosowanymi przeciwciałami anti-Ki-67 dla skrawków nieparafinowych (Cattoretti i wsp. 1992). Do oceny proliferacji komórek wybrano z badanego materiału tylko 38 przypadków (19 przypadków z grupy w wieku średnim i 19 przypadków z grupy starczej), w których stwierdzono co najmniej mierną reaktywność astrogleju oraz przypadki zmarłe w pierwszych dwóch dniach udaru bez reakcji astrocytów. W tak wybranym materiale znalazły się wszystkie przypadki, w których stwierdzono obecność VIM(+) komórek.

Skrawki tkankowe przed ich odparafinowaniem poddawano działaniu preparatu APES (3-aminopropyltriethoxysilane, Sigma USA, A-3648) w celu zwiększenia ich przyczepności do szkiełek mikroskopowych. Skrawki umieszczano w mieszaninie acetonu (50 ml) i preparatu APES (1 ml) na 20 sekund, a następnie płukano dwukrotnie w acetonie i w wodzie destylowanej. Po wysuszeniu w temperaturze pokojowej, preparaty odparafinowywano w ksylenie i poddawano działaniu etanolu o stężeniach 100%, 96%, 70% oraz metanolu z dodatkiem 3% H_2O_2 przez 5 minut, a następnie umieszczano w buforze cytrynianowym na 5 minut. Kolejnym etapem reakcji było poddanie preparatów działaniu pola elektromagnetycznego (750 W) i wysokiej temperatury (95°C) w magnetronie (rodzaj kuchenki mikrofalowej) 3 x po 5 minut w celu odsłonięcia antygeny jądrowego. Po suszeniu przez 30 minut w temperaturze pokojowej, preparaty poddawano następującym etapom reakcji w oparciu o metodę z użyciem kompleksu awidyna-biotyna-peroksydaza (ABC) (Hsu i wsp. 1981):

1. preinkubacja z normalną surowicą kozią (Goat Serum Normal 1:10, DAKO Dania, X-907) rozcieńczoną w PBS przez 15 minut w temperaturze pokojowej
2. inkubacja z przeciwciałami pierwotnymi MIB-1 (1:200, DPC Apeldoorn, Holandia) przez 14-16 godzin w temperaturze 4°C
3. płukanie w PBS 3 x 5 minut

4. inkubacja z antyglobulinami Goat Anti-Mouse Immunoglobulins (1:400, DAKO Dania, E-433) znakowanymi biotyną i rozcieńczonymi w PBS z dodatkiem 2% normalnej surowicy koziej (Goat Serum Normal, DAKO Dania, X-907) i normalnej surowicy ludzkiej przez 30 minut w temperaturze pokojowej
5. płukanie w PBS 3 x 5 minut
6. inkubacja z kompleksem awidyna-biotyna-peroksydaza (1:200, DAKO Dania, K-377) przez 30 minut w temperaturze pokojowej
7. płukanie w PBS 1 x 10 minut
8. uwidocznienie reakcji przy użyciu 0,05% roztworu diaminobenzydyny (DAB, Sigma USA, D-5905) z dodatkiem 0,01% H₂O₂

Te same preparaty poddawano następnie kolejnym reakcjom immunocytochemicznym, aby ustalić, czy proliferującymi komórkami były również i astrocyty. Preparaty poddawano inkubacjom z przeciwciałami anty-GFAP i anty-wimentyna w oparciu o metodę z użyciem alkalicznej fosfatazy (APAAP) (Cordell i wsp. 1984), aby różnicować barwę produktów poszczególnych reakcji. Kolejne etapy podwójnej reakcji miały przebieg następujący (wszystkie etapy reakcji zachodziły w temperaturze pokojowej, a przeciwciała były rozcieńczone w 5% roztworze albuminy bydlęcej /Biomed, Polska/ w PBS):

1. preinkubacja z surowicą normalną świni (Swine Serum Normal 1:50, DAKO Dania, X-901) przez 15 minut
2. inkubacja z poliklonalnymi przeciwciałami pierwotnymi anty-GFAP (1:100, DAKO Dania, Z-334) i anty-wimentyna (1:100, DAKO Dania, M-725) przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej
3. płukanie w PBS 3 x 10 minut
4. inkubacja z antyglobulinami Swine Anti-Rabbit Immunoglobulins (1:50, DAKO Dania, Z-306) znakowanymi alkaliczną fosfatazą i rozcieńczonymi w PBS z dodatkiem 2% normalnej surowicy świńskiej (Swine Serum Normal, DAKO Dania, X-901) i normalnej surowicy ludzkiej przez 30 minut.
5. płukanie w PBS 3 x 5 minut
6. uwidocznienie reakcji przy użyciu fuksyny (New Fuchsin Kit, DAKO Dania, K-698)
7. płukanie w wodzie destylowanej
8. podbarwienie preparatów za pomocą hematoksyliny Mayera przez 2 minuty

Po płukaniu w wodzie destylowanej preparaty pokrywano preparatem "Imsol" (Klinipath, Zevenaar, Holandia).

Wraz z reakcjami podstawowymi wykonywano reakcje kontrolne według opisanej już poprzednio zasady.

Ponieważ astrocyty nie są jedynymi komórkami, które proliferują w przebiegu uszkodzenia tkanek oun, w celu zidentyfikowania innych komórek ulegających podziałom mitotycznym wykonano dodatkowo reakcje immunocytochemiczne z użyciem przeciwciał przeciwko lizozymowi (1:300, DAKO Dania, A-099) oraz alfa-1-antytrypsynie (1:1600, DAKO Dania, A-012). Reakcje te wykonano w oparciu o opisaną już metodę z użyciem kompleksu peroksydaza-antyperoksydaza (PAP) (Sternberger i wsp. 1970).

BADANIA MORFOMETRYCZNE

Badania morfometryczne przeprowadzono na preparatach na których wykonano uprzednio reakcję z przeciwciałami przeciwko swoistemu markerowi komórek gwiaździstych - białku GFAP. Ze względu na brak reakcji astrogleju stwierdzano w przypadkach zmarłych w pierwszych dwóch dniach choroby, przypadki te pominięto w badaniach morfometrycznych. W każdym z pozostałych przypadków ocenie ilościowej poddano astrocyty na brzegu ogniska martwicy w obszarze największego nasilenia reakcji. Liczono GFAP(+) komórki w 50 polach widzenia : w 10 polach wzdłuż brzegu ogniska i po 5 pól w głąb w linii prostopadłej do brzegu. Tak uzyskane dane zostały następnie opracowane statystycznie za pomocą testu Studenta i analizy regresji liniowej przy użyciu pakietu standardowego Statgraphic.

WYNIKI BADAŃ IMMUNOCYTOCHEMICZNYCH

I TYDZIEŃ CHOROBY (dzień 1-7)

W obu grupach wiekowych nie stwierdzono wyraźnej reakcji astrogleju w pierwszych dwóch dniach udaru. W obszarze przyległym do zawału oraz w samym ognisku martwicy widoczne były różnej wielkości i kształtu drobiny, wykazujące immunoreaktywność względem przeciwciał przeciwko białku GFAP (fot.1), a nieliczne GFAP(+) astrocyty były ciemne, obkurczone i prawie całkowicie pozbawione wypustek (fot.2). Tylko pojedyncze GFAP(+) astrocyty zlokalizowane okołonaczyniowo posiadały wypustki, ale z wyraźnymi cechami klastodendrozy. Również tylko pojedyncze astrocyty z nasilonymi zmianami wstecznymi wykazywały reaktywność względem przeciwciał przeciwko białku S-100. W reakcji z tymi przeciwciałami zwracała natomiast uwagę obecność nielicznych S-100(+), powiększonych i nagich lub też otoczonych wąskim rąbkim immunoreaktywnej cytoplazmy (fot.3) jąder komórkowych. Jądra takie stwierdzono w obu grupach wiekowych, choć nieco liczniejsze były one w grupie przypadków w wieku średnim niż w grupie starszej. VIM(+) komórek ani MIB(+) jąder komórkowych nie stwierdzono w żadnym z badanych przypadków zmarłych w pierwszych 2 dniach udaru.

W 3 dniu choroby zaobserwowano początek rozbiórki martwiczych tkanek. Proces ten był obserwowany w obu grupach wiekowych, jednakże w jednym z przypadków z grupy młodszej (nr 22/74) był on już bardzo zaawansowany, z obecnością licznych makrofagów oraz z naciekami z limfocytów i monocytów w tkankach. W przypadku tym stwierdzono bardzo nasiloną reakcję astrocytów w tkankach otaczających ognisko martwicy. GFAP(+) i S-100(+) astrocyty o wyraźnie widocznych wypustkach, były dość liczne i wykazywały niekiedy znacznego stopnia przerost (fot.4 i 5). Stwierdzono również obecność pojedynczych VIM(+) komórek na brzegu ogniska (fot.6) oraz nieliczne MIB(+) jądra komórkowe. W przypadku z grupy starszej (nr 146/79), w którym także stwierdzono proces rozbiórki ale w początkowej jego fazie, reakcja astrogleju była również obecna, ale o wyraźnie mniejszym nasileniu niż w grupie młodszej wiekowo (fot.7 i 8). Nieliczne GFAP(+) i S-100(+) komórki gwiaździste wykazywały jedynie niewielkiego stopnia przerost, niekiedy z tworzeniem się postaci gemistocytarnych i cechami zwyrodnienia wodniczkowego. W obrazie morfologicznym przeważały jednak astrocyty z nasilonymi zmianami wstecznymi. VIM(+) komórek ani MIB(+) jąder w tym przypadku nie stwierdzono. Badania morfometryczne wykazały, że liczba GFAP(+) astrocytów była mniejsza w przypadku starszym niż w przypadku z grupy młodszej wiekowo (tabela 3). W pozostałych przypadkach z obu grup wiekowych zmiany miały charakter podobny do opisywanych w pierwszych dwóch dniach choroby. W kolejnych dniach udaru (dzień 4-7) stwierdzono stopniowe nasilenie się reakcji astrogleju w obu grupach wiekowych. W przypadkach zmarłych w 4 dniu choroby przeważała nadal martwica bezodczynowa (tabela III), a nieliczne reaktywne komórki astrogleju były albo drobne i z krótkimi, cienkimi wypustkami albo też wykazywały nasilone zmiany wsteczne i pozbawione były całkowicie wypustek. VIM(+) astrocytów nie stwierdzono w żadnym z badanych przypadków, natomiast obecne były pojedyncze MIB(+) jądra. Podwójna reakcja immunocytochemiczna z użyciem przeciwciał anti-GFAP wykazała, że jądra te nie były jądrami GFAP(+) astrocytów.

W 5 dniu od początku choroby zaobserwowano po raz pierwszy wytworzenie się jamy

poudarowej w przypadku z grupy młodszej wiekowo (nr 90/85), podczas gdy w przypadkach z grupy starszej zmarłych w pierwszych 7 dniach udaru niedokrwiennego, stwierdzano nadal martwicę bezodczynową lub tylko początek procesu rozbiórki. Reakcja astrogleju w tkankach przyległych do ogniska martwicy była obecna w obu grupach wiekowych z dużymi różnicami indywidualnymi w jej nasileniu, jednakże wyraźny wał z reaktywnych komórek gwiaździstych obserwowano tylko w przypadkach w wieku młodszym (fot.9). W przypadkach starszych reakcja miała charakter bardziej rozproszony, bez tendencji do gromadzenia się reaktywnych i przerośniętych (hypertroficznym) astrocytów bezpośrednio przy brzegu ogniska martwicy (fot.10). W 7 dniu choroby w jednym z przypadków z grupy starszej (nr 111/73) osiągnęła ona nasilenie porównywalne do obserwowanego w 3 dniu choroby w grupie młodszej wiekowo.

W 7 dniu udaru stwierdzono po raz pierwszy obecność jamy poudarowej i VIM(+) astrocytów w grupie starszej. VIM(+) astrocyty były zlokalizowane zarówno w istocie białej jak i warstwie drobinowej kory mózgu, ale tylko w tkankach przylegających bezpośrednio do ogniska martwicy. Były one nieliczne i tylko w jednym z przypadków z grupy starszej (nr 111/73), w którym stwierdzono liczne GFAP(+) i S-100(+) astrocyty, nasilony proces rozbiórki i proliferację naczyń, VIM(+) komórki astrogleju były liczniejsze (fot.11).

Reakcja z przeciwciałami przeciwko antygenowi proliferujących komórek Ki-67 wykazała obecność MIB(+) jąder komórkowych w przypadkach z obu grup wiekowych. Komórki z MIB(+) jądrami były na ogół pojedyncze i tylko w jednym z przypadków z grupy młodszej wiekowo (nr 28/91) stwierdzono dość znaczną ich liczbę. Większość MIB(+) jąder zlokalizowana była w obszarze martwicy, całkowicie pozbawionym GFAP(+) astrocytów i wykazującym obecność licznych komórek żernych, reaktywnych względem przeciwciał przeciwko lizozymowi i alfa-1 antytrypsynie. Mniej liczne MIB(+) jądra stwierdzono także w tkankach otaczających ogniska martwicy. Komórki z MIB(+) jądrami występowały często około- lub śródnacyniowo (fot.12 i 13) i niekiedy były słabo reaktywne w stosunku do przeciwciał przeciwko wimentynie. Niektóre z tych komórek wykazywały morfologiczne cechy makrofagów lub monocytów. Część komórek z MIB(+) jądrami była zarówno GFAP(-) i VIM(-) (fot.14 i 15), jak również pozbawiona charakterystycznych cech morfologicznych pozwalających na ich identyfikację w mikroskopie świetlnym w preparatach barwionych hematoksyliną. Tylko pojedyncze MIB(+) komórki były również GFAP(+) (fot.16), a ich obecność stwierdzano zarówno w istocie białej, jak i w warstwie drobinowej kory mózgu.

II TYDZIEŃ (dzień 8-14)

W II tygodniu udaru prawie we wszystkich badanych przypadkach stwierdzono martwicę rozpływną. W obu grupach wiekowych reakcja astrocytów była wyraźna, często z obecnością wału glejowego na brzegu ogniska martwicy. Reaktywne astrocyty wykazywały przerost, liczne i pogrubiłe wypustki oraz niekiedy cechy zwyrodnienia wodniczkowego (fot.17). Liczba GFAP(+) astrocytów była podobna w obu grupach wiekowych, z pewnymi różnicami indywidualnymi (tabela 3). VIM(+) astrocyty były również dość liczne, z jasnymi, pęcherzykowatymi jądrami i z wyraźnie widocznym jąderkiem (fot.18). Na 17 badanych przypadków zmarłych w II tygodniu choroby, VIM(+) astrocyty stwierdzono w 6 przypadkach z grupy w wieku młodszym i tylko

w 3 przypadkach starczych.

Proliferacja komórek była obecna we wszystkich badanych przypadkach, a pojedyncze GFAP(+) i MIB(+) astrocyty stwierdzono w 3 przypadkach z grupy młodszej wiekowo i w 1 przypadku z grupy starczej. Nieco większa liczba proliferujących, MIB(+) astrocytów była obserwowana w przypadku w wieku średnim zmarłym w 14 dniu udaru (nr 71/64) i był to przypadek z najwyraźniej widoczną proliferacją astrogleju w całym badanym materiale. Większość proliferujących, GFAP(+) astrocytów charakteryzowała się obecnością dużego, jasnego, pozbawionego jąderka jądra komórkowego, z wyraźnie widoczną błoną jądrową i grudkami chromatyny na obwodzie (fot.19B). Komórki te stwierdzano tylko na brzegu ogniska martwicy (fot.19A).

III TYDZIEŃ (dzień 15,16,17,19,20)

W III tygodniu choroby reakcja astrogleju była wyraźna w obu grupach wiekowych, ale w grupie starczej zaczynała ona stopniowo wykazywać mniejsze nasilenie w porównaniu z grupą młodszą wiekowo. Reaktywne, GFAP(+) astrocyty były w grupie starczej mniej liczne (tabela 3) niż w grupie przypadków w wieku średnim, rzadziej też obserwowano ich przerost. VIM(+) astrocyty stwierdzono tylko w 1 przypadku starczym, podczas gdy w grupie młodszej wiekowo były one znacznie liczniejsze i obecne w 4 przypadkach (fot.20 i 21). MIB(+) jądra były nadal obecne w obu grupach wiekowych, ale proliferujące, GFAP(+) astrocyty stwierdzono tylko w grupie przypadków młodszych, zmarłych w 15 i 16 dniu choroby.

IV-V TYDZIEŃ (dzień 22,28,30,32)

Reakcja astrocytów w grupie w wieku średnim była wyraźna i jej nasilenie nie różniło się od obserwowanego w poprzednich dniach choroby. Reaktywne komórki gwiaździste były nadal liczne, a ich wypustki komórkowe zwrócone były w większości w stronę ogniska martwicy (fot.22). Obserwowano również obecność włókien Rosenthala i dość licznych gemistocytów. Tylko w przypadkach z tej grupy wiekowej obecne były nadal VIM(+) astrocyty (fot.23) oraz MIB(+) jądra komórkowe. Natomiast w grupie starczej reaktywność astrogleju była wyraźnie mniej nasiloną w porównaniu z reakcją w grupie młodszej wiekowo (tabela 3) (fot.24). Niekiedy duże obszary wzdłuż festonowatej linii zgańczenia były całkowicie pozbawione immunoreaktywnych astrocytów (fot.25) lub też stwierdzano tylko pojedyncze GFAP(+) i S-100(+) komórki astrogleju z nasilonymi zmianami wstecznymi. VIM(+) komórek gwiaździstych nie stwierdzono w grupie przypadków starczych. W żadnym z badanych przypadków zmarłych w IV i V tygodniu choroby nie stwierdzano też proliferacji astrogleju.

Dokładniejsze wyniki badań morfologicznych w poszczególnych przypadkach przedstawia tabela III zamieszczona w addendum.

WYNIKI BADAŃ KONTROLNYCH

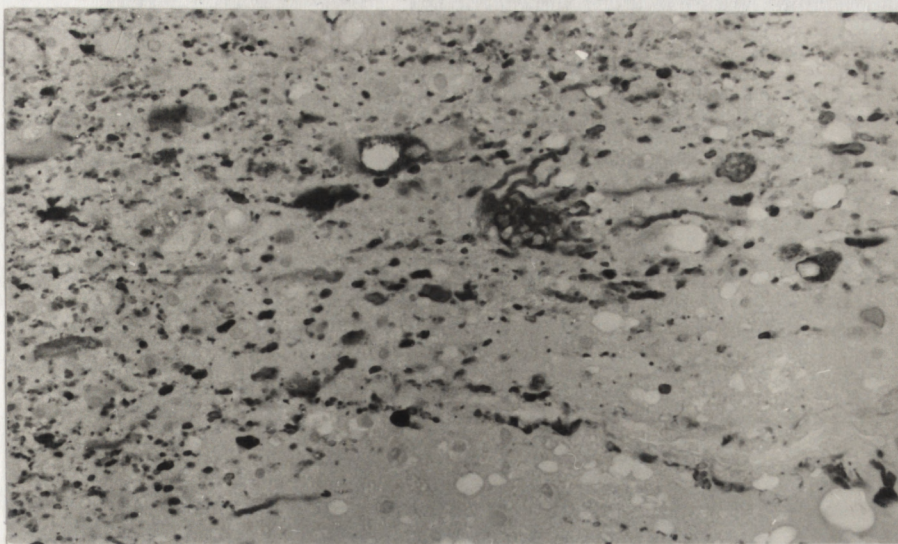
W 5 przypadkach kontrolnych zmarłych w przebiegu chorób nie dotyczących oun wyniki badań mikroskopowych były prawidłowe. Jedynie niewielkiego stopnia prze-krwienie naczyń i dyskretne, makroskopowe cechy obrzęku mózgu obserwowano w przypadku zmarłym z powodu raka żołądka z towarzyszącą niewydolnością krążenia. VIM(+) astrocytów nie stwierdzono w żadnym z powyższych przypadków, a widoczne niekiedy drobne GFAP(+) i S-100(+) astrocyty były pojedyncze i zlokalizowane głównie okołonaczyniowo.

Wyniki badań kontrolnych przeprowadzonych na skrawkach pobranych z przeciwnej do zawału półkuli mózgu były natomiast odmienne. W 7 z 20 badanych przypadków stwierdzono obecność drobnych, rozsianych w tkankach ognisk martwiczych (fot.26). Reakcja astrogleju, jak i zaawansowanie procesu rozbiórki towarzyszące powyższym ogniskom, wykazywały zarówno podobne jak i większe lub mniejsze nasilenie w porównaniu z reakcjami obecnymi w drugiej półkuli mózgu. Przypadki te (S/3 nr 115/90, M/7 nr 28/91, S/8 nr 136/89, S/9 nr 34/90, M/20 nr 2/82, S/20 nr 126/89, S/32 nr 73/87) wyłączono z dalszych badań kontrolnych.

W pozostałym materiale kontrolnym reaktywne astrocyty stwierdzono w 7 na 13 badanych przypadków, w tym w 5 przypadkach z grupy młodszej wiekowo i w 2 przypadkach z grupy starczej. Reakcja astrogleju była obecna w I tygodniu choroby (w 3 i 6 dniu udaru w grupie młodszej wiekowo oraz w 4 i 6 dniu w grupie starczej), oraz w 9 i 22 dniu udaru tylko w przypadkach z grupy młodszej wiekowo. Dwa ostatnie przypadki charakteryzowały się ponadto znacznego stopnia nasileniem obrzęku tkanek. Reaktywne astrocyty były niezbyt liczne, rozsiane i zlokalizowane zarówno w istocie białej jak i w korze mózgu, a zwłaszcza w jej warstwie drobinowej. Charakteryzowały się one niewielkimi rozmiarami, wyraźnie widocznymi wypustkami i wykazywały reaktywność względem przeciwciał przeciwko białkom GFAP i S-100 (fot. 27 i 28). Nieco liczniejsze i większe komórki astrogleju były obecne niekiedy wokół naczyń krwionośnych.

W przypadkach zmarłych w późniejszym okresie choroby (dzień 7,8,9,13,20,22,30 i 32) obserwowano już tylko pojedyncze i bardzo drobne reaktywne astrocyty, a pod koniec badanego okresu ich obecności nie stwierdzano w ogóle. Wyjątek od powyższej tendencji do zaniku reakcji astrogleju w miarę upływu czasu od początku udaru stanowiły wspomniane już 2 przypadki z grupy młodszej wiekowo, zmarłe w 9 i 22 dniu choroby, w których nasilenie reakcji astrogleju było zbliżone do obserwowanego w I tygodniu udaru. W przypadkach tych, jak również w żadnym z pozostałych przypadków kontrolnych VIM(+) astrocytów nie stwierdzono.

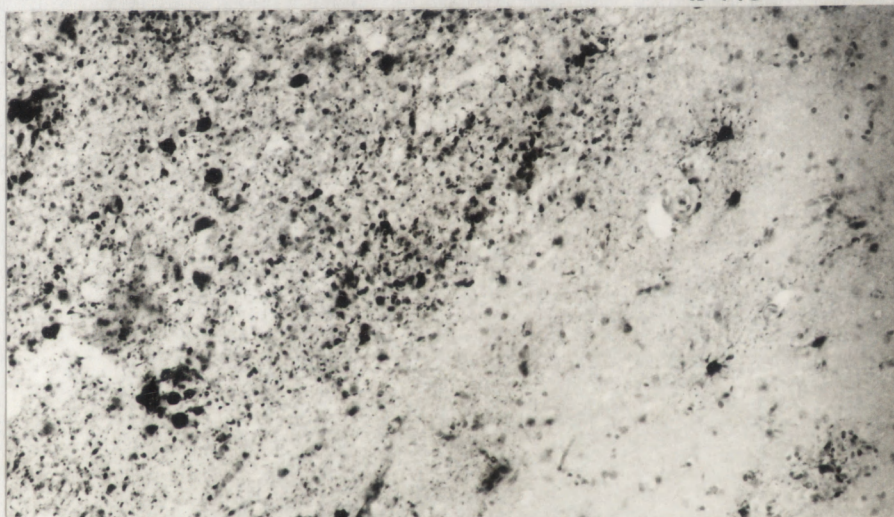
Fot.1 S/1 nr 71/91
GFAP



Pojedyncze reaktywne astrocyty ze zmianami wstecznymi w istocie białej. Widoczne liczne immunoreaktywne drobiny o różnej wielkości i kształcie.

x 448

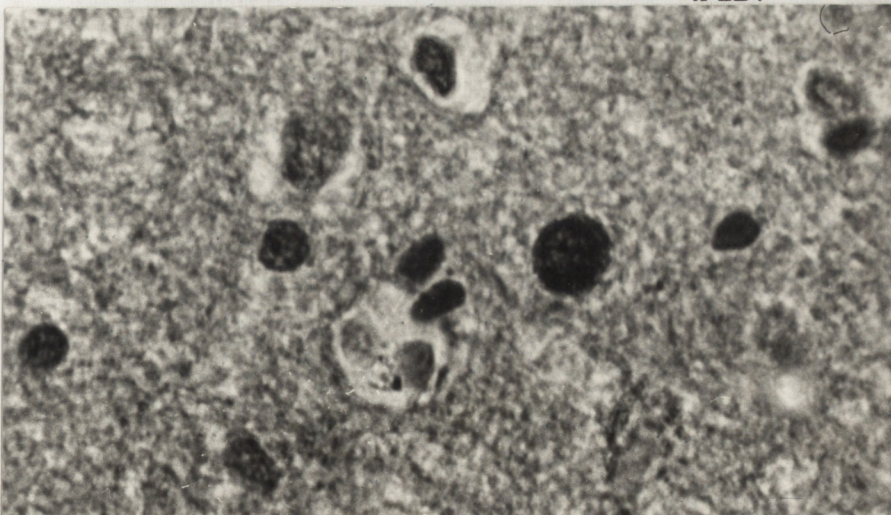
Fot.2 M/2 nr 63/64
GFAP



Nieliczne reaktywne astrocyty z nasilonymi zmianami wstecznymi oraz immunoreaktywne drobiny w istocie białej. Wypustki astrocytów wykazują cechy klazmatodendrozy.

x 224

Fot.3 M/2 nr 63/64
S-100

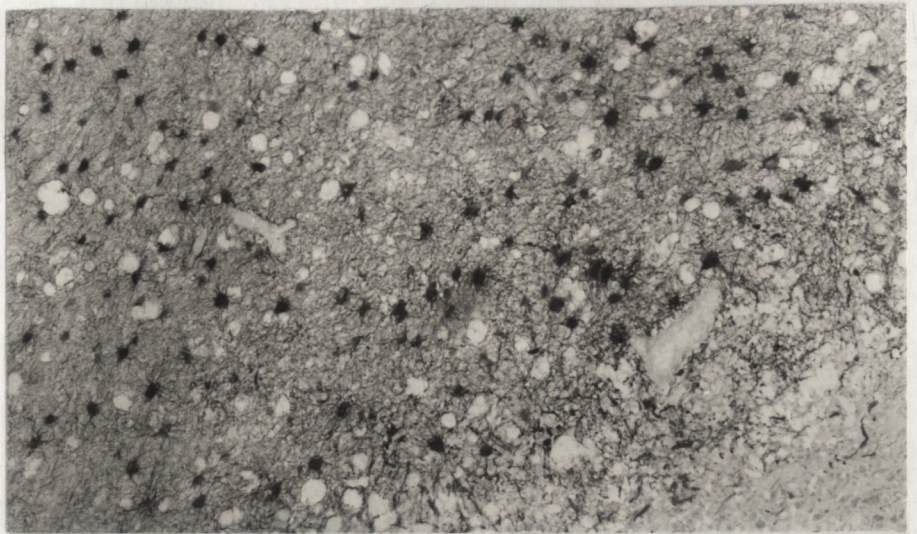


Powiększone jądro reaktywnego astrocyta otoczone wąskim rąbkiem S-100(+) cytoplazmy w istocie białej mózgu.

x 1200

Fot.4

M/3 nr 22/74
GFAP

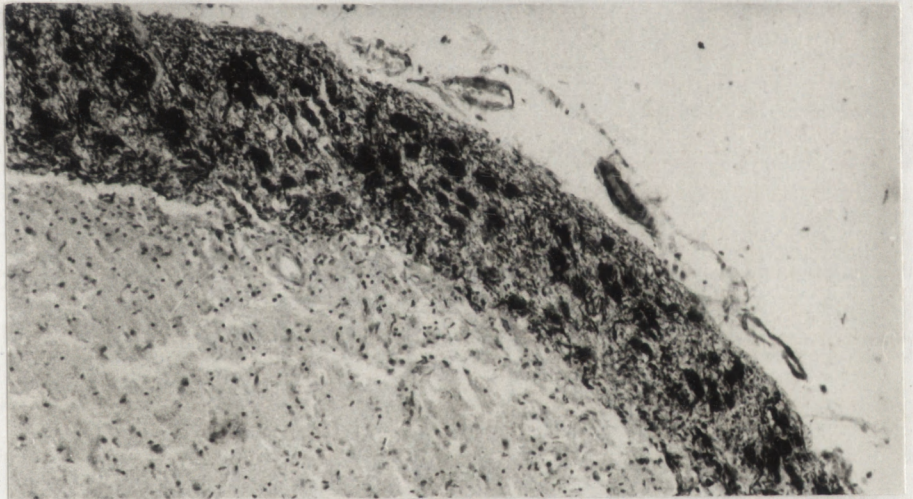


Liczne reaktywne astrocyty o wyraźnie widocznych wypustkach i powiększonych perikarionach na brzegu ogniska martwicy w istocie białej.

x 124

Fot.5

M/3 nr 22/74
GFAP

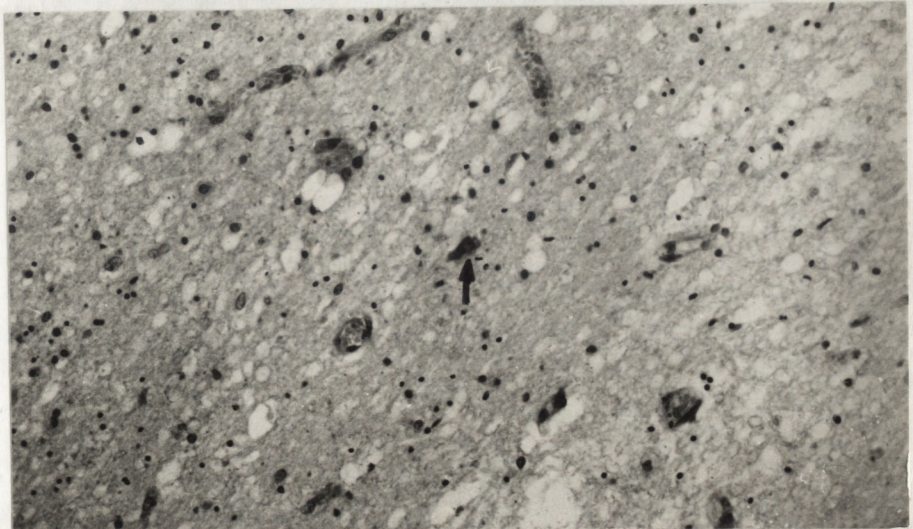


Bardzo liczne reaktywne komórki gwiaździste w warstwie drobinowej kory mózgu przyległej do ogniska martwicy.

x 224

Fot.6

M/3 nr 22/74
VIM



Pojedynczy VIM(+) astrocyt na brzegu ogniska martwicy (strzałka). Widoczne duże zgarbienie tkanek.

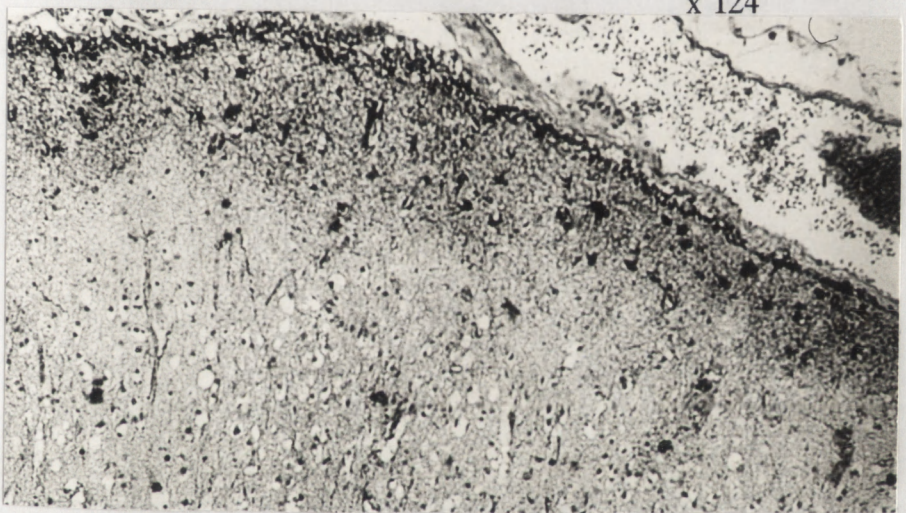
x 224

Fot.7 S/3 nr 146/79
GFAP



Niezbyt liczne, drobne i pozbawione wypustek reaktywne astrocyty w istocie białej przyległej do ogniska martwicy. Widoczne liczne immunoreaktywne drobiny.

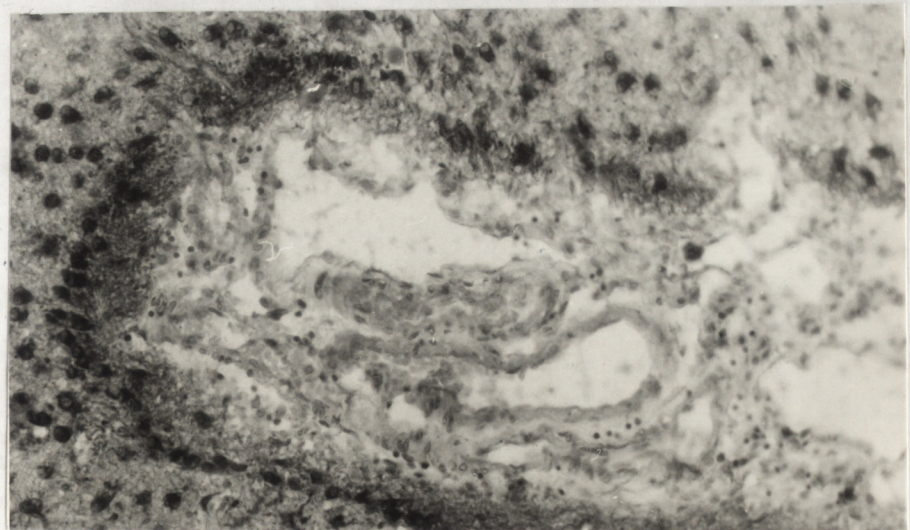
Fot.8 S/3 nr 146/79
GFAP



Pojedyncze, drobne, reaktywne astrocyty w warstwie drobinowej kory mózgu przyległej do zawału.

x 124

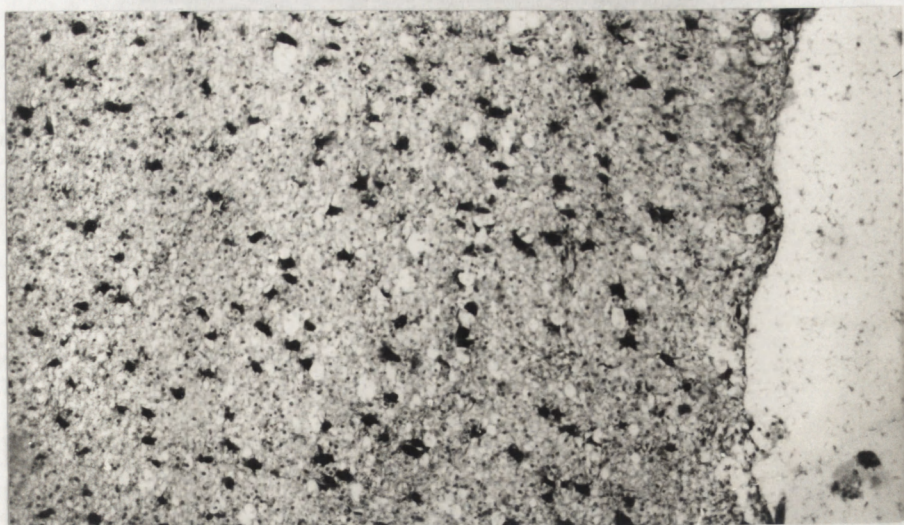
Fot.9 M/7 nr 28/91
GFAP



Wał z reaktywnych astrocytów i gemistocytów dookoła jamy poudarowej.

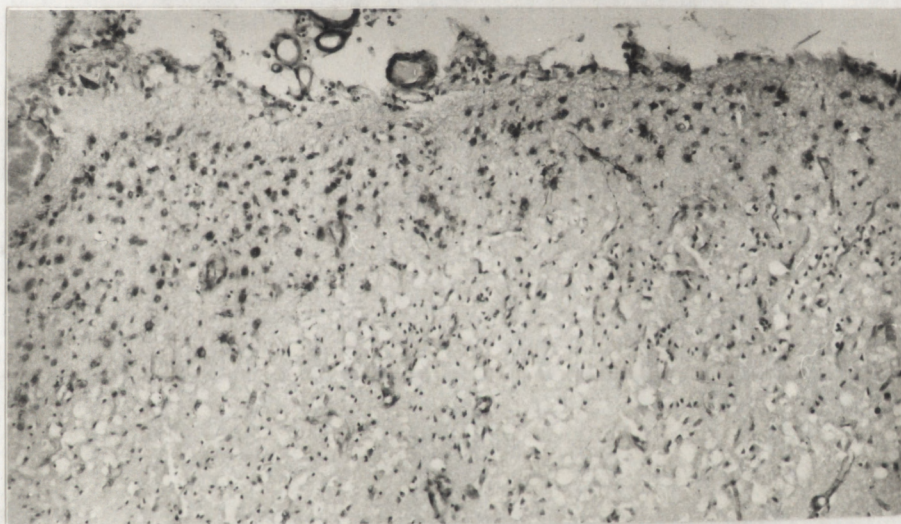
x 224

Fot.10 S/7 nr 111/73
GFAP



Rozproszone reaktywne astrocyty wokół jamy poudarowej.
x 124

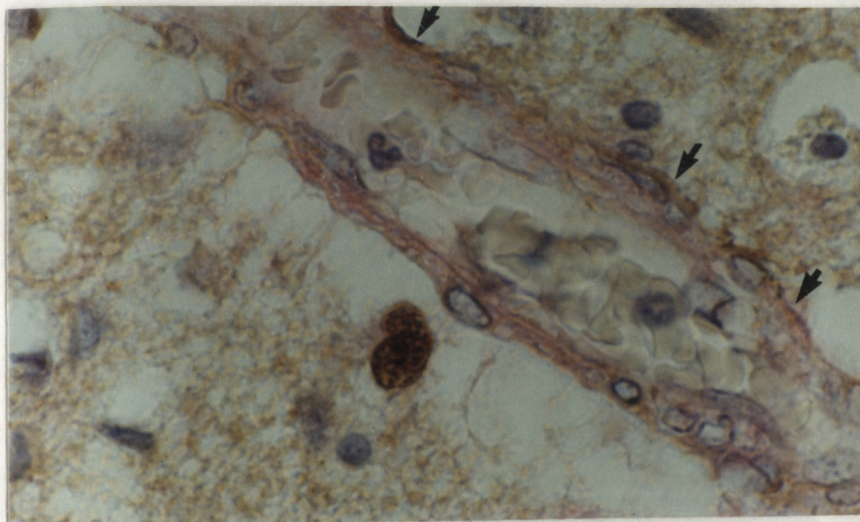
Fot.11 S/7 nr 111/73
VIM



Liczne immunoreaktywne astrocyty w warstwie drobinowej kory
mózgu przyległej do zawału.

x 124

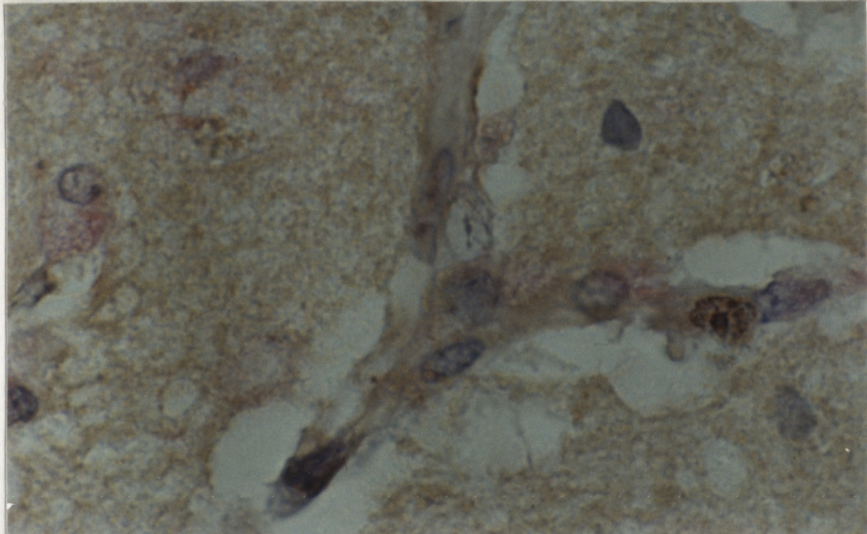
Fot.12 M/7 nr 28/91
MIB+VIM



Dwa okołonaczyniowe MIB(+) jądra komórkowe w istocie białej.
Widoczne areaktywne jądra komórek śródbłonna oraz VIM(+) naczynie
krwionośne. Fragmenty ściany naczynia wykazują immunoreaktywność
w stosunku do przeciwciał MIB-1 (strzałki).

x 1200

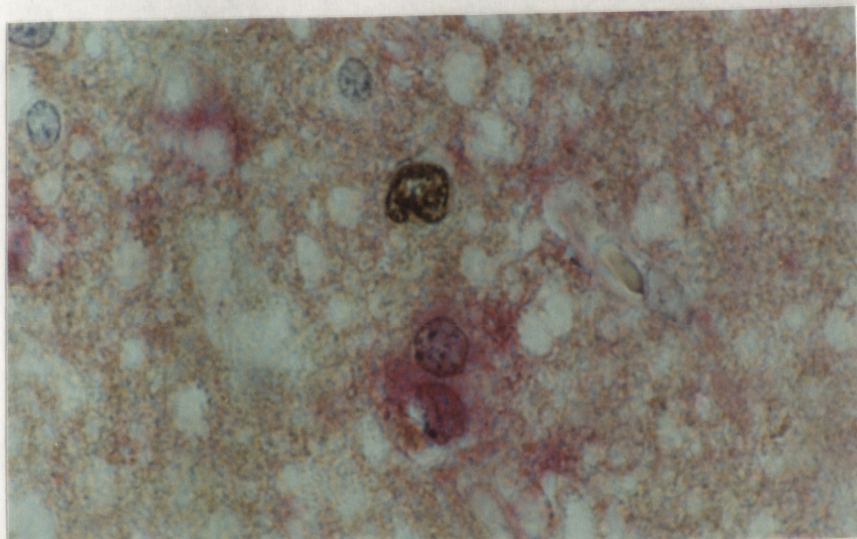
Fot.13 M/7 nr 28/91
MIB+VIM



MIB(+) jądro komórkowe z wyraźnie widocznym jąderkiem wewnątrz
VIM(+) naczynia krwionośnego w obszarze martwicy.

x 1200

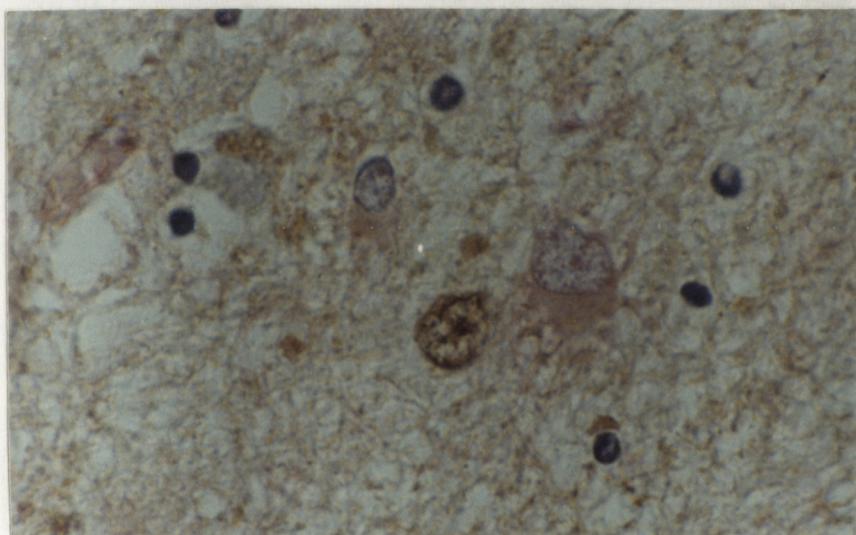
Fot.14 S/7 nr 111/73
MIB+GFAP



Monocyt (?) o MIB(+), podkowiastym jądrze. Poniżej widoczne
MIB(-) jądra GFAP(+) komórek.

x 1200

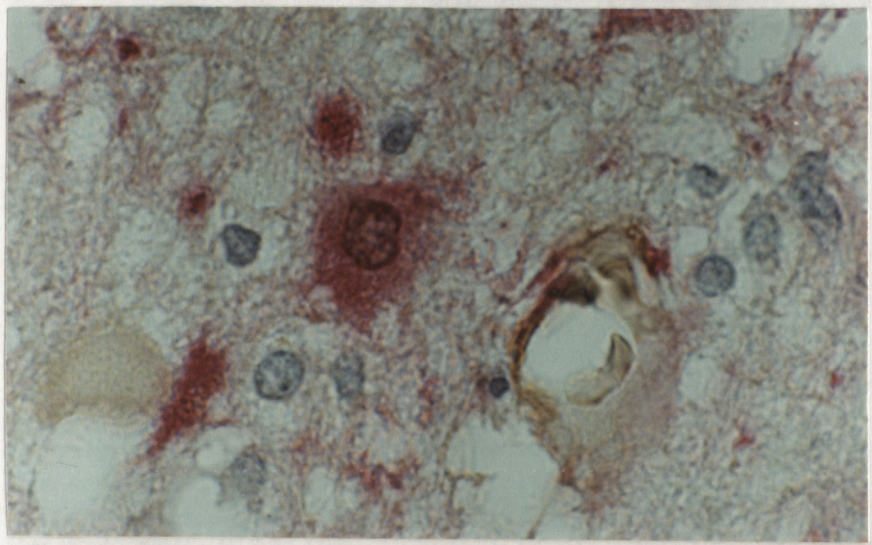
Fot.15 S/7 nr 100/74
MIB+VIM



Astrocyt o MIB(-) jądrze i VIM(+) perikarionie z wyraźnie
widocznymi wypustkami. Obok MIB(+) jądro komórkowe o podobnym
kształcie i wielkości.

x 1200

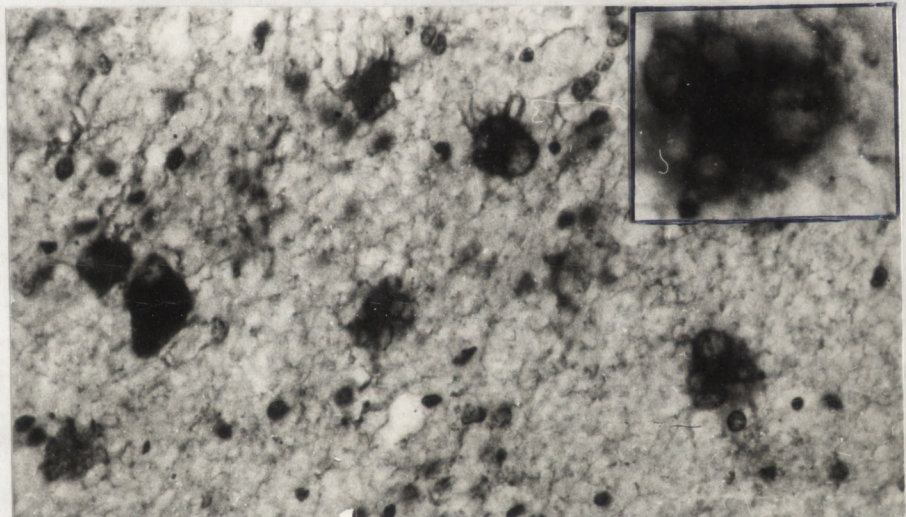
Fot.16 S/7 nr 100/74
MIB+GFAP



GFAP(+) astrocyt o MIB(+) /brązowym/, powiększonym jądrze komórkowym bez widocznego jąderka i z GFAP(+) /różowym/ perikaryonem. Obok kilka MIB(-) jąder komórkowych.

x 1200

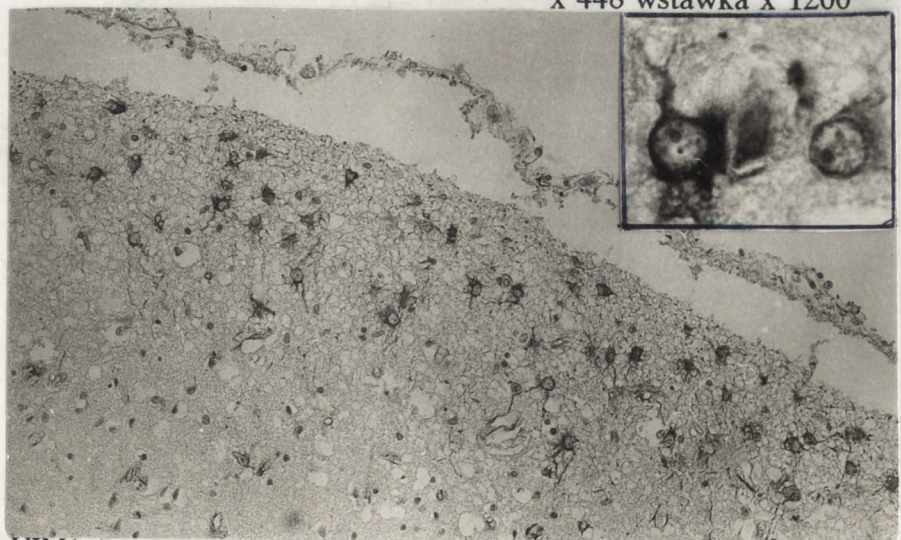
Fot.17 S/11 nr 112/73
GFAP



Reaktywne astrocyty w istocie białej mózgu z nasilonymi cechami zwyrodnienia wodniczkowego.

x 448 wstawka x 1200

Fot.18 M/14 nr 71/64
VIM



VIM(+) astrocyty z jasnymi, pęcherzykowatymi jądrami o wyraźnie widocznych jąderkach w warstwie drobinowej kory mózgu przyległej do zawału.

x 224 wstawka x 1200

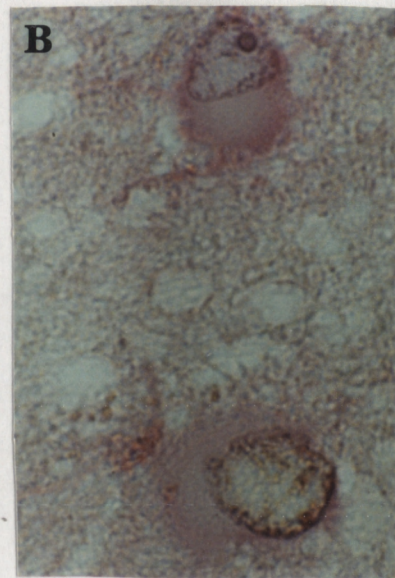
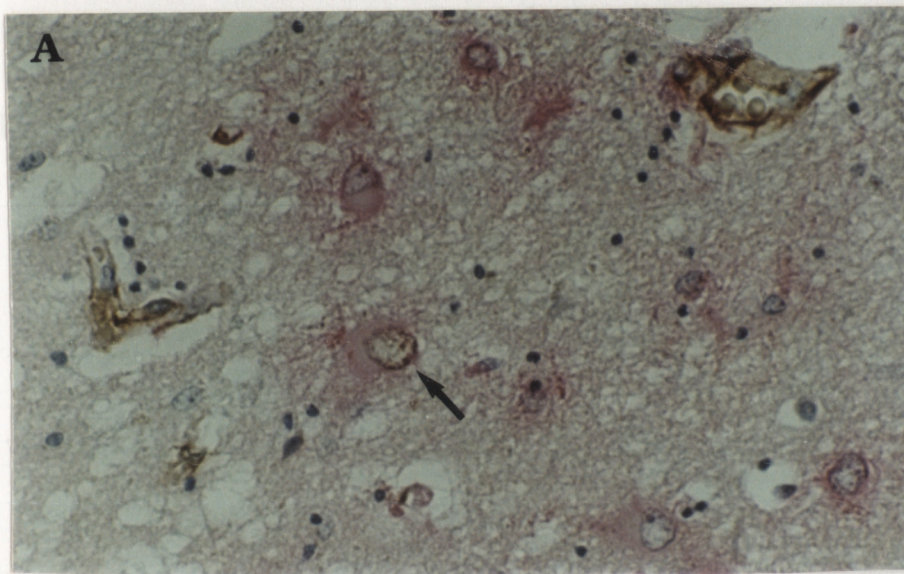
Fot.19 M/14 nr 71/64
MIB+GFAP

A - Pojedyńczy reaktywny astrocyt z MIB(+) jądrem na brzegu ogniska martwicy w istocie białej (strzałka).

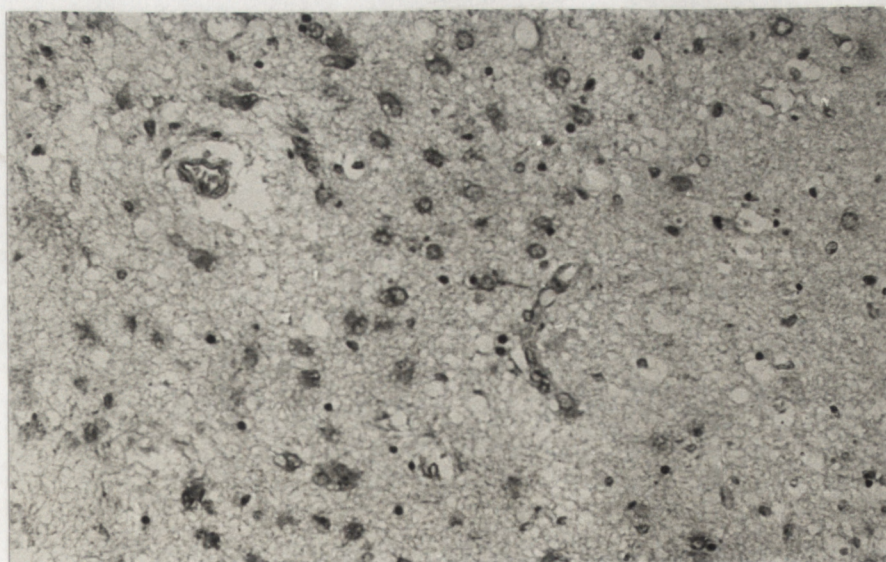
x 448

B - Reaktywny astrocyt z MIB(+), jasnym i pozbawionym jądrem komórkowym. Powyżej reaktywny MIB(-) astrocyt z wyraźnie widocznym jądrem i wypustkami (powiększony fragment poprzedniego zdjęcia).

x 1200



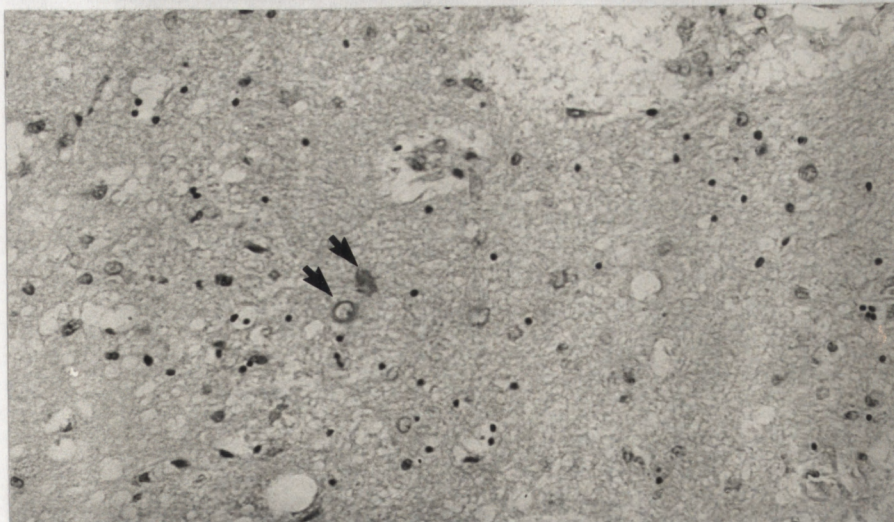
Fot.20 M/16 nr 174/78
VIM



Liczne VIM(+) astrocyty i gemistocyty na brzegu ogniska martwicy w istocie białej mózgu.

x 224

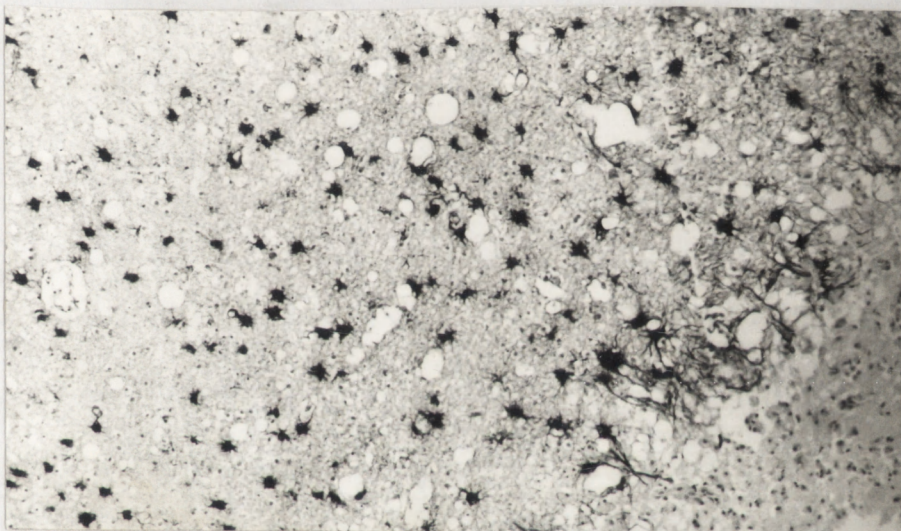
Fot.21 S/17 nr 99/89
VIM



Nieliczne VIM(+) astrocyty na brzegu ogniska martwicy rozplywnej w istocie białej (strzałki).

x 224

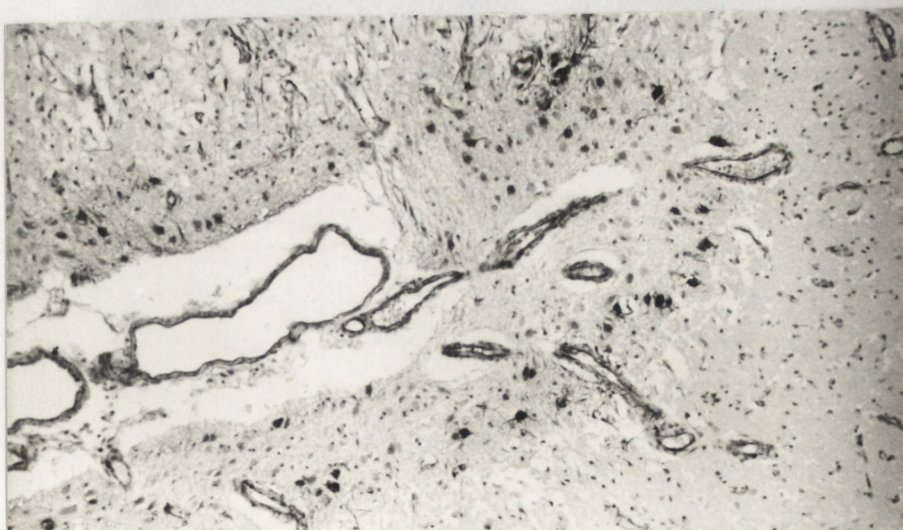
Fot.22 M/30 nr 83/71
GFAP



Liczne reaktywne astrocyty z wyraźnie widocznymi wypustkami skierowanymi w stronę ogniska martwicy.

x 124

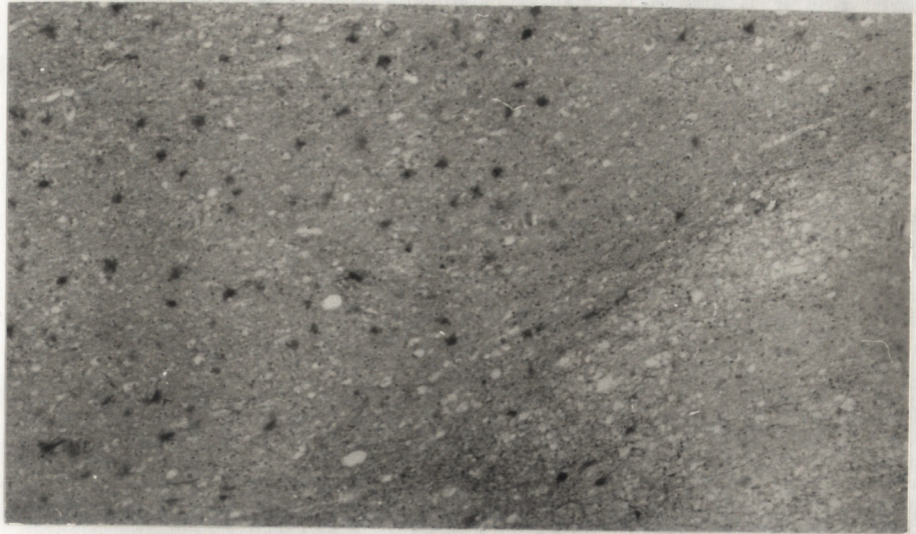
Fot.23 M/30 nr 83/71
VIM



Dość liczne odczynowe astrocyty o różnym stopniu nasilenia reaktywności w stosunku do przeciwciał przeciwko wimentynie w warstwie drobinowej kory rowka międzyzawojowego.

x 124

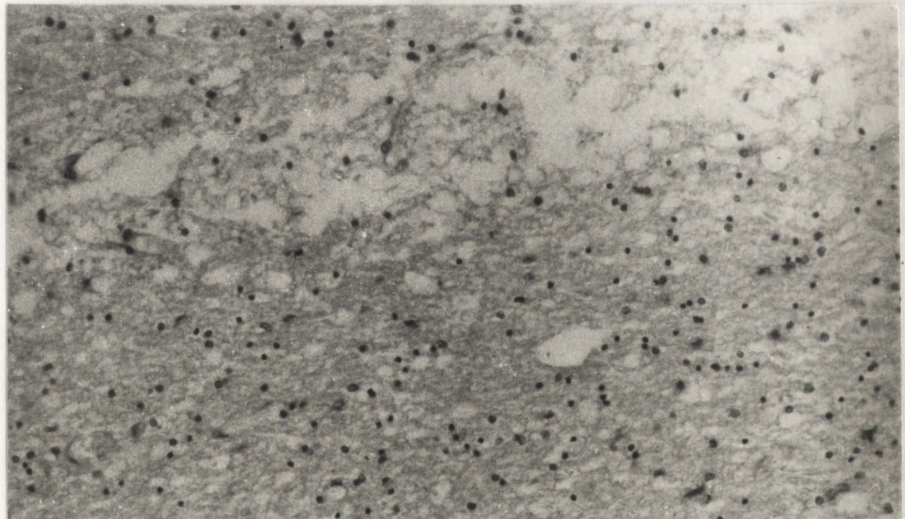
Fot.24 S/30 nr 94/85
GFAP



Reaktywne astrocyty przy brzegu martwicy bezodczynowej.

x 124

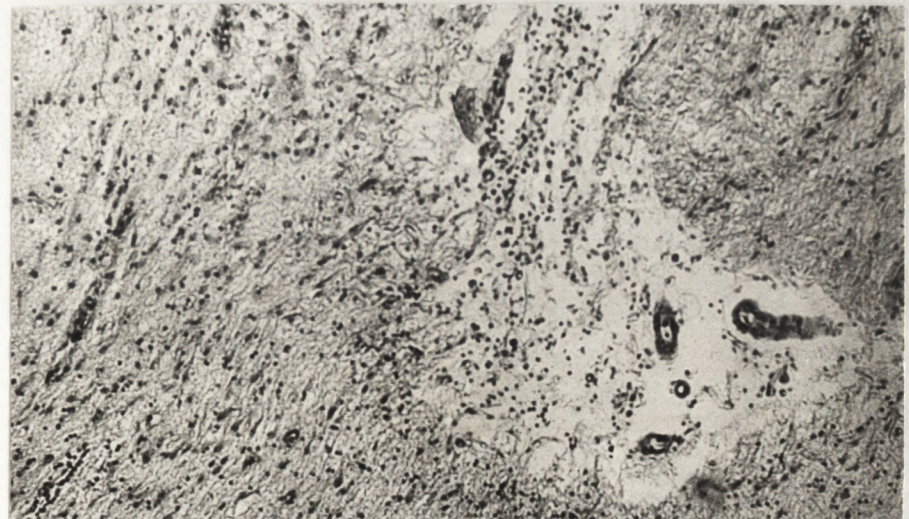
Fot.25 S/32 nr 73/87
GFAP



Brak reakcji astrogleju wokół festonowatej linii zgąbczenia oddzielającej ognisko martwicy od "zdrowych" tkanek.

x 224

Fot.26 M/20 nr 2/82
H-B



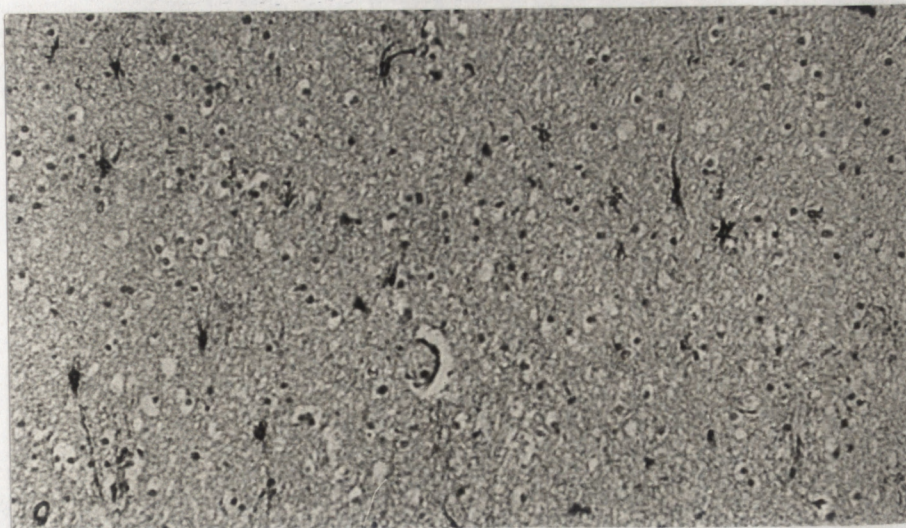
Kontrola - półkula mózgu przeciwna do zawału.

Drobne ognisko martwicy rozplywnej w obrębie istoty białej

x 224

30

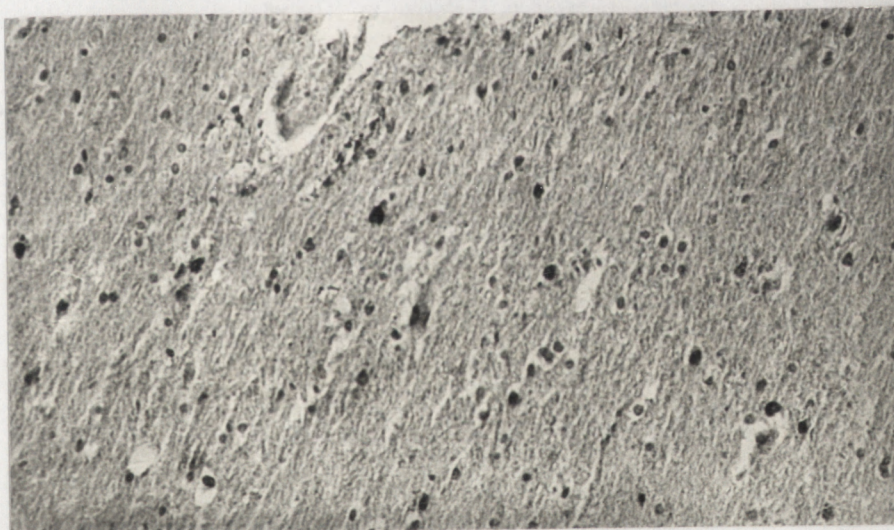
Fot.27 M/22 nr 133/89
GFAP



Kontrola- półkula mózgu przeciwna do zawału.
Drobne, rozproszone reaktywne astrocyty z cienkimi wypustkami
w istocie białej mózgu.

x 224

Fot.28 M/22 nr 133/89
S-100



Kontrola - półkula mózgu przeciwna do zawału.
Nieliczne, rozproszone S-100(+) drobne astrocyty w istocie białej
mózgu.

x 224

WYNIKI BADAŃ MORFOMETRYCZNYCH

Wyniki badań morfometrycznych opracowane przy użyciu standardowych metod statystycznych wykazały, że średnia liczba reaktywnych astrocytów była mniejsza w grupie starszej w porównaniu z grupą młodszą wiekowo (tabela 3). W grupie starszej obserwowano ponadto mniejsze różnice indywidualne w reaktywności astrogleju.

Zastosowanie do badań statystycznych testu Studenta wykazało znaczną różnicę w reaktywności astrocytów pomiędzy obiema grupami wiekowymi w III i IV tygodniu choroby (tabela 4). Różnica ta była statystycznie znamienne w III tygodniu udaru.

Analiza regresji liniowej ujawniła istnienie korelacji między liczbą reaktywnych astrocytów a czasem trwania choroby w grupie młodszej wiekowo (rycina 1). Zależności takiej w grupie starszej nie stwierdzono (rycina 2).

TABELA 3

	GRUPA MŁODSZA WIEKOWO	GRUPA STARCZA
LICZBA PRZYPADKÓW	30	31
ŚREDNIA	23,39	17.05
MEDIANA	22.11	14.96
ODCHYLENIE STANDARDOWE	10.89	7.08
WARTOŚĆ MINIMALNA	6.68	7.44
WARTOŚĆ MAKSYMALNA	53.38	34.22

TABELA 4

ANALIZA TESTU STUDENTA

PRZYPADKI	ŚREDNIA + SD			
	I TYDZIEŃ	II TYDZIEŃ	III TYDZIEŃ	IV TYDZIEŃ
GRUPA MŁODSZA WIEKOWO	N=11 19.39+8.57	N=9 19.37+8.71	N=6 32.78+14.77	N=4 29.25+2.19
GRUPA STARCZA	N=13 17.24+7.73	N=8 18.12+9.26	N=6 15.87+5.48	N=4 16.04+8.97
TEST t-STUDENTA	t=0.64 NS	t=0.29 NS	t=2.63 p<0.05	t=8.87 p<0.01

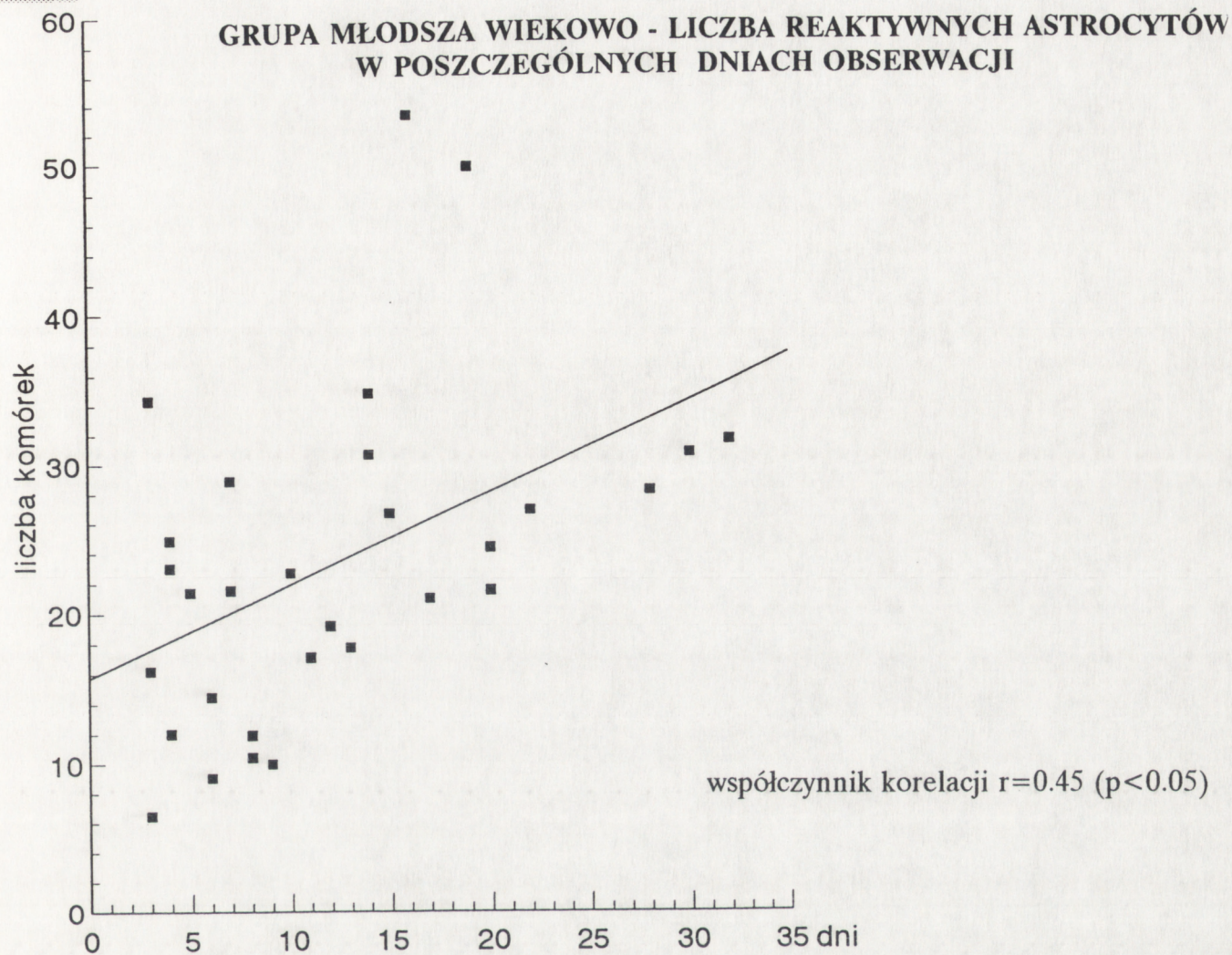
t - poziom istotności statystycznej t=2.71

p - wartość testu Studenta p<0.05

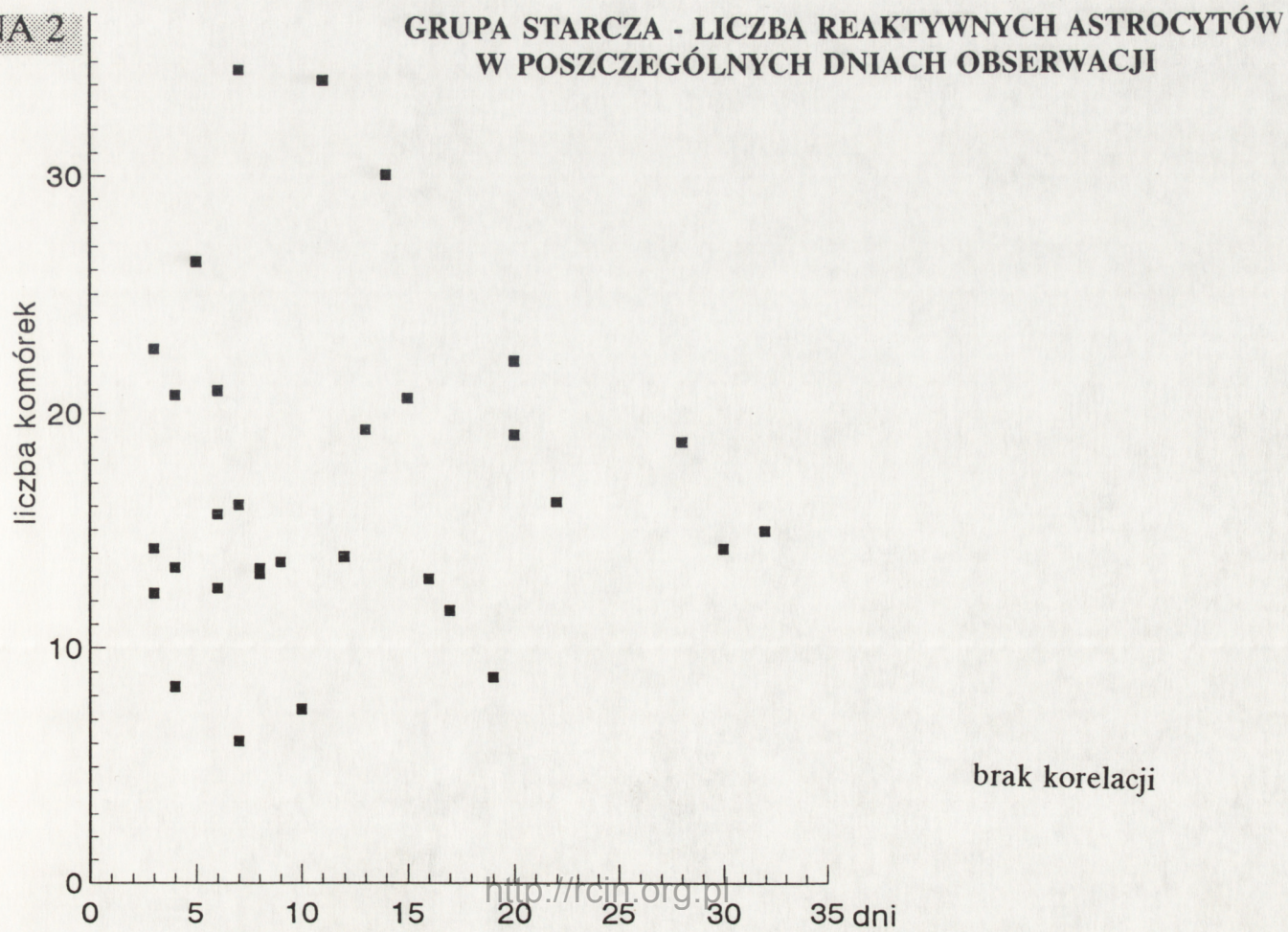
SD - odchylenie standardowe

NS - wartość nieistotna statystycznie

RYCINA 1



RYCINA 2



PODSUMOWANIE WYNIKÓW

1. Astrocyty nie wykazywały wyraźnej reakcji w pierwszych 2 dniach po wystąpieniu udaru niedokrwinnego mózgu w obu grupach wiekowych.
2. Reakcja astrogleju przejawiająca się obecnością licznych GFAP(+) i S-100(+) komórek pojawiała się dopiero w 3 dniu choroby w obu grupach wiekowych, przy czym była ona znacznie mniej nasiloną w grupie przypadków starczych.
3. Nasilenie reakcji astrogleju w II tygodniu choroby było zbliżone w obu grupach wiekowych i wykazywało duże różnice indywidualne.
4. W grupie przypadków starczych nasilenie reakcji astrogleju stopniowo ulegało zmniejszeniu począwszy od III tygodnia choroby, co znalazło swoje potwierdzenie w wynikach badań statystycznych.
5. W grupie przypadków starczych reakcja astrocytów wykazywała dłużej bardziej uogólniony charakter i mniej nasiloną tendencję do tworzenia wału z komórek glejowych.
W grupie przypadków starczych - badania statystyczne. W grupie młodszej nie wykazywała. W grupie starczej - nie analizowano statystycznie.
6. VIM(+) astrocyty
 - były obecne tylko na brzegu ogniska martwicy
 - stwierdzono je w 19 na 67 badanych przypadków, w tym w 14 przypadkach z grupy w wieku średnim i tylko w 5 przypadkach starczych
 - pojawiły się wcześniej w grupie młodszej wiekowo (w 3 dniu choroby) i były obecne w tej grupie znacznie dłużej, aż do 30 dnia choroby, podczas gdy w grupie starczej stwierdzano je między 7 a 17 dniem choroby
7. MIB (+) komórki:
 - były obecne w 33 na 38 badanych przypadków, w tym w 16 przypadkach z grupy młodszej wiekowo i w 17 przypadkach starczych
 - występowały począwszy od 3 dnia choroby
 - były obecne zarówno w obszarze martwicy, jak i w otaczających ją tkankach
 - Większość z nich stanowiły monocyty i makrofagi
8. MIB (+) astrocyty:
 - stwierdzono tylko w 8 przypadkach w wieku średnim i w 2 przypadkach starczych
 - były obecne między 7 a 19 dniem choroby
 - były nieliczne i obecne tylko na brzegu ogniska martwicy
9. Proces rozbiórki martwiczych tkanek rozpoczynał się w 3 dniu choroby w obu grupach wiekowych, ale w grupie starczej był on mniej zaawansowany. Do

wytworzenia się jamy poudarowej doszło później w grupie starszej (7 dzień choroby) niż w grupie młodszej wiekowo (5 dzień choroby).

10. Nie obserwowano wyraźnej różnicy pomiędzy liczbą, lokalizacją i czasem pojawiania się GFAP(+) i S-100(+) astrocytów. Jedyną różnicą polegała na wyraźniejszym uwidocznieniu się wypustek astrocytarnych w reakcjach z użyciem przeciwciał przeciwko białku GFAP.
11. W niektórych przeciwstronnych do zawału kontrolnych półkulach mózgu stwierdzono obecność drobnych ognisk martwicy. Półkule te wyłączono z dalszych badań.
W pozostałych półkulach kontrolnych w obu grupach wiekowych obserwowano niekiedy obecność nielicznych, rozsianych GFAP(+) i S-100(+) astrocytów. VIM(+) ani proliferujących MIB(+) komórek gwiaździstych nie stwierdzono w żadnym z tych przypadków.

DYSKUSJA

Materiał nasz wykazał, że:

1. Reakcja astrogleju oceniana w mikroskopie świetlnym pojawiła się w obu grupach wiekowych dopiero po upływie 2 dni od początku udaru.
2. Reakcja astrogleju trwała krócej, dłużej wykazywała bardziej rozproszony charakter i była mniej nasiloną w grupie starszej w porównaniu z reakcją w grupie młodszej wiekowo. Różnice w nasileniu reakcji astrocytów między obiema grupami wiekowymi były szczególnie wyraźnie widoczne w III i IV tygodniu choroby, co znalazło swoje potwierdzenie w wynikach badań statystycznych. *morfometrycznych, w których wykonano statystyczny materiał*
3. Proliferacja astrocytów oceniana przy użyciu przeciwciał MIB-1 przeciwko antygenowi proliferujących komórek Ki-67 była niewielka w obu grupach wiekowych i obserwowano ją tylko w II i III tygodniu choroby.
4. Reakcja astrocytów nie była ograniczona jedynie do półkuli mózgu w której stwierdzano obecność ogniska zawałowego.

Wyniki badań wskazują, że w pierwszych dwóch dniach udaru niedokrwiennego reaktywność astrocytów w obu grupach wiekowych była słabo wyrażona. Reaktywne w stosunku do przeciwciał anty-GFAP i anty-S-100 komórki astrogleju były nieliczne i wykazywały nasilone zmiany wsteczne, a immunoreaktywnych komórek względem przeciwciał przeciwko wimentynie nie stwierdzono w ogóle. Niedokrwienie tkanek wywołuje głębokie zmiany metaboliczne, doprowadzające między innymi do kwasicy środowiska zewnątrzkomórkowego, wzmożonej koncentracji związków pobudzających, zwłaszcza glutaminianu (Benveniste i wsp. 1984), jonów potasu, mocznika, wolnych rodników i związków tłuszczowych (Yu i wsp. 1989). Pod wpływem niedokrwienia dochodzi również do uszkodzenia pompy sodowo-potasowej i wzrostu stężenia jonów wapnia w komórce (Rothman, Olney 1986; Haun i wsp. 1992). Badania przeprowadzone na hodowlach tkankowych wykazały, że astrocyty są dość odporne na zmiany wywołane przez niedokrwienie w porównaniu z innymi komórkami oun. Jednakże np. kwasica mleczanowa o pH 5.0 wywołuje nieodwracalne uszkodzenie astrocytów już po upływie 10-30 minut (Norenberg i wsp. 1987). Kwasicy zewnątrzkomórkowej towarzyszy bowiem kwasica śródkomórkowa doprowadzająca do dysfunkcji mitochondriów, utleniania lipidów, pojawiania się wolnych rodników i w końcu do śmierci komórki (Giffard i wsp. 1990). Wiadomo również, że wysokie stężenie glutaminianu prowadzi do depolaryzacji błon komórkowych w astrocytach (Bowman, Kimelberg 1984), otwierania się kanałów jonowych i napływu jonów sodu oraz wody, a w efekcie do obrzęku komórki, jej dysfunkcji i lizy (Chan, Fishman 1984; Rothman, Olney 1986). Wydaje się zatem, że obserwowana w naszym materiale w pierwszych dwóch dniach udaru słaba reaktywność astrogleju lub całkowity jej brak są spowodowane głębokim i nieodwracalnym uszkodzeniem komórek gwiaździstych, przejawiającym się m.in. zahamowaniem syntezy białek (Yoshimine i wsp. 1987).

stwierdzenie

Z badań doświadczalnych wynika, że pierwsze odczynowe zmiany w astrocytach pojawiają się już po upływie 3 godzin od niedokrwienia (Petito, Babiak 1982). Polegają one na wzroście liczby mitochondriów, poszerzeniu cystern szorstkiej siateczki śródplazmatycznej, oraz na stwierdzanej w mikroskopie świetlnym obecności jasnych, powiększonych jąder komórkowych. Jądra takie były widoczne w naszym materiale już w 2 dniu udaru w obu grupach wiekowych i niekiedy wykazywały immunoreaktywność w stosunku do przeciwciał anti-S-100. Choć istnieją nadal kontrowersje, wyniki niektórych prac wykazują, że białko S-100 jest obecne również w jądrze astrocytów (Michetti i wsp. 1974; Ludwin i wsp. 1976). Pojawienie się białka S-100 w immuno-areaktywnych do tej pory jądrach astrogleju wskazuje zatem na uaktywnienie się procesów metabolicznych w astrocytach i prawdopodobnie wzmoczoną syntezę tego białka, jest więc przejawem wczesnego stadium reaktywności komórek.

Z prac doświadczalnych wynika, że wzrost ilości m-RNA dla GFAP obserwuje się już po 6 godzinach od niedokrwienia (Cancilla i wsp. 1992), a wzmoczona synteza samego GFAP może pojawiać się już po upływie 18 godzin (Kiesling i wsp. 1986).

Zmiany te są jednakże wyraźnie widoczne w mikroskopie świetlnym dopiero po upływie 24-48 godzin (Petito i wsp. 1988, 1990; Takamiya i wsp. 1988; Cancilla i wsp. 1992). Jedynie proliferacja astrocytów badana za pomocą znakowanej izotopem wodoru tymidyny, może pojawiać się już w pierwszych godzinach po uszkodzeniu tkanek i trwa przez kilka następných dni (Gall i wsp. 1979; Petito, Babiak 1982; Janeczko 1989,1991), przy czym obecność VIM(+) komórek stwierdza się znacznie później, po upływie co najmniej 48 godzin (Petito i wsp. 1988, 1990; Takamiya i wsp. 1988). Wyniki naszych obecnych jak i poprzednich (Rafałowska i wsp. 1991) badań, w których stwierdzono brak wyraźnej reakcji astrogleju w pierwszych 2 dniach po niedokrwieniu mózgu człowieka są więc zgodne z obserwacjami poczynionymi na modelach doświadczalnych.

! widać

Dlaczego jednak pojedyncze astrocyty wykazują immunoreaktywność w stosunku do przeciwciał anti-GFAP i anti-S-100 już w pierwszych dwóch dniach choroby? Wydaje się, że istnieją co najmniej dwie przyczyny tego zjawiska. Po pierwsze immunoreaktywność astrocytów może być spowodowana wywołanym przez niedokrwienie uszkodzeniem cząsteczek białek lub też depolimeryzacją filamentów pośrednich i związanym z tym ujawnieniem się dodatkowych miejsc antygenowych (Petito i wsp. 1990).

nie rozróżnił py-tania?

Po drugie komórki astrogleju mogły zareagować już wcześniej, pod wpływem zmian wywołanych przemijającymi zaburzeniami krążenia mózgowego lub też czynnikami innego rodzaju niż zawał mózgu, który doprowadził do zgonu pacjenta. Krótkotrwałe niedokrwienie może wywołać zmiany strukturalne i biochemiczne w astrocytach, nie prowadzące jednak do śmierci komórki, takie jak: obkurczenie perikarionu, rozpad polirybosomów, kondensację mitochondriów (Petito, Babiak 1982; Petito i wsp. 1988). Po ustąpieniu niedokrwienia zmiany te mogą być częściowo odwracalne. W niektórych astrocytach wykazujących zmiany morfologiczne o charakterze wstecznym, dochodzi do stopniowej odbudowy polirybosomów, częściowego powrotu funkcji fizjologicznych i wznowienia syntezy białek (Petito, Babiak 1982). Zjawisko to mogło by zatem tłumaczyć obserwowaną w naszym materiale obecność pojedynczych, immunoreaktywnych, ale obkurczonych i pozbawionych wypustek ciał komórek gwiazdzystych oraz licznych GFAP+ drobin powstałych w wyniku rozpadu wypustek astrocytarnych. Obecność takich drobin stwierdzano zarówno w pierwszych dwóch, jak i w następnych dniach udaru w obu grupach wiekowych.

perikarionu

wolałbym mieć określenie drobin na wyraźniej konotacji chemizmu

Wyrażna reakcja astrocytów przejawiająca się wzrostem liczby GFAP(+) i S-100(+) komórek oraz ich przerostem i proliferacją wypustek, pojawiła się dopiero w 3 dniu udaru w grupie przypadków w wieku średnim. Podobne nasilenie reakcji w grupie starszej obserwowano dopiero w 7 dniu udaru, chociaż już dość wyrażna reaktywność astrocytów obecna była także w 3 dniu choroby. W grupie młodszej wiekowo nasiloną reakcją astrogleju stwierdzano aż do końca okresu obserwacji tj. do 32 dnia udaru, podczas gdy w grupie starszej osiągnęła ona swoje maksymalne natężenie w II tygodniu choroby, a potem jej nasilenie zmalało. Szczególnie wyrażna różnica w reaktywności astrogleju pomiędzy obiema grupami przypadków była obserwowana począwszy od III tygodnia choroby i była to różnica statystycznie znamienna. Także tendencja do lokalizacji reakcji i tworzenia się wału dookoła ogniska martwicy była mniej wyrażna w grupie starszej, a proliferaację astrocytów i młode VIM(+) postaci astrogleju obserwowano rzadziej niż w grupie młodszej wiekowo.

Odmienne przebieg reakcji astrogleju w wieku starszym nasuwa pytanie o przyczyny tego zjawiska. Jeśliby założyć, że astrocyty w starszych mózgach powinny być mniej uszkodzone w wyniku niedokrwienia ze względu na obniżenie się wraz z wiekiem tempa przemian metabolicznych (London 1984; Yamaguchi i wsp. 1986) i mniejsze zapotrzebowanie na składniki energetyczne, to należałoby się spodziewać ich wcześniejszej i bardziej nasilonej reakcji. Wyniki przeprowadzonych badań są jednak całkowicie odmienne, co wskazuje, że muszą działać jeszcze inne czynniki, które mają wpływ na reakcję astrogleju.

Czynniki, które powodują przekształcenie się spoczynkowych astrocytów w formy aktywne były przedmiotem licznych badań. Postulowano, że rolę czynnika indukującego astrogliozę i astrocytozę może spełniać sam obrzęk tkanek (Cavanaugh 1970) oraz ubytek neuronów (Coleman i wsp. 1990; Canady, Rubel 1992), które w warunkach prawidłowych wydzielają m.in. astrostatynę (Rogister i wsp. 1990) i hamują proliferację astrocytów (Hatten 1985; Hatten i wsp. 1991). Rolę takich czynników mogą także odgrywać różnego rodzaju substancje krwiopochodne przenikające do oun w wyniku uszkodzenia bariery krew-mózg (Klatzo 1967; Cavanaugh 1970), substancje uwalniane przez uszkodzone neurony (Hanson, Parlow 1980) i degenerujące włókna nerwowe (Cavanaugh 1970; Barrett i wsp. 1981) oraz substancje wydzielane przez komórki biorące udział w procesie rozbiórki (Giulian, Young 1986; Gage i wsp. 1988; Giulian 1988). Czynniki takimi mogą być również m.in. hormony sterydowe (Arenander, De Vellis 1980, 1981; Trananque i wsp. 1987; O'Callaghan i wsp. 1989), cytokiny (Fontana i wsp. 1980; Merrill i wsp. 1984; Giulian i wsp. 1989), naskórkowy czynnik wzrostu (EGF-epidermal growth factor) (Brunk i wsp. 1976; Leutz, Schachner 1981; Nieto-Sampedro i wsp. 1988 b), czynnik wzrostu fibroblastów (FGF-fibroblast growth factor) (Pruss i wsp. 1982; Pettmann i wsp. 1985; Weibel i wsp. 1985; Wolburgh i wsp. 1986), zasadowe białko mieliny (MBP-myelin basic protein) (Shieffield, Kim 1977), substancje uwalniane z komórek astrogleju (GRP-gial released proteins) (Arenander, De Vellis 1980) lub z płytek krwi (Heldin i wsp. 1980). Część z wymienionych powyżej czynników ma właściwości morfogenne, część mitogenne, niektóre zaś posiadają obie te cechy jednocześnie. Czynniki te mogą być obecne w zdrowych tkankach w formie nieaktywnej (Nieto-Sampedro i wsp. 1985), albo też są syntetyzowane "de novo" lub uwalniane z tkanek w wyniku ich uszkodzenia (Rogister i wsp. 1988).

Nie wiadomo dokładnie jakie czynniki indukują proces astrogliozy i astrocytozy towarzyszący ogniskom zawałowym oraz jakie są wzajemne powiązania między poszczególnymi czynnikami stymulującymi. Hipotetyczny udział czynników morfo- i mitogennych w procesie aktywacji astrogleju w badaniach doświadczalnych przedstawiają ryciny 3 i 4.

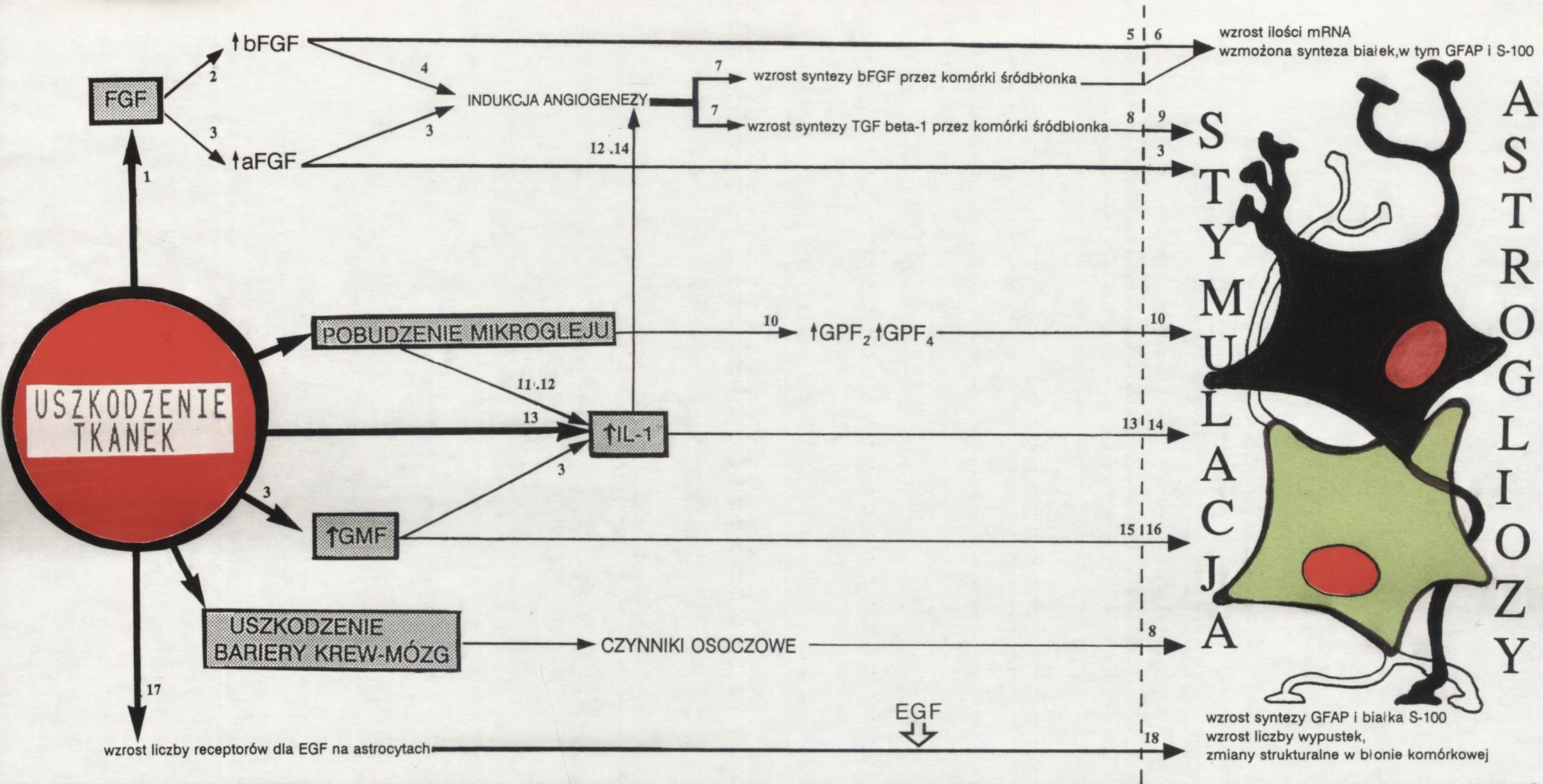
Przyczyna obserwowanej zarówno w pracach doświadczalnych (Dalton i wsp. 1968; Vijayan, Cotman 1983; Kirsh i wsp. 1990), jak i w badanym materiale mniej nasilonej i opóźnionej w wieku starczym reakcji komórek gwiaździstych wydaje się być złożona i nadal pozostaje w stadium hipotez. Obserwowana w starczych przypadkach odmienna reaktywność astrogleju może mieć związek ze zmienioną homeostazą starczego mózgu (Freilich, Weiss 1983) i zmienioną aktywnością czynników morfo- i mitogennych, albo też przyczyna tego zjawiska tkwi w samych astrocytach, w ich obniżonej z wiekiem zdolności do reakcji na czynniki stymulujące. Być może w procesie proliferacji dochodzi również do wydłużenia się okresu, w którym komórka ulega podziałowi lub też do wyczerpania się puli komórek prekursorowych.

Badania doświadczalne wykazały jednak, że czas trwania mitozy w komórkach astrogleju jest wartością stałą, niezależną od wieku (Sturrock 1974; Korr 1986), a jedynie wraz z wiekiem zmniejsza się częstość występowania mitoz (Dalton i wsp. 1968). Ponadto stwierdzono, że w ludzkich starczych mózgach około 40% komórek neurogleju nie wykazuje immunoreaktywności w stosunku do przeciwciał przeciwko statynie - białku charakterystycznemu dla postmitotycznych, spoczynkowych komórek znajdujących się w fazie G₀ (Schipper i wsp. 1992). Część z tych komórek jest natomiast reaktywna względem przeciwciał przeciwko cyklinie - białku związanemu z cyklem proliferacyjnym komórki (Bravo i wsp. 1981; Mathewst i wsp. 1984; Lee, Hurwitz 1990). Dane te mogą więc sugerować, że niektóre komórki neurogleju zostały zatrzymane w fazie G₁ lub też są w fazie S cyklu mitotycznego związanego z fizjologiczną wymianą komórkową, a więc mogą być one potencjalnym źródłem komórek matczynek podczas proliferacji gleju wyindukowanej przez czynniki mitogenne (Schipper, Wang 1990; Schipper i wsp. 1992).

Większość czynników stymulujących ma budowę białkową. W starzejącym się organizmie dochodzi do zmniejszenia się ilości RNA, zaburzenia procesu transkrypcji oraz zwiększenia się prawdopodobieństwa powstania błędu w kodzie genetycznym (Shelansky, Selkoe 1981; Sun i wsp. 1985). Być może zaburzenia te powodują syntezę białek o zmienionej budowie i właściwościach, co przejawia się między innymi obniżeniem się wraz z wiekiem aktywności lub ilości wielu enzymów i neurotransmiterów (tabela 2). Zmiany w budowie białek - jak się wydaje - mogą być zatem również odpowiedzialne za obniżenie się aktywności i/lub powinowactwa czynników indukujących reakcję komórek gwiaździstych.

Obniżenie ilości lub aktywności czynników morfo- i mitogennych w udarze niedokrwiennym może być także spowodowane mniejszym uszkodzeniem starczego mózgu związanym ze spadkiem tempa przemian metabolicznych, jak również ze zjawiskiem "tolerancji na niedokrwienie". Pacjent w wieku starczym, często z zaawansowaną miażdżycą, mógł przebyć szereg bezobjawowych incydentów niedokrwiennych, jak i przemijających i dłużej trwających okresów niedokrwienia manifestujących się obecnością objawów klinicznych. Powtarzające się incydenty niedokrwienne powodują wytworzenie się tolerancji na niedokrwienie

WPLYW CZYNNIKÓW MORFOGENNYCH NA ASTROCYTY

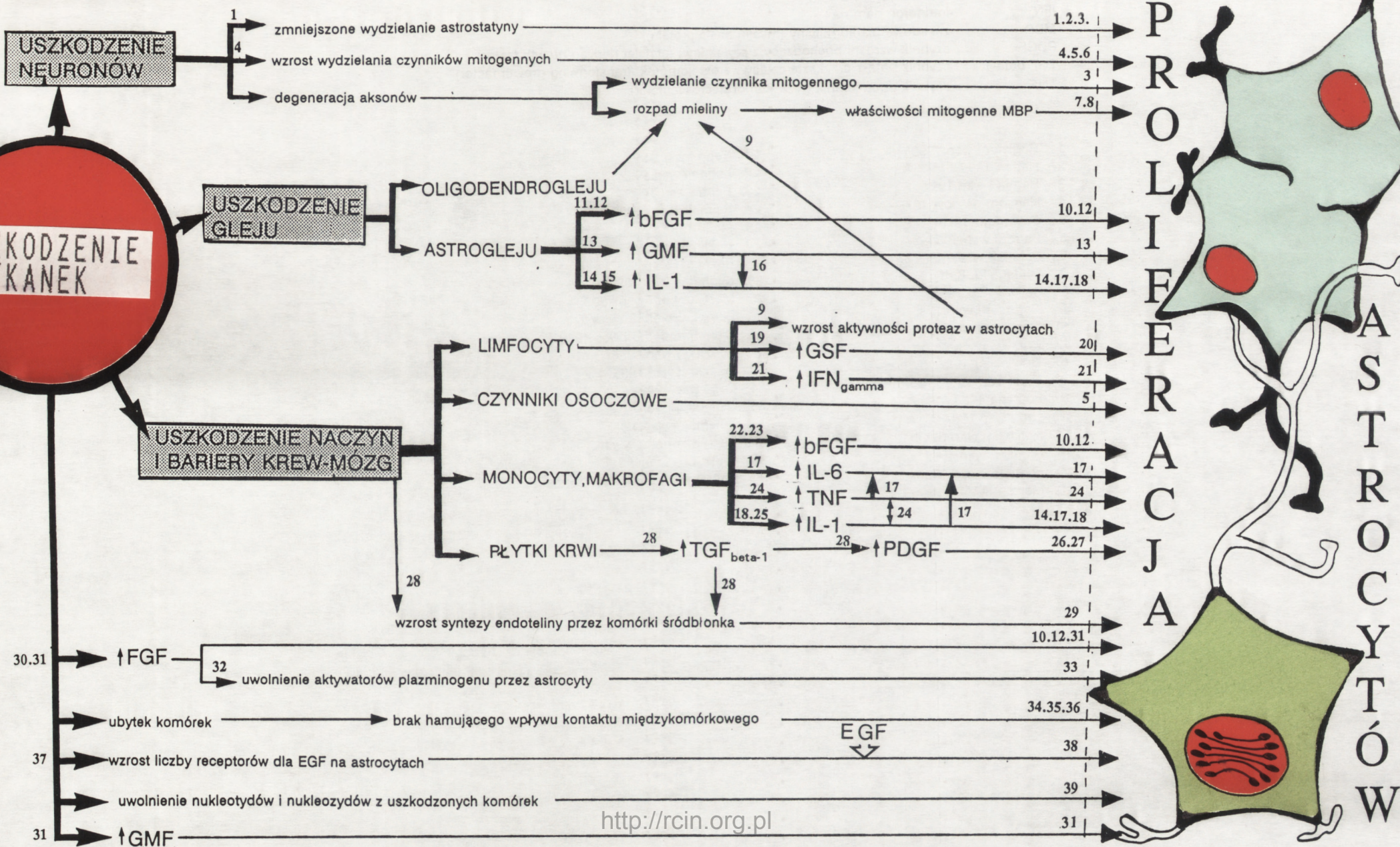


aFGF -kwaśny czynnik wzrostu fibroblastów (acid fibroblast growth factor)
 bFGF -zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (basic fibroblast growth factor)
 EGF -czynnik wzrostu naskórka (epidermal growth factor)
 GMF -czynnik dojrzewania komórek glejowych (glial maturation factor)
 GPF_{2,4} -czynniki wspomagające komórki glejowe (glial promoting factors) 2 i 4
 IL-1 -interleukina 1
 TGF beta-1 -czynnik beta-1 przekształcający wzrost komórek (transforming growth factor)

1. Berry i wsp.1983
 2. Logan i wsp.1992
 3. Nieto-Sampedro i wsp.1988 (a)
 4. Gomez-Pinilla i wsp.1992
 5. Weibel i wsp.1985
 6. Wolburg i wsp.1986

7. Hannan i wsp.1988
 8. Sakai i wsp.1990
 9. Baghdassarian i wsp.1993
 10. Giulian, Young 1986
 11. Giulian i wsp.1986
 12. Merrill 1987

13. Nieto-Sampedro, Berman 1987
 14. Giulian i wsp.1989
 15. Lim, Miller 1984
 16. Lim i wsp.1987
 17. Nieto-Sampedro i wsp.1988 (b)
 18. Avola i wsp.1988



(Kitagawa i wsp. 1990). Niedokrwienie tkanek zaburza metabolizm komórek i jednocześnie prowadzi w ciągu pierwszych 24 godzin po niedokrwieniu do wzmożonej syntezy tzw. białek szoku cieplnego (heat shock proteins) (Kiesling i wsp. 1986; Kumar, Madhukar 1991). Białka te syntetyzowane są przez różne komórki oun, między innymi także przez astrocyty (Nishimura i wsp. 1988; Scharp i wsp. 1991) i wykazują właściwości ochronne. Zapobiegają one destrukcji RNA w komórce (Yost, Lindquist 1986), wiążą uszkodzone proteiny aż do czasu ich degradacji oraz pełnią rolę chaperonów - białek związanych z wytwarzaniem prawidłowych struktur przestrzennych syntetyzowanych de novo protein (Hightower 1991; Gething, Sanbrook 1992).

Również zmiany na poziomie receptorów mogą prowadzić do obniżonej reaktywności komórek, mimo nie zmienionej ilości i właściwości czynników pobudzających. Wraz z wiekiem dochodzi bowiem do zmniejszenia się gęstości różnych receptorów komórkowych (Hess, Roth 1984; Amenta i wsp. 1991; Enna, Strong 1981). Dotyczy to między innymi receptorów dla hormonów sterydowych wśród kórnych na przykład kortyzol posiada właściwości zarówno morfogenne, powodujące przerost astrocytów (Cotman, Scheff 1979), jak i właściwości stymulujące syntezę i aktywność wielu substancji biologicznie czynnych (Arenander, De Vellis 1980; Vernadakis, Arnold 1980). Stwierdzono, że obniżona wraz z wiekiem wrażliwość komórek gwiaździstych na działanie kortyzolu może być spowodowana właśnie zaburzeniami na poziomie receptorów (Vernadakis, Arnold 1980). Być może spadek gęstości szeregu innych receptorów prowadzi także do obniżenia się wrażliwości astrocytów na czynniki aktywujące.

Inną przyczyną zmniejszonej reaktywności starczego astrogleju mogą być zmiany w obrębie samych komórek gwiaździstych. Wiadomo bowiem, że w miarę starzenia się organizmu dochodzi do wzmożonej akumulacji w astrocytach lipofuscyny oraz PAS(+) substancji tworzącej tzw. ciała skrobiowate. Stwierdzono również wzrost liczby pęczków filamentów w komórkach, wzrost zawartości GFAP (Vernadakis 1986; O'Callaghan, Miller 1991) oraz obniżoną aktywność niektórych enzymów wewnątrzkomórkowych (Vernadakis, Arnold 1980; Vijayan, Cotman 1983).

Zachodzące w trakcie starzenia się zmiany mogą więc zaburzać procesy regulacyjne w komórce i powodować jej zmniejszona reaktywność, mimo nie zmienionych właściwości czynników stymulujących.

Użycie w badanym przez nas materiale ludzkim przeciwciał monoklonalnych MIB-1 w celu oceny proliferacji komórek wykazało, że proliferacja astrocytów w przebiegu udaru niedokrwienego mózgu była niewielka.

Większość komórek, które proliferują w przebiegu procesów uszkodzających tkanki oun stanowią krwiopochodne monocyty i makrofagi (Skoff, Vaughn 1971) oraz komórki mikrogleju (Mijake, Kitamura 1992). W pracach doświadczalnych proliferacja astrogleju oceniana w mikroskopie świetlnym pojawiała się później niż proliferacja innych komórek i była najintensywniejsza około 3-4 dnia po uszkodzeniu tkanek (Latov i wsp. 1979; Petite i wsp. 1988,1990; Takamiya i wsp. 1988; Miyake i wsp.1988,-1989,1992; Miyake, Kitamura 1991). Badania przeprowadzone na naszym materiale wykazały, że proliferaacja komórek gwiaździstych pojawiała się znacznie później i trwała dłużej, aż do 19 dnia po wystąpieniu objawów udaru mózgu. Stwierdzane przez nas

niewielkie nasilenie proliferacji astrogleju znalazło swoje potwierdzenie w wynikach niektórych prac doświadczalnych (Latov i wsp. 1979; Miyake i wsp. 1988,1989,1992; Miyake, Kitamura 1991), chociaż rozbieżności między uzyskanymi wynikami są niekiedy dosyć znaczne, a wiele prac w ogóle pozbawionych jest ilościowej oceny procesu proliferacji. Wobec dość kontrowersyjnych wyników naszych badań, wydaje się konieczne rozważenie, czy obserwowana przez nas tak niewielka proliferacja komórek gwiaździstych nie jest wynikiem fałszywie ujemnym. Jedną z przyczyn tego zjawiska mogłoby być użycie do badań materiału sekcyjnego. Zmiany autolityczne, związki chemiczne stosowane do utrwalenia materiału oraz dość traumatyzująca procedura reakcji immunocytochemicznych mogły spowodować uszkodzenie białek w komórkach i w efekcie ujawnienie się tylko części astrocytów zawierających antygen Ki-67. Inną przyczyną obserwowanej przez nas niewielkiej proliferacji astrogleju mogło być również użycie skrawków o stosunkowo niewielkiej wielkości. Skrawki te obejmowały bowiem tylko fragment ludzkiego mózgu, w którym znajdowała się część ogniska martwicy wraz z przylegającą do niego istotą białą oraz niekiedy korą mózgu. Jeśli proliferacja astrogleju byłaby zjawiskiem uogólnionym, to badany skrawek tkanek mógłby być po prostu zbyt mały, aby można było zaobserwować proliferację astrogleju w obszarach bardziej oddalonych od ogniska. Jednakże we wszystkich badaniach doświadczalnych zgodnie stwierdzono, że proliferujące komórki astrogleju są zlokalizowane tylko w bezpośrednim sąsiedztwie ogniska martwicy (Latov i wsp. 1979; Takamiya i wsp. 1988; Janeczko 1989; Petito i wsp. 1990). Jest zatem bardzo prawdopodobne, że podobna lokalizacja procesu proliferacji miała miejsce również w naszym materiale, chociaż nie udało się znaleźć w dostępnej literaturze żadnych innych prac potwierdzających tę hipotezę.

Zastosowana przez nas metoda oceny proliferacji komórek gwiaździstych mogła również wpłynąć na uzyskane wyniki badań. W sekcyjnym materiale ludzkim ocena zjawiska dynamicznego jakim jest proliferacja jest dosyć trudna. Nie jest bowiem możliwe zastosowanie metod używanych w pracach doświadczalnych jak np. długotrwałego podawania znakowanych izotopami nukleotydów (tymidyny lub bromodeoksyurydyny), która to metoda pozwala na wykrycie większości komórek proliferujących w danym przedziale czasowym. Podobnie niemożliwe jest użycie związków chemicznych typu winkrystyny, zatrzymujących proliferujące komórki w stadium metafazy. Przepływowa analiza cytometryczna (flow cytometric analysis) mająca także zastosowanie do skrawków parafinowych, jest dobrą metodą oceny proliferacji komórek w nowotworach, ale nie w tkankach, w których liczba ulegających mitozie komórek jest niewielka w stosunku do ogólnej liczby komórek (Woosley 1991). Nowsze metody oceny proliferacji oparte na odmiennych właściwościach chromatyny dzielących się komórek, hybrydyzacji czy impregnacji srebrowej genu dla rybosomalnego RNA, są metodami trudno dostępnymi, kosztownymi i jeszcze nie wystandaryzowanymi. Dlatego też najbardziej uniwersalnymi metodami oceny proliferacji komórek w ludzkim materiale sekcyjnym są w chwili obecnej metody immunocytochemiczne. Zastosowana w naszym materiale nowa metoda z użyciem przeciwciał przeciwko fragmentowi antygeny Ki-67 wydaje się być najlepszą z dotychczas stosowanych. Ze względu na obecność antygeny Ki-67 we wszystkich fazach cyklu proliferacyjnego (Gerdes i wsp. 1991) pozwala ona bowiem na wykrycie stosunkowo największej liczby proliferujących komórek. Metody immunocytochemiczne z użyciem innych przeciwciał uwiadcniają jedynie komórki znajdujące się w poszczególnych fazach cyklu jak np. w fazie S w przypadku przeciwciał przeciwko

Podważalnego!

cyklinie (Bravo i wsp. 1981). Dodatkową zaletą użycia przeciwciał MIB-1 jest fakt, że okres półtrwania antygenu Ki-67 w postmitotycznych komórkach trwa około 1 godziny (Bruno, Darzynkiewicz 1992). Długość cyklu mitotycznego astrocytów wynosi 18-20 godzin (Korr 1980, 1986). Przedłużenie o jedną godzinę okresu, w którym proliferujące komórki astrogleju można uwidocznić pozwala na ujawnienie nielicznej, dodatkowej grupy komórek, które zakończyły właśnie proces podziału. Ten fakt ma pewne znaczenie w ocenie proliferacji astrogleju, ponieważ tylko bardzo niewielka część reaktywnych astrocytów - wynosząca około 5-17% - ulega proliferacji (Miyake i wsp. 1988; 1989; 1992). Metoda z użyciem przeciwciał MIB-1 posiada jednak pewne wady, bowiem nawet przy jej zastosowaniu nie zostaje ujawniona cała populacja proliferujących w danym dniu astrocytów. Antygen Ki-67 może być wykryty w astrocytach w okresie o maksymalnej długości 21 godzin, więc część komórek która najwcześniej rozpoczęła cykl mitotyczny mogła już go zakończyć i stać się MIB(-). Ponadto we wczesnym okresie fazy G₁ ilość antygenu Ki-67 jest jeszcze niewielka, co może prowadzić do uznania części komórek znajdujących się w tym momencie cyklu za fałszywie ujemne (Bruno, Darzynkiewicz 1992). Teoretycznie jednak liczba astrocytów, których proliferacja w danym dniu nie została wykryta wydaje się stanowić nieznaczną część populacji proliferujących komórek astrogleju.

Istnieje możliwość, że nie wszystkie proliferujące astrocyty udało się wykryć w podwójnej reakcji immunocytochemicznej z użyciem przeciwciał MIB-1 i przeciwciał przeciwko białku GFAP. Jeżeli proliferacji ulegają prekursorowe komórki astrogleju, to być może są one jeszcze VIM(+) a nie GFAP(+), albo też są to jeszcze "młodsze" komórki prekursorowe, posiadające np. tylko antygen A₂B₅ (Raff i wsp. 1983).

Badania doświadczalne wykazały, że jest jednak możliwe wykrycie proliferacji astrogleju przy użyciu przeciwciał przeciwko białku GFAP (Latov i wsp. 1979; Miyake i wsp. 1988, 1992; Takamiya i wsp. 1988). Wykazano również, że po kilku dniach od urazu 60% astrocytów na brzegu ogniska martwicy jest zarówno VIM(+) jak i GFAP(+), 40% wykazuje tylko reaktywność względem przeciwciał anti-GFAP, natomiast komórek astrogleju, które byłyby tylko VIM(+) nie znaleziono w ogóle (Calvo i wsp. 1990), chociaż w hodowlach tkankowych ludzkich astrocytów były one obecne (Perzelova, Mares 1993). Użycie przez nas przeciwciał przeciwko wimentynie i antygenowi Ki-67 wykazało, że część MIB(+) komórek jest również VIM(+). Komórki te obecne jednak były przede wszystkim śród- i okołonaczyniowo oraz w ognisku martwicy i swoją budową przypominały one monocyty lub makrofagi. Zastosowanie przeciwciał przeciwko wimentynie zamiast przeciwciał przeciwko GFAP może więc prowadzić do fałszywie dodatnich wyników. Komórki mezodermalne, których proliferację obserwuje się w przebiegu procesów uszkodzających tkanki oun (Skoff, Vaughn 1971) są bowiem także VIM+ (Pixley i wsp. 1984), a cechy morfologiczne reaktywnych astrocytów i monocytów/makrofagów nie zawsze pozwalają na odróżnienie tych komórek w mikroskopie świetlnym.

Częściowym rozwiązaniem problemu identyfikacji dzielących się komórek może być zastosowanie innych markerów astrocytarnych. Badania z użyciem przeciwciał przeciwko białku S-100 oraz izotopów tymidyny potwierdziły spostrzeżenia o ograniczonym zasięgu, krótkim czasie trwania i niewielkim nasileniu proliferacji astrogleju w przebiegu procesów uszkodzających tkanki oun (Miyake i wsp. 1989). Tak więc wyniki badań przeprowadzonych przez nas na ludzkich mózgowach są zbliżone do wyników niektórych badań doświadczalnych i wskazują, że proliferacja astrogleju odgrywa prawdopodobnie niewielką rolę w reaktywnej glejozie, a większość

reaktywnych astrocytów pojawia się w wyniku pobudzenia obecnych w tkankach dojrzałych komórek gwiaździstych, a nie w wyniku ich proliferacji.

Mimo niewielkiego nasilenia procesu proliferacji w badanym przez nas materiale można było zauważyć różnice w aktywności mitotycznej astrogleju między przypadkami z obu grup wiekowych. Proliferujące, MIB(+) astrocyty w starczych mózgach były mniej liczne i obserwowano je trzykrotnie rzadziej niż w grupie młodszej wiekowo, co sugeruje, że wraz z wiekiem aktywność proliferacyjna astrogleju ulega zmniejszeniu. Obniżenie się aktywności proliferacyjnej w miarę postępu procesu starzenia się nie jest ograniczone tylko do populacji astrocytów, lecz obserwowano je i w innych ludzkich komórkach np. w fibroblastach (Riabowol 1992; Steward, Dell'Orco 1992; Won i wsp. 1992) i limfocytach (Takashita i wsp. 1992). Przyczyna tego zjawiska nie jest w pełni wyjaśniona. Wiadomo już jednak, że obserwowana wraz z wiekiem stopniowa utrata przez fibroblasty zdolności do namnażania się nie jest związana ani ze zmianą ilości RNA, ani też z utratą przez te komórki zdolności do replikacji DNA, lecz z inicjacją tego procesu. Zahamowanie przejścia komórek w fazę S cyklu proliferacyjnego może być między innymi spowodowane obniżeniem się poziomu cykliny - białka pomocniczego dla polimerazy delta, biorącego udział w regulacji procesu proliferacji (Steward, Dell'Orco 1992). Przyczyna tego zjawiska jest prawdopodobnie związana z zaburzeniami na poziomie genetycznym komórki. Ostatnie badania wykazały bowiem, że wraz z wiekiem ekspresja genu dla cykliny ulega obniżeniu (Won i wsp. 1992). Cyklina nie jest jedynym czynnikiem regulującym proces proliferacji. W starych fibroblastach stwierdzono spadek ekspresji genu Fos, jednego z genów regulatorowych cyklu komórkowego (Seshadri, Campisi 1990). Gen Fos koduje czynnik transkrypcyjny, który prawdopodobnie odgrywa rolę w późniejszych niż G_1 fazach cyklu mitotycznego. Produkt genu Fos nie działa jednak samodzielnie, lecz wspólnie z innymi białkami regulatorowymi, z którymi tworzy aktywny kompleks przy pomocy specjalnych czynników wiążących zwanych AP-1 (AP-1 binding factors) (Riabowol i wsp. 1992). W starzejących się fibroblastach aktywność czynników AP-1 znacznie się obniża, co może być jednym z głównych defektów molekularnych odpowiedzialnych za spadek proliferacji komórek w odpowiedzi na czynniki mitogenne (Riabowol 1992; Riabowol i wsp. 1992). Być może obniżenie się wraz z wiekiem poziomu cykliny lub innych regulatorów proliferacji jest również przyczyną obserwowanej przez nas mniej nasilonej proliferacji astrocytów w grupie starczej.

Osobną i nadal nie rozstrzygniętą pozostaje kwestia, czy wimentyna może być uznana za pośredni wskaźnik proliferacji astrogleju. Wyniki naszych badań, w których stwierdzono obecność MIB(+) i jednocześnie VIM(+) komórek nie upoważniają nas niestety do wyciągnięcia z tego faktu żadnych wniosków, ponieważ zarówno morfologiczne kryteria oceny komórek w mikroskopie świetlnym nie były jednoznaczne, jak również populacja proliferujących komórek była zbyt mała.

O ewentualnym istnieniu związku pomiędzy VIM(+) astrocytami a ich proliferacją można więc jedynie wnioskować pośrednio. W badanym materiale ludzkim, jak również w pracach doświadczalnych, lokalizacja zarówno proliferujących astrocytów (Latov i wsp. 1979) jak i VIM(+) komórek gwiaździstych (Schiffer i wsp.1986; Petito i wsp. 1992) była podobna i ograniczona tylko do tkanek na brzegu ogniska martwicy. Ponadto proliferacja astrogleju oceniana w mikroskopie świetlnym przy użyciu izotopów tymidyny była obserwowana począwszy od 1-2 dnia po urazie (Latov i wsp. 1979; Miyake i wsp. 1988; 1989; 1992), natomiast VIM(+) astrocyty pojawiały się nieco później, około 3 dnia po uszkodzeniu tkanek (Takamiya i wsp. 1988; Petito i

wsp. 1990), co może wskazywać, że VIM(+) komórki gwiaździste mogą być młodymi komórkami potomnymi astrogleju. Ponieważ pojedyncze VIM(+) astrocyty stwierdzono w istocie białej mózgu u ludzi zdrowych (Yamada i wsp. 1992), a niektóre subpopulacje astrogleju posiadają zdolność do migracji (Goldberg, Bernstein 1988; Janeczko 1989; Zhou i wsp. 1990), więc istnieje możliwość, że obecne w warunkach fizjologicznych VIM(+) astrocyty migrują w kierunku ogniska zawałowego pod wpływem różnorodnych czynników pochodzących z tego ogniska. Hipoteza ta jednak nie wyjaśnia, dlaczego VIM(+) astrocyty są obecne tylko na brzegu ogniska martwicy. Jeśli bowiem byłaby ona prawdziwa, to pojedyncze, migrujące VIM(+) komórki gwiaździste powinny być także obserwowane w tkankach bardziej odległych od ogniska martwicy, czego wyniki badań doświadczalnych nie potwierdziły (Schiffer i wsp. 1986; Takamiya i wsp. 1988; Petito i wsp. 1990). Uważa się, że podobnie jak u dorosłych zwierząt, w mózgu ludzkim zachodzi również powolny proces wymiany populacji astrogleju (Schipper i wsp. 1992). Zjawisko to mogłoby zatem tłumaczyć obecność pojedynczych VIM(+) astrocytów stwierdzaną w mózgu ludzi, które byłyby komórkami potomnymi po podziale mitotycznym komórek prekursorowych.

Wątpliwości co do związku VIM(+) astrocytów z ich proliferacją może budzić dysproporcja pomiędzy niekiedy stosunkowo dość dużą liczbą VIM(+) komórek gwiaździstych a pojedynczymi MIB(+) astrocytami. Wydaje się jednak, że jest to sprzeczność pozorna. Okres, w którym antygen Ki-67 jest wykrywalny w proliferujących komórkach astrogleju trwa tylko kilkanaście godzin i jest znacznie krótszy niż czas, w którym astrocyty są VIM(+). Istnieje zatem możliwość, że obserwowane niekiedy w naszym materiale dość liczne VIM(+) astrocyty pojawiły się w tkankach po podziale mitotycznym mającym miejsce np. 2 czy 3 dni wcześniej. Komórki te stanowiłyby więc sumę postmitotycznych astrocytów pojawiających się w kolejnych dniach choroby i ich liczba byłaby zależna nie tylko od nasilenia procesu proliferacji, ale także od szybkości dojrzewania komórek potomnych i stawania się VIM(-). Dość znamieny wydaje się przy tym fakt, że w przypadkach, w których stwierdzano dość liczne VIM(+) astrocyty obserwowano jednocześnie największą aktywność proliferacyjną astrogleju (przypadki M/14 nr 71/64 i S/11 nr 112/73). Dane te wydają się więc potwierdzać hipotezę o pojawianiu się VIM(+) astrocytów w wyniku proliferacji komórek astrogleju.

Badania przeprowadzone na materiale kontrolnym wykazały obecność reaktywnych astrocytów w półkuli mózgu przeciwnej do zawału. Fakt ten jest oczywisty w przypadkach, w których stwierdzono obecność drobnych ognisk martwicy w półkuli pozornie "zdrowej", natomiast obecność reakcji astrogleju w półkulach bez wyraźnych mikroskopowych cech uszkodzenia jest dość zaskakująca. Zjawisko to stwierdzono nie tylko w naszym materiale, ale także w pracach doświadczalnych (Schiffer i wsp. 1986; Moundijan i wsp. 1991).

Obecność uogólnionej reakcji astrogleju może mieć co najmniej 3 przyczyny.

Po pierwsze, reakcja astrocytów w półkuli przeciwnej do zawału może być wywołana pierwotnym uszkodzeniem aksonów tworzących drogi spoidłowe, jak również wtórną degeneracją neuronów. Wydaje się jednak, że zjawisko to tylko w niewielkim stopniu stymuluje reakcję komórek gwiaździstych. Badania doświadczalne, w których porównywano reaktywną głoję wywołaną uszkodzeniem istoty białej i szarej mózgu

u zwierząt z zachowanym i przeciętym spoidłem wielkim wykazały, że jest ona w obu grupach podobna (Moumdijan i wsp. 1991). Dodatkowy czynnik indukujący reakcję astrocytów związany z uszkodzeniem i degeneracją neuronów i włókien nerwowych typu Wallera nie odgrywa więc znaczącej roli w stymulacji reaktywnej glejzozy.

Drugą przyczyną obecności reakcji astrogleju w przeciwstronnej do zawału półkuli mózgu może być migracja komórek gwiaździstych z okolic ogniska uszkodzenia, co jest wynikiem zachowanej przez niektóre subpopulacje astrocytów zdolności do przemieszczania się (Goldberg, Bernstein 1988; Janeczko 1989). W cytowanej już pracy na doświadczalnej wykonanej na zwierzętach z przeciętym i zachowanym spoidłem wielkim (Moumdijan i wsp. 1991) brak różnicy w nasileniu reakcji astrogleju pomiędzy obiema grupami zwierząt przemawia przeciwko tej hipotezie. Choć istnieje możliwość, że astrocyty migrują także przez inne drogi niż spoidło wielkie, to jednak ciało modzelowate stanowi główne połączenie między obiema półkulami mózgu i zniszczenie tej ważnej drogi migracji powinno znaleźć swoje odbicie w mniej licznej populacji reaktywnych astrocytów u zwierząt po callosotomii, co nie znalazło potwierdzenia.

Trzecia i najistotniejsza - jak się wydaje - przyczyna obecności GFAP(+) i S-100(+) komórek gwiaździstych w półkuli przeciwnej do zawału może być związana z uogólnionym wpływem związków stymulujących astrogliazę i astrocytozę. W badanym materiale ludzkim obszar zawału wywołany niedrożnością tętnicy środkowej mózgu był dość duży i obejmował przeciętnie 1/3 przekroju poprzecznego półkuli. Jest więc prawdopodobne, że czynniki indukujące reakcję astrocytów były obecne nie tylko w uszkodzonych tkankach i ich bezpośrednim sąsiedztwie, ale także w obszarach bardziej oddalonych od ogniska martwicy, podobnie jak bardziej uogólnionym zjawiskiem towarzyszącym zawałowi mózgu był np. obrzęk tkanek. Koncentracja tych czynników w tkankach bardziej oddalonych od ogniska martwicy, a zwłaszcza w drugiej półkuli mózgu była prawdopodobnie jednak niewielka, stąd też tylko niewielkie nasilenie i krótkotrwałość wywołanej przez nie reakcji.

Stwierdzone w naszym materiale różnice w reaktywności astrogleju w kontrolnych półkulach mózgu między grupą przypadków starczych i przypadkami w wieku młodszym, były podobnego charakteru jak w półkulach z pojedynczym ogniskiem zawałowym w obszarze unaczynienia tętnicy środkowej mózgu. Dane uzyskane na podstawie badań materiału kontrolnego potwierdzają więc obserwowaną tendencję do zmniejszania się reakcji astrogleju w miarę starzenia się organizmu.

Odmienna reaktywność starczego astrogleju może - jak się wydaje - częściowo tłumaczyć obserwowane różnice w przebiegu klinicznym udaru niedokrwienno u ludzi w zależności od ich wieku.

Nagle i głębokie uszkodzenie tkanek ośrodkowego mózgu związane z wysokim tempem przemian metabolicznych i dużym zapotrzebowaniem na tlen i składniki energetyczne, gwałtownie narastające zaburzenia przepuszczalności bariery krew-mózg (Rafałowska i wsp. 1990) i masywny obrzęk tkanek oraz niewykształcenie mechanizmów adaptacyjnych, mogą stanowić przyczynę tak dramatycznego przebiegu udaru mózgu w grupie młodszej wiekowo w pierwszym okresie choroby. Tak więc wzmożona reaktywność tkanek w wieku młodszym w porównaniu z reaktywnością tkanek starczych ma w tych przypadkach wpływ niekorzystny. Sytuacja prawdopodobnie zmienia się w drugim

okresie choroby, kiedy to pojawiają się reaktywne astrocyty i rozpoczyna się proces proliferacji astrogleju. Utrzymujący się przez lata pogląd, że reaktywna glejoza jest zjawiskiem niekorzystnym, hamującym regenerację aksonów (Reier 1986), wydaje się obecnie być poglądem jednostronnym, nie uwzględniającym jej dynamicznej natury. Powstanie wału glejowego z reaktywnych astrocytów wokół ogniska uszkodzenia utrudnia rozprzestrzenianie się procesów patologicznych, izolując zdrowe tkanki od wpływu czynników szkodliwych pochodzących z ogniska zawałowego oraz ze środowiska zewnętrznego (Reier, Houle 1988; Scharp i wsp. 1991). Reaktywne astrocyty wydzielają ponadto szereg substancji aktywnych (rycina 5), w tym przede wszystkim czynnik wzrostu nerwu (NGF-nerve growth factor) (Lindsay 1979; Gage i wsp. 1988; Lu i wsp. 1991) wpływający na odrost uszkodzonych aksonów. Podobną rolę przypisuje się białku S-100, a zwłaszcza wydzielanemu przez astrocyty dimerowi S-100 beta (Eldijk, Zimmer 1987; Whitaker-Azmita i wsp. 1990), który ma właściwości neurotroficzne i inicjuje odrost wypustek nerwowych (Kligman, Marshak 1985; Marshak 1990; Whitaker-Azmita i wsp. 1990).

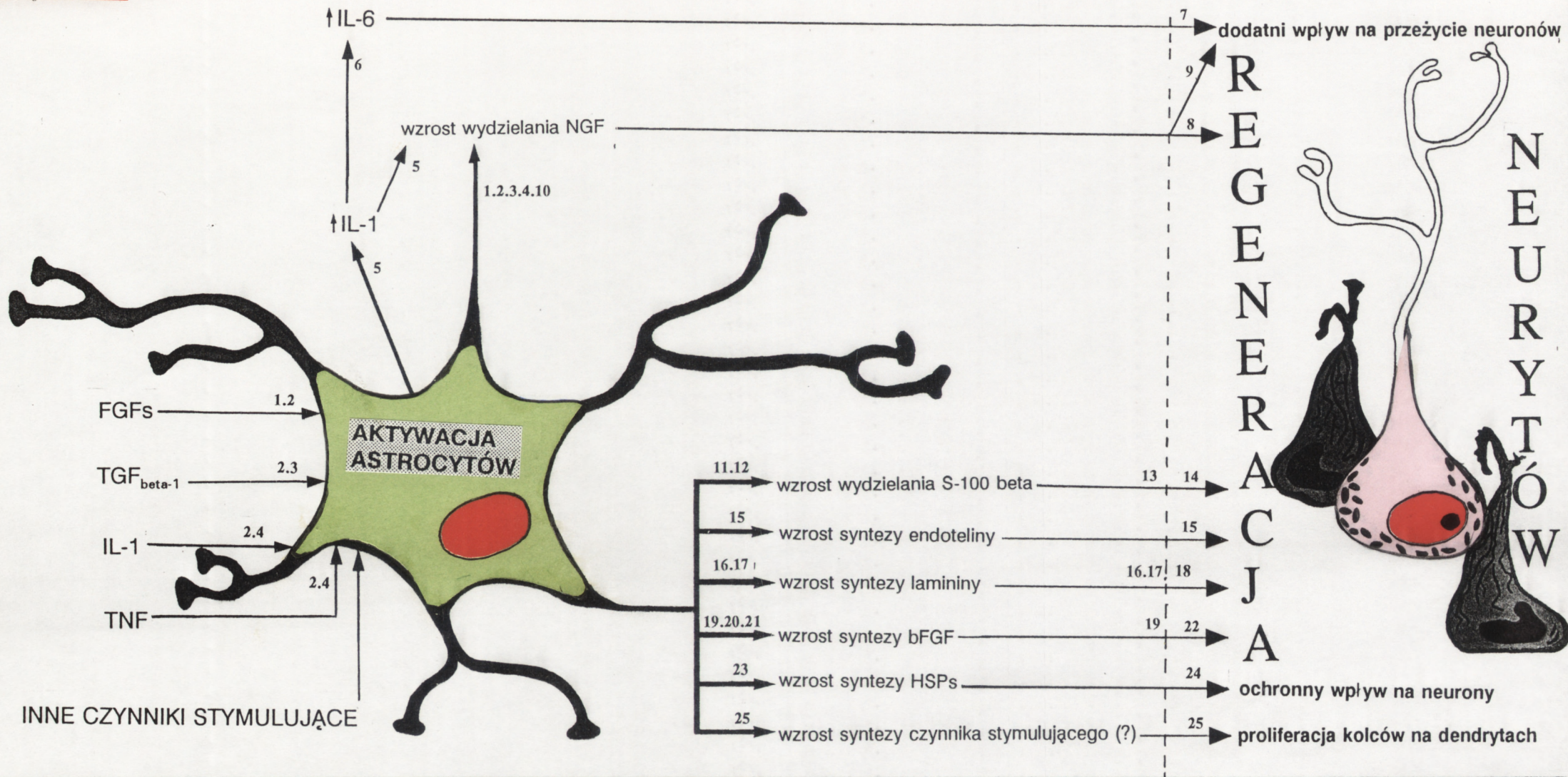
Laminina - składnik błon podstawnych, której wybitny wzrost obserwuje się w reaktywnych komórkach gwiaździstych (Liesi 1985), wykazuje także działanie korzystne dla regeneracji aksonów (Manthorpe i wsp. 1983). Czynniki humoralne pochodzące z reaktywnych astrocytów zmniejszają ponadto obrzęk tkanek poprzez modyfikację przepuszczalności bariery krew-mózg (Kinoshita i wsp. 1990), wpływają stymulująco na proliferację kolców na dendrytach (Seil i wsp. 1992) i wykazują działanie ochronne wobec neuronów (Vibulsresth i wsp. 1986; Kinoshita i wsp. 1990).

Działanie takie może być również efektem obserwowanego po niedokrwieniu wzrostu ilości syntetazy glutaminianowej w reaktywnych astrocytach, co powoduje szybszą przemianę obecnego w nadmiarze w przestrzeni zewnątrzkomórkowej glutaminianu i zmniejszenie jego neurotoksycznego wpływu (Petito i wsp. 1992).

Proces regeneracji w oun jest niewątpliwie utrudniony w porównaniu z np. regeneracją w obwodowym układzie nerwowym i na jego przebieg wpływa wiele czynników zarówno hamujących, jak i stymulujących. W świetle dotychczasowych badań wydaje się jednak, że reaktywne astrocyty raczej wspomagają a nie hamują proces regeneracji. Wyniki ostatnich badań przeprowadzonych na hodowlach komórkowych sugerują, że właściwości hamujące odrost aksonów mogą posiadać oligodendrocyty i mielina (Schwab, Caroni 1988; Hatten i wsp. 1991) oraz czynniki wydzielane przez pobudzone komórki mikrogleju (Giulian i wsp. 1993).

Nie tylko reaktywność astrogleju, ale również charakter czynnika ją wywołującego odgrywa rolę w procesie regeneracji. Rozplem gleju o charakterze anisomorficznym, jaki pojawia się w przypadku rozległego uszkodzeniu tkanek oun z towarzyszącym mu uszkodzeniem bariery krew-mózg, określany jest jako "glejoza dopuszczająca" (permissive gliosis) (Mansour i wsp. 1990), ponieważ pozwala na regenerację aksonów. W przeciwieństwie do "glejozy dopuszczającej", drugi typ glejozy o charakterze isomorficznym, jaki towarzyszy np. zwyrodnieniu aksonalnemu, utrudnia odrost włókien nerwowych (Bovolenta i wsp. 1992). W przypadku niedokrwienia i ogniska zawałowego mamy do czynienia z "glejozą dopuszczającą", a więc żywsza reakcja astrogleju jaka była obserwowana w grupie młodszej wiekowo miałyby działanie zdecydowanie korzystne, wspomagające regenerację.

Niemożliwe jest oczywiście bezpośrednio przetransponowanie na organizm ludzki wyników badań doświadczalnych i badań prowadzonych na hodowlach tkankowych. U człowieka problem reaktywności astrogleju i jego związku z procesem regeneracji



bFGF -zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (basic fibroblast growth factor)
 EGF -czynnik wzrostu naskórka (epidermal growth factor)
 GMF -czynnik dojrzewania komórek glejowych (glial maturation factor)
 GSF -czynnik stymulujący komórki glejowe (glial stimulating factor)
 IL-1,6 -interleukiny 1 i 6
 IFN_{gamma} -interferon gamma
 MBP -zasadowe białko mieliny (myelin basic protein)
 PDGF -czynnik wzrostu pochodzący z płytek krwi (platelet derived growth factor)
 TNF -czynnik obumierania guza (tumor necrosis factor)

1. Yoshiga, Gage 1991
 2. Yoshida, Gage 1992
 3. Lindholm i wsp.1992
 4. Gadiant i wsp.1990
 5. Nieto-Sampedro, Berman 1987
 6. Harrison, Campbell 1988
 7. Hama i wsp.1989
 8. Lindsay 1979
 9. Vibulsresth i wsp.1979

10. Lu i wsp.1991
 11. Eldijk, Zimmer 1987
 12. Whitaker-Azmitta i wsp.1990
 13. Kligman, Marshak 1985
 14. Marshak i wsp.1990
 15. MacCumber i wsp.1990
 16. Lander i wsp.1985
 17. Liesi 1985

18. Manthorpe i wsp.1983
 19. Gomez-Pinilla i wsp.1992
 20. Hatten i wsp.1992
 21. Logan i wsp.1992
 22. Walicke i wsp.1986
 23. Nishimura i wsp.1988
 24. Gething, Sambrook 1992
 25. Seil i wsp.1992

jest znacznie bardziej złożony. Jest to między innymi związane z obecnością wielu dodatkowych czynników wpływających na reakcje zachodzące w ośrodkowym układzie nerwowym, jak na przykład współistnienie innych chorób ogólnoustrojowych, niejednorodna wielkość, przyczyna i dynamika powstania ogniska martwicy, uwarunkowane genetycznie indywidualne różnice w reaktywności tkanek, a wreszcie możliwość istnienia u człowieka zjawiska "dojrzewania" zmian morfologicznych powodującego powiększenie się obszaru uszkodzenia w mózgu. Pomimo tych wszystkich zastrzeżeń wydaje się prawdopodobne, że w ośrodkowym układzie nerwowym człowieka część reakcji może przebiegać podobnie jak w materiale doświadczalnym.

Wydaje się - niekiedy wbrew opiniom innych badaczy (Calvo i wsp. 1990)- że VIM(+) astrocyty są młodymi, niedojrzałymi postaciami astrogleju. Obecność młodych astrocytów w mózgu pacjentów zmarłych w przebiegu udaru niedokrwienego może także mieć związek z procesem regeneracji. Uważa się bowiem, że młode komórki gwiazdziste posiadają właściwości korzystne dla regeneracji, które zanikają w miarę ich dojrzewania (Smith i wsp. 1990). Trzykrotnie rzadziej obserwowana w naszym materiale obecność VIM(+) astrocytów w grupie starszej w porównaniu z grupą młodszą wiekowo sugerowałaby więc istnienie znacznie mniej korzystnych warunków do eliminacji skutków uszkodzenia tkanek w miarę starzenia się organizmu.

WNIOSKI

1. Proces starzenia znajduje swoje odbicie w reaktywności komórek gwiaździstych.
2. Reakcja astrocytów jest mniej nasilona i bardziej krótkotrwała w wieku starym w porównaniu z reakcją w wieku średnim.
3. Proliferacja astrogleju - oceniana na podstawie immunoreaktywności astrocytów w stosunku do przeciwciał MIB-1 - odgrywa tylko niewielką rolę w reaktywnej glejzie. Większość reaktywnych astrocytów pojawia się prawdopodobnie w wyniku pobudzenia obecnych w tkankach oun spoczynkowych komórek gwiaździstych.
4. Istnieją duże różnice indywidualne w reaktywności komórek gwiaździstych, nieco wyraźniej zaznaczone w wieku średnim.
5. Podwójna reakcja immunocytochemiczna z użyciem przeciwciał MIB-1 przeciwko fragmentowi antygeny Ki-67 proliferujących komórek oraz przeciwciał przeciwko białku GFAP, pozwala na wykrycie proliferujących astrocytów w skrawkach parafinowych w przypadkach z sekcijnego materiału ludzkiego.

ADDENDUM

TABELA I

DANE KLINICZNE I WYNIKI SEKCJI OGÓLNEJ

LP	GRU- PA DZIEŃ	NR	WIEK	CHOROBY TOWARZYSZĄCE	WYNIK SEKCJI OGÓLNEJ
1.	M/1	86/89	54	HA	świeży zawał serca, blizna po zawale lewej nerki
2.	M/1	67/76	57	wada serca, FA	świeży zawał serca, wada serca
3.	S/1	96/90	88	wada serca, MC	wada serca, płyn w jamie opłucnowej
4.	S/1	71/91	82	MC	świeży zawał serca, blizna po zawale ściany dolnej serca, martwica krwotoczna głowy trzustki
5.	M/2	63/64	53	FA	zwężenie zastawki dwudzielnej, stan po zapaleniu wsierdza, płyn w jamie opłucnowej
6.	S/2	48/87	80	(-)	miażdżycza uogólniona naczyń średniego stopnia.
7.	M/3	58/71	53	zaburzenia rytmu serca	zator skrzeplinowy pnia tętnicy płucnej, skrzepliny przyścienne w lewym przedsionku serca.
8.*	M/3	53/91	54	zaburzenia rytmu serca, DM, MC	miażdżycza naczyń wieńcowych.
9.	M/3	22/74	49	wada serca, FA	wada zastawki dwudzielnej serca
10.*	S/3	115/90	88	nadczynność tarczycy	wada serca, krwotoczne zapalenie śluzówki żołądka
11.	S/3	146/79	92	DM	miażdżycza naczyń dużego stopnia
12.	S/3	78/91	92	HA	blizna po zawale serca, odoskrzelowe zapalenie płuc
13.	M/4	59/69	60	mocznica	nie wykonano
14.*	M/4	155/80	60	FA	blizna i tętniak pozawałowy serca, skrzepliny przyścienne w jamach serca, blizna po zawale płuca lewego
15.	M/4	73/79	55	FA	przerost lewej komory serca, obrzęk płuc
16.*	S/4	25/89	86	FA, HA	zapalenie oskrzeli i oskrzelików
17.	S/4	16/89	86	zaburzenia rytmu serca	przewlekłe zapalenie oskrzeli, miażdżycza naczyń bardzo dużego stopnia

18.	S/4	16/71	81	FA, HA,	obustronne zapalenia płuc, przerost lewej komory serca, miażdżycza uogólniona naczyń.
19.	M/5	90/85	57	HA	świeży zawał serca, blizna po zawale ściany tylnej serca.
20.	S/5	119/73	83	FA, nadczynność tarczycy	miażdżycza uogólniona naczyń
21.*	M/6	77/80	57	wada serca, FA	skrzepliny przyścienne w lewym uszku serca, stan po przebytych zapaleniu wsierdza, wada serca, obrzęk płuc.
22.	M/6	45/64	63	FA	ropne zapalenie tchawicy i oskrzeli, miażdżycza uogólniona naczyń bardzo dużego stopnia.
23.	S/6	42/86	93	HA, FA	blizna po zawale ściany dolnej serca, ropniak pęcherzyka żółciowego.
24.*	S/6	145/79	101	FA	zapalenie płuc.
25.	S/6	24/86	91	FA, MC	ropne zapalenie oskrzeli, miażdżycza uogólniona naczyń
26.	M/7	14/68	61	HA, gruźlica	przerost lewej komory serca, zmiany pogruźlicze w szczytach płuc.
27.*	M/7	28/91	63	FA, HA, hyperlipidemia	skrzeplina przyścienna w uszku lewego przedsionka serca, blizna po zawale ściany przedniej i dolnej serca.
28.	S/7	111/73	81	HA	przerost lewej komory serca
29.*	S/7	36/85	89	FA	świeży zawał serca.
30.	S/7	100/74	86	FA	rozedma i zapalenie płuc, miażdżycza uogólniona naczyń
31.*	M/8	91/89	57	choroba Bürgera	zapalenie płuca prawego, blizna po zawale serca.
32.	M/8	24/72	50	HA, MC	blizna po zawale serca, zapalenie tchawicy i oskrzeli, miażdżycza uogólniona dużego stopnia.
33.*	S/8	136/89	83	MC	blizna po zawale serca, dużego stopnia miażdżycza uogólniona naczyń.
34.	S/8	106/90	88	FA, MC	blizna po zawale ściany dolnej serca.
35.*	M/9	85/84	51	wada serca, FA	skrzepliny przyścienne w lewej komorze serca, zator skrzeplinowy prawej tętnicy płucnej, wada serca.
36.*	S/9	84/87	88	HA	zator lewej tętnicy płucnej.
37.	M/10	35/82	60	HA	rozedma płuc, płyn w jamie opłucnowej.

38.	S/10	135/88	89	FA	skrzepliny przyścienne w obu uszkach serca, płyn w osierdziu, zapalenie płuc.
39.	M/11	85/78	40	choroba wrzodowa dwunastnicy	zator pnia tętnicy płucnej, obrzęk płuc.
40.	S/11	112/73	87	HA, MC	świeży zawał serca.
41.	M/12	59/82	50	HA	zator skrzeplinowy obu tętnic płucnych.
42.	S/12	30/86	85	MC	blizna po zawale serca, wrzód opuszki dwunastnicy.
43.*	M/13	15/90	65	FA	obustronne zapalenie płuc, płyn w jamie opłucnowej.
44.*	S/13	16/90	91	FA	nie wykonano
45.	M/14	71/64	65	FA	rozedma płuc, gruźlica płuc.
46.	M/14	70/68	55	wada serca, HA,FA	nie wykonano
47.	S/14	9/89	84	FA, gruźlica płuc	zator prawej tętnicy płucnej.
48.	M/15	31/70	65	(-)	bez zmian patologicznych
49.	S/15	103/90	80	HA, MC, DM	zapalenie płuc, krwotoczne zapalenie śluzówki żołądka, blizna po zawale serca.
50.	M/16	174/78	60	wada serca, FA	skrzepliny przyścienne w lewym uszku serca, zator skrzeplinowy obu tętnic płucnych, wada serca, obrzęk płuc.
51.	S/16	15/76	87	FA, HA	zator obu tętnic płucnych, blizna po zawale serca.
52.	M/17	61/64	59	MC	ropne zapalenie oskrzeli.
53.	S/17	99/89	92	FA, HA, DM	zapalenie oskrzeli, blizna po zawale serca.
54.	M/19	152/73	64	MC	zapalenie oskrzeli, rozedma płuc, blizna po zawale serca, miażdżycza uogólniona naczyń.
55.	S/19	44/88	83	HA, MC	zapalenie oskrzeli i oskrzelików.
56.*	M/20	2/82	53	wada serca, MC	zator lewej tętnicy płucnej, zapalenie oskrzeli, stan po przebyłym zapaleniu wsierdza, wada serca.
57.	M/20	26/86	53	wada serca, MC	zator skrzeplinowy lewej tętnicy płucnej, zapalenie oskrzeli, stan po przebyłym zapaleniu wsierdza, zwężenie zastawki dwudzielnej.

58.	S/20	7/92	80	FA, HA	zator skrzeplinowy pnia tętnicy płucnej, skrzepliny przyścienne w prawym uszku serca, zapalenie płuc, zmiany gruźlicze w płucach.
59.	S/20	126/89	87	FA, HA	świeży zawał serca
60.*	M/22	133/89	64	(-)	zator skrzeplinowy prawej tętnicy płucnej, zapalenie oskrzeli.
61.*	S/22	5/89	84	FA, DM	zwężenie zastawki dwudzielnej.
62.	M/28	166/88	46	FA, HA, hyperlipidemia	zator skrzeplinowy obu tętnic płucnych.
63.	S/28	65/91	85	astma oskrzelowa, demencja starcza	blizna po zawale serca, miażdżycza uogólniona bardzo dużego stopnia.
64.	M/30	83/71	64	FA	zawał płata dolnego płuca prawego, zapalenie płuc.
65.	S/30	94/85	82	MC, DM	blizna po zawale serca, uogólniona miażdżycza naczyń.
66.*	M/32	160/87	60	DM	blizna po zawale serca, obrzęk płuc.
67.*	S/32	73/87	85	HA	blizna po zawale serca, miażdżycza uogólniona naczyń.

zastosowane skróty:

M/3	-przypadek z grupy młodszej wiekowo zmarły w 3 dniu choroby
S/7	-przypadek z grupy starszej zmarły w 7 dniu choroby
*	-przypadek, z którego przeciwna do zawału półkula mózgu stanowiła materiał kontrolny
DM	-cukrzyca (diabetes mellitus)
FA	-migotanie przedsionków (fibrillatio atriorum)
HA	-nadciśnienie tętnicze (hypertonia arterialis)
MC	-choroba wieńcowa (morbus coronarius)

TABELA II

MATERIAŁ KONTROLNY

LP		WIEK	PRZYCZYNA ZGONU	CHOROBY TOWARZYSZĄCE	WYNIK SEKCJI OGÓLNEJ
1.	47/91	87	zator tętnicy płucnej	guz zewnątrzrdzeniowy (oponiak)	zator skrzeplinowy lewej tętnicy płucnej, miażdżycza uogólniona
2.	G.J.	80	wstrząs kardiogeny	DM, MC	świeży zawał serca, torbiel lewej nerki,
3.	P.Z.	68	pęknięcie tętniaka aorty	HA, MC, przewlekła niewydolność nerek	rozedma płuc, zwyrodnienie torbielowate nerek
4.	T.S.	94	wstrząs kardiogeny	MC	świeży zawał serca, miażdżycza uogólniona
5.	D.Z.	54	rak żołądka	niewydolność krążenia wyniszczenie	przerzuty raka żołądka do wątroby, płyn w jamie brzusznej i jamie opłucnej.

zastosowane skróty: DM -cukrzyca (diabetes mellitus)
 HA -naciśnienie tętnicze (hypertonia arterialis)
 MC -choroba wieńcowa (morbus coronarius)

TABELA III

WYNIKI BADAŃ MORFOLOGICZNYCH

LP	DZIEŃ GRUPA	NR	HEMATOKSYLINA EOZYNA	GFAP+ i S-100+ astrocyty	VIM+ astrocyty	MIB+ komórki	MIB+ GFAP astrocyty
1	M/1	86/89	martwica bezodczynowa przesięki okołonaczyniowe, obrzęk tkanek	pojedyncze, ze zmianami wstecznymi, liczne drobiny GFAP+, nieliczne S-100+ jądra komórkowe	brak	brak	brak
2	M/1	67/76	martwica bezodczynowa przesięki okołonaczyniowe, obrzęk tkanek	pojedyncze, ze zmianami wstecznymi, liczne drobiny GFAP+, pojedyncze S-100+ jądra komórkowe	brak	(-)	(-)
3	S/1	96/90	martwica bezodczynowa, obrzęk tkanek	nieliczne, ze zmianami wstecznymi, liczne drobiny GFAP+,	brak	brak	brak
4	S/1	71/91	martwica bezodczynowa	pojedyncze, ze zmianami wstecznymi, liczne GFAP+ drobiny	brak	(-)	(-)
5	M/2	63/64	martwica bezodczynowa, nasilone przesięki okołonaczyniowe	pojedyncze, ze zmianami wstecznymi, dość liczne S-100+ jądra komórkowe	brak	(-)	(-)

6	S/2	48/87	martwica bezodczynowa	pojedyncze, ze zmianami wstecznymi, liczne GFAP+ drobiny, pojedyncze S-100+ jądra komórkowe	brak	brak	brak
7	M/3	58/71	martwica bezodczynowa	pojedyncze, ze zmianami wstecznymi, pojedyncze S-100+ jądra komórkowe.	pojedyncze	brak	brak
8	M/3	53/91	martwica bezodczynowa, obrzęk tkanek	nieliczne, rozproszone, tylko część ze zmianami wstecznymi, pozostałe bardzo drobne i z wypustkami	brak	(-)	(-)
9.	M/3	22/74	zaawansowany etap martwicy rozplywnej	bardzo liczne, przerośnięte, z wypustkami, liczne gemistocyty	pojedyncze	nieliczne	brak
10	S/3	115/90	martwica bezodczynowa	pojedyncze, ze zmianami wstecznymi, liczne GFAP+ drobiny	brak	(-)	(-)
11	S/3	146/79	początek rozbiórki nacieki okołonaczyniowe i śródkankowe, proliferacja naczyń, bez makrofagów	dość liczne, rozproszone, większość ze zmianami wstecznymi i zwyrodnieniem wodniczkowym, bez cech przerostu	brak	pojedyncze	brak
12	S/3	78/91	martwica bezodczynowa	nieliczne, ze zmianami wstecznymi i kłazmatodendrozą, liczne GFAP+ drobiny, nieliczne S-100+ jądra komórkowe	brak	(-)	(-)
13	M/4	59/69	martwica bezodczynowa	dość liczne, rozproszone, drobne, część ze zwyrodnieniem wodniczkowym i zmianami wstecznymi	brak	pojedyncze	brak
14	M/4	150/80	martwica bezodczynowa	dość liczne, drobne rozproszone, dość liczne GFAP+ drobiny	brak	(-)	(-)
15	M/4	73/79	nacieki i przesięki okołonaczyniowe	nieliczne, część ze zmianami wstecznymi, pozostałe drobne, dość liczne GFAP+ drobiny	brak	(-)	(-)
16	S/4	25/89	martwica rozplywna pojedyncze makrofagi, nacieki okołonaczyniowe	nieliczne, drobne, rozproszone	brak	liczne	brak
17	S/4	16/89	martwica bezodczynowa	nieliczne, drobne, rozproszone, większość ze zmianami wstecznymi	brak	(-)	(-)
18	S/4	16/71	martwica bezodczynowa	dość liczne, drobne, rozproszone, zaznaczona kłazmatodendroza, dość liczne GFAP+ drobiny	brak	brak	brak
19	M/5	90/85	martwica rozplywna początek jamy poudarowej, proliferacja naczyń	liczne, przerośnięte, z wypustkami, pojedyncze ze zmianami wstecznymi, nieliczne GFAP+ drobiny	brak	dość liczne	brak
20	S/5	119/73	początek rozbiórki, nacieki okołonaczyniowe	liczne, drobne, rozproszone, często ze zwyrodnieniem wodniczkowym	brak	liczne	brak

21	M/6	77/80	martwica bezodczynowa	dość liczne, większość ze zmianami wstecznymi, liczne GFAP+ drobiny	brak	(-)	(-)
22	M/6	45/64	martwica bezodczynowa	nieliczne, rozproszone, drobne, pojedyncze ze zwyrodnieniem wodniczkowym, brak zmian wstecznych	brak	(-)	(-)
23	S/6	42/86	martwica bezodczynowa, nasilone przesieki okołonaczyniowe	nieliczne, rozproszone, drobne, część ze zmianami wstecznymi, nieliczne GFAP+ drobiny	brak	(-)	(-)
24	S/6	145/79	martwica bezodczynowa	dość liczne, bardzo drobne, rozproszone	brak	(-)	(-)
25	S/6	24/86	początek rozbiórki, nacieki okołonaczyniowe, proliferacja naczyń	nieliczne, drobne, część ze zmianami wstecznymi, nieliczne GFAP+ drobiny	brak	(-)	(-)
26	M/7	14/86	martwica rozplywna, niewielkie nacieki okołonaczyniowe	liczne, niekiedy przerośnięte z wypustkami	nieliczne	(-)	(-)
27	M/7	28/91	martwica rozplywna, proliferacja naczyń, przesieki	liczne, tworzące wał glejowy przerośnięte	liczne	liczne	+
28	S/7	111/73	jama poudarowa	bardzo liczne, przerośnięte z wypustkami, część ze zwyrodnieniem wodniczkowym	bardzo liczne	nieliczne	brak
29	S/7	36/85	martwica bezodczynowa przesieki okołonaczyniowe	pojedyncze, część ze zmianami wstecznymi, rozproszone	brak	(-)	(-)
30	S/7	100/90	martwica rozplywna, przesieki i nacieki okołonaczyniowe	dość liczne, niekiedy przerośnięte, część ze zmianami wstecznymi, nieliczne GFAP+ drobiny	brak	liczne	+
31	M/8	91/89	początek jamy, nacieki śródkankowe i okołonaczyniowe	nieliczne, drobne, część z cechami klastomatodendrozy reakcja ograniczona do brzegu ogniska martwicy	brak	(-)	(-)
32	M/8	24/72	martwica rozplywna,	nieliczne, drobne, z licznymi wypustkami, pojedyncze ze zwyrodnieniem wodniczkowym	brak	pojedyncze	brak
33	S/8	136/89	martwica bezodczynowa proliferacja naczyń	dość liczne, niekiedy przerośnięte, z wypustkami, tworzące wał glejowy, liczne ze zwyrodnieniem wodniczkowym	brak	pojedyncze	brak
34	S/8	106/90	pojedyncze makrofagi, nacieki okołonaczyniowe	dość liczne, niekiedy przerośnięte, z wypustkami, rozproszone, część ze zmianami wstecznymi, nieliczne GFAP+ drobiny	brak	(-)	(-)
35	M/9	85/84	martwica bezodczynowa	nieliczne, drobne, pojedyncze gemistocyty	brak	(-)	(-)

36	S/9	84/87	martwica bezodczynowa	dość liczne, drobne, część ze zmianami wstecznymi, liczne GFAP+ drobin+	brak	(-)	(-)
37	M/10	35/82	jama poudarowa	liczne, z wypustkami, przerośnięte, dość liczne gemistocyty	brak	(-)	(-)
38	S/10	135/88	prolifracja naczyń, nacieki okołonaczyniowe	nieliczne, drobne, rozproszone,	brak	(-)	(-)
39	M/11	85/78	martwica bezodczynowa, liczne wybroczyny krwotoczne	nieliczne, drobne, rozproszone, część ze zmianami wstecznymi	dość liczne	pojedyncze	brak
40	S/11	112/73	martwica rozplywna	liczne, przerośnięte, z wypustkami, tendencja do tworzenia się wału glejowego	bardzo liczne	dość liczne	+
41	M/12	59/82	martwica rozplywna	liczne, przerośnięte, tworzące wał glejowy, pojedyncze ze zwyrodnieniem wodniczkowym	nieliczne	pojedyncze	brak
42	S/12	30/86	martwica rozplywna jama poudarowa, proliferacja naczyń	dość liczne, przerośnięte, z wypustkami i zwyrodnieniem wodniczkowym, reakcja ograniczona do brzegu zawału	pojedyncze	pojedyncze	brak
43	M/13	15/90	martwica rozplywna proliferacja naczyń	liczne, niekiedy przerośnięte, z wypustkami, tworzące wał glejowy	liczne	liczne	+
44	S/13	16/90	martwica rozplywna jama poudarowa, proliferacja naczyń	liczne, drobne, z wypustkami rozproszone	brak	nieliczne	brak
45	M/14	71/64	martwica rozplywna proliferacja naczyń	bardzo liczne, przerośnięte, tworzące wał glejowy, liczne gemistocyty	bardzo liczne	bardzo liczne	+
46	M/14	70/68	martwica rozplywna proliferacja naczyń	bardzo liczne, przerośnięte z wypustkami, tworzące wał glejowy, część ze zmianami wstecznymi	liczne	liczne	+
47	S/14	9/89	martwica rozplywna nacieki śródkankowe,	bardzo liczne, przerośnięte, z wypustkami, tworzące wał glejowy, część ze zwyrodnieniem wodniczkowym, obecne włókna Rosenthala	dość liczne	bardzo liczne	brak
48	M/15	31/70	martwica rozplywna jama poudarowa	liczne, przerośnięte, z wypustkami, liczne gemistocyty	liczne słabo+	nieliczne	+
49	S/15	103/90	martwica rozplywna	liczne, przerośnięte, z wypustkami, tworzące wał glejowy, część ze zwyrodnieniem wodniczkowym, obecne włókna Rosenthala i liczne gemistocyty	brak	pojedyncze	brak
50	M/16	174/78	martwica rozplywna jama poudarowa	bardzo liczne, tworzące wał glejowy, przerośnięte, z licznymi wypustkami	dość liczne	bardzo liczne	+

51	S/16	15/76	martwica rozplywna początek jamy poudarowej	dość liczne, część ze zmianami wstecznymi, pojedyncze gemistocyty, obecne GFAP+ drobiny	brak	liczne	brak
52	M/17	61/64	martwica rozplywna jama poudarowa, proliferacja naczyń	liczne, tworzące wał glejowy, przerośnięte	nieliczne	liczne	+
53	S/17	99/89	martwica rozplywna, przesięki okołonaczyniowe	liczne, rozproszone, przerośnięte tylko na brzegu ogniska, część ze zmianami wstecznymi	nieliczne	nieliczne	brak
54	M/19	152/73	martwica rozplywna jama poudarowa	bardzo liczne, tworzące wał glejowy, przerośnięte, dość liczne gemistocyty i astrocyty ze zwyrodnieniem wodniczkowym	nieliczne	liczne	+
55	S/19	44/88	martwica rozplywna	nieliczne, drobne, rozproszone, z nasilonymi zmianami wstecznymi i zwyrodnieniem wodniczkowym	brak	(-)	(-)
56	M/20	2/82	martwica rozplywna jama poudarowa,	liczne, tworzące wał glejowy, przerośnięte na brzegu ogniska martwicy, pojedyncze gemistocyty	brak	brak	brak
57	M/20	26/86	martwica rozplywna jama poudarowa	liczne, przerośnięte, z wypustkami, obecne nieliczne włókna Rosenthala	brak	(-)	(-)
58	S/20	126/89	martwica rozplywna nasilone zgębczenie tkanek,	nieliczne, rozproszone, z cechami przerostu tylko na brzegu ogniska martwicy, często ze zmianami wstecznymi	brak	(-)	(-)
59	S/20	7/92	martwica rozplywna początek jamy poudarowej	liczne, tworzące wał glejowy, obecne gemistocyty i astrocyty ze zwyrodnieniem wodniczkowym, nieliczne włókna Rosenthala	brak	liczne	brak
60	M/22	133/89	martwica rozplywna jama poudarowa	bardzo liczne, przerośnięte, z licznymi wypustkami, tworzące wał glejowy, obecne nieliczne włókna Rosenthala	brak	(-)	(-)
61	S/22	5/89	martwica rozplywna początek jamy poudarowej	nieliczne, rozproszone, w większości drobne, obecne pojedyncze gemistocyty ze zwyrodnieniem wodniczkowym	brak	(-)	(-)
62	M/28	166/88	martwica rozplywna jama poudarowa	bardzo liczne, tworzące wał glejowy, przerośnięte, ze zwyrodnieniem wodniczkowym, dość liczne gemistocyty	nieliczne	nieliczne	brak
63	S/28	65/91	martwica rozplywna, nasilone zgębczenie tkanek,	liczne, z wypustkami, w większości drobne, rozproszone	brak	nieliczne	brak

64	M/30	83/71	martwica rozpływna jama poudarowa	bardzo liczne, przerośnięte, część ze zwyrodnieniem wodniczkowym, tworzące wał glejowy, liczne gemisto- cyty	bardzo liczne	liczne	brak
65	S/30	94/85	martwica rozpływna, nasilone zgębczenie tkanek	nieliczne, drobne, rozproszone	brak	nieliczn e	brak
66	M/32	160/87	martwica rozpływna,	bardzo liczne, przerośnięte, tworzące wał glejowy, obecne dość liczne gemistocyty	brak	(-)	(-)
67	S/32	73/87	martwica rozpływna, nasilone zgębczenie tkanek	nieliczne, drobne, obecne zmiany wsteczne i liczne GFAP+ drobiny	brak	(-)	(-)

(-) badania nie wykonano

PIŚMIENICTWO

1. Abd-el Basset E.M, Ahmed J, Fedoroff S.
Actin and actin-binding proteins in differentiating astroglia in tissue culture.
J.Neurol.Res. 1991, 30, 1-17
2. Abd-el-Basset E.M, Ahmed J, Kalnins V.I, Fedoroff S.
Immuno-electron microscopical localization of vimentin and GFAP in mouse astrocytes and their precursor cells in culture.
Glia 1992, 6, 149-152
3. Allen A.
Cessation of mitosis in the central nervous system of the albino rat.
J.Comp.Neurol. 1912, 22, 547-568
4. Allore R, O'Hanlon R, Price R, Neilson K, Willard H.F,
Cox D.R, Marks A, Dunin R.J.
Gene encoding the beta subunit of S-100 protein is on chromosome 21; implications for Down syndrom.
Science 1988, 28, 1311-1313
5. Amaducci L, Forno L.A, Eng L.F.
GFAP in cryogenic lesions of the rat brain.
Neurosci.Lett. 1981, 21, 27-32
6. Amenta F, Zaccheo D, Collier W.L.
Neurotransmitters, neuroreceptors and aging.
Mech.Aging Dev. 1991, 61, 249-273
7. Antaniti D.S, Choi B.H, Laphman L.W.
The demonstration of GFAP in the cerebrum of the human fetus by indirect immunofluorescence.
Brain Res. 1976, 103, 613-616
8. Arenander A.T, De Vellis J.
Glial released proteins in the clonal cultures and their modulation by hydrocortisone.
Brain Res. 1980, 2, 401-419
9. Arenander A.T, De Vellis J.
Glial released proteins. II. Two-dimensional electrophoretic identification of proteins regulated by hydrocortisone.
Brain Res. 1981, 224, 105-116
10. Avola R, Condorelli D.F, Surrentino S, Turpeenoja L, Costa A, Giuffrida-Stella A.M.
Effect of EGF and insulin on DNA, RNA and cytoskeletal protein labeling in the primary rat astroglial cell culture.
J.Neurosci.Res. 1988, 19, 230-238
11. Baghdassarian D, Toru-Delbauffe D, Gavaret J.M, Pierre M.
Effects of transforming growth factor beta-1 on the extracellular matrix and cytoskeleton of cultured astrocytes.
Glia 1993, 7, 193-202

12. Baird A, Mormede P, Bohlen P.
Immunoreactive FGF in cells of peritoneal exudate suggests its identity with macrophage-derived growth factor.
Biochem.Biophys.Res.Commun. 1985, 126, 358-364
13. Barcikowska-Litwin M.
Obraz morfologiczny ogniska rozmiękania mózgowego w wieku starym.
Neuropat.Pol. 1984, 22, 563-578
14. Barret C.P, Guth L, Donati E.J, Krikorian J.G.
Astroglial reaction in the gray matter of lumbar segments after midthoracic transection of the adult rat spinal cord.
Exp.Neurol. 1981, 73, 365-377
15. Baudier J, Gerard D.
Ions binding to S-100 proteins; structural changes induced by calcium and zinc on S-100 a and S-100 b proteins.
Biochem. 1983, 22, 3360-3369
16. Baudier J, Haglid K, Haiech J, Gerard D.
Zinc binding to human calcium binding proteins, calmodulin and S-100.
Biochem.Biophys.Res.Commun. 1983, 114, 1138-1146
17. Bauman A, Bourgoin S, Benda P, Glowinski J, Hamon J.C.
Characteristic of tryptophan accumulation by glial cells.
Brain Res. 1974, 66, 253-2
18. Beck D.W, Roberts R.L, Hart M.N.
Glial cells influence presence and localization of enzyme activity at the blood-brain barrier.
J.Neuropathol.Exp.Neurol. 1985, 43, 219-224
19. Benjamin A.M, Quastel J.H.
Metabolism of amino acids and ammonia in rat brain cortex slices in vitro; a possible role of ammonia in brain functions.
J.Neurochem. 1975, 25, 197-206
20. Benveniste H, Drejer F, Schousboe A, Diemer N.H.
Elevation of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis.
J.Neurochem. 1984, 43, 1369-1374
21. Berry M, Maxwell W.L, Logan A, Mathewson A, McConnel P, Ashhurst D.E, Thomas G.H.
Deposition of scar tissue in the central nervous system.
Acta Neurochir. 1983, suppl.32, 31-53
22. Besnard F, Perraud F, Sensenbrenner M, Labourdette G.
Platelet-derived growth factor is a mitogen for glia, but not for neuronal rat brain cells in vitro.
Neurosci.Lett. 1987, 73, 287-292
23. Bever C.T.Jr, Snyder D.S, Endres R.O, Morgan K.D, Postlethwaite A, Whitaker J.N.
Activation of astrocytic lysosomal proteinases by factor released by mononuclear leukocytes.
Neurochem.Res. 1989, 14, 37-41

24. Bignami A, Eng L.F, Dahl D, Uyeda C.T.
Localization of the glial fibrillary acidic protein in astrocytes by immunofluorescence.
Brain Res. 1972, 43, 429-435
25. Bockstaele van D, Lan J, Snoeck H.W, Korthout M.L, De Bock R.F, Peetermans M.E.
Abberant Ki-67 expression in normal bone marrow revealed by multiparameter flow cytometric analysis.
Cytometry 1991, 12, 50-63
26. Bologna L, Deughnier M.A, Joubert R, Bisconte J.C.
Myelin Basic Protein stimulates the proliferation of astrocytes; possible explanation for multiple sclerosis plaque formation.
Brain Res. 1985, 346, 199-203
27. Bowman C.L, Kimelberg M.K.
Excitatory amino acids directly depolarize rat brain astrocytes in primary culture.
Nature 1984, 311, 656-659
28. Bovolenta P, Wandosell F, Nieto-Sampedro M.
CNS glial scar tissue; a source of molecules which inhibit central neurite outgrowth.
Prog.Brain Res. 1992, 92, 367-379
29. Bravo R, Frey S.J, Bellatin J, Larsen P.M, Arevalo J, Celis J.E.
Identification of a nuclear and a cytoplasmic polypeptide whose relative proportions are sensitive to changes in the rate of cell proliferation.
Exp.Cell Res. 1981, 136, 311-3
30. Brunk U, Schellens J, Westermark B.
Influence of Epidermal Growth Factor (EGF) on ruffling activity pinocytosis and proliferation of cultivated human cells.
Exp.Cell Res. 1976, 103, 295-302
31. Bruno S, Darzynkiewicz Z.
Cell cycle dependent expression and stability of the nucleolar protein detected by Ki-67 antibody in HL-60 cells.
Cell Prolif. 1992, 25, 31-40
32. Bryans W.A.
Mitotic activity in the brain of adult rat.
Anat.Rec. 1959, 133, 65-71
33. Cajal S.R.y
Sobre un nuevo proceder de impregnacion de la neuroglia y sus resultados en los centros nerviosos del hombre y animales.
Trab.Lab.Invest.Biol.Madrid 1913, 11, 219-237
34. Cajal S.R.y
El proceder del oro-sublimato para la coloration de la neuroglia.
Trab.Lab.Invest.Biol.Madrid 1916, 14, 155-162
35. Calvo J.L, Carbonell A.L, Boya J.
Coexpression of vimentin and glial fibrillary acidic protein in astrocytes of the adult rat optic nerve.
Brain Res. 1990, 532, 355-57

36. Calvo J.L, Carbonell A.L, Boya J.
Coexpression of glial fibrillary acidic protein and vimentin in reaction following brain injury in rats.
Brain Res. 1991, 566, 333-336
37. Canady K.S, Rubel E.W.
Rapid and reversible astrocytic reaction to afferent activity blockade in chick cochlear nucleus.
J.Neurosci. 1992, 12, 1001-1009
38. Cancilla P.A, Bready J, Berliner J, Sharfi-Nia H, Toga A.W, Santori E.M, Scully S, De Vellis J.
Expression of mRNA for GFAP after experimental cerebral injury.
J.Neuropath.Exp.Neurol. 1992, 51, 560-565
39. Cattoretti G, Becker M.H.G, Key G, Duchrow M, Schulter K, Galle J, Gerdes J.
Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB-1 and MIB-6) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections.
J.Pathol. 1992, 168, 357-363
40. Cavanagh J.B.
The proliferation of astrocytes around a needle wound in the rat.
J.Anat. 1970, 106, 471-487
41. Chan P.H, Fishman R.A.
Brain edema.
w "Handbook of Neurochemistry. Pathological Neurochemistry".
red. A.Lajtha; Plenum Press 1985, 10, 153-174
42. Chiu F-C, Norton W.T, Fields K.L.
The cytoskeleton of primary astrocytes in culture contains actin, glial fibrillary acidic protein and the fibroblast-type filament protein - vimentin.
J.Neurochem. 1981, 37, 147-155
43. Christjanson L.J, Middlemiss P.J, Rathbone M.
Stimulation of astrocytes proliferation by purine and pyrimidine nucleotides and nucleosides.
Glia 1993, 7, 176-182
44. Ciesielski-Treska J, Goetschy J.F, Ulrich G, Aunis G.
Acquisition of vimentin in astrocytes cultured from postnatal rat brain.
J.Neurocytol. 1988, 17, 79-88
45. Cocchia D.
Immunocytochemical localization of S-100 protein in the brain of adult rat.
Cell Tissue Res. 1980, 214, 529-540
46. Coffey C.E, Walkinson W.E, Parashos I.A, Soady S.A.R, Figiel G.S, Webb M.C,
Spritzer C.E, Djang W.T.
Quantitative cerebral anatomy of the aging human brain. A cross study using magnetic resonance imaging.
Neurol. 1992, 42, 527-535
47. Coleman P.D, Rogers K.E, Flood D.G.
Neuronal plasticity in normal aging and deficient plasticity in Alzheimer disease: a proposed intercellular signal cascade.
Prog.Brain Res. 1990, 86, 75-87

48. Cooper A.J.L, McDonald J.M, Gelbard A.S, Gledhill C.F, Duffy T.E.
The metabolic fate of ¹⁵N-labeled ammonia in rat brain.
J.Biol.Chem. 1979, 254, 4982-4992
49. Cordell J.L, Falini B, Erber W.N, Ghosh A.K, Abdulaziz Z, MacDonald S.
Immunoenzymatic labeling of monoclonal antibodies using immune complexes of alkaline-phosphatase and monoclonal anti-alkaline-phosphatase (APAAP complexes).
J.Histochem. Cytochem. 1984, 32, 219-229
50. Cotman C.W, Scheff S.W.
Synaptic growth in aged animals.
w "Physiology and cell biology of aging"
red: A.Cherkin, C.E.Finch, N.Kharasch, T.Makinodan, F.L.Scott, B.Strenhler,
Raven Press, New York 1979, 109-130
51. Dahl D.
The vimentin-GFA protein transition in rat neuroglia cytoskeleton occurs at the time of myelination.
J.Neurosci.Res. 1981, 6, 741-748
52. Dalton M, Hommes O.R, Leblond C.P.
Correlation of glial proliferation with age in the mouse.
J.Comp.Neurol. 1968, 134, 397-400
53. Dani J.W, Cherjavsky A, Smith S.J.
Neuronal activity triggers calcium waves in hippocampal astrocyte network.
Neuron 1992, 8, 429-440
54. Diefenbach T.J, Elbrink J, Malhotra S.K.
Glial fibrillary acidic protein, J 1-31 antigen and vimentin in adult hamster brain: an immunohistochemical study.
Cytobios 1991, 65, 39-88
55. Duffy P.E, Huang Y, Rapport M.M, Graf L.
Glial fibrillary acidic protein in giant cell tumors of brain and other gliomas.
Acta Neuropath. 1980, 52, 51-57
56. Duffy P.E.
Glial fibrillary acidic protein and induced differentiation of glia in vitro.
J.Neurosurg.Sci. 1982, 53, 443-460
57. Duffy P.E.
Astrocytes: normal, reactive and neoplastic.
Raven Press, New York 1983
58. Eldijk van L.J, Zimmer D.B.
Secretion of S-100 from rat C-6 glioma cells.
Brain Res. 1987, 436, 367-370
59. Eng L.F, Vanderhaeghen J.J, Bignami A, Gierstl B.
An acidic protein isolated from fibrous astrocytes.
Brain Res. 1971, 28, 351-354

60. Eng L.F, Kosek J.C.
Light and electron microscopic localization of the glial fibrillary acidic protein and S-100 protein by immunoenzymatic techniques.
Trans.Amer.Soc.Neurochem. 1974, 5, 160
61. Eng L.F.
The glial fibrillary acidic protein.
w "Proteins of the nervous system"
red: R.A.Bradshaw, D.M.Schneider; Raven Press, New York 1980, 85-117
62. Eng L.F, DeArmond S.J.
Immunocytochemical studies of astrocytes in normal development and disease.
Adv.Cell Neurobiol. 1982, 3, 145-171
63. Eng L.F, Yu A.C.H, Lee Y.L.
Astrocytes response to injury.
Prog.Brain Res. 1992, 94, 353-365
64. Enna S.J, Strong G.
Effect of aging on receptor binding.
w "Brain neurotransmitters and receptors in aging and age-related disorders"
red: S.J.Enna, T.Samorajsky, B.Beer ; Raven Press, New York 1981, 133-142
65. Fedoroff S.
Astrocyte cell lineage. II. Mouse fibrous astrocytes and reactive astrocytes in culture have vimentin and GFAP-containing intermediate filaments.
Dev.Brain Res. 1983, 7, 303-315
66. Fedoroff S, Ahmed I, Wang E.
The relationship of expression of statin, the nuclear protein of nonproliferating cells to the differentiation and cell cycle of astroglia in culture and in situ.
J.Neurosci.Res. 1990, 26, 1-15
67. Fernando D.A.
An electron microscopic study of the neuroglial reactions in the hypoglossal nucleus after transection of the hypoglossal nerve.
Acta Anat. 1973, 86, 1-17
68. Fierz W, Endler B, Reske K, Wekerle H, Fontana A.
Astrocytes as antigen-presenting cells. I. Induction of Ia-antigen expression on astrocytes by T cells via immune-interferon and its effect on antigen presentation.
J.Immunol. 1985, 134, 3785-3793
69. Fontana A, Grieder A, Arrenbrecht S.T, Grob P.
In vitro stimulation of glia cells by lymphocyte-produced factor.
J.Neurol.Sci. 1980, 46, 55-62
70. Fontana A, Kristensen F, Dubs R, Gemsa D, Weber D.
Production of prostaglandin E and interleukin 1-like factors by cultured astrocytes and C-6 glioma cells.
Eur.J.Immunol. 1982, 129, 2413-2419
71. Fontana A, Weber E, Grob P, Lim R, Miller J.
Dual effect of Glia Maturation Factor on astrocytes.
J.Neurosci. 1983, 5, 261-269

72. Frackowiak R.S.J, Lenzi G.L, Jones T, Heather J.D.
Quantitative measurement of regional cerebral blood flow and oxygen metabolism in man using ¹⁵O and positron emission tomography. Theory, procedure and normal values.
J.Comput.Assist.Tomog. 1980, 4, 727-736
73. Frei K, Bodmer S, Schwerdel C, Fontana A.
Astrocytes of the brain synthesize interleukin 3-like factor.
J.Immunol. 1985, 135, 4044-4047
74. Frei K, Siepl Ch, Bodmer S, Fontana A.
Astrocytes and microglial cells as immune regulatory cells of the brain.
w "The biochemical pathology of astrocytes"
red. M.D.Norenberg; Alan R.Liss Inc, New York 1988, 239-245
75. Freilich J.S, Weiss B.
Altered adaptive capacity of brain catecholaminergic receptors during aging.
w "Aging of the brain"
red: D.Samuel, S.Algeri, S.Gershon, V.E.Grim, G.Toffano
Raven Press, New York 1983, 277-300
76. Friede R.L.
Cytochemistry of normal and reactive astrocytes.
J.Neuropathol.Exp.Neurol. 1962, 21, 471-478
77. Gadiant R.A, Cron K.C, Otten U.
Interleukin 1-beta and Tumor Necrosis Factor-alpha synergistically stimulate nerve growth factor (NGF) release from cultured astrocytes.
Neurosci.Lett. 1990, 117, 395-402
78. Gage F.H, Olejniczak P, Armstrong D.M.
Astrocytes are important for sprouting in the septohippocampal circuit.
Exp.Neurol. 1988, 1, 2-13
79. Gall C, Rose G, Lynch G.
Proliferative and migratory activity of glial cells in the partially deafferented hippocampus.
J.Comp.Neurol. 1979, 183, 539-549
80. Garbarg M, Baudry M, Genda P, Schwartz J.C.
Simultaneous presence of histamine-N-methyltransferase in neuronal and glial cells in culture.
Brain Res. 1975, 83, 538-541
81. Gerdes J, Li L, Schlueter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Gerlach C, Stahmer J, Kloth S, Brandt E, Flad H-D.
Immunochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67.
Am.J.Pathol. 1991, 138, 867-873
82. Gething M.J, Sambrook J.
Protein folding in the cell.
Nature 1992, 355, 33-45
83. Giffard R.G, Monyer H, Choi D.W.
Selective vulnerability of cultured cortical glia to injury by extracellular acidosis.
Brain Res. 1990, 530, 138-141

84. Giuffrida Stella A.M.
Macromolecular changes in the aging brain.
Adv.Exp.Med.Biol. 1991, 296, 317-327
85. Giulian D, Baker T.J, Shih L.T, Lachman L.B.
Interleukin-1 of the central nervous system is produced by ameboid microglia.
J.Exp.Med. 1986, 164, 594-604
86. Giulian D, Young D.G.
Brain peptides and glial growth. II. Identification of cells that secrete glia-promoting factors.
J.Cell Biol. 1986, 102, 812-820
87. Giulian D.
The immune response and astrogliosis: control of astroglial growth by secretion of microglial peptides.
w "The biochemical pathology of astrocytes"
red. M.D.Norenberg; A.R.Liss Inc. New York 1988, 91-105
88. Giulian D, Woodward J, Krebs J, Lachman L.B.
Interleukin-1 injected into mammalian brain stimulates astrogliosis and neovascularization.
J.Neurosci. 1989, 9, 769-775
89. Giulian D, Vaca K, Corpuz H.
Brain glia release factors with opposing actions upon neuronal survival.
J.Neurosci. 1993, 13, 9-37
90. Goldberg W.H, Bernstein J.J.
Fetal cortical astrocytes migrates from cortical homografts throughout the host brain and over the glia limitans.
J.Neurosci.Res. 1988, 20, 38-45
91. Gomez-Pinilla F, Lee J.W-K, Cotman C.W.
Basic FGF in adult rat brain: cellular distribution and response to enthorinal lesion and fimbria-fornix transection.
J.Neurosci. 1992, 12, 345-355
92. Gonzalez-Aguilar F, De Robertis E.
A formalin-perfusion fixation method for histophysiological study of the central nervous system with the electron microscope.
Neurol. 1963, 13, 758-777
93. Hahn H.P
Nucleic acids in the aging brain and the concept of aging.
w "The molecular basis of neuropathology"
red: A.N.Davidson, R.H.S.Thompson ; Edward Arnold Publ.Ltd. 1981, 591-600
94. Hama T, Miyamoto M, Tsukui H, Nishioi C, Hatanaka H.
Interleukin-6 as a neurotrophic factor for promoting the survival of cultured basal forebrain cholinergic neurons from postnatal rats.
Neurosci.Lett. 1989, 104, 340-344
95. Hamilton H.
Division of differentiated cells in the central nervous system in the albino rats.
J.Comp.Neurol. 1901, 11, 279-320

96. Hannan R.L, Kourenbanas S, Flanders K.C, Rogel S.J, Roberts A.B, Faller D.V, Klagsbrun M.
Endothelial cells synthesize basic Fibroblast Growth Factor and Transforming Growth
Factor beta.
Growth Factors 1988, 1, 7-17
97. Hanson G.R, Parlow L.M.
A comparison of two factors affecting the proliferation of non-neuronal (glial) cells in vitro.
Brain Res. 1980, 192, 371-381
98. Harrison L.C, Campbell I.L.
Cytokines: an expanding network of immuno-inflammatory hormones.
Mol.Endocrin. 1988, 2, 1151-1156
99. Hatten M.E.
Neuronal regulation of astroglial morphology and proliferation in vitro.
J.Cell Biol. 1985, 100, 384-396
100. Hatten M.E, Liem R.K.H, Shelansky M.L, Manson C.A.
Astroglia in CNS injury.
Glia 1991, 4, 233-243
101. Haun S.E, Murphy E.J, Bates C.M, Horrocks L.A.
Extracellular calcium is a mediator of astroglial injury during combined
glucose-oxygen deprivation.
Brain Res. 1992, 593, 45-50
102. Heizman C.W.
Calcium protein signaling in the brain.
Acta Neurobiol.Exp. 1992, 52, 169 (abstr.)
103. Heldin C-H, Westesson A, Westermark B.
Growth of normal human glial cells in a defined medium containing platelet-derived growth
factor.
Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1980, 77, 6613-6615
104. Henn F.A, Goldstein M.N, Hamberger A.
Uptake of the neurotransmitter candidate glutamate by glia.
Nature 1974, 249, 663-664
105. Hershman H.R, Levine L, De Vellis J.
Appearance of a brain specific antigen (S-100 protein) during human fetal development.
J.Neurochem. 1971, 18, 629-633
106. Hertz L.
An intense potassium uptake into astrocytes, its further enhancement by high concentrations of
potassium and its possible involvement in potassium homeostasis at the cellular level.
Brain Res. 1978, 145, 202-208
107. Hertz L, McFarlin D, Waksman B.
Astrocytes: an auxiliary cells for immune response in the CNS ?
Immunol.Today 1990, 11, 265-268
108. Hess G.D, Roth G.S.
Receptors and aging.
w "Aging and cell function"
red.J.E.Johnson Jr ; Plenum Press, New York-London 1984, 149-185

109. Hightower L.E.
Heat shock, stress proteins, chaperones and proteotoxicity.
Cell 1991, 66, 191-197
110. Hommes O.R, Leblond C.P.
Mitotic division of neuroglia in the normal adult rat.
J.Comp.Neurol. 1967, 129, 269-278
111. Horrock L.A, Rollins van M, Yates A.J.
Lipid changes in the aging brain.
w "The molecular basis of neuropathology".
red: A.N.Davidson, R.H.S.Thompson ; Edward Arnold Publ.Ltd. 1981, 601-630
112. Hsu S-M, Raine L, Fanger H.
Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison
between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures
J.Histochem.Cytochem. 1981, 29, 577-580
113. Hyden H, Lange P.W.
Correlation of the S-100 brain protein with behaviour.
Exp.Cell Res. 1970, 62, 125-132
114. Isobe T, Ischioka N, Okuyama T.
Structural relation of two S-100 proteins in bovine brain subunit composition of S-100a protein.
Europ.J.Biochem. 1981, 115, 469-474
115. Isobe T, Takahashi K, Okuyama T.
S-100a (alpha/beta) protein is present in neurons of the central and peripheral nervous system.
J.Neurochem. 1984, 43, 1494-1496
116. Iwanowski L, Kulczycki J.
Zmiany starcze i choroby przedstarcze.
w "Podstawy neuropatologii" red: M.J.Mossakowski, J.Dymecki, M.Wender
PZWL, Warszawa 1981, 444-460
117. Jacque C.M, Keyas M, Poreau A, Raoul M, Collier P, Racadot J, Bauman N.
GFA and S-100 protein levels as an index for malignancy in human gliomas and neurinomas.
J.Nat.Cancer Inst. 1979, 62, 479-483
118. Janeczko K.
Age-dependent response to injury of the cerebral hemisphere tissue of rats. A quantitative
autoradiographic study.
Folia Biol.(Kraków) 1986, 34, 3-20
119. Janeczko K.
Spatiotemporal patterns of the astroglial proliferation in rat brain injured at the postmitotic stage
of postnatal development: a combined immunocytochemical and autoradiographic study.
Brain Res. 1989, 485, 236-243
120. Janeczko K.
The proliferative response of S-100 protein-positive glial cells to injury in the neonatal rat brain.
Brain Res. 1991, 564, 86-90

121. Janizer R.C, Raff M.C.
Astrocytes induce blood-brain barrier properties in the endothelial cells.
Nature 1987, 325, 253-257
122. Jendelova P, Sykova E.
Role of glia in K⁺ and pH homeostasis in the neonatal rat spinal cord.
Glia 1991, 4, 56-63
123. Juurlink B.H.J, Devon R.M.
Macromolecular translocation - a possible function of astrocytes.
Brain Res. 1990, 533, 73-77
124. Kanfer J.N.
Astrocytic lipids and their metabolism.
w "Astrocytes. Biochemistry, physiology and pharmacology of astrocytes"
ed: S.Fedoroff, A.Vernadakis; Academic Press Inc. 1986, 2, 251-278
125. Kiessling M, Dienel G.A, Jacewicz M, Pulsinelli W.A.
Protein synthesis in post-ischemic rat brain: a two-dimensional electrophoretic analysis.
J.Cereb.Blood Flow Metabol. 1986, 6, 642-649
126. Kimelberg H.K, Katz D.M.
High-affinity uptake of serotonin into immunocytochemically identified astrocytes.
Science 1985, 228, 889-891
127. Kinoshita A, Yamada K, Kohmura E, Hayakawa T.
Effect of astrocyte-derived factors on ischemic brain edema induced by rat MCA occlusion.
APMIS 1990, 98, 851-857
128. Kirsch J.R, Helfaer M.A, Blizzard K, Toung T.J.K, Traystman R.J.
Age-related cerebrovascular response to global ischemia in pigs.
Am.J.Physiol. 1990, 259, 1551-1557
129. Kitagawa K, Matsumoto M, Tagaya M, Hata R, Ueda H, Niinobe M, Handa N, Fukunaga R, Kimura K, Mikoshiba K, Kamada K.
"Ischemic tolerance" phenomenon found in the brain.
Brain Res. 1990, 528, 21-24
130. Kitamura T.
Proliferation and differentiation of glial cells in the developing and mature rodent brains.
Acta Histochem.Cytochem. 1985, 18, 125-132
131. Klatzo I.
Neuropathological aspects of brain edema.
Neuropathol.Exp.Neurol. 1967, 26, 1-14
132. Kligman D, Marshak D.R.
Purification and characterization of neurite extension factor from bovine brain.
Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1985, 82, 7136 (abstr.)
133. Knapp P.E.
The cell cycle of glial cells growth in vitro : an immunocytochemical method of analysis.
J.Histochem.Cytochem. 1992, 40, 1405-1411

134. Korr H.
Proliferation of different cell types in the brain.
Adv.Anat.Embriol.Cell Biol. 1980, 61, 1-72
135. Korr H.
Proliferation and cell-cycle parameters of astrocytes.
w "Astrocytes. Cell biology and pathology of astrocytes."
red: S.Fedoroff, A.Vernadakis ; Academic Press Inc. 1986, 3, 77-127
136. Krajewski S, Dolińska E, Rafałowska J.
Reakcja astrocytów w różnych stadiach zawału mózgu u ludzi w wieku średnim i starym.
Neuropat.Pol. 1988, 26, 493-506
137. Kumar K, Madhukar B.V
Heat shock and tubulin RNA in postischemic brain.
Brain Dysf. 1991, 4, 10-16
138. Kurihara H, Yoshizumi M, Sugiyama T, Takaku F, Yanagisawa M, Masaki T, Hamaoki M,
Kato M, Yazaki Y.
Transforming Growth Factor beta stimulates expression of endothelin mRNA by vascular
endothelial cells.
Biochem.Biophys.Res.Comm.1989, 159, 1435-1440
139. Lach B, Weinrauder H.
Gliia-specific antigen in the intracranial tumors -immunofluorescence study.
Acta Neuropath. 1978, 41, 9-15
140. Lander A.D, Fujii D, Reichard L.F.
Laminin is associated with the "neurite outgrowth-promoting factors" found
in conditioned media.
Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1985, 82, 2183-2187
141. Lapham L.W.
Cytologic and cytochemical studies of neuroglia. I. A study of the problem of amitosis of reactive
protoplasmic astrocytes.
Am.J.Pathol. 1962, 41, 7-21
142. Latov N, Nilaver G, Zimmerman E.A, Johnson H.G, Silverman A-J, Defendini R, Cote L.
Fibrillary astrocytes proliferate in response to brain injury.
Develop.Biol. 1979, 72, 381-384
143. Lattera J, Goldstein G.W.
Astroglial-induced in vitro angiogenesis: requirements for RNA and protein synthesis.
J.Neurochem. 1991, 57, 1231-1239
144. Launder J, McCarthy K.
Neuronal-glia interactions.
w "Astrocytes. Biochemistry, physiology and pharmacology of astrocytes".
red: S.Fedoroff, A.Vernadakis ; Academic Press Inc. 1986, 2, 251-278
145. Lee J.
Anatomy of the blood-brain barrier under normal and pathologic condition.
w "Histology and histopathology of the nervous system"
red: W.Haymaker, R.Adams ; C.Thomas Books, Springfield 1982, 798-870

146. Lee S-H, Hurwitz J.
Mechanism of elongation of primed DNA by DNA polymerase delta-proliferating cell nuclear antigen and activator 1.
Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1990, 87, 5672-5676
147. Levitt P, Rakic P.
Immunoperoxidase localization of GFAP in radial glial cells and astrocytes of the developing Rhesus monkey brain.
J.Comp.Neurol. 1980, 193, 815-840
148. Leutz A, Schachner M.
Epidermal Growth Factor stimulates DNA synthesis of astrocytes in primary cerebellar cultures.
Cell Tissue Res. 1981, 220, 393-404
149. Liesi P.
Laminin-immunoreactive glia distinguish regenerative adult central nervous system from non-regenerative ones.
EMBO J. 1985, 4, 2505-2511
150. Lim R, Miller J.F.
Sequential interaction of Glia Maturation Factor with insulin.
Science 1984, 223, 1419-1420
151. Lim R, Hicklin D.J, Ryken T.C, Miller J.F.
Endogenous immunoreactive glia maturation-like molecule in astrocytes and glioma cells.
Brain Res. 1987, 430, 49-57
152. Lin R.C.S, Polsky K, Mathesic D.F.
Expression of gamma-aminobutyric acid immunoreactivity in reactive astrocytes after ischemia-induced injury in the adult forebrain.
Brain Res. 1993, 600, 1-8
153. Lindholm D, Castren E, Kiefer R, Zafra F, Thoenen H.
Transforming Growth Factor beta-1 in the rat brain: increase after injury and inhibition of astrocytes proliferation.
J.Cell Biol. 1992, 117, 395-400
154. Lindsay R.M.
Adult rat brain astrocytes support survival of both NGF-dependent and NGF insensitive neurons.
Nature 1979, 282, 80-82
155. Lindsay R.M.
Reactive gliosis.
w "Astrocytes. Cell biology and pathology of astrocytes".
red: S.Fedoroff, A.Vernadakis ; Alan Press Inc. 1986, 3, 231-262
156. Logan W.J.
Amino-acid transport by two glial cell lines and by proliferating glia.
Exp.Neurol. 1976, 53, 431-443
157. Logan A, Frautschy S.A, Gonzales A-M, Baird A.
A time course for the focal elevation of synthesis of bFGF and one of its high-affinity receptor (fgl) following a local cortical injury.
J.Neurosci. 1992, 12, 3828-3838

158. London E.D.
Metabolism of the brain. A measure of cellular function in aging.
w "Aging and cell function",
red. J.E.Johnson Jr. Plenum Press, New York-London 1984, 187-210
159. Lu B, Yokoyama M, Dreyfus C.F, Black I.B.
NGF gene expression in actively growing brain glia.
J.Neurosci. 1991, 11, 318-326
160. Ludwin S.K, Kosek J.C, Eng L.F.
The topographical distribution of S-100 and GFA proteins in the adult rat brain: an immunohistochemical study using horseradish peroxidase-labelled antibodies.
J.Comp.Neurol. 1976, 165, 197-208
161. MacCumber M.W, Ross Ch.A, Snyder S.H.
Endothelin in brain; receptors, mitogenesis and biosynthesis in glial cells.
Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1990, 87, 2359-2363
162. Mansour H, Asher R, Dahl D, Labkowsky B, Perides G, Bignami A.
Permissive and non-permissive reactive astrocytes: immunofluorescence study with antibodies to the glial hyaluronage-binding protein.
J.Neurosci. 1990, 25, 300-311
163. Malhotra S.K, Shnitka T.K, Elbrink J.
Reactive astrocytes - a review.
Cytobios 1990, 61, 133-160
164. Manthorpe M, Engval E, Ruoslathi E, Longo F.M, Davis G.E, Varon S.
Laminin promotes neuritic regeneration from cultured peripheral and central neurons.
J.Cell Biol. 1983, 97, 1882-1890
165. Manthorpe M, Rudge J.S, Varon S.
Astroglial cell contributions to neuronal survival and neuritis growth.
w "Astrocytes. Biochemistry, physiology and pharmacology of astrocytes".
red: S.Fedoroff, A.Vernadakis; Academic Press Inc. 1986, 2, 315-376
166. Manuelidis L, Manuelidis E.E.
An autoradiographic study of the proliferation of reactive astrocytes and expression of cytoskeletal proteins following brain injury in rats.
Dev.Brain Res. 1988, 38, 201-210
167. Marks A, Petshe D, O'Hanlon D, Kwong P.C, Stead R, Dunn R, Baumal R, Liao S-K.
S-100 protein expression in human melanoma cells: comparison of levels of expression among different cell lines and individual cells in different phases of the cell cycle.
Exp.Cell Res. 1990, 187, 59-64
168. Marshak D.
S-100 beta as a neurotrophic factor.
Prog.Brain Res. 1990, 86, 169-181
169. Martin A.J, Friston K.J, Colebatch J.G, Frackowiak R.S.J.
Decreases in regional cerebral flow with normal aging.
J.Cereb.Blood Flow Metabol. 1991, 11, 648-689

170. Mata M, Allesi D, Fink D.J.
S-100 is preferentially distributed in myelin-forming Schwann cells.
J.Neurocytol. 1990, 19, 432-442
171. Mathews M.B, Bernstein R.M, Franza B.R.Jr, Garrels J.
Identity of the proliferating cell nuclear antigen and cyclin.
Nature 1984, 309, 374-375
172. Mathewson A.J, Berry M.
Observations on the astrocyte response to a cerebral stab wound in adult rat.
Brain Res. 1985, 327, 61-69
173. Maxwell K, Berliner J.A, Cancilla P.A.
Induction of gamma-GTP in cultured cerebral endothelial cells by a glial released product(s).
J.Neuropathol.Exp.Neurol. 1986, 45, 375 (abstr.)
174. McCarthy G.F, Leblond C.P.
Radiographic evidence for slow astrocyte turnover and modest oligodendrocyte production in the corpus callosum of adult mice used with ³H-thymidine.
J.Comp.Neurol. 1988, 271, 589-603
175. McGeer P.L, McGeer E.G.
Neurotransmitters in the aging brain.
w "The molecular basis of neuropathology"
ed: A.N.Davidson, R.H.S.Thompson ; Edward Arnold Publ.Ltd. 1981, 649-666
176. Melamed E, Lavy S, Bentin S, Cooper G, Rinot Y.
Reduction in cerebral blood flow during normal aging in man.
Stroke 1980, 11, 31-35
177. Merrill J, Kutsunai S, Mohlstrom C.
Proliferation of astroglia and oligodendroglia in response to human T cell-derived factors.
Science 1984, 224, 1428
178. Merrill J.
Macrogliia: neuronal cells responsive to lymphokines and growth factors.
Immunol.Today 1987, 8, 146-150
179. Michetti F, Miani N, de Renzis G, Caniglia A, Correr S.
Nuclear localization of S-100 protein.
J.Neurochem. 1974, 22, 239-244
180. Mies G, Auer L.M, Ebhardt G, Traupe H, Heiss W-D.
Flow and neuronal density in tissue surrounding chronic infarction.
Stroke 1983, 14, 22-27
181. Miquel J, Johnson J.E.Jr, Cervos-Navarro J.
Comparison of CNS aging in humans and experimental animals.
w "Brain aging; neuropathology and neuropharmacology"
ed: J.Cervos-Navarro, H.J.Sarkander ; Raven Press, New York 1983, 231-258
182. Miyake T, Hattori T, Fukuda M, Kitamura T, Fujita S.
Quantitative studies on proliferative changes of reactive astrocytes in mouse cerebral cortex.
Brain Res. 1988, 451, 133-138

183. Miyake T, Hattori T, Fukuda M, Kitamura T.
Reactions of S-100-positive glia after injury of mouse cerebral cortex.
Brain Res. 1989, 489, 31-40
184. Miyake T, Kitamura T.
Proliferation of microglia in the injured cerebral cortex of mice as studied by thiamine pyrophosphatase histochemistry combined with ³H-thymidine autoradiography.
Acta Histochem.Cytochem. 1991, 24, 457-463
185. Miyake T, Okada M, Kitamura T
Reactive proliferation of astrocytes studied by immunohistochemistry for proliferating nuclear antigen.
Brain Res. 1992, 590, P 300-302
186. Moonen G, Grau-Wegemans M-P, Selak J, Lefevre P.P, Rogister B, Vassali J.I, Belin D.
Plasminogen activator is a mitogen for astrocytes in developing cerebellum.
Dev.Brain Res. 1985, 20, 41-48
187. Moore B.W.
A soluble protein characteristic of the nervous system.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 1965, 19, 739-744
188. Moore S.A, Yorder E, Murphy S, Dutton G.R, Spector A.A.
Astrocytes, not neurons produce docosahexaenoic acid (22:6@-3) and arachidonic acid (20:4@-6).
J.Neurochem. 1991, 56, 518-524
189. Mori S, Leblond C.P.
Electron microscopic features and proliferation of astrocytes in the corpus callosum of the rat.
J.Comp.Neurol. 1969, 137, 197-226
190. Mossakowski M.J, Penar B.
Some aspects of histochemistry of the reactive glia.
Neuropat.Pol. 1972, 2, 365-371
191. Mossakowski M.J, Weinrauder H.
Immunomorphology in Wilsonian and hepatic gliopathy in vitro.
Neuropat.Pol. 1984, 22, 161-178
192. Moundjian R.A, Antel J.P, Yong U.W.
Origin of contralateral reactive gliosis in surgically injured cerebellar cortex.
Brain Res. 1991, 547, 223-228
193. Na G.C.
Microtubule assembly-disassembly: effects of calcium ion and calmodulin.
w "Calcium-binding proteins"
red. M.Thompson ; CRS Press Inc. Boca Ranton, Florida 1988, 2, 47-77
194. Naritomi H, Meyers J.S, Sakai F, Yamaguchi F, Shaw T.
Effects of advancing age on regional blood flow. Studies in normal subjects and with risk factors for atherothrombotic stroke.
Arch.Neurol. 1979, 36, 410-416
195. Nathaniel E.J.H, Nathaniel D.R.
The reactive astrocytes.
Adv.Cell Neurobiol. 1981, 2, 249-301

196. Niebrój-Dobosz I, Rafałowska J, Barcikowska-Litwin M.
Brain myelin in senile patients with brain infarction.
Neuropat.Pol. 1986, 24, 351-364
197. Niebrój-Dobosz I, Rafałowska J, Łukasik M.
Do lipid changes influence the density of aging human brain myelin.
Neuropat.Pol. 1989, 27, 427-436
198. Nieto-Sampedro M, Saneto R.P, De Vellis J, Cotman C.W.
The control of glial populations in brain: changes in astrocyte mitogenic and morphogenic factors in response to injury.
Brain Res. 1985, 343, 320-328
199. Nieto-Sampedro M, Berman M.A.
Interleukin 1-like activity in rat brain: sources, targets and effect on injury.
J.Neurosci.Res. 1987, 17, 214-219
- 200 a. Nieto-Sampedro M, Lim R, Hicklin D.J, Cotman C.W.
Early release of Glia Maturating Factor and acidic Fibroblast Growth Factor after rat brain injury.
Neurosci.Lett. 1988, 86, 361-365
- 201 b. Nieto-Sampedro M, Gomez-Pinilla F, Knauer D.J, Broderic J.T.
Epidermal Growth Factor receptor immunoreactivity in rat brain astrocytes. Response to injury.
Neurosci.Lett. 1988, 91, 276-282
202. Nishimura R.N, Dwyer B.E, Welch W, Col R, De Vellis J, Liotta K.
The induction of the major heat-stress protein in purified rat brain.
J.Neurosci.Res. 1988, 20, 12-18
203. Norenberg M.D, Martinez-Hernandez A.
Fine structural localization of glutamine synthetase in astrocytes of rat brain.
Brain Res. 1979, 161, 303-310
204. Norenberg M.D, Mozes L.W, Gregorios J.B, Norenberg L-O.B.
Effects of lactic acid on astrocytes in primary culture.
J.Neuropathol.Exp.Neurol. 1987, 47, 154-166
205. Norton W, Farooq M.
Astrocytes cultured from mature brain derived from glial precursor cells.
J.Neurosci. 1989, 9, 769-775
206. O'Callaghan J.P, Brinton R.E, McEwen B.S.
Glucocorticoids regulate the concentration of GFAP throughout the brain.
Brain Res. 1989, 494, 159-161
207. O'Callaghan J.P, Miller D.B.
The concentration of GFAP increases with age in the mouse and rat brain.
Neurobiol.Aging 1991, 12, 171-174
208. Patel J, Marangos P.J, Heydorn H.E, Chang G, Verma A, Jakobowitz D.
S-100 mediated inhibition of brain protein phosphorylation.
J.Neurochem. 1983, 41, 1040-1045

209. Perzelova A, Mares V.
Appearance of GFAP-positive cells in adult human brain cultured spontaneously decelerated in growth.
Glia 1993, 7, 237-244
210. Peters A, Palasy S.L, Webster H.
The fine structure of the nervous system.
W.B.Saunders Company, Philadelphia-London-Toronto 1976
211. Petito C.K, Babiak T.
Early proliferative changes in astrocytes in postischemic noninfarcted rat brain.
Ann.Neurol. 1982, 11, 510-518
212. Petito C.K, Morgello S, Felix J.C, Holden L.M.
Astrocytes in cerebral ischemia.
w "The biochemical pathology of astrocytes".
red. M.D.Norenberg ; A.R.Liss Inc. New York 1988, 341-349
213. Petito C.K, Morgello S, Felix J.C, Lesser M.L.
The two patterns of reactive astrocytosis in postischemic rat brain.
J.Cereb.Blood Flow Metabol. 1990, 10, 850-859
214. Petito C.K, Chung M, Halaby I.A, Cooper J.L.
Influence of neuronal environment on the pattern of reactive astrocytosis following cerebral ischemia.
Prog.Brain Res. 1992, 94, 381-387
215. Petrescu A.
Histoenzymology of reactive astroglia.
Neuropat.Pol. 1972, 2, 365-371
216. Pettmann B, Weibel M, Sensenbrenner M, Labourdette G.
Purification of two astroglial growth factors from bovine brain.
FEBS Lett. 1985, 189, 102-108
217. Pixley S.K.R, Kobayashi Y, De Vellis J.
A monoclonal antibody against vimentin-characterization.
Dev.Brain Res. 1984, 15, 185-199
218. Pixley S.K.R, De Vellis J.
Transition between immature radial glia and mature astocytes studied with monoclonal antibody to vimentin.
Dev.Brain Res. 1984, 15, 201-209
219. Pruss R.M, Barlett P.F, Gavrilovic J, Lisak R.P, Rattray Y.
Mitogens for glial cells: a comparison of the response of cultured astrocytes, oligodendrocytes and Schwann cells.
Dev.Brain Res. 1982, 2, 19-35
220. Qi D-F, Kuo D.R.
S-100 modulates Ca⁺²-independent phosphorylation of an endogenous protein (Mr-19 k) in brain.
J.Neurochem. 1984, 43, 256-260

221. Raff M.C, Miller R.H, Noble M.
A glial progenitor cell that develops in vitro into an astrocyte or oligodendrocyte depending on culture medium.
Nature 1983, 303, 390-396
222. Rafałowska J, Dolińska E, Dziewulska D, Krajewski S.
Zawały mózgu u ludzi w wieku średnim i starszym. I. Zaburzenia przepuszczalności bariery krwi-mózg w badaniach immunocytochemicznych.
Neuropat.Pol. 1990, 28, 1-17
223. Rafałowska J, Dolińska E, Dziewulska D, Krajewski S.
Astrocytic reactivity in various stages of human brain infarct in the middle and senile age.
Neuropat.Pol. 1991, 29, 181-191
224. Rafałowska J, Krajewski S, Dolińska E, Dziewulska D.
Perivascular astrocytes and blood vessels permeability disturbances within multiple sclerosis plaques.
Neuropat.Pol. 1992, 30, 24-30
225. Rakic P.
Guidance of neurons migrating to the superficial layers of fetal monkey neocortex.
Brain Res. 1971, 33, 471-476
226. Rakic P.
Mode of cell migration to the superficial layers of fetal monkey neocortex.
J.Comp.Neurol. 1972, 145, 61-84
- 227 a. Ransom B.R, Goldring S.
Ionic determinants of membrane potential of cells presumed to be glia in cerebral cortex in bat.
J.Neurophysiol. 1973, 36, 855-868
- 228 b. Ransom B.R, Goldring S.
Slow depolarization in cells presumed to be glia in cerebral cortex in the cat.
J.Neurophysiol. 1973, 36, 869-878
- 229 c. Ransom B.R, Goldring S.
Slow hyperpolarization in cells presumed to be glia in cerebral cortex in the cat.
J.Neurophysiol. 1973, 36, 879-892
230. Ransom B.R, Carlini W.G.
Electrophysiological properties in astrocytes.
w "Astrocytes. Biochemistry, physiology and pharmacology of astrocytes"
red: S.Fedoroff, A.Vernadakis ; Academic Press Inc. 1986, 2, 1-50
231. Reier P.J.
Gliosis following CNS injury: the anatomy of astrocytic scars and their influences on axonal elongation.
w "Astrocytes. Biochemistry, physiology and pharmacology of astrocytes"
red: S.Fedoroff, A.Vernadakis ; Academic Press Inc. 1986, 2, 263-324
232. Reier P.J, Houle J.D.
The glial scar - its bearing on axonal elongation and transplantation approaches to CNS repair.
Adv.Neurol. 1988, 47, 87-138

233. Riabowol K.T.
Transcription factor activity during cellular aging of human diploid fibroblasts.
Biochem.Cell Biol. 1992, 70, 1064-1072
234. Riabowol K.T, Schiff J, Gilman M.Z.
Transcription factor AP-1 activity is required for initiation of DNA synthesis and lost during cellular aging.
Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1992, 89, 157-161
235. Richelson E, Thompson E.J.
Transport of neurotransmitter precursor into cultured cells.
Nature 1973, 241, 201-204
236. Rio Hortega P.del
El "tercer elemento" de los centros nervosos.
Bol.Soc.Espan.Biol. 1919, 9, 69-120
237. Rio Hortega P.del
Estudios sobre la neuroglia. La glia de escasas radiaciones (oligodendroglia).
Bol.Real Soc.Espan. Hist.Nat. 1921, 21, 63-92
238. Rio Hortega P.del, Penfield W.
Cerebral cicatrix: the reaction of neuroglia and microglia to brain wounds.
Bull.John Hopkins Hosp. 1927, 41, 278-303
239. Robertis de E.
Ultrastructure and cytochemistry of the synaptic region.
Science 1967, 156, 907-914
240. Robertson W.F.
The normal histology and pathology of the neuroglia (in relation specially to mental diseases).
J.Mental Sci. 1897, 43, 733-752
241. Rogister B, Leprince P, Pettman B, Labourdette G, Sensenbrenner H, Moonen G.
Brain basic Fibroblast Growth Factor stimulates the release of plasminogen activators by newborn rat cultured astroglial cells.
Neurosci.Lett. 1988, 91, 321-326
242. Rogister B, Leprince P, Banhomme V, Rigo J.M, Delree P, Colige A.
Cultured neurons release an inhibitor of astroglia proliferation (astrostatine).
J.Neurosci.Res. 1990, 25, 58-70
243. Ronback L.
Studies on S-100, a brain specific protein during maturation and in the adult nervous system of rat, rabbit and guinea pig.
Goteborg Univ.Publ. 1975
244. Rothman S.M, Olney J.W.
Glutamate and pathophysiology of hypoxic-ischemic brain damage.
Ann.Neurol. 1986, 19, 105-111
245. Rosenstein J.M, Krum J.M, Sternberger L.A, Pulley M.T, Sternberger N.H.
Immunocytochemical expression of the endothelial barrier antigen (EBA) during brain angiogenesis.
Dev.Brain Res. 1992, 66, 47-54

246. Sakai Y, Rawson C, Lindburgh K, Barnes D.
Serum and Transforming Growth Factor beta-1 regulate GFAP in serum-free-derived mouse embryo cells.
Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1990, 87, 8378-8382
247. Samuel D, Heron D.S, Hershowitz M, Shinitzky M.
Aging, receptor binding and membrane microviscosity.
w "The aging brain; cellular and molecular mechanisms of aging in the nervous system"
red: E.Giacobini, G.Filogamo, G.Giacobini, A.Vernadakis ; Raven Press, New York 1982, 93-97
248. Scheibel A.B, Fried I.
Age-related changes in the peri-capillary environment of the brain.
w "Aging of the brain"
red: D.Samuel, S.Algeri, S.Gershon, V.E. Grimm, G.Toffano
Raven Press, New York 1983, 81-92
249. Schrier B.K, Thompson E.J.
On the role of glial cells in the mammalian nervous system. Uptake, excretion and metabolism of putative neurotransmitters by cultured glial tumor cells.
J.Biol.Chem. 1974, 249, 1769-1780
250. Schiffer D, Girodana M.T, Migheli A, Giaccone G, Pezzotta S, Mauro A.
GFAP and vimentin in the experimental glial reactions of the rat brain.
Brain Res. 1986, 374, 110-118
251. Schipper H.M, Wang E.
Expression of statin, a non-proliferation-dependent nuclear protein in the postnatal rat brain: evidence for substantial retention of neuroglial proliferating capacity with aging.
Brain Res. 1990, 528, 250-258
252. Schipper H.M, Mauricette R, Liang J, Lee M-J, Wang E.
Expression of the non-proliferation-specific protein statin in grey matter neuroglia of the aging brain.
Brain Res. 1992, 591, 129-136
253. Schnitzer J, Franke W.W, Schachner M.
Immunocytochemical demonstration of vimentin in astrocytes and ependymal cells of developing and adult mouse nervous system.
J.Cell Biol. 1981, 90, 435-447
254. Schubert D, Carlisle W, Look C.
Putative neurotransmitters in clonal cell lines.
Nature 1975, 254, 341-343
255. Schwab M, Caroni P.
Rat CNS myelin and a subtype of oligodendrocytes in culture represent a non-permissive substrate of neurite growth and fibroblast spreading.
J.Neurosci. 1988, 8, 2381-2393
256. Seil F.J, Eckenstein F.P, Reier P.J.
Induction of dendritic spine proliferation by an astrocyte secreted factor.
Exp.Neurol. 1992, 117, 85-89

257. Selmaj K.W, Farooq M, Norton W.T, Raine C.S, Brosnan C.F.
Proliferation of astrocytes in vitro in response to cytokines. A primary role for Tumor Necrosis Factor.
J.Immunol. 1990, 144, 129-135
258. Semenoff D, Kimelberg H.K.
Autoradiography of high affinity uptake of catecholamines by primary astrocyte cultures.
Brain Res. 1985, 348, 125-136
259. Seshadri T, Campisi J.
Repression of c-fos transcription and altered genetic program in senescent human fibroblasts.
Science 1990, 247, 205-209
260. Sharp F.R, Lowenstein D, Simon R, Hisanaga K
Heat shock protein hsp72 induction in the cortical and striatal astrocytes and neurons following infarction.
J.Cereb.Blood Flow Metabol. 1991, 11, 621-627
261. Sheffield H.D, Kim S.U.
Myelin Basic Protein causes proliferation of lymphocytes and astrocytes in vitro.
Brain Res. 1977, 132, 580-584
262. Shelanski M.L, Selkoe D.J.
Protein changes in the aging brain
w "The molecular basis of the neuropathology".
ed: A.N.Davidson, R.H.S.Thompson ; E.Arnold Publ.Ltd. 1981, 591-600
263. Shuangshoti S, Samranvej P, Netsky M.G.
Phagocytic astrocytes and neurons in old encephalomalacia.
J.Neuropathol.Exp.Neurol. 1979, 38, 235-241
264. Singh U.B, Talwar G.P.
Identification of a protein fraction in the occipital cortex of the monkey rapidly labelled during the exposure of the animal to rhythmically flickering light.
J.Neurochem. 1969, 16, 951-959
265. Skoff R.P, Vaughn J.E.
An autoradiographic study of cellular proliferation on degenerating rat optic nerve.
J.Comp.Neurol. 1971, 141, 133-156
266. Smith M.E, Somera F.P, Eng L.F.
GFAP in cryogenic lesions of the rat brain.
Neurosci.Lett. 1983, 21, 27-32
267. Smith G.H, Ruthishauser U, Silver J, Miller R.H.
Maturation of astrocytes in vitro alters the extent and molecular basis of neurite outgrowth.
Dev.Biol. 1990, 138, 377-390
268. Sternberger L.A, Hardy P.H, Cuculis J.J, Mayer H.G.
The unlabelled antibody enzyme method of immunohistochemistry.
J.Histochem.Cytochem. 1970, 18, 315-333
269. Steward R.M, Rosenberg R.N.
Physiology of glia.
Int.Rev.Neurobiol. 1979, 21, 275-304

270. Steward C.A, Dell'orco R.T.
Age related decline in the expression of proliferating cell nuclear antigen in human diploid fibroblasts.
Mech.Aging Dev. 1992, 61, 249-273
271. Sturrock R.R.
Histogenesis of the anterior limb of the anterior commissure of the mouse brain. II. A quantitative study of pre- and postnatal mitoses.
J.Anat. 1974, 117, 27-35
272. Suarez Najera J, Fernandez Ruiz B, Garcia Segura L.M.
Specialized contacts of astrocytes with astrocytes and with other cell types in the hypothalamus of the hamster.
J.Anat. 1980, 130, 55-61
273. Sun A.Y, Sun G.Y, Foundin L.L.
Aging.
w "Handbook of neurochemistry. Alterations of metabolites in the nervous system"
red. A.Lajtha ; Plenum Press, New York-London 1985, 9, 173-202
274. Szymaś J.
Diagnostic value of demonstrating Glial Fibrillary Acidic Protein in human astrocytomas.
Neuropat.Pol. 1985, 23, 23-35
275. Takamiya Y, Kohsaka S, Toya S, Otani M, Tsukada Y.
Immunohistochemical studies on the proliferation of reactive astrocytes and expression of cytoskeletal proteins following brain injury in rats.
Dev.Brain Res. 1988, 38, 201-210
276. Takeshita T, Ariizumi-Shibusawa C, Shimizu K, Hoshino H, Yamagata Z, Iijima S, Asaka A, Higurashi M.
The effect of aging on cell-cell kinetics and X-ray induced chromosome aberrations in cultured lymphocytes from patients with Down syndromr.
Mutat.Res. 1992, 275, 21-29
277. Tao-Cheng J-H, Nagy Z, Brightman M.W.
Tight junctions of brain endothelium in vitro are enhanced by astroglia.
J.Neurosci. 1987, 7, 3293-3299
278. Tedeschi B, Barrett J.N, Keane R.W.
Astrocytes produce interferon that enhances the expression of H-2 antigens on a subpopulation of brain cells.
J.Cell Biol. 1986, 102, 2244-2253
279. Thompson R.J, Mueller H.K, Elrica W.L.
The immunohistological localization of creatine kinase BB-isoenzyme to astrocytes in human brain.
Brain Res. 1980, 201, 423-426
280. Trachtenberg M.C, Pollen D.A.
Neuroglia: biophysical properties and physiologic function.
Science 1970, 167, 1248
281. Trananque P.A, Suarez I, Olmos G, Fernandez G, Garcia-Segura L.M.
Estradiol-induced redistribution of GFAP immunoreactivity in the rat brain.
Brain Res. 1987, 406, 348-351

282. Vaughn I.N, Pease D.C.
Electron microscopy studies of wallerian degeneration in the rat optic nerve.
II. Astrocytes, oligodendrocytes and adventitial cells.
J.Comp.Neurol. 1970, 140, 207-226
283. Vernadakis A.
Changes in astrocytes with aging.
w "Astrocytes. Biochemistry, physiology and pharmacology of astrocytes".
red: S.Fedoroff, A.Vernadakis ; Academic Press Inc. 1986, 2, 377-407
284. Vernadakis A, Arnold E.B.
Age-related changes in neuronal and glial enzyme activities.
Adv.Cell Biol. 1980, 1, 229-283
285. Vibulsresth S, Hefti F, Dietrich W.D, Ginsberg M.D,
Effects of astrocytes on neuronal survival under anoxic conditions in vitro.
Dev.Biol. 1979, 72, 381-384
286. Vijayan V.K, Cotman C.
Lysosomal enzyme changes in young and aged control and entorhinal-lesioned rats.
Neurobiol.Aging 1983, 4, 13-23
287. Virchow R.
Ueber das granulierte Aussehen der Wandungen der Gehirnventrikel.
Allg.Z.Psychiatr. 1846, 3, 424-450
288. Volpe J.J, Marasa J.C.
Regulation of palmitic acid synthesis in cultured glial cells effect of lipid on fatty acid synthetase, acetyl-Co-A carboxylase fatty acid and sterol synthesis.
J.Neurochem. 1975, 25, 333-340
289. Walicke P, Cowman W.M, Ueno N, Baird A, Guillemin R.
Fibroblast Growth Factor promotes survival of dissociated hippocampal neurons and enhances neurite extension.
Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1986, 83, 3012-3016
290. Weibel M, Pettmann B, Labourdette G, Miche M, Bock E.,Sensenbrenner M.
Morphological and biochemical maturation of rat astroglial growth factor.
Int.J.Dev.Neurosci. 1985, 3, 617-630
291. Welsch M.J.
Localization of intracellular calcium-binding proteins.
w "Calcium-binding proteins"
red. M.Thompson ; CRC Press Inc.Boca Raton, Floride 1988, 1, 1-19
292. Whitaker-Azmitia P.M, Murphy R, Azmitia E.C.
Stimulation of astroglial 5-HT-1a receptors releases the serotonergic growth factor, protein S-100 and alters astroglial morphology.
Brain Res. 1990, 528, 155-158
293. Wolburg H, Neuhaus J, Pettman B, Labourdette G, Sensenbrenner M.
Decreased in the density of orthogonal arrays of particles in membranes of cultured rat astroglial cells by the brain Fibroblast Growth Factor.
Neurosci.Lett. 1986, 72, 25-30

294. Won K.A, Xiong Y, Beach D, Gilman M.Z.
Growth-regulated expression of D-type cyclin genes in human diploid fibroblasts.
Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1992, 89, 9910-9914
295. Woolsey J.T.
Measuring cell proliferation.
Acta Pathol.Lab.Med. 1991, 115, 555-557
296. Yamada T, Kawamata T, Walker D.G, McGregor P.L.
Vimentin immunoreactivity in normal and pathologic human brain tissue.
Acta Neuropath. 1992, 84, 157-162
297. Yamaguchi T, Kanno I, Uemura K, Shishido F, Inugami A, Ogawa T, Murakami M, Suzuki K.
Reduction in regional cerebral metabolic rate of oxygen during human aging.
Stroke 1986, 17, 1220-1228
298. Yong V.W, Moumdijan R, Yong F.P, Ruijs T.C, Freedman M.S, Cashman N, Antel J.P.
Gamma-interferon promotes proliferation of adult human astrocytes in vitro and reactive gliosis in the adult mouse brain in vivo.
Proc.Natl.Acad.Sci.USA 1991, 88 P, 7016-7020
299. Yoshida K, Gage F.
Fibroblast Growth Factors stimulate Nerve Growth Factor synthesis and secretion by astrocytes.
Brain Res. 1991, 538, 118-126
300. Yoshida K, Gage F.
Cooperative regulation of Nerve Growth Factor synthesis and secretion in fibroblast and astrocytes by Fibroblast Growth Factor and other cytokines.
Brain Res. 1992, 569, 14-25
301. Yoshimine T, Morimoto K, Homburger H.A, Yanagihara T.
Immunohistochemical localization of creatine kinase BB-isoenzyme in human brain: comparison with tubulin and astroprotein.
Brain Res. 1983, 265, 101-108
302. Yoshimine T, Hayakawa T, Kato A, Yamada K, Matsumoto K, Ushio Y, Mogami H.
Autoradiographic study of regional protein synthesis in the focal cerebral ischemia with TCA wash and image substration techniques.
J.Cereb.Blood Flow Metabol. 1987, 7, 387-393
303. Yost J.H, Lindquist S.
RNA splicing is interrupted by heat shock and is rescued by heat shock protein synthesis.
Cell 1986, 45, 185-193
304. Yu A.C.H, Gregory G.A, Chan P.H.
Hypoxia-induced dysfunctions and injury of astrocytes in primary cultures.
J.Cereb.Blood Flow Metabol. 1989, 9, 20-28
305. Zhou H.F, Lee L.C-H, Lund L.D.
Timing and patterns of astrocyte migration from xenogenic transplants of the cortex and corpus callosum.
J.Comp.Neurol. 1990, 292, 320-330

306. Zomzely-Neurath C.E, Walker W.A.
Nervous system specific proteins: 14-3-2 protein, neuron-specific enolase and S-100 protein.
w "Proteins of the nervous system"
red: R.A.Bradshaw, D.M.Scheider ; Raven Press, New York 1980, 1-58
307. Zuckerman J, Herschman H, Levine L.
Appearance of a brain specific antigen (the S-100 protein) in the developing rat brain.
J.Neurochem. 1971, 18, 629-633