

F-7. WRZE 1971



eq2 2

STOWARZYSZENIE NEUROPATOLOGÓW POLSKICH

NEUROPATHOLOGIA POLSKA

TOM IX

1971

ZESZ. 3

WARSZAWA

NEUROPATHOLOGIA POLSKA

KWARTALNIK

Tom IX

Lipiec – Wrzesień 1971

Nr 3

KOMITET REDAKCYJNY

Maria Dąmbska (Warszawa), *Jerzy Dymecki* (Pruszków), *Andrzej Głuszcz* (Łódź), *Janusz Groniowski* (Warszawa), *Adam Kunicki* (Warszawa), *Mirosław Mossakowski* (Warszawa), *Ewa Osetowska* (Warszawa), *Stanisław Stefanko* (Kraków), *Mieczysław Wender* (Poznań), *Irmína Zelman* (Warszawa).

Przy współpracy

Ludo van Bogaert (Antwerpia), *N. J. Graszczenkow* (Moskwa), *Igor Klatzo* (Bethesda), *Istvan Környey* (Pecs), *William H. McMenemey* (Londyn),

J. Olszewski (Toronto), *Franz Seitelberger* (Wiedeń), *Istvan Tariska* (Budapeszt)

REDAKCJA

Redaktor Naczelny: *Mirosław Mossakowski*
Redaktor Działu Neuropatologii: *Ewa Osetowska*
Redaktor Działu Ultrastruktury OUN: *Janusz Groniowski*
Redaktor Działu Neuroonkologii: *Adam Kunicki*
Redaktor Działu Neurochemii: *Mieczysław Wender*
Sekretarz Redakcji: *Irmína Zelman*
Sekretarz techniczny: *Władysława Smolińska*

ADRES REDAKCJI

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

Wydawca

PAŃSTWOWY ZAKŁAD WYDAWNICTW LEKARSKICH

MIECZYŚLAW WENDER, ZOFIA ADAMCZEWSKA, JERZY DYMECKI
JERZY KULCZYCKI

CEREBRAL LIPIDS IN AMAUROTIC IDIOCY

Department of Neurology, Medical Academy, Poznań
Neuropathological Laboratory of Psychoneurological Institute, Pruszków
Department of Neurology, Pomeranian Medical Academy, Szczecin

Amaurotic idiocy does not imply a nosological morbid entity. This term applies to various pathological forms differing as regards clinical, anatomical and metabolic manifestations (Sluga, Majdecki 1967, Pilz 1968). Hence investigations aiming at determination of the precise chemical composition of the material stored in the nervous tissue can be regarded as particularly important for the elucidation of the nature of the disease, and also as significantly contributing to a proper classification of the individual forms commonly designated as amaurotic idiocy. These aspects, especially in respect to late infantile forms, are so far not entirely clarified. Furthermore, in this particular form, although it is regarded as a lipidosis, no storage of special ganglioside or of any other lipid could be demonstrated so far (Zeman 1969).

Apart from storage seen within the neurocytes, in many cases of amaurotic idiocy — a more or less advanced demyelination is to be found (Berard-Badier et al. 1958, Thieffry et al. 1960, Wender 1961), the pathogenesis of which remains unknown. It is not clear, whether demyelination in this instance represents a metabolic affliction of the myelin sheath itself, and if so, whether it is brought about by processes which are analogous to those, occurring in leucodystrophies or, whether demyelination in amaurotic idiocy is a merely secondary effect accompanying primary neuronal changes.

These questions seem to be of particular importance in distinguishing the eventual differences between the individual biochemical forms of amaurotic idiocy. Bearing this in mind, we thought it purposeful to analyse the brain lipid composition of the available material of amaurotic idiocy cases.



Table 1. Review of clinical symptoms of the investigated amaurotic idiocy cases

Tabela 1. Objawy kliniczne w badanych przypadkach *idiotia amaurotica*

No. of case Nr przypadku	Sex Płeć	Familiary occurrence Rodzinnosć	Clinical symptoms — Objawy kliniczne				
			Age at which clinical symptoms appeared Początek choroby	Duration of the disease Czas trwania choroby	Initial symptoms Objawy początkowe	Dominating symptoms Objawy dominujące	Ophthalmic changes Zmiany dna oka
1	f ż	—	10 months mies.	5 months mies.	Fits Napady drgawkowe	Spasticity Spastyeczność	—
2	f ż	—	4 months mies.	12 months mies.	Behavioural changes Zmiany w zachowaniu	Cerebellar ataxia Ataksja mózdkowa	Cherry red spot in the fundus Malinka
3	f ż	—	11 months mies.	6 months mies.	Fits Napady drgawkowe	Spastic paresis Niedowład spastyczny	—
4	f ż	—	2nd year 2 lata	4 years lata	Fits Napady drgawkowe	Spastic paresis Niedowład spastyczny	—
5	f ż	brother A.I. brat i.a.	3rd year 3 lata	3 years lata	Deteriorated gait Zaburzenia chodu	Spastic paresis Niedowład spastyczny	—
6	m m	—	3rd year 3 lata	3 years lata	Fits Napady drgawkowe	Spasticity Spastyeczność	Retinal degeneration Zwyrodnienie siatkówki

MATERIAL AND METHODS

The investigated material consisted of 6 cases of amaurotic idiocy, of which 3 cases were classified according to the patients age at which the illness began — as infantile amaurotic idiocy, and the remaining three — as late infantile amaurotic idiocy cases. A short clinical characteristic of the investigated cases is presented in Table 1.

Microscopic examinations of the brain revealed a pathological affliction of the neurocytes both in the cortex, in the basal and brain stem nuclei, which is typical for a storage disease. These changes were more generalized and more uniform in distribution in the infantile cases than in the late infantile ones. After staining with sudan III, the neuronal cytoplasm was filled with granular deposits, of yellowish-orange colour. The cerebellar granular layer appeared significantly atrophic, and so were — but to a lesser extent — the Purkinje cells. The brain specimens showed also some decoloration of the myelin staining, the extent of which was variable in the individual cases, but preferentially localized within the central parts of the white matter of the brain hemispheres.

The results of chemical determinations of cerebral lipids from the diseased brains were compared with results obtained from control specimens which were derived from brains of children which died for other reasons than primary diseases of the central or peripheral nervous system. The investigated material both from amaurotic idiocy cases and from the control ones had been stored for 1—8 years in formalin prior to investigation.

The lipid composition of cerebral white and grey matter chloroform-methanal extracts (according to Folch-Pi et al. 1957) was determined by column and thin-layer chromatography.

The lipid constituents were separated by the method of Svennerholm (1964). Cholesterol was estimated by the method of Sperry and Webb (1950). The separated phospholipid and cerebroside fractions were quantitatively estimated according to Bartlet (1959) and Rodin et al. (1965) and estimated following the method presented by Suzuki (1964).

RESULTS

It appears from Table 2, that of the three cases classified on the basis of clinical symptoms as infantile amaurotic idiocy — only one revealed a ganglioside spectrum typical for this lipidosis, i. e. marked increase of the G₅ (according to Korey and Gonatas, 1963) or G_{M2} (according to the classification of Svennerholm, 1963) ganglioside. In the remaining two infantile cases — similarly as in the brains of two children with late

Table 2. Percent content of ganglioside fractions in the cerebral grey matter in A.I.

Tabela 2. Procentowa zawartość frakcji gangliozydów w istocie szarej mózgu w i.a.

Ganglioside fraction	Control cases			Infantile A.I.			Control cases			Late infantile A.I.		
	2.5 months	3.5 months	6 months	15 months	16 months	17 months	6 years	7 years	16 years	6 years	6 years	6 years
G ₀	4.6	2.9	0.7	5.8	0.9	4.6	0.2	1.0	5.1	4.1	7.0	9.0
G ₁ (G _{T1})	4.6	6.3	7.2	5.8	1.0	10.0	2.1	3.7	5.1	2.0	10.0	10.9
G ₂ (G _{D1b})	10.3	12.9	15.2	3.9	1.0	5.8	17.1	18.5	7.7	3.3	5.5	9.0
G ₃ (G _{D1a})	32.2	30.4	25.1	21.5	4.3	7.9	23.9	20.1	9.0	4.1	12.0	16.3
G ₄ (G _{M1})	26.5	24.5	36.1	30.5	8.3	33.4	45.9	40.9	47.4	65.7	35.0	34.4
G ₅ (G _{M2})	14.9	15.9	10.0	28.6	83.4	25.0	6.6	12.4	15.4	16.7	23.0	13.6
G ₆ (G _{M3})	6.9	7.1	5.7	3.9	1.1	13.3	4.2	3.4	10.3	4.1	7.5	6.8

Table 3. Percent content of ganglioside fractions in the cerebral white matter in A.I.

Tabela 3. Procentowa zawartość frakcji gangliozydów w istocie białej mózgu w i.a.

Ganglioside fraction	Control cases			Infantile A.I.			Control cases			Late infantile A.I.		
	2.5 months	3.5 months	6 months	15 months	16 months	17 months	6 years	7 years	16 years	6 years	6 years	6 years
G ₀	3.9	1.8	0.6	4.9	0.0	5.5	4.2	0.7	0.0	0.0	6.8	6.9
G ₁ (G _{T1})	4.6	8.9	3.1	7.8	2.7	2.2	6.8	4.0	5.5	15.8	7.3	8.6
G ₂ (G _{D1b})	8.5	13.6	6.8	7.8	2.8	3.3	9.3	8.7	9.3	7.0	8.8	8.6
G ₃ (G _{D1a})	28.9	23.4	21.6	10.2	6.1	16.6	19.5	18.6	10.5	16.3	18.8	8.6
G ₄ (G _{M1})	37.1	37.0	39.5	30.8	7.5	50.8	49.0	49.3	46.9	48.6	37.5	39.7
G ₅ (G _{M2})	10.8	14.4	18.5	30.7	74.6	13.3	7.0	14.0	16.7	10.5	13.5	17.2
G ₆ (G _{M3})	6.2	0.9	9.9	7.8	6.3	8.3	4.2	4.7	11.1	1.8	7.3	10.4

Table 4. Lipid content in the cerebral grey matter in A.I. (in g/100 g of dry tissue)

Tabela 4. Zawartość lipidów w istocie szarej mózgu w i.a. (w g/100 g suchej tkanki)

Lipids	Control cases			Infantile A.I.			Control cases			Late infantile A.I.		
	2.5 months	3.5 months	6 months	15 months	16 months	17 months	6 years	7 years	16 years	6 years	6 years	6 years
Phosphatidyl choline	3.25	2.50	3.75	2.88	3.63	4.38	3.76	3.13	1.93	3.75	2.90	2.88
Phosphatidyl ethanolamine	2.50	1.50	2.00	3.13	2.50	3.13	2.50	1.88	1.40	2.50	2.90	2.88
Sphingomyelins	1.26	1.25	2.00	0.88	1.25	1.50	1.88	1.25	3.74	1.63	1.53	1.00
Cerebro-sides	3.68	4.05	3.68	3.11	4.60	2.99	3.77	3.68	4.37	3.11	3.13	3.34
Sulfatides	1.01	1.01	0.97	1.73	3.11	1.84	0.67	0.97	1.70	1.63	1.65	1.49
Free cholesterol	6.30	6.30	6.50	3.75	6.50	6.00	6.23	6.16	5.50	5.66	5.50	6.50
Esterified cholesterol	0.75	0.83	0.63	0.75	0.75	0.83	0.81	0.66	0	0.53	0.70	0.75

Table 5. Lipid content in the cerebral white matter in A.I. (in g/100 g of dry tissue)

Tabela 5. Zawartość lipidów w istocie białej mózgu w i.a. (w g/100 g suchej tkanki)

Lipids	Control cases			Infantile A.I.			Control cases			Late infantile A.I.		
	2.5 months	3.5 months	6 months	15 months	16 months	17 months	6 years	7 years	16 years	6 years	6 years	6 years
Phosphatidyl choline	4.38	3.75	5.00	4.38	5.00	6.88	5.00	5.62	3.30	5.00	5.20	5.25
Phosphatidyl ethanolamine	4.88	4.13	5.13	4.00	3.25	5.00	3.88	5.00	3.30	3.75	3.90	4.00
Sphingomyelins	2.13	2.50	2.50	3.50	2.50	3.75	3.75	2.50	6.31	3.87	3.79	2.00
Cerebro-sides	11.96	12.74	12.19	12.08	11.88	11.59	11.13	12.19	8.05	11.50	11.60	12.19
Sulfatides	3.54	3.22	3.22	2.99	2.99	2.07	4.03	3.45	3.45	2.30	2.35	2.76
Free cholesterol	9.16	8.83	12.00	5.00	8.25	12.83	9.66	9.50	11.60	11.73	11.60	8.00
Esterified cholesterol	1.06	1.26	0.86	2.85	0.85	1.30	0.86	1.00	0	1.18	1.10	1.00

infantile amaurotic idiocy no storage of a particular ganglioside was demonstrable. Other changes in the relative proportion of individual gangliosides were of unspecific nature.

In the brain of one late infantile amaurotic idiocy case, a significant increase of the per cental content of the G_{M1} ganglioside was found. Hence, this case may be recognized as a G_{M1} gangliosidosis.

In the case reckoned as a G_{M2} gangliosidosis, an increased amount of the Tay-Sachs ganglioside was found (Table 3), both in the grey and in the white matter. This was not the case in brain in which a G_{M1} gangliosidosis was postulated.

The contents of phospho- and galactolipids as well as of cholesterol in the grey matter of the investigated amaurotic idiocy brains did not show any notable deviations, except for a significant increase of the sulphatide content in the case classified as the G_{M2} gangliosidosis (Table 4). In this very case, however, the white matter demonstrated a markedly reduced free cholesterol content with considerable amounts of cholesterol esters (Table 5).

The white and grey matters of the case denoted as G_{M1} gangliosidosis, showed no major alterations either in the phospholipid, galactolipid or cholesterol contents (Tables 4 and 5).

DISCUSSION

When the above presented material of amaurotic idiocy cases is closer studied, the remarkable divergence between the clinical and pathological estimation of these cases, and that based on quantitative chemical determinations becomes striking. The latter show evidently, similarly as did the data presented for many other cases (for review see Zeman 1969), that only a part of the cases designated as amaurotic idiocy exhibits a more or less defined storage of a particular ganglioside, which would justify the case to be reckoned among gangliosidoses in the true meaning of this term. It should be pointed out that out of our 3 cases in which the onset of the illness fell to the first year of life, and which were reckoned as infantile amaurotic idiocy, as many as two could not be recognised as a true gangliosidosis. This would mean, that in some of the cases designated as infantile amaurotic idiocy cases — the pathological process may be analogous to that seen in Batten's late infantile amaurotic idiocy. This last group of amaurotic idiocy is characterized by the fact, that no particular ganglioside is stored in the nervous tissue. However, it should be remembered, that even the late infantile forms of amaurotic idiocy do not constitute a uniform nosologic entity of storage disease, since besides Batten's disease, cases

of G_{M1} gangliosidosis (Hooft et al. 1969, Wolfe et al. 1970) as well as G_{M2} gangliosidosis (Klibansky et al. 1970) were described. One of the investigated cases in which storage of G_{M1} ganglioside was established, and which thus may be regarded as a G_{M1} gangliosidosis — was a late infantile amaurotic idiocy case in terms of clinical classification.

In the investigated case — which appeared to be a G_{M2} gangliosidosis, both the white and the grey matter contained large amounts of the Tay-Sachs ganglioside. This finding provides an additional argument for the assertion, that this disease cannot be regarded as an isolated deviation of neurocyte lipid metabolism. In the studied case which appeared to be a G_{M1} gangliosidosis no such phenomenon was observed.

The other lipid of the central nervous system, both the typical myelin lipids (sphingomyelins, cerebrosides and cholesterol) and other phospholipids did not seem to be significantly altered, except for the decreased free cholesterol and the increased cholesterol ester contents. Similar observations in amaurotic idiocy showing only negligible changes in the myelin lipid spectrum, mostly a variable but slight decrease, were reported by Balakrishnan et al. (1961), Borstein et al. (1964) and Klibansky et al. (1970).

However, these findings can by no means lead to a conclusion that in amaurotic idiocy, there are no alterations in the lipid composition of myelin sheaths and therefore, that long-term fixation of brains in formalin may prohibitively influence the precise detection of minor changes in the lipid composition. Notwithstanding these limitations it still would not be reasonable to assume that the observed changes in the myelin lipids were indicative of a metabolic disorder — which could be identified with leucodystrophy.

CONCLUSIONS

The lipid spectrum of the cerebral grey and white matter was analysed by column and thin-layer chromatography in 3 cases of early infantile and 3 cases of late infantile amaurotic idiocy. The results obtained were compared with a control material consisting of brain specimens of children decreased for other reasons than a nervous system disease.

The following results were obtained:

- 1) Only in a part of amaurotic idiocy cases classified as the infantile type (cases in which the disease began in the first year of life) — storage of Tay-Sachs ganglioside (G_{M2} ganglioside) can be detected.
- 2) Of the amaurotic idiocy cases, in which the onset of the disease fell to the age between 3 to 6 years — the late infantile forms — one part exhibits only unspecific changes in ganglioside composition, in the other, however, G_{M1} ganglioside is accumulated.

3) The slightly altered phospholipid as well as myelin lipids composition of the grey and white matter of amaurotic idiocy brains — is unspecific in nature. The occasionally observed reduced free cholesterol levels with a concomitant increase in the cholesteryl ester content may be indicative of advancing demyelination.

M. Wender, Z. Adamczewska, J. Dymecki, J. Kulczycki

LIPIDY MÓZGOWE W IDIOTIA AMAUROTICA

Streszczenie

W niniejszej pracy dokonano analizy lipidów istoty szarej i białej mózgu za pomocą chromatografii kolumnowej i cienkowarstwowej w trzech przypadkach *idiotia amaurotica* wczesno-dziecięcej, oraz w trzech późno-dziecięcej. Otrzymane wyniki porównano z materiałem kontrolnym, który stanowiły wycinki z mózgow dzieci zmarłych z innych przyczyn niż choroby układu nerwowego. W pracy uzyskano następujące wyniki:

1. W jednym przypadku spośród 3, które klinicznie rozpoznano jako postać wczesno-dziecięcą *idiotia amaurotica* (w których choroba rozpoczęła się w pierwszym roku życia) stwierdzono gromadzenie się gangliozydu Tay-Sachsa (G_{M2}).

2. Spośród przypadków *idiotia amaurotica* (w których choroba rozpoczęła się w wieku 3—6 lat) postaci późno-dziecięcej dwa wykazywały tylko niespecyficzne zmiany w składzie gangliozydów, natomiast w jednym przypadku stwierdzono wzrost gangliozydu G_{M1} .

3. Nieznaczne zmiany składu fosfolipidów oraz lipidów mielinowych istoty szarej i białej mózgow z *idiotia amaurotica* mają charakter niespecyficzny. Obserwowane niekiedy obniżenie poziomu wolnego cholesterolu z towarzyszącym wzrostem estrów cholesterolu może wskazywać na postępującą demielinizację.

М. Вендер, З. Адамчевска, Е. Дымецки, Е. Кульчицки

МОЗГОВЫЕ ЛИПИДЫ В IDIOTIA AMAUROTICA

Резюме

В настоящей работе представляется анализ липидов серого и белого вещества мозга, произведенный при помощи колонной и тонкослойной хроматографии в трех случаях ранне-детской и в трех случаях поздно-детской *idiotia amaurotica*. Полученные результаты сравнивались с контрольным материалом, которым были образцы мозгов детей умерших от болезней, не связанных с нервной системой. Получены следующие результаты:

1. Только в некоторых случаях *idiotia amaurotica* — зачисленных к ранне-детскому типу (случай, в которых болезнь началась в первом году жизни) — обнаружено скопление ганглиозида Тау-Захса (G_{M2}).

2. Среди тех случаев *idiotia amaurotica* в которых начало болезни приходилось на возраст 3—6 лет, или так называемых поздно-детских форм, часть

обнаруживала только неспецифические изменения в составе ганглиозидов, зато в остальных случаях скапливался ганглиозид G_{M1} .

3. Незначительно измененный состав фосфолипидов и миэлиновых липидов серого и белого вещества мозгов *idiotia amaurotica* не обнаруживал свойств специфичности. Изредка наблюдаемое снижение уровня свободного холестерина, сопровождаемое ростом количества эфира холестерина, может указывать на прогрессирующую демиелинизацию.

REFERENCES

1. Balakrishnan, S., H. Goodwin and J. Cumings: The distribution of phosphorus — containing lipid compounds in the human brain. *J. Neurochem.*, 1961, 8, 276—284.
2. Bartlet, G.: Phosphorus assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.*, 1959, 234, 466—468.
3. Berard-Badier, M., J. Paillas, H. Gastaut and G. Edgar: Essai sur la signification des démyelinisations dans l'idiotie amaurotique infantile. *Psychiat. Neurol.*, Basel 1958, 135, 50—93.
4. Bornstein, B., M. Elian, U. Sandbank and C. Klibansky: Juvenile amaurotic idiocy. *Confin. neurol.*, 1964, 24, 62—72.
5. Folch-Pi, J., M. Lees, and G. Sloane-Stanley: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 1957, 226, 497—511.
6. Hoof, C., M. Senesael, M. Delbeke, J. Kint and G. Dacremont: The G_{M1} gangliosidosis (Landing Disease). *Europ. Neurol.*, 1969, 2, 225—241.
7. Jatzkewitz, H., H. Pilz and K. Sandhoff: Quantitative Bestimmungen von Gangliosiden und ihren Neuraminsäure-freien Derivaten bei Infantilen, Juvenilen und Adulten Formen der Amaurotischen Idiotie und einer Spätinfantilen biochemisch Sonderform. *J. Neurochem.*, 1965, 12, 136—141.
8. Klibansky, Ch., A. Saifer, N. Feldman, L. Schneck and B. Volk: Cerebral lipids in a case of systemic G_{M2} — gangliosidosis of a late infantile type. *J. Neurochem.*, 1970, 17, 339—346.
9. Korey, S. and J. Gonatas: Separation of human brain gangliosides. *Life Sci.*, 1963, 2, 296.
10. Pilz, H.: Die Krankheitsgruppe der amaurotischen Idiotien: Korrelation von biochemischen Befunden und klinischen Verlaufsformen. *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 1968, 194, 187—218.
11. Rodin, N., F. Lavin and J. Brown: Determination of cerebroside. *J. Biol. Chem.*, 1955, 217, 789—796.
12. Sluga, E. and Th. Majdecki: Zur Ultrastruktur des Speichermaterials von spätinfantiler amaurotischer Idiotie. *Acta neuropath.* (Berlin), 1967, 9, 254—272.
13. Sperry, W. and M. Webb: A revision of the Shoenheimer-Sperry method for cholesterol determination. *J. Biol. Chem.*, 1950, 187, 97—106.
14. Suzuki, K.: A simple and accurate micromethod for quantitative determination of ganglioside pattern. *Life Sciences*, 1964, 3, 1227—1233.
15. Svennerholm, L.: Chromatographic separation of human brain gangliosides. *J. Neurochem.*, 1963, 10, 613—618.
16. Svennerholm, L.: The distribution of lipids in the human nervous system. *J. Neurochem.*, 1964, 11, 839—853.

17. Thieffry, S., I. Bertrand, E. Bargeton, G. Edgar and M. Arthuis: Idiotie amaurotique infantile avec altérations graves de la substance blanche. *Rev. Neurol.*, 1960, 102, 130—152.
18. Wender M.: Zur chemie der Gehirnlipide bei spätinfantiler amaurotischer Idiotie. *Psychiat. Neurol. med. Psychol. (Leipzig)*, 1961, 13, 235—238.
19. Wolfe, L., J. Callahan, J. Fowcett, F. Andermann and C. Scriver: G_{M1} — gangliosidosis without chondrodystrophy or visceromegaly. *Neurology (Minneap.)*, 1970, 20, 23—44.
20. Zeman, W.: What is amaurotic idiocy. *Lipids*, 1969, 4, 76—78.

Authors' address: Department of Neurology, Medical Academy, Poznań, Poland, Przybyszewskiego Str. 49.

ZARZĄD GŁÓWNY
STOWARZYSZENIA NEUROPATOLOGÓW POLSKICH
Warszawa

KOMUNIKAT

Zarząd Główny Stowarzyszenia Neuropatologów Polskich komunikuje, że w dniach 23—25 marca 1972 roku odbędzie się w Warszawie II Konferencja Neuropatologiczna poświęcona następującym problemom:

1. Neuropatologia wieku dziecięcego
2. Morfologiczne podłoże procesu starzenia się mózgu
3. Tematy wolne

Zgłoszenia należy nadsyłać na adres: Komitet Organizacyjny II Konferencji Neuropatologicznej, Pruszków, ul. Partyzantów 2/4, Zakład Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego.

- Termin nadsyłania streszczeń (nie przekraczających 200 słów) — 15 listopada 1971 r.
- Termin nadsyłania zapotrzebowań na hotel i opłaty za uczestnictwo — 31 grudzień 1971 r.

Na wygłoszenie prac oryginalnych przewidziany jest czas — 15 minut, na doniesienie kazuistyczne — 10 minut.

Opłata za uczestnictwo w Konferencji wynosi — 50 zł

Szczegółowych informacji organizacyjnych — osobom zainteresowanym uczestnictwem w Konferencji — udziela w/w Komitet Organizacyjny.

M. J. MOSSAKOWSKI, I. B. ZELMAN, T. MAJDECKI

THE PROBLEM OF COEXISTENCE OF NEURONAL LIPID STORAGE DISEASES AND VARIOUS FORMS OF LEUCODYSTROPHIES

Experimental and Clinical Medical Research Centre of Polish Academy of Sciences,
Department of Neuropathology, Warsaw, Poland

The sharp delimitation between leucodystrophies, characterized by primary degeneration of myelin sheath and neuropilidoses in which storage of lipid substances in the ganglion cells is the fundamental feature, has been gradually obliterated in view of the new, mostly biochemical observations.

In the early fifties of this century it was noticed that one of the typical feature of the pathological picture in metachromatic leucodystrophy was cellular deposition of abnormal glycolipids in certain neuronal groups.

Later biochemical studies mostly those of Austin (1960, 1967), Jatzkewitz (1960), Sourander and Svennerholm (1962) and others proved that metachromatic leucodystrophy fulfills all criteria of neuropilidosis. The same being true for Krabbe's leucodystrophy.

On the other hand damage to the myelin sheath varying in degree and character is a common feature in the morphological picture of those diseases in which neuronal storage of lipids, lipoproteins or even polysaccharides is an essential process.

Severe and extensive white matter damage was described in cases of Tay-Sachs disease (Ostertag 1925, Bérard-Badier et al. 1958, Thieffry et al. 1960, Fardeau and Lapresle 1963), Niemann-Pick disease (Crocker and Farber 1958), glycogenosis, (Bargeton 1963) and generalized gangliosidosis (Farkas-Bargeton 1966, Attal et al. 1967, Suzuki et al. 1968a, Hooft et al. 1969).

These changes were sometimes accompanied by deposition of abnormal amounts of lipids characteristic for fundamental metabolic disorder. Suzuki et al. (1968a, 1968b, 1969) for instance found in generalized gangliosidosis increased amount of G_{M1} -ganglioside; Thieffry et al. (1960), Nor-

man et al. (1964) in cases of infantile amaurotic idiocy an increase of G_{M2} -ganglioside both in damaged and morphologically unchanged white matter.

Interpretation of myelin damage in those cases is not univocal. The presence of myelin breakdown products in demyelinated areas in Tay-Sachs disease as observed in the cases of Bérard-Badier et al. (1958) or Benda and Melchior (1958) suggests secondary degeneration.

But more controversial are cases in which sudanophilic myelin breakdown products were not observed. Suzuki et al. (1969) consider these changes in generalized gangliosidosis as ordinary secondary degeneration despite of biochemically stated increase of G_{M1} -ganglioside in the white matter.

Thieffry et al. (1960), Fardeau and Lapresle (1963), Bargeton (1963), Attal et al. (1967) consider that the pathologic process taking the form of neuronal storage disease involves to some extent myelin sheath. Thus, in their opinion, demyelination constitutes an integral component of the fundamental pathological process.

Certainly one must take into consideration the delay in the myelination process, especially in cases in which normal or abnormal myelin breakdown products are lacking.

There exist however sporadic cases, in which the character, intensity and topography of white matter damage suggest either the existence of equiponderant leucodystrophic component in the primarily neuronal storage disease or coexistence of two different processes affecting various structures of the central nervous system.

A series of such cases was described by one of us with Mathieson and Cumings (1961).

There were three sibs coming from a sibship of five in the family. Their parents were healthy and not consanguineous. All three children were delivered normally following a fullterm, uncomplicated pregnancy and all developed normally until the age of 15–24 months. At that time in each of them neurological disorder became apparent; this was characterized by arrest and progressive retreat of somatic and mental ability, blindness, deafness, muscular rigidity and terminal marantic state. Death occurred after 11, 20 and 45 months of illness at the age of 3.5 and 5 years.

Histopathological examination of the brain revealed in all cases two fundamental features — one was generalized neuronal storage process in all gray formations (Fig. 1), the second — profuse, severe demyelination of the cerebral and cerebellar white matter. The PAS-, Sudan black B-, Alcian blue- and Bial-positive reactions permitted identification of the stored substance as glycolipids, probably gangliosides. These

substances showed striking beta-metachromasia when stained by Feyrter's method, but only in some neuronal groups brown metachromasia in acid cresyl violet staining was noted.

Abundant myelin breakdown products lying free in demyelinated white matter or accumulated within numerous macrophages (Fig. 2) were also PAS- and Sudan black B-positive, but they gave strong brown metachromasia in Hirsch-Peiffer staining (Fig. 3).

Biochemical analysis of lipids content in the brains of two autopsied cases revealed an increase of hexosamine both in gray and white matter, particularly noticeable in one case and fourfold increase of sulphatides in the white matter.

We considered these cases as an example of coincidence of two neuro-lipidoses, namely family amaurotic idiocy of late infantile type and metachromatic leucodystrophy. On the evidence of our observations we suggested that a single genetically induced factor might affect the normal pathways of several sphingolipids, closely related to each other, but located differently with regard to the structural components of the brain.

In later years Lüthy et al (1966) published a case similar to ours in its clinical, pathological and histochemical aspects. Biochemical analysis of the brain lipids carried out by Pilz and Jatzkewitz (1968) revealed an increase of sulphatides accompanied by reduction of galactocerebro-sides in the white matter and raised amount of gangliosides in the gray one. Pilz and Jatzkewitz consider that the only adequate explanation of this findings might be the simultaneous defect of two different enzymes concerning the metabolism of sphingolipids.

Recently we examined another case in which the white matter damage suggest the existence of leucodystrophic component in the neuronal storage process, although in concerned different type of neurolipidosis and leucodystrophy (Mossakowski et al. 1971).

This case was a boy delivered after uncomplicated pregnancy and developing normally until 5th months of age. At that time progressive enlargement of the head accompanied by arrest and deterioration of physical and mental ability developed. The boy died in the decerebrate state at the age of 13 months after 8 months of steadily progressing neurological illness. In addition to neurological disorders, remarkable enlargement of liver and spleen, extensive craniolacunia, chondrodystrophic changes of lumbar spine and lumbar kyphosis were noticed.

Histological examination of body organs disclosed severe vacuolation of hepatocytes and presence of foamy cells filled with glycolipids, in liver and spleen; swelling and vacuolation of endothelial cells of renal glomeruli with widening of subcapsular space.

Histopathological examination of the brain revealed a generalized neuronal storage process (Fig. 4) accompanied by adequate glial reaction, and severe and widespread demyelination of cerebral and cerebellar white matter (Fig. 5).

The histochemical properties of the stored substances permitted to identify them as gangliosides. The myelin breakdown products in the white matter stained positively with iron hematoxylin, were PAS- and Sudan black B-positive and gave beta-metachromasia in Feyrter's and Hirsch-Peiffer staining. These reactions were also positive in the scanty astrocytes of actively demyelinating white matter (Fig. 6). The poverty of glia reaction to demyelination was striking. Fibrogliosis was moderate, a number of oligodendrocytes and astrocytes was reduced. There were no compound granular cells. Scanty astrocytes showed evident regressive changes (Fig. 7).

Electron microscopic examination of brain biopsy revealed considerable amount of abnormal inclusion bodies in the cytoplasm of neurons (Fig. 8), glia (Fig. 9) and cellular elements of vascular walls.

In neuronal cytoplasm typical and atypical membranous cytoplasmic bodies (Fig. 8) and huge aggregations of membranous structures varying a great deal in diameter prevailed. The latter being entirely or partially surrounded by an electron dense single membrane. The abnormal cytoplasmic organelles in damaged glia were also pleomorphic (Fig. 9) and varied widely from those observed in neurons. Atypical membranous cytoplasmic bodies and typical membrane-vesicular bodies were very common. Besides, lamellar membranous structures of various arrangement, totally or partially bounded by a single limiting membrane and inclusions showing properties of amyloid bodies were present. In many neurons, glial and endothelial cells light vacuoles with sharp, folded borders were observed.

Biochemical analysis of brain tissue revealed a high increase of gangliosides both in gray and white matter. TLC of gangliosides fraction showed increase of G_{M1} -ganglioside corresponding to 67.1% of NANA and rise of G_{M2} -ganglioside equal to 14.7% of NANA. Cerebrosides content in gray matter was 2.9% of dry tissue weight, while that of sulphatides was 1.8%. The corresponding data for white matter were 11.5% and 4.0% respectively.

The above mentioned results led in our case to diagnosis of generalized gangliosidosis.

The white matter changes, exceeding those in usual cases of Landing's disease, peculiar insufficiency of astroglia and differences in EM-picture indicate a remarkable leucodystrophic component in the primary neuronal storage process. These peculiarities permit in our opinion even the

assumption of coexistence of generalized G_{M1} -gangliosidosis with an orthochromatic type of leucodystrophy.

We would like to add to the group of cases presented one more case of neuropiloidosis, observed recently by Dąbbska et al. (1970) although the leucodystrophic nature of the process involving the white matter is up till now a matter of discussion and controversion.

The case concerned a boy of Polish-Jewish provenience, who was the first child of young, healthy and nonconsanguineous parents. At the age of three months in the apparently normally developing child progressive enlargement of head and liver was noticed. In later months severe neurological illness developed which was characterized at the beginning by apathy and inability to control his head and then by feature of motor and mental development, blindness, epileptic fits, involuntary movements and generalized spasticity. Optic atrophy, chondrodystrophic changes in lumbar spine and generalized skin edema completed the clinical picture. The child died at the age of 16 months in marantic state. The histopathological findings in liver, spleen and kidneys were identical with those described in the previous case.

The brain weighed 1300 g. On the coronal sections the white matter of cerebral and cerebellar hemisphere was gray, soft and honeycomb in appearance.

Neuropathological examination revealed a generalized storage process (Fig. 10), this was accompanied by considerable neuronal loss and tremendous gemistocytic reaction in the cerebral cortex. The substances accumulated in neuronal cytoplasm were histochemically identical with those observed in previous case.

The white matter of brain (Fig. 11) and cerebellum was the most striking feature; this resulted in some areas in cavitation of large fields of centrum semiovale. In less involved areas the prevalence of spongiosis in subcortical white matter was obvious (Fig. 12). Spongy changes involves also gray matter, especially in deep cortical layers and to a lesser degree cerebellar cortex. Cellular astrocytic reaction in white matter was very poor, so was fibrogliosis. Oligodendrocytes seemed to be unchanged in number and appearance. In cerebral cortex among the rich gemistocytic population numerous pale, large astrocytic nuclei, similar to those described as Alzheimer cells, type II were present. The same cells were seen in great number in basal nuclei and pons (Figs 13, 14). They were less common in the white matter.

On the evidence of histopathological and histochemical analysis we feel authorized to diagnose Landings disease, despite the fact that brain lipid analysis has not yet been performed.

The character of white matter changes, generalized spongiosis and peculiar glial abnormalities suggest spongy degeneration of neuraxis in infancy described originally by van Bogaert and Bertrand (1949).

The modifications of the pathological picture in our case as compared with typical cases of both diseases seem to be due to interference of two different pathological processes.

Our three first cases together with that of Lüthy et al. (1966) indicate the possibility of coexistence of two different neurolipidoses due to two different enzymatic blocks in the same case.

The fourth case is more suggestive of neurolipidosis with very intensive leucodystrophic component, but the coexistence of neurolipidosis with a leucodystrophy can not be definitely excluded.

The last case of our series showed a possibility of coexistence of neurolipidosis with other degenerative process of the central nervous system, the leucodystrophic nature of which is still uncertain (van Bogaert, Bertrand 1967; Adachi, Aronson 1967).

The genetically induced metabolic errors underlie all of the processes discussed. Therefore it seems to be justified to assume that various pathological disorders of this nature can occur simultaneously as the result of combined genetic defect.

M. J. Mossakowski, I. B. Zelman, T. Majdecki

ZAGADNIENIE WSPÓLISTNIENIA NEUROLIPIDOZ Z RÓŻNYMI POSTACIAMI LEUKODYSTROFII

Streszczenie

Ostre rozgraniczenie pomiędzy grupą neurolipidoz i leukodystrofii uległo w ostatnich latach zatarciu. Przyczyniły się do tego w dużej mierze wyniki badań biochemicznych, które wykazały zaburzenia składu i ilości lipidów w strukturach nie objętych przez podstawowy proces patologiczny.

Uszkodzenie istoty białej w neurolipidozach, szczególnie w dziecięcych gangliozydozach, należy prawie do reguły, jednak patomechanizm tych zmian wciąż nie jest ostatecznie wyjaśniony. Opierając się na własnym przebadanym materiale (rodzinny przypadek leukodystrofii metachromatycznej z późnodziecięcą postacią *idiotia amaurotica*, przypadek gangliozydozy G_{M1} ze zmianami w istocie białej, sugerującymi współlistniejący proces leukodystroficzny, oraz przypadek G_{M1} -gangliozydozy z gąbczastym zwyrodnieniem istoty białej), autorzy dyskutują możliwość współlistnienia dwóch różnych typów procesów uwarunkowanych genetycznie: występowania podwójnego bloku metabolicznego i skojarzenia neurolipidozy z innym procesem zwyrodnieniowym.

М. Е. Моссаковски, И. Б. Зельман, Т. Майдецки

ВОПРОС СОСУЩЕСТВОВАНИЯ НЕЙРОЛИПИДОЗОВ
С РАЗНЫМИ ВИДАМИ ЛЕЙКОДИСТРОФИИ

Резюме

Острое разграничение между группой нейролипидозов и лейкодистрофией за последние годы стерлось. Это было вызвано, главным образом, результатами биохимических исследований, которые обнаружили нарушение состава и количества липидов в структурах, не охваченных основным патологическим процессом.

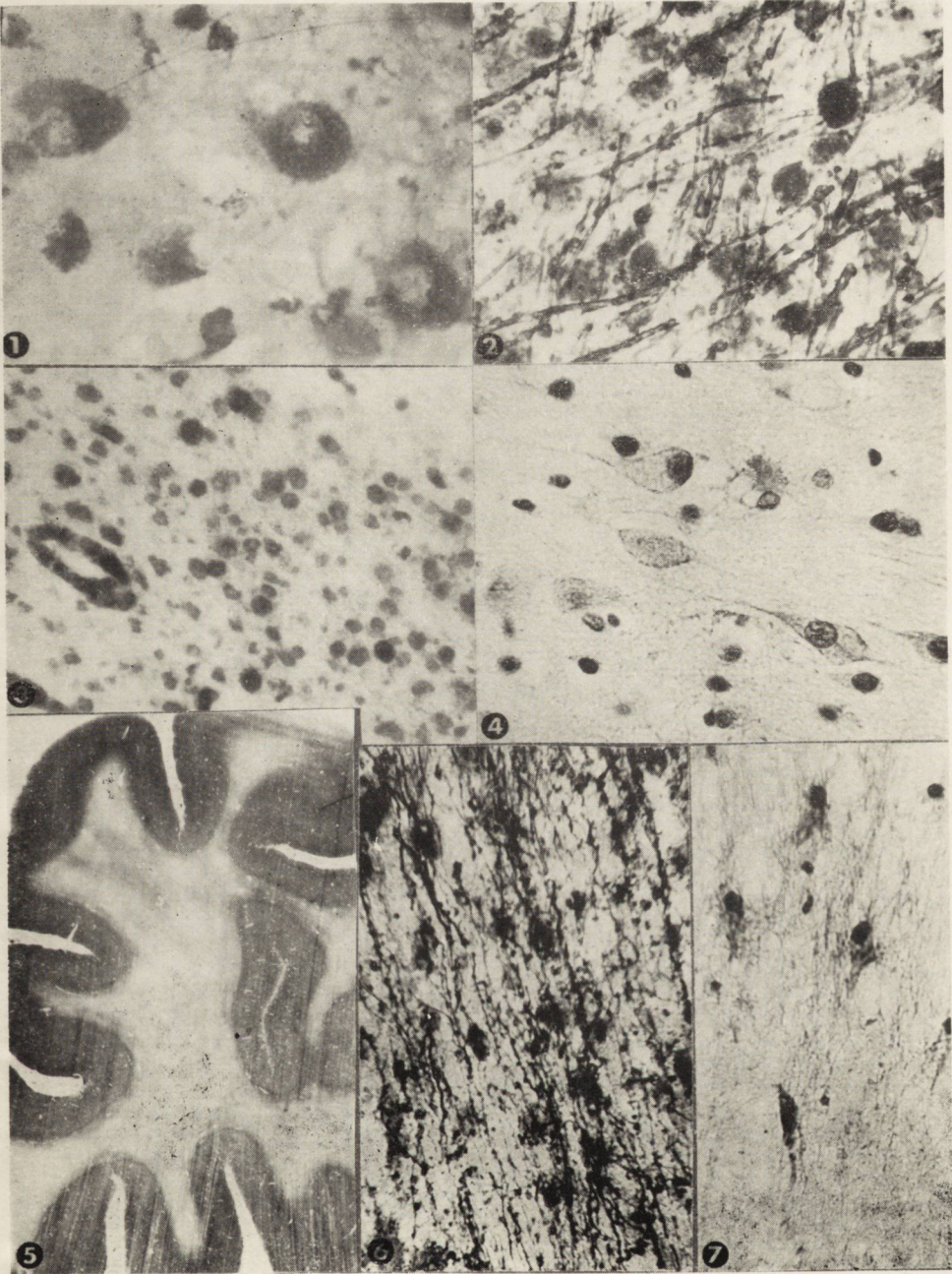
Повреждение белого вещества в нейролипидозах, особенно в детских ганглиозидозах, выступает как правило, однако патомеханизм этих изменений все еще окончательно не выяснен. Опираясь на исследованном собственном материале (семейный случай метахроматической лейкодистрофии с поздне-детской формой *idiotia amaurotica*, случай ганглиозидоза G_{M1} с изменениями в белом веществе, что позволяло полагать сосуществующий лейкодистрофический процесс, и случай G_{M1} — ганглиозидоза с губчатой дегенерацией белого вещества) авторы обсуждают возможность сосуществования двух разных типов процессов, генетически обусловленных: наличие двойной метаболической блокады и сопряжение нейролипидоза с другим дегенерационным процессом.

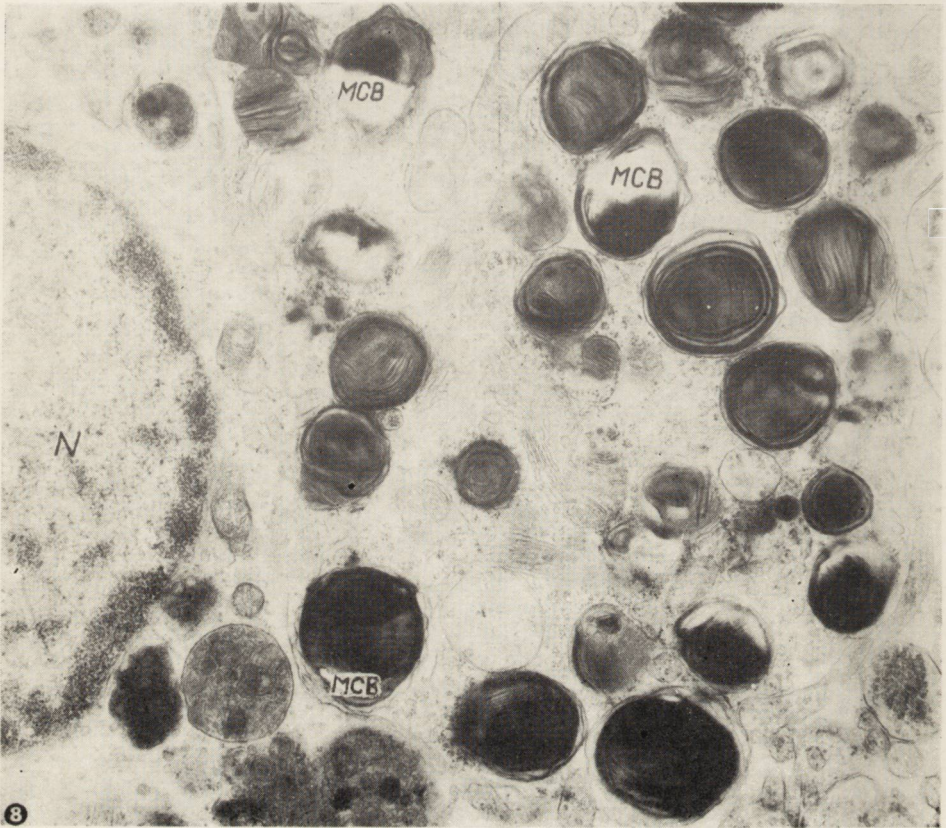
REFERENCES

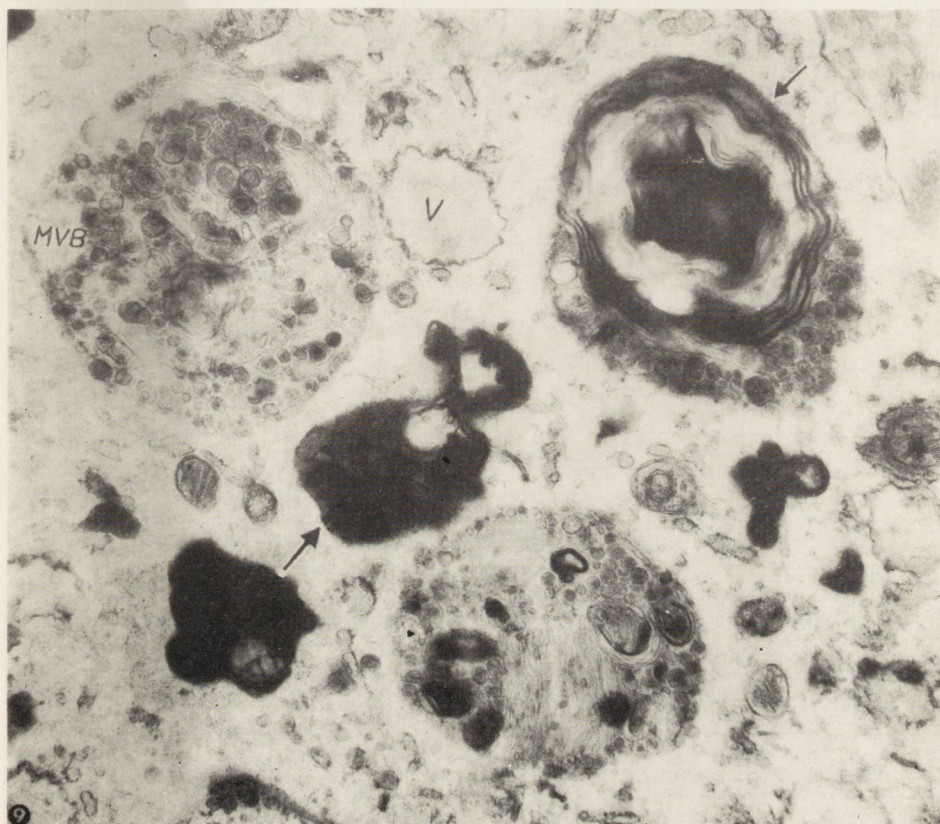
1. Adachi M., Aronson G.: Studies on spongy degeneration of the central nervous system. In: *Inborn Disorders of Sphingolipid Metabolism*. Ed. Aronson S., Volk B. Pergamon Press, London 1967, 129—147.
2. Attal C., Farkas-Bargeton E. Edgar W. F., Pham-Huu-Trung, Giraud F., Moziconacci P.: *Idiotie amaurotique infantile familiale avec surcharge viscerale*. Sem. Hop., Paris 1967, 43, 1725—1733.
3. Austin J.: Metachromatic form of diffuse cerebral sclerosis. III Significance of sulfatide and other lipid abnormalities in white matter and kidney. *Neurology*, 1960, 10, 470—483.
4. Austin J. H.: Some recent findings in leucodystrophies and in gargoylism. In: *Inborn Disorders of Sphingolipid Metabolism*, Ed. Aronson S., and Volk B., Pergamon Press, London 1967, 359—387.
5. Bargeton E.: The metachromatic form of leucodystrophy and its relationship to lipidosis and demyelination in other metabolic disorders. In: J. Folch-Pi and H. Bauer. *Brain lipids and lipoproteins and the leucodystrophies*. Elsevier Publ. Comp. Amsterdam, 1963.
6. Benda C. E., Melchior J. C.: Progressive deteriorating diseases in infancy. *J. Neuropath, exp. Neurol.*, 1958, 17, 205—239.
7. Berard-Badier M., Paillas J. E., Gastaut H., Edgar G. W. F.: *Essai sur la signification des démyélinisations dans l'idiotie amaurotique infantile. Recherches électro-encéphalographiques, histochimiques et biochimiques*. *Psych. et Neurol.*, 1958, 135, 70—93.
8. Crocker A. C., Farber S.: Niemann-Pick disease: a review of 18 patients. *Medicine (Baltimore)* 1958, 37, 1—95.

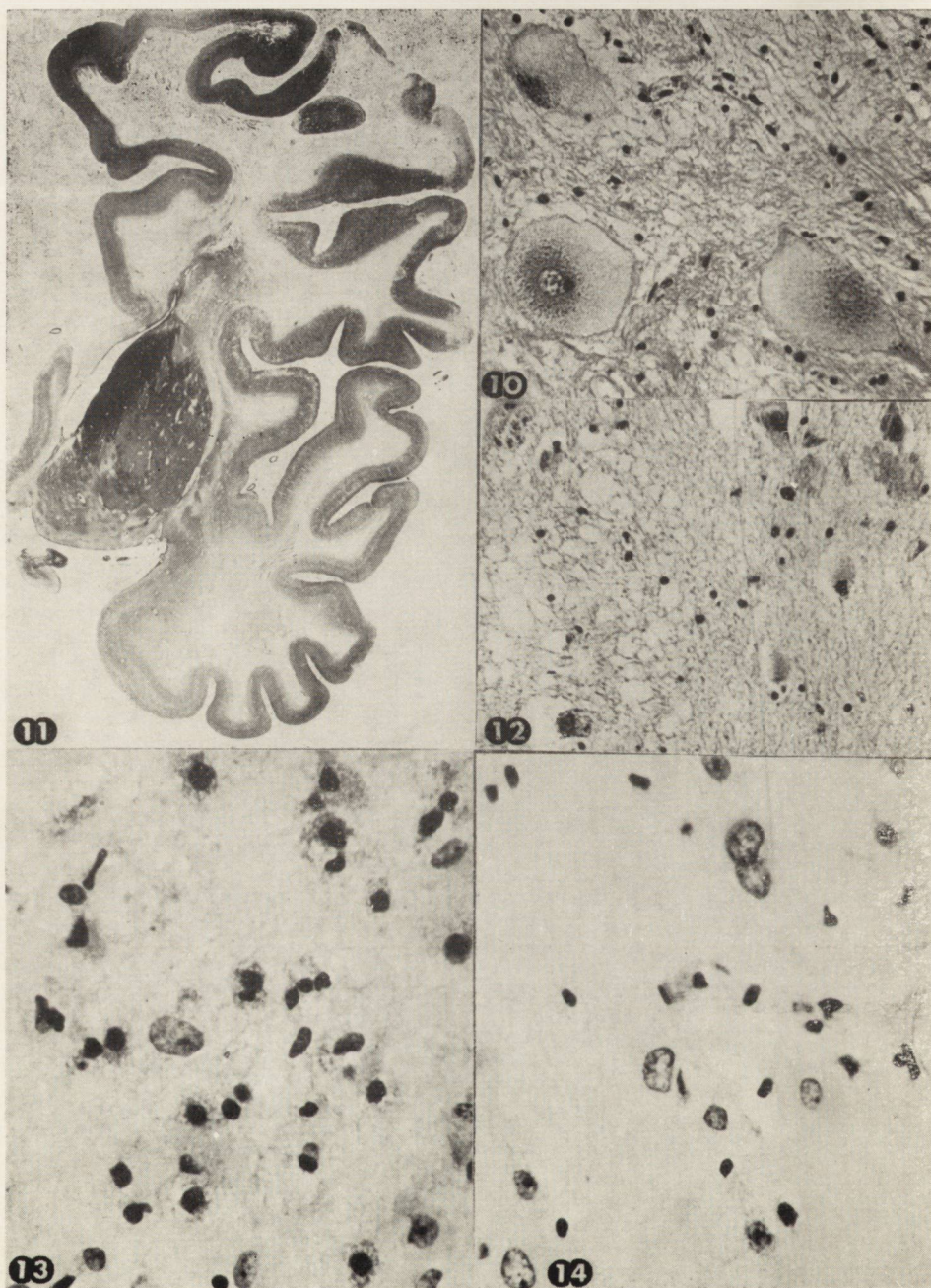
9. Dąbska M., Zelman I. B., Kansy J.: A case of generalized lipidosis with unusual damage of white matter. Presented on 8th Conference of Polish Neurologists Association. September 1970, Wrocław.
10. Fardeau M., Lapresle J.: Maladie de Tay-Sachs avec atteinte importante de la substance blanche. A propos de deux observations anatomo-cliniques. *Rev. Neurol.*, 1963, 109, 157—175.
11. Farkas-Bargeton E.: Idiotie amaurotique infantile avec surcharge viscerale. *Proc. V. Inter. Congress Neuropath. Exc. Med. Found., Amsterdam, New York 1966*, 135—138.
12. Hooft C., Seneseal M., Delbeke M., Kint J., Dacremont G.: The G_{MI} — gangliosidosis (Landing disease). *Europ. Neurol.*, 1969, 2, 225—241.
13. Jatzkewitz H.: Die Leukodystrophie typ Scholz (metachromatische Form der diffusen Sklerose) als Sphingolipidose (Cerebrosid-Schwefelsäureester-Speicherkrankheit) Hoppe-Seyler's. *Z. physiol. Chem.*, 1960, 318, 265—297.
14. Lüthy F., Ulrich J., Regli F., Isler W.: Amaurotic idiocy with metachromatic changes in the white matter? *Proc. V. Inter. Congress Neuropath. Amsterdam, New York, Exc. Med. Found., 1966*, 125.
15. Mossakowski M. J., Mathieson G., Cumings J. N.: On the relationship of metachromatic leucodystrophy and amaurotic idiocy. *Brain*, 1961, 84, 585—604.
16. Mossakowski M. J., Zelman I. B., Majdecki T., Baranowicz B.: G_{MI} — generalized gangliosidosis with unusual involvement of the white matter. *Neuropath. Pol.*, 1971, 1, 23—37.
17. Norman R. M., Tingey A. H., Newman C. G. H., Wand S. P.: Tay-Sachs disease with visceral involvement and its relationship to gargoylism. *Arch. Dis. Child.*, 1964, 39, 634—640.
18. Ostertag B.: Entwicklungstörungen des Gehirns und zur Histologie und Pathogenese bes. der degenerativen Markerkrankung bei amaurotischer Idiotie. *Arch. Psych. Nervenkrank.*, 1925, 75, 355—391.
19. Pilz H., Jatzkewitz H.: Biochemical evaluation of a combined sulfatidosis and gangliosidosis (glycolipidosis) of the brain. *Path. europ.*, 1968, 3, 409—415.
20. Sourander P., Svennerholm L.: Sulphatide Lipidosis in the adult with the clinical picture of progressive organic dementia with epileptic seizures. *Acta Neuropath.*, 1962, 1, 384—396.
21. Suzuki K., Suzuki K., Chen G.: Membranous cytoplasmic bodies from Tay-Sachs disease and GM-1 gangliosidosis (generalized gangliosidosis). *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1968, 27, 142—143.
22. Suzuki K., Suzuki K., Chen G. C.: G_{MI}-gangliosidosis (generalized gangliosidosis). Morphology and chemical pathology. *Path. europ.*, 1968b, 3, 389—408.
23. Suzuki K., Suzuki K., Kamoshita S.: Chemical pathology of G_{MI}-gangliosidosis (Generalized gangliosidosis). *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1969, 28, 25—73.
24. Thieffry S., Bertrand I., Bargeton E., Edgar G. W. F.: Idiotie amaurotique infantile avec altérations graves de la substance blanche. *Rev. Neurol.*, 1960, 102, 130—152.
25. Van Bogaert L., Bertrand I.: Sur une idiotie familiale avec dégénérescence spongieuse du névraxe. *Acta Neurol. Psych. Belg.*, 1949, 49, 572—587.
26. Van Bogaert L., Bertrand I.: Spongy degeneration of the brain in Infancy. *North-Holland Publ. Comp., Amsterdam 1967*.

Authors' address: Experimental and Clinical Medical Research Centre, Department of Neuropathology. Poland. Warsaw, Dworkowa str. 3.









LEGENDS OF FIGURES

Fig. 1. Case 2. Frontal cortex showing lipid accumulation in neuronal cytoplasm. Frozen section. Sudan black B. $\times 400$.

Ryc. 1. Przypadek 2. Kora czołowa. Złogi lipidowe w cytoplazmie neuronów. Skrawek mrożony, Sudan czarny B. Pow. 400 \times .

Fig. 2. Case 3. White matter showing myelin damage and lipid containing macrophages. Paraffin. Sudan black B. $\times 200$.

Ryc. 2. Przypadek 3. Uszkodzenie mieliny w istocie białej. Widoczne liczne makrofagi zawierające złogi lipidowe. Parafina, Sudan czarny B. Pow. 200 \times .

Fig. 3. Case 2. Frontal lobe. The white matter contains numerous macrophages with brown metachromatic material. Frozen section. Acid cresyl. $\times 130$.

Ryc. 3. Przypadek 2. Płat czołowy. W istocie białej widoczne liczne makrofagi barwiące się metachromatycznie brązowo. Skrawek mrożony. Kwaśny fiolet krezyłu. Pow. 130 \times .

Fig. 4. Case 4. Neuronal storage process in frontal cortex. Paraffin. Cresyl violet. $\times 400$.

Ryc. 4. Przypadek 4. Spichrzające neurony w korze czołowej. Parafina, fiolet krezyłu. Pow. 400 \times .

Fig. 5. Case 4. Frontal lobe. White matter completely devoid of myelin. Paraffin. Heidenhain. Magn. glass.

Ryc. 5. Przypadek 4. Istota biała płata czołowego całkowicie pozbawiona mieliny. Parafina. Heidenhain. Pow. lupowe.

Fig. 6. Case 4. White matter of centrum semiovale with residual myelin sheaths and lipid containing astrocytes. Frozen section. Sudan black B. $\times 400$.

Ryc. 6. Przypadek 4. Istota biała centrum semiovale. Widoczne zachowane włókna mielinowe i astrocyty zawierające złogi lipidowe. Skrawek mrożony, Sudan czarny B. Pow. 400 \times .

Fig. 7. Case 4. Frontal lobe. Regressively changed astrocytes in demyelinated white mater. Paraffin. H—E. $\times 400$.

Ryc. 7. Przypadek 4. Zmiany wsteczne astrocytów w zdmielinizowanej istocie białej płata czołowego. Parafina, H—E. Pow. 400 \times .

Fig. 8. Case 4. Electron micrograph of cerebral cortex. Cytoplasm of the nerver cell contains characteristic membranous cytoplasmic bodies (MCB). $\times 20\ 800$.

Ryc. 8. Przypadek 4. Komórka nerwowa zawierająca liczne cytoplazmatyczne ciała błoniaste (MCB). Pow. 20.800 \times .

Fig. 9. Case 5. Electron micrograph. Glia cell with pleomorphic inclusion bodies (arrows). MVB — microvesicular body; V — vacuole $\times 21\ 700$.

Ryc. 9. Przypadek 5. Komórka glejowa z polimorficznymi ciałami wtętowymi (strzałki). MVB — ciała wielopęcherzykowe; V — wodniczka. Pow. 21.700 \times .

Fig. 10. Case 5. Neurons of brain stem showing distended, finely granular cytoplasm. Paraffin. H—E. $\times 400$.

Ryc. 10. Przypadek 5. Neurony pnia z rozdętą, drobnoziarnistą cytoplazmą. Parafina, H—E. Pow. 400 \times .

Fig. 11. White matter completely devoid of myelin fibers. Spongiosis and cavitation in frontal and temporal lobe is seen. Normal size.

Ryc. 11. Przypadek 5. Dmielinizacja w istocie białej. W płacie czołowym i skroniowym widoczne zgębczenie tkanki i zmiany jamiste. Parafina, H—E. Wielkość naturalna.

Fig. 12. Case 5. Spongiosis in the subcortical white matter. Paraffin. H—E. $\times 200$.

Ryc. 12. Przypadek 5. Zmiany gąbczaste na pograniczu kory i istoty białej. Parafina, H—E. Pow. 200 \times .

Fig. 13. Case 5. Glia changes in the globus pallidus. Paraffin. Cresyl violet. $\times 400$.

Ryc. 13. Przypadek 5. Uszkodzenie gleju w gałce bladej. Parafina, fiolet krezyłu. Pow. 400 \times .

Fig. 14. Case 5. Glial cells of Alzheimer, type II are present in the pons. Paraffin. H—E. $\times 400$.

Ryc. 14. Przypadek 5. Komórki glejowe typu Alzheimera II w moście. Parafina, H—E. 400 \times .

POLSKIE TOWARZYSTWO NEUROLOGICZNE zawiadamia, że w dniach 8—10 września 1971 r. odbędzie się polsko-francuskie Sympozjum Neurologiczne.

W dniu 8 września obrady odbywać się będą w Warszawie, w Pałacu Kultury i Nauki, w sali im. Rudniewa.

Referaty będą dotyczyć: choroby Jakoba-Creutzfeldta, miopatii niepostępujących, neuromiotonii, choroby Marchiafava-Bignami oraz encefalopatii wątrobowych, po zespoleniach dużych żył jamy brzusznej.

W dniu 10 września obrady odbywać się będą w Krakowie, w sali wykładowej Instytutu Neurologii.

Referaty będą obejmować następujące zagadnienia: zespoły neurologiczne w hiponatremii i w niektórych chorobach krwi, livedo racemoso współistniejące z objawami neurologicznymi, małe napady padaczkowe, krwotoki mózgowe oraz badania arteriograficzne tętnicy Adamkiewicza.

Dokładne dane dotyczące programu oraz warunków uczestnictwa w Sympozjum można uzyskać w Sekretariacie Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Neurologicznego — doc. dr med. Maria Filipowicz, Warszawa, Krakowskie Przedmieście 69 m 9.

MARIA MARCINIAK, MARIA DĄMBSKA, BRONISŁAWA WISZCZOR-
-ADAMCZYK

ZMIANY NEUROPATOLOGICZNE W ZESPOLE NAPADÓW SKŁONÓW

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

Kierownik Zespołu: doc. dr med. M. J. Mossakowski

Klinika Neurologii Dziecięcej Instytutu Matki i Dziecka

Kierownik Kliniki: doc. dr med. R. Michałowicz

Kliniczne opisy napadów skłonów u dzieci pojawiły się przed przeszło stu laty. Przegląd opublikowanych przypadków wykazuje, że spotyka się je dość często, zwłaszcza przy uwzględnieniu, że opisywano ten typ napadów używając różnych nazw, jak np. „saalam tiki”, „petit mal epilepsy”, „myoclonia”, „spasm en flexion”, „infantile spasm” itp. (Popielarska, Koślacz-Folga 1963). Dyskusja na temat etiologii i patogenezy tego zespołu wywiązała się dopiero w ostatnim dziesiątku lat.

Cechą charakterystyczną napadów są gwałtowne, kilkusekundowe skurcze mięśni tułowia, prowadzące do skłonu dziecka ku przodowi, z przycięciem lub wyprostowaniem kończyn górnych i dolnych. Towarzyszą im zaburzenia naczynioruchowe, rozszerzenie źrenic, oraz krótkotrwałe zaburzenia świadomości (Hallut 1960). Napady te zjawiają się w pierwszym roku życia, zwykle już od trzeciego miesiąca, występują seriami po kilkadziesiąt do stu na dobę. Napadom skłonów towarzyszą zmiany w zapisie elektroencefalograficznym, polegające często na całkowitej dezorganizacji czynności bioelektrycznej mózgu dziecka (Hoefler, Less 1963), którą Gibbs F. A. i Gibbs E. L. (1952) nazwali hysparytmią.

Zespół chorobowy występuje u dzieci, u których istniejące objawy neurologiczne świadczą o organicznym uszkodzeniu ośrodkowego układu nerwowego. Stwierdza się u nich zmiany w zakresie napięcia mięśniowego, niedowłady, ruchy mimowolne, zanik nerwów wzrokowych z następującą ślepotą, czasem głuchotą, oraz niedorozwój lub postępującą degradacją psychiczną (Dora, Taylor 1957, Christensen, Melchior 1960). Niekiedy rozpoznaje się dziedziczno-rodzinną chorobę zwyrodnieniową.

Na przestrzeni ostatnich kilku lat zebrano 6 przypadków, w których przyżyciowo obserwowano typowe napady skłonów. W dwu z nich stwier-

dzono hypsarytmię, a w trzech uogólnione zaburzenia w zapisie eeg. Porównanie ich z przypadkami opisanymi przez innych autorów (Christensen, Melchior 1960, Paludan 1961, Bignami i wsp. 1964, Okuyama 1965, Jellinger 1970) pozwoli na przedstawienie i przedyskutowanie aktualnych wyników badań nad podłożem neuropatologicznym napadów skłonów.

Przypadek I. I. K. (Hist. chor. 235/64). Napady skłonów wystąpiły w 6 miesiącu życia dziecka. W tym czasie stwierdzono znaczne upośledzenie rozwoju psychoruchowego ze wzmoczeniem napięcia mięśniowego oraz brak reakcji na bodźce wzrokowe i słuchowe. Zgon nastąpił w 8 miesiącu życia z powodu zapalenia płuc.

Badaniem neuropatologicznym (nr 14/64) stwierdzono mózg mały, o wadze 640 g. Na przekrojach był widoczny wyraźny zanik istoty białej, w której było brak odpowiedniej do wieku mielinizacji osłonek. Wokół naczyń i luźno w istocie białej stwierdzono obecność typowych komórek globoidalnych i makrofagów, wykazujących dodatnią reakcję PAS. W całej korze spotykano rozlane ubytki i uszkodzenia komórek nerwowych. Rozpoznanie: leukodystrofia typu Krabbego.

Przypadek II. J. B. (Hist. chor. 965/63). Rozwój psychoruchowy u dziecka był opóźniony, napady skłonów pojawiły się w 3 miesiącu życia. Badanie kliniczne ujawniło wzrost poziomu fenyloalaniny we krwi do 31,8 mg%. Dziecko miało w stosunku do wieku małą czaszkę, przetrwałe odruchy ssania i szukania, wygórowane odruchy ścięgnowo-okostnowe. W zapisie eeg stwierdzono zmiany uogólnione. Zgon nastąpił w wieku 1 roku z powodu zapalenia płuc.

Badanie neuropatologiczne (nr 121/65) wykazało mózg mały, zakręty drobne, układ komorowy poszerzony. Mikroskopowo stwierdzono uogólnione zmniejszenie istoty białej w stosunku do struktur szarych, a w jej obrębie wyraźną demielinizację, bardziej nasiloną w półkulach mózgu (ryc. 1), mniej w mózdzku. Demielinizacji towarzyszyło uszkodzenie tkanki z ogniskami martwicy gąbczastej i glezją komórkowo-włóknkową. W istocie białej widoczne były opóźnione w migracji neurony. Struktury szare, a szczególnie kora mózgu wykazywały również znaczne uszkodzenie. Rozpoznanie: fenyloketonuria (przypadek opublikowany przez Zelman i wsp. 1967).

Przypadek III. N. E. (Hist. chor. 1096/64). Cięża i poród prawidłowe. Napady skłonów pojawiły się w 6 miesiącu życia, występowały w seriach do kilku dziennie. Rozwój psychoruchowy dziecka był opóźniony, brak reakcji na bodźce wzrokowe i słuchowe. Napięcie mięśniowe i odruchy ścięgnisto-okostnowe były wzmoczone. Badanie pneumoencefalograficzne wykazało poszerzenie układu komorowego, zapis eeg — hypsarytmię. Dziecko zmarło w wieku 15 miesięcy, w przebiegu ostrej choroby gorączkowej. Na sekcji ogólnej znaleziono w płucach obustronnie nieprawidłowe, szerokie naczynia oraz objawy zapalenia.

Badanie neuropatologiczne (nr 18084) wykazało w oponach mózgu, w okolicy czołowej tylnej i potylicznej zmiany naczyniakowate z obecnością splotów naczyń o cienkich nieprawidłowo ukształtowanych ścianach (ryc. 2). W położonej pod nimi korze mózgu, szczególnie w okolicy centralnej i amonalnej znaleziono rozsiane ubytki i uszkodzenia komórkowe, zwłaszcza w warstwie II i V. Głębiej w istocie białej stwierdzono niewielkie ogniskowe zgąbczenia. Opisanym zmianom towarzyszyły nacieki, głównie limfocytarne w oponach oraz przekrwienie i obrzęk tkanki mózgowej. U dziecka z wrodzonymi nieprawidłowościami naczynio-

wymi płuc i naczyńkowością opon rozwinęło się uszkodzenie mózgu o typie encefalopatii. Bezpośrednią przyczyną zgonu było zapalenie opon mózgowych i zapalenie płuc.

Przypadek IV. Z. J. (Hist. chor. 1423/63). W czasie ciąży u matki wystąpiły objawy zatrucia ciążowego. Poród był prawidłowy. Napady skłonów u dziecka pojawiły się w 2 miesiącu życia. Neurologicznie stwierdzono wówczas niedowład lewostronny. W zapisie eeg — hysarytmię. Rozwój psychoruchowy dziecka nie postępował. Zmarło w wieku 8 miesięcy.

Badaniem neuropatologicznym (nr 167734) stwierdzono uogólnione zmiany, przede wszystkim w korze w postaci rozległych ubytków komórkowych (ryc. 3) i w podkorowej istocie białej z uogólnioną komórkową glezozą izomorficzną (ryc. 4). Wokół naczyń znaleziono drobne jamki tworzące obraz *status cribrosus*. W mózdku istniały przerzedzenia w warstwie komórek Purkiniego. Obraz odpowiadał dziecięcej encefalopatii, która rozwinęła się prawdopodobnie w następstwie uszkodzenia śródmacicznego, spowodowanego zatruciem ciążowym u matki.

Przypadek V. G. M. (Hist. chor. 786/64). U dziecka urodzonego w zamartwicy napady skłonów pojawiły się w 6 miesiącu życia. Stwierdzono wówczas znaczne opóźnienie rozwoju psychoruchowego i dyskretny niedowład lewostronny. Czaszka była mała. W obrazie rtg ciemność — duże zarośnięte. Zapis eeg — patologiczny z uogólnionymi zmianami. W przebiegu odry wystąpiły objawy zapalenia mózgu, dziecko zmarło w wieku 1½ roku.

W obrazie neuropatologicznym (nr 17921) zaznaczały się świeże zmiany, obrzęk tkanki, nacieki okołonaczyniowe głównie w istocie białej oraz zagęszczenie i przerost gleju. Ponadto stwierdzono starsze zmiany w obrębie kory mózgu i mózdku (ryc. 5). W okolicy skroniowej i potylicznej zakręty były bardzo wąskie, przy zróżnicowaniu warstwowym kory. W korze czołowej natomiast ubytki komórkowe były tak znaczne, że budowa jej głębszych warstw zatarła się zupełnie. W tym przypadku rozpoznano encefalopatię, spowodowaną prawdopodobnie uszkodzeniem okołoporodowym. Bezpośrednią przyczyną zgonu było ostre limfocytarne zapalenie mózgu.

Przypadek VI W. Ch. (Hist. chor. 1230/66). Dziecko urodzone porodem prawidłowym, rozwijało się normalnie do 6 miesiąca życia. W tym okresie przebyło poszczepienne zapalenie mózgu, w następstwie którego stwierdzono zatrzymanie rozwoju psychoruchowego, tetraparezę spastyczną i napady skłonów. W eeg — uogólnione zmiany patologiczne. Zgon nastąpił w wieku 2 lat i 8 miesięcy w przebiegu zapalenia płuc.

Badanie neuropatologiczne (nr 217/66) pozwoliło na ustalenie istnienia dwóch odrębnych zespołów chorobowych w układzie nerwowym. W rdzeniu znaleziono rzadką wadę rozwojową z grupy dysrafii (jej analiza jest przedmiotem osobnego opracowania). W mózgu natomiast stwierdzono rozległe uszkodzenie kory (ryc. 6), prowadzące do obkurczenia zawojów (ulegyrii). Ubytki komórkowe były bardzo znaczne, miejscami prowadziły do rozległego zgąbczenia tkanki (ryc. 7), miejscami przeważały zmiany o typie blizny glejowej. W istocie białej spotykano różnego typu uszkodzenia, wśród których przeważały ogniska zgąbczenia tkanki, niekiedy nasilonego tak znacznie, że przedstawiała ona obraz luźnej siatki włókienek, wśród której widoczne były pojedyncze przerosłe astrocyty. Ponadto obecne były liczne ogniska bogatokomórkowego zbliznowacenia glejowego. Układ komorowy był poszerzony. Zmiany w zwojach podstawy oraz mózdku i pniu mózgu były mniej na-

silone. Przypadek ten przedstawia obraz encefalopatii po poszczepiennym zapaleniu mózgu, które wystąpiło u dziecka z wrodzoną wadą rozwojową układu nerwowego.

OMÓWIENIE

Przedstawione przez nas przypadki, których wspólną cechą kliniczną były napady skłonów, neuropatologicznie reprezentują różne zespoły i jednostki chorobowe: od zaburzeń rozwojowych i schorzeń uwarunkowanych genetycznie do nabytych encefalopatii dziesięcych.

Przypadek pierwszy o obrazie leukodystrofii typu Krabbego i drugi z rozpoznaniem fenyloketonurii wskazują, że podłożem do wystąpienia skłonów mogą się stać uszkodzenia związane z bardzo różnorodnymi zaburzeniami metabolicznymi. Napady skłonów spotykano w lipidozach, w zwyrodnieniu gąbczastym van Bogaerta-Bertranda, w dziecięcej poliodystrofii i in. (Poser, Low 1960, Tucker, Solitare 1963, Laurence, Cavanach 1968, Kamoshita i wsp. 1970, Jellinger 1970).

Przegląd literatury wskazuje, że niejednokrotnie stwierdzano hypsarytmię i skłony w wadach rozwojowych, szczególnie w zaburzeniach migracji prowadzących do nieprawidłowego ukształtowania kory, a więc w agyrii, pachygyrii, czy mikrogyrii. Opisywano je także w fakomatyzach. Z powyższymi grupami schorzeń należy wiązać powtarzające się obserwacje o dziedzicznorodzinnym występowaniu tego zespołu.

Przypadek trzeci jest przykładem zaburzeń rozwojowych w obrębie układu naczyniowego opon mózgowych i płuc. Zmiany te (na drodze miejscowych i uogólnionych zaburzeń krążenia) przyczyniły się niewątpliwie do powstania wtórnych uszkodzeń tkanki nerwowej, szczególnie kory, w której stwierdziliśmy liczne ubytki i schorzenia komórkowe. Reprezentuje on pogranicze dwóch typów uszkodzeń i zwraca uwagę na najliczniejszą w zespole skłonów grupę przypadków, w których uszkodzenia mają charakter krążeniowo-niedotlenieniowy i pochodzą zarówno z okresu ciąży, jak i porodu (Courville 1952, Martin 1960, Sinton, Patterson 1962, Janz, Akos 1967, Jellinger 1970). Typowymi przykładami tej grupy są czwarty i piąty spośród przedstawionych przypadków. Podobne skutki może także wywołać uszkodzenie powstałe we wczesnym dzieciństwie. Obok zmian naczyniopochodnych spotykano również encefalopatie pozapalne, których przekonywującym przykładem jest przypadek szósty.

Ten krótki przegląd nie jest pełnym zestawieniem rozpoznań neuropatologicznych spotykanych w przypadkach, w których obserwowano napady skłonów. Sugeruje on jednak, że przyczyną tych napadów mogą być uszkodzenia o różnej etiologii i patomechanizmie, powstałe w okresie różnicowania i dojrzewania mózgu i prowadzące do rozległych zmian

w obrębie jego półkul. Tym bardziej zaskakują obserwacje, w których neuropatologicznie nie stwierdzono żadnych zmian w mózgu (Peiffer 1963, Bignami i wsp. 1964, Jellinger 1970). Pozostaje otwarte pytanie, jakie procesy chorobowe były u tych dzieci przyczyną wystąpienia skłonów. Najprawdopodobniej leżą one w kręgu zaburzeń biofizyczno-chemicznych komórki nerwowej (Martin i wsp. 1961). Powiązanie tych procesów z morfologicznie uchwytnymi zmianami mózgowymi w poszczególnych przypadkach jest aktualnie niemożliwe do ustalenia. Podobne zagadnienia spotykamy w różnych typach padaczki (Dąbska 1968) do której kręgu należą niewątpliwie napady skłonów. Nie poddają się one wprawdzie leczeniu klasycznymi lekami przeciwdrażkowymi (Wiszcior-Adamczyk, Koślacz-Folga 1967), ale w około 33% przypadków przechodzą jednak z wiekiem w typowe napady „grand mal” lub zespół miokloniczno-astatyczny (Krause 1968). Charakterystyczną cechą w skłonach jest ich podobieństwo do fizjologicznego pierwotnego odruchu Moro, właściwego dzieciom do 5—6 miesiąca życia. Napady skłonów występujące zwykle w tym okresie mają również skłonność do ustępowania lub, jak wspomnieliśmy, zmiany formy w miarę dojrzewania mózgu dziecka, podobnie dzieje się z zapisem hypsarytmicznym w eeg (Trojaborg, Plum 1960). Należy więc sądzić, że niedojrzałość tkanki może być odpowiedzialna za odmienny typ reakcji układu nerwowego (Michałowicz 1966). Przypuszczenia te potwierdzają doświadczenia Servity (1963), który wykazał, że u zwierząt klasyczny napad padaczkowy można wywołać dopiero przy pewnym stopniu dojrzałości ośrodkowego układu nerwowego. W chwili obecnej, używając sformułowania Jellingera (1970), możemy traktować napady skłonów jako „niespecyficzną odpowiedź mózgu dziecięcego na różne rodzaje uszkodzeń”.

М. Мартиняк, М. Домбска, Б. Вишчор-Адамчик

НЕЙРОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СИМПТОМЕ ДИСТОНИЧЕСКИХ ПРИСТУПОВ

Резюме

Цель работы — обсуждение нейропатологических изменений, встречаемых в случаях, в которых общим клиническим признаком является симптомокомплекс дистонических приступов. Анализ этих изменений проведен на основании уже описанных случаев, а также собственных, в которых был установлен диагноз лейкодистрофии типа Краббе, фенилкетонурии, ангиомы оболочек, аноксемической энцефалопатии вследствие утробных и природных повреждений, а также энцефалопатии по поствакцинационному энцефалите. Авторы обращают внимание на экспериментальные исследования, показывающие, что полный судорожный припадок можно вызвать только при определенной степени

зрелости нервной системы. Обзор целого материала указывает, что дистонические приступы можно рассматривать как ответ незрелой нервной системы на разные повреждения, ведущие к обширным изменениям, особенно в мозговых полушариях.

M. Marciniak, M. Dąbska, B. Wiszczor-Adamczyk

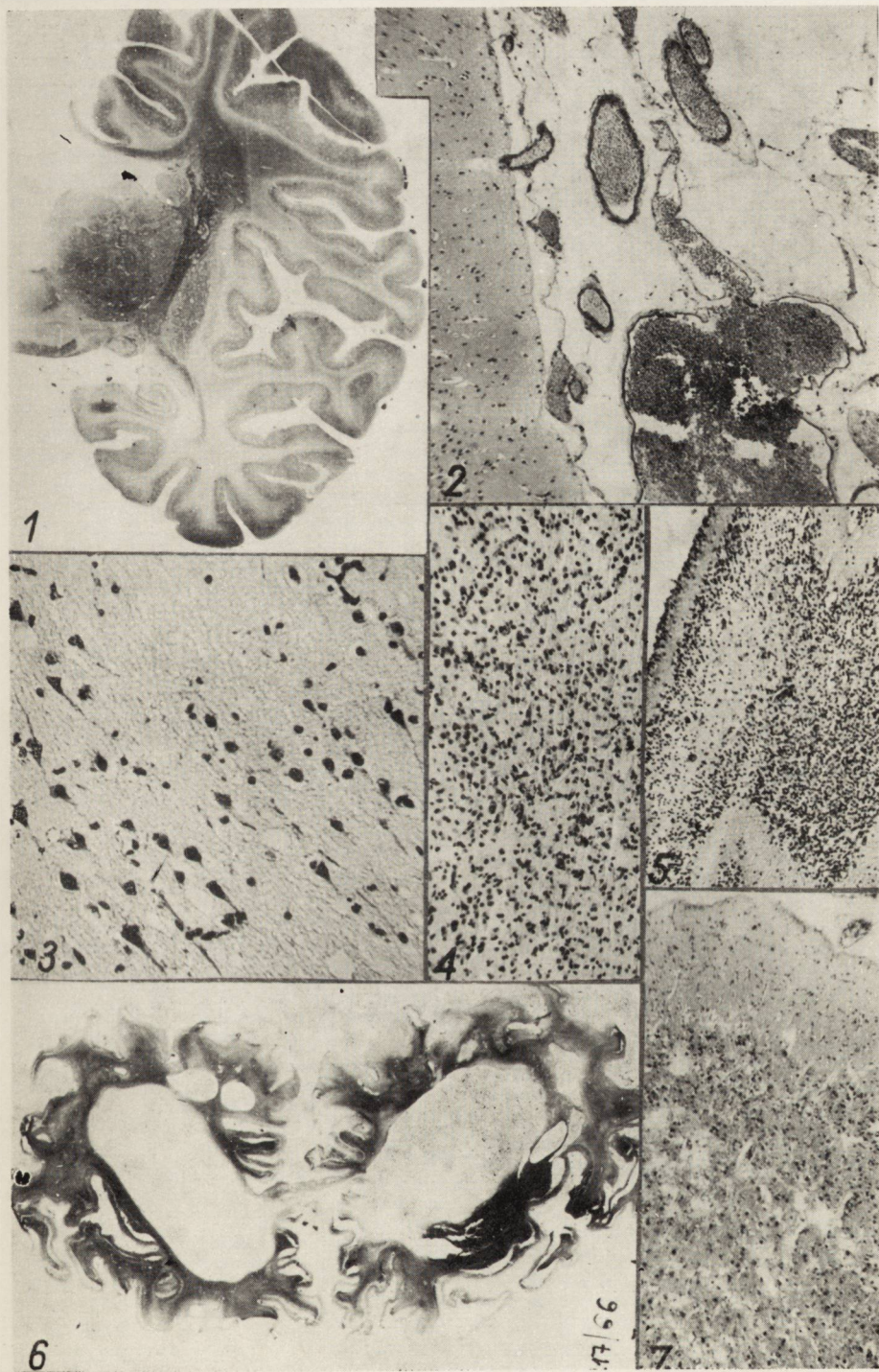
NEUROPATHOLOGIC CHANGES IN THE SYNDROM OF INFANTILE SPASMS

Summary

The present work aims to discuss the neuropathologic changes observed in cases, in which the syndrom of infantile spasms was a common clinical feature. Analysis of these changes is carried out on the basis of both the cases reported and the 6 cases of our own, in which Krabbe leucodystrophy, phenylketonuria, meningeal angiomatosis, anoxic encephalopathy following intrauterine and perinatal damages and encephalopathy after postvaccinate encephalitis were diagnosed. The authors pointed at experimental investigations indicating that a full epileptic seizure can only be evoked at a certain maturity of the nervous system. Review of the whole material indicates, that the infantile spasms are to be treated as a response of an immature nervous system to various lesions, which lead to wide-spread changes, especially in brain hemispheres.

PIŚMIENICTWO

1. Bignami A., Zapella M., Benedetti P.: Infantile spasms with hypsarrythmia. A pathological study. *Helv. Pediat. Acta*, 1964, 19, 326—341.
2. Courville C. B.: Ultimate residual lesions of antenatal and neo-natal asphyxia. *Am. J. Dis. Child.*, 1952, 84, 1, 64—78.
3. Christensen E., Melchior J. C.: Neuropathological findings in children with infantile spasms and hypsarrythmia. *Dan. med. Bull.*, 1960, 7, 121—127.
4. Dora Hsi-Chich Chao, Taylor F. M.: Massive Spasms. *J. Pediat.*, 1957, 50, 6, 670—678.
5. Dąbska M.: Zagadnienie zmian podrgawkowych w padaczce. *Neur. Neurochir. Pol.*, 1968, II (XVIII), 3, 275—280.
6. Gibbs G. A., Gibbs E. L.: *Atlas of electroencephalography*. Addison-Wesley Press, Mass., Cambridge 1952.
7. Hallut R.: Spasmes en flexion. *Rev. Neuropsych. Inf.*, 1960, 9/10, 373—401.
8. Hoefer F. A., Less S.: Periodicity and hypsarrythmia in EEG. *Neurology*, 1963, 9/4, 424—436.
9. Janz D., Akos R.: Über die Rolle praenataler Faktoren bei der Aetiologie der Propulsiv-Petit-Mal-Epilepsie. *J. Neurol. Sci.*, 1967, 4, 401—415.
10. Jellinger K.: Neuropathological aspects of hypsarryhythmia. *Neuropediatric*, 1970, 3, 277—294.
11. Kamoshita S., Mizutani J., Fukuyama Y.: Leigh's subacute necrotising encephalomyelopathy in a child with infantile spasms and hypsarrythmia. *Development of Medicine and Child Neurology.*, 1970, 12, 430—435.
12. Kruse R.: *Das myoklonisch astatische Petit-Mal*. Springer-Verlag, Berlin 1968.
13. Laurence K. M., Cavanach J. B.: Progressive degeneration of the cerebral cortex in infancy. *J. Neurol.*, 1968, 91, II, 261—279.



14. Martin G., Loiseau P., Battin J.: Encephalopathie chronique avec hypsarrythmie sequele d'une anoxie neo-natale. Arch. Franc. Ped., 1961, 609—619.
15. Michałowicz R.: W sprawie etiologii i patogenezy napadów skłonów u dzieci. Wiad. Lek., 1966, XIX, 10, 769—772.
16. Okuyama K.: Neuropathological findings in eight cases of infantile spasms with hypsarrythmia. Dev. Med. Child Neurology, 1965, 7/6, 707—708.
17. Paludan J.: Autopsy findings in child with spasms and hypsarrythmia. Dan. med. Bull., 1961, 8/5, 128—130.
18. Peiffer J.: Morphologische Aspekte der Epilepsien. Pathogenetische, pathologisch-anatomische und klinische Probleme der Epilepsien. Monogr. ges. geb. Neurol. Psychiat. V. 100. Springer, Berlin-Göthingen-Heidelberg 1963.
19. Popielarska A., Koślacz-Folga A.: Napady skurczowe u dzieci (Spasmes en flexion). Prace i materiały naukowe IM i Dz., 1963, t. I, 173—184.
20. Poser M., Low L.: Autopsy findings in three cases of hypsarrythmia, 1960, 49, 6, 695—706.
21. Servita Z.: Reflex mechanisms in the genesis of epilepsy. Amsterdam, London, * New York 1963.
22. Sinton D. W., Petterson R. R.: Infantile spasms. A case report with clinical and pathological correlation. Neurology, 1962, 12, 5, 351—360.
23. Trojaborg W., Plum P.: Treatment of „hypsarrhythmia” with ACTH. Acta Pediat., 1960, 49, 572—582.
24. Tucker J. S., Solitare G. B.: Infantile myoclonic spasms. Clinical, electrographic and neuropathological observation. Epilepsia 1963, 4, 45—59.
25. Wiszczor-Adamczyk B., Koślacz-Folga A.: Ocena wyników leczenia ACTH dzieci z napadami skłonów. Prace i materiały Naukowe IM i Dz., 1967, X, 202—211.
26. Zelman B., Czochańska-Kruk Z., Borowicz K.: Neuropatologia fenylketonurii. Neuropat. Pol., 1967, V, 509—518.

Adres autorek: Zespół Neuropatologii CMD i K, Warszawa, ul. Pasteura 3.

PODPISY POD RYCINY

Ryc. 1. Przypadek II. Zbłądzenie mieliny w istocie białej. Met. Heidenhaina. Pow. lupowe.

Fig. 1. Case II. Pallor of myelin of the white matter. Heidenhain's staining. Magn. glass.

Ryc. 2. Przypadek III. Zmiany naczyńniakowate w oponach nad półkulą prawą. H—E. Pow. 100 ×.

Fig. 2. Case III. Angiomatous changes in meninges of the right hemisphere. H—E. × 100.

Ryc. 3. Przypadek IV. Uszkodzenia i ubytki neuronów w korze mózgu. Fiolet krezyłu. Pow. 250 ×.

Fig. 3. Case IV. Loss and damage of neurons in the cerebral cortex. Cresyl-violet. × 250.

Ryc. 4. Przypadek IV. Podkorowa glejoza komórkowa. Fiolet krezyłu. Pow. 200 ×.

Fig. 4. Case IV. Subcortical cellular gliosis. Cresyl violet. × 200.

Ryc. 5. Przypadek V. Ogniskowe ubytki i uszkodzenia komórkowe w korze mózdzku. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×.

Fig. 5. Case V. Focal loss and degeneration of nerve cells in the cerebellar cortex. Cresyl violet. × 100.

Ryc. 6. Przypadek VI. Rozpad kory i poszerzenie układu komorowego. Met. Heidenhaina. Wielkość naturalna.

Fig. 6. Case VI. Desintegration of cortex and extension of the ventricular system. Heidenhain's staining. Natural size.

Ryc. 7. Przypadek VI. Uszkodzenie kory ze zgąbczeniem. H—E. Pow. 100 ×.

Fig. 7. Case VI. Atrophy of the cortex with spongy state. H—E. × 100.

ANNA TARASZEWSKA, HANNA LEWICKA-WYSOCKA*), BOGUSŁAW
NOZDRYN-PŁOTNICKI**)

ANALIZA NEUROPATOLOGICZNA ZMIAN U PSÓW STARCZYCH Z NOWOTWORAMI NARZĄDÓW WEWNĘTRZNYCH

Pracownia Neuropatologii Porównawczej Zespołu Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

Kierownik Pracowni: prof. dr med. E. Osetowska

Ocenę i klasyfikację zmian starczych ośrodkowego układu nerwowego u ludzi przede wszystkim utrudnia częsty rozwój postępującego wraz z wiekiem procesu miażdżycowego naczyń mózgowych i jego następstw dla parenchymy mózgowej. Porównawczy materiał zwierzęcy stwarza dogodniejsze warunki badania starości „fizjologicznej” ze względu na brak typowej miażdżycy. Zwierzęciem z wyboru do badań neurogerontologicznych jest pies, u którego stwierdzono obecność plak starczych uważanych za specyficzną cechę starzenia się mózgu ludzkiego (Braunmühl 1956, Osetowska 1966).

Charakterystyka morfologiczna mózgu psa starczego opracowana przez Osetowską w 1966 roku oparta była na materiale nie wykazującym istotnych schorzeń narządów wewnętrznych. Praktycznie jednak uzyskanie przypadków starości niepowikłanej u psów jest nie mniej trudne niż u ludzi, stąd zagadnienie różnicowania zmian, które mogą wynikać z współistnienia różnych obciążeń patologicznych i zmian uwarunkowanych wyłącznie wiekiem, pozostaje aktualne również w badaniach neuropatologicznych psów starczych.

W niniejszej pracy wybrano do badania neuropatologicznego przypadki psów starczych, u których stwierdzono obecność nowotworów narządów wewnętrznych. Celem pracy jest ocena morfologiczna zmian w mózgu starczego psa obciążonego patologią narządową z uwzględnieniem ewentualnego wpływu choroby nowotworowej na mózg i porównanie otrzymanych wyników z badaniami Osetowskiej, wykonanymi na psach nie wykazujących powikłań nowotworowych.

* Z Kliniki Psychiatrycznej AM w Warszawie.

** Z Instytutu Onkologii.

MATERIAŁ I METODA

Materiał obejmuje 8 psów w wieku od 10 do 15 lat, rasy mieszanej, samców. Psy pochodziły z kolonii psów starczych, utrzymywanej przy Zakładzie Hodowli Zwierząt Laboratoryjnych Łomna-Las, a więc z tej samej kolonii, z której pochodziła pierwsza seria psów opisanych w pracy Osetowskiej (1966).

W przyżyciowej obserwacji u żadnego psa nie wykryto istnienia choroby nowotworowej. Objawy ogólnego złego stanu klinicznego, jak osłabienie, apatia i brak apetytu wiązano ze starością. Z innych objawów, u jednego psa stwierdzono kilkakrotnie przemijające niedowłady kończyn tylnych (przyp. 426/65), u drugiego widoczne było „owrzodzenie” (rozpadający się guz) w okolicy odbytu (przyp. 383/65).

Tabela 1. Zmiany anatomopatologiczne u badanych psów.

Table 1. Anatomic pathological changes in examined dogs.

Nr sekc. psa No. of section	Wiek psa Age of dog	Umiejscowienie guzów Location of tumours	Rozpoznanie histopatologiczne Histopathological diagnose
374/65	14 lat years	jelito ślepe caecum	<i>Leiomyoma intestini</i> <i>Fibrosis pulmonum.</i> <i>Hepatitis chronica.</i>
383/65	15 lat years	rozpadający się guz w okolicy odbytu disintegrating tumour of anus region	<i>Adenoma recti.</i> <i>Lipomatosis hepatis</i> <i>Nephrosclerosis.</i>
426/65	15 lat years	dolny płet prawego płuca inferior lobe of right lung	<i>Adenoma malignum pulmonum.</i> <i>Metastases ad lien et cerebrum.</i>
431/65	12 lat years	wątroba liver	<i>Adenocarcinoma cubocellulare</i> <i>cholangiogenes. Nephrosclerosis.</i> <i>Emphysema pulmonum.</i>
452/65	12 lat years	pęcherz moczowy, nerka, wątroba, śledziona urinary bladder, kidney, liver, spleen	<i>Adenocarcinoma cubo- et cylindrocellulare v. urinariae. Metastases ad renum, hepar et lien</i>
751/66	14 lat years	jama brzuszna abdominal cavity	<i>Tumor malignum abdominis non classificatum. Emphysema pulmonum et fibrosis. Lipomatosis hepatis. Nephrosclerosis</i>
8/68	10 lat years	pęcherz moczowy urinary bladder	<i>Papilloma urotheliale vesicae urinariae.</i>
9/68	15 lat years	jama brzuszna, wątroba przepona abdominal cavity, liver, diaphragm	<i>Neurilemmoma, partim sarcoma neurogenes abdominis</i>

Oba te psy zostały uśpione z powodu wymienionych objawów, inne padły samoistnie.

Na sekcji ogólnej stwierdzono obecność guzów nowotworowych, które w siedmiu przypadkach umiejscowione były w narządach jamy brzusznej, w jednym przypadku w płucach. Wycinki z narządów wewnętrznych — płuca, wątroby, śledziony, nerki oraz w zależności od umiejscowienia nowotworów z innych narządów i wycinki z guzów nowotworowych zostały pobrane do badania histopatologicznego. Skrawki po zatopieniu w parafinie barwiono hematoksyliną-eozyną i metodą van Gieson. Wyniki badania histopatologicznego zestawiono w tabeli 1.

Mózgi i rdzenie wyjmowano w całości. Po utrwaleniu w 10% formolu badano mózgi makroskopowo, krojąc je w płaszczyźnie czołowej, a następnie pobierano skrawki przez obie półkule z poziomu wczesnych zwojów podstawy, wzgórza, śródmózgowia, mostu i mózdzku, opuszki, rdzenia szyjnego, rdzenia piersiowego i lędźwiowego. Skrawki parafinowe lub mrożeniowe barwiono fioletem krezyłu, hematoksyliną-eozyną, metodą van Gieson, Heidenhaina, Holmesa, Kanzler-Arendta, sudanem III, metodą PAS, czerwienią Kongo i metodą Bielschowskiego.

Wyniki badania neuropatologicznego zebrano w formie protokołu zbiorczego z wyszczególnieniem zmian odrębnych dla poszczególnych przypadków.

WYNIKI

Makroskopowo w trzech mózgach występowało dość znaczne poszerzenie układu komorowego o typie wodogłowia zanikowego. Inne cechy zaniku — zwężenie zakrętów, poszerzenie rowków były miernie wyrażone. W dwóch mózgach stwierdzono obecność drobnych krwotoczków, w przypadku 9/68 w mózdzku i w przypadku 8/68 w przestrzeni podoponowej rdzenia przedłużonego. U psa 426/65 w części podstawnej rdzenia przedłużonego obecne było ognisko barwy szaro-brunatnej, dobrze ograniczone, wielkości kilku milimetrów, rozpoznane jako podejrzenie przerzutu nowotworowego. Rozpoznanie to zostało potwierdzone badaniem mikroskopowym. Pierwotny nowotwór o typie *adenocarcinoma* znajdował się w płucach.

W badaniu mikroskopowym stwierdzono uszkodzenia wspólne dla wszystkich przypadków oraz zmiany właściwe poszczególnym przypadkom.

We wszystkich strukturach istoty szarej obserwowano rozlane opustoszenia i zmiany zwyrodnieniowe komórek nerwowych. W korze przeważały rozsiane i okołonaczyniowe zaniki neuronów, rzadziej występowały zaniki warstwowe, głównie w III warstwie, a w przypadku 431/65 w warstwie VI. W korze mózdzku ubytki segmentarne komórek Purkiniego w połowie przypadków (383/65, 431/65, 9/68, 8/68) były dość rozległe, z wyrównawczym rozplemem gleju Bergmanna (ryc. 1), zachowane komórki wykazywały zmiany typu przewlekłego, a tylko nieliczne miały wygląd prawidłowy. W większości przypadków spotykano też w warstwie ziar-

nistej mózdzku nieznaczne rozlane przerzedzenia lub opustoszenia okołonaczyniowe w postaci drobnych „łysinek”. W jądrach mózdzku ubytki neuronalne z zastępczą glejową komórkową towarzyszyły zwykle zanikom komórek Purkinjego. W rdzeniu zaniki komórkowe stwierdzono przede wszystkim w rogach przednich, przy czym ich nasilenie w przypadkach 452/65, 751/66, 8/68 było uderzająco duże. Przy współistniejących wynaczynieniach krwotocznych często stwierdzano zaledwie pojedyncze komórki nerwowe (ryc. 2). Zmiany komórkowe były wybitnie zaznaczone w korze, we wzgórzu, w jądrach podwzgórza, w pniu w jądrach nn. czaszkowych, w komórkach Purkinjego oraz w rogach przednich rdzenia kręgowego. W barwieniach komórkowych przeważały uszkodzenia o typie zmian przewlekłych, często też występowały zmiany rozplywne, zwłaszcza w neuronach jąder nn. czaszkowych. Wśród komórek typu piramidowego i we wzgórzu spotykano liczne komórki z dużym nagromadzeniem złogów lipofuscyny. W barwieniach srebrowych w czterech przypadkach (374/65, 383/65, 426/65, 751/66) w korze obserwowano pojedyncze struktury morfologiczne odpowiadające plakom starczym (ryc. 3). W żadnym przypadku nie występowały one jednak w sposób dostatecznie demonstratywny, widoczne były sporadycznie, po kilka we wszystkich badanych preparatach, a w barwieniu czerwienią Kongo brak było dodatnich reakcji barwnych. Natomiast we wszystkich przypadkach impregnacja srebrowa wykazała zwyrodnienie neuronalne w postaci ziarnistego rozpadu cytoplazmy, fragmentacji i rozděcia wypustek, pogrubienia pęczków neurofibryli.

W istocie białej barwienie metodą Heidenhaina wykazywało rozlane zblednięcie mieliny, występujące na wszystkich poziomach mózgu i rdzenia. W półkulach największe spłowienie mieliny obserwowano na szczytach osi zawojów, w *centrum semiovale* okolicy ciemieniowej, w *c. callosum*, w strzępkach hipokampa, w okolicach przykomorowych. Często obrazem współistniejącym było ścięczenie *c. callosum* i poszerzenie układu komorowego. Szczególnie intensywne spłowienie w *centrum semiovale* o charakterze rozlanej demielinizacji występowało w przypadku 431/65. W pniu mózdzku i rdzeniu, na tle ogólnego spłowienia mieliny, niektóre struktury wykazywały większe przejaśnienia. Dotyczyło to sznurów tylnych rdzenia i korzonków rdzeniowych w przypadkach 9/68, 8/68, 374/65 (ryc. 4), oprócz tego w przypadku 9/68 nasilone spłowienie było widoczne w skrzyżowaniu nn. wzrokowych, a w przypadku 8/68 zajmowało pasmo rdzeniowe n. trójdzielnego, wstęgę przyśrodkową, konary mózdzku górne i dolne, korzonki n. czaszkowych: trójdzielnego i okoruchowego, jak również skrzyżowanie nn. wzrokowych. Spłowieniom mieliny odpowiadało zanikowe przerzedzenie włókien istoty białej z zagęszczeniem komórek glejowych.

W barwieniu metodą Kanzler-Arendta stwierdzono lekką, rozlaną glejotę włóknistą w *centrum semiovale*, w niektórych przypadkach widoczne było większe nasilenie glejoty włóknistej w konarach mózdzku górnych, w jądrach mózdzku, w istocie szarej rdzenia. Glejoza okołokomorowa natomiast była wyraźnie wzmożona. W barwieniach komórkowych typowymi obrazami były nieregularne układy oligodendrocytów, pomnożenie międzypęczkowe komórek glejowych, szerokie obrąbki okołonaczyniowe i trawniczki glejowe, lub rozlane zagęszczenie pobudzonych elementów glejowych.

W przypadku 431/65 szczególną zmianą była obecność, zwłaszcza w okolicach podkorowych, licznych komórek astrogleju, odpowiadających nagim jądom, albo komórkom Alzheimera typu II (ryc. 5). Ponadto w przypadku tym spotykano pojedyncze komórki odpowiadające komórkom Opalskiego (ryc. 6). Przypadek 374/65 reprezentował jeszcze inny typ zmian. W istocie białej półkul, podkorowo z zachodzeniem na dolne warstwy kory i w osiach zawojów w okolicy czołowo-ciemieniowej stwierdzano rozsiane niewielkie pola luźnych nacieków glejowo-naczyniowych na lekko rozrzedzonym podłożu. Drobne naczynia wykazywały rozplem śródbłonek i nacieki histiocytarno-limfocytarne. Zagęszczone komórki glejowe były hipertroficzne, obserwowano również gemistocyty i liczne przerosłe pałeczki mikrogleju (ryc. 7, 8). W poszczególnych komórkach stwierdzano mitozy. Odpowiadająca demielinizacja była głównie zaznaczona okołonaczyniowo i nie obejmowała całego pola nacieku (ryc. 9). Naczynia z rozplemem śródbłonek i naciekami histiocytarnymi spotykano ponadto w korze, w zwojach podstawy i w częściach podstawnych mózgu, jednak bez towarzyszących plak glejowych.

Podobne morfologicznie zmiany, ale o odmiennej lokalizacji występowały w przypadku 383/65. Były to pojedyncze plaki glejowo-naczyniowe w części bocznej nakrywki śródmózgowia i w istocie białej mózdzku. Występowały w nich naczyniowe nacieki histiocytarne i rozplem komórek gleju na lekko zgąbczałym podłożu, charakterystyczna przy tym była obecność prawidłowych komórek nerwowych w obrębie nacieku w śródmózgowiu. W innych okolicach mózgu spotykano drobne okołonaczyniowe nacieki limfocytarne (ryc. 10).

W całym materiale naczynia śródmózgowe i oponowe wykazywały włókniste zmiany zwyrodnieniowe. Ściany naczyń były pogrubiałe, z zanikiem budowy warstwowej. W naczyniach większych widoczny był podśródbłonkowy rozrost kolagenu, rozwarstwienia błony sprężystej wewnętrznej, zwyrodnienie błony środkowej, zmniejszenie ilości włókien mięśniowych, zgrubienie i pomnożenie włókien kolagenowych. W drobnych naczyniach i kapilarach stwierdzano przerosł śródbłonek, rozplem

włókien retikuliny i grube pasma włókien kolagenowych, nieraz spotykano pakiety drobnych naczyń o typie kłębków naczyńniowych (ryc. 11).

W przypadku 426/65 i 452/65 niektóre zmienione homogenicznie ściany naczyń wybarwiały się dodatnio czerwienią Kongo, a w przypadku 374/65 w większości zwyrodniałych ścian występowało nasilenie reakcji PAS. We wszystkich przypadkach stwierdzano znaczne zmiany okołonaczyńniowe tkanki w istocie białej i szarej w postaci drobnych martwic. W poszerzonych przestrzeniach okołonaczyńniowych obecne były liczne makrofagi zawierające materiał sudanofilny, tkanka okołonaczyńniowa wykazywała rozrzedzenie, a w przypadkach 751/66 i 8/68 obserwowano we wzgórzu i prążkowie typowe jamki i zgąbczenia sitowate wokół drobnych naczyń. Ponadto dość powszechnie stwierdzano przynaczyńniowe drobne wynaczyńnienia, a nawet większe świeże krwotoczki, bezodczynowe, najczęściej w opuszce, mózdzku i rdzeniu.

W przypadku 431/65 napotkano naczynia o nietypowych zmianach wytwórczych, występujące na ograniczonym, niewielkim obszarze kory mózdzku oraz na podstawie *lobus pyriformis*, w pograniczu oponowo-korowym. Zmiany te charakteryzowały się koncentrycznym, lub bezładnym rozplemem komórek w ścianach naczyń, które przybierały postać grubych litych sznurów komórkowych, lub na przekroju poprzecznym tworów cebulastych (ryc. 12).

Opony mózgu w całym materiale wykazywały rozrost tkanki włóknistej, często obserwowano splecione kłęby włókien kolagenowych i zwłókniałych naczyń zrastających się z powierzchnią mózgu.

W okolicy podwysiółkowej, w obrębie głowy jądra ogoniastego we wszystkich przypadkach stwierdzano mniej lub bardziej liczne rozetkowane gniazda rozplemu gleju podwysiółkowego, lub sznury niedojrzałych komórek spongioblastycznych, ułożone wzdłuż naczyń.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

W stosunku do przedstawionego powyżej obrazu zmian nasuwają się dwa zasadnicze pytania: w jakim stopniu obserwowane uszkodzenia mózgu można uważać za inwolucyjny proces starczy oraz czy możliwe jest zróżnicowanie pomiędzy zmianami starczymi, a zmianami encefalopatycznymi, zależnymi od uszkodzeń narządów wewnętrznych, lub obecności nowotworu w organizmie.

Z badań Osetowskiej (1966) wynika, że najbardziej charakterystyczną zmianą w mózgu starczego psa jest zwyrodnienie włókniste ścian naczyńniowych i wynikający stąd specyficzny typ zaburzenia przepuszczalności, dający reakcje glejowe w postaci przynaczyńniowej proliferacji gleju komórkowego oraz zmiany okołonaczyńniowe w postaci krwinkotoków, drobnych martwic i zatok przynaczyńniowych przy braku martwic ognis-

kowych. Występowanie plak starczych, uważane jest za wynik miejscowych i ogólnoustrojowych przeobrażeń właściwych dla wieku starczego. Inne morfologiczne wykładniki uszkodzeń tkanki związane z wiekiem polegają na niespecyficznym zmianach komórek i włókien nerwowych.

Ogólnie oceniając można stwierdzić, że w badanym przez nas materiale obraz zmian odpowiada w zasadniczych punktach charakterystyce mózgu starczego: zwyrodnienie włókniste zmian naczyniowych, uszkodzenia tkanki w otoczeniu naczyń o charakterze krwotocznym i rozpadowym i uogólnione zmiany zwyrodnieniowe parenchymy mózgowej. Przy tym obrazie uderzający jest w naszym materiale brak lub sporydyczność występowania plak starczych. Może to wynikać z granicy wieku, która nie przekracza 15 lat, podczas gdy w badaniach Osetowskiej bardzo liczne plaki stwierdzane były u psa 18-letniego. Z drugiej strony należy wziąć pod uwagę rolę różnych czynników patologicznych, zmieniających warunki fizjologicznego starzenia się, które działając na mózg obciążony starczymi zmianami układu naczyniowego mogą pogłębiać niespecyficzne zmiany zwyrodnieniowe neuronów, a równocześnie hamować rozwój właściwych zmian starczych. U ludzi badano pod tym kątem wpływ miażdżycy i okazało się, że istnieje wyraźna przeciwstawność między zaawansowaniem miażdżycy, a natężeniem występowania plak starczych (Lewicka-Wysocka 1969), stwierdzano również zależność między ilością plak starczych i składem biochemicznym surowicy krwi w przypadkach z miażdżycą i bez miażdżycy (Constantinidis 1962). Być może, że analogiczna przeciwstawność może mieć miejsce przy istnieniu innych, aniżeli miażdżycy zespołów patologicznych, jak zaburzenia metaboliczne w wyniku uszkodzeń narządów wewnętrznych, „intoksykacje” nowotworowe, niedobory odżywcze. Wszystkie te czynniki wpływają niekorzystnie na mózg i mogą wywoływać zmiany zwyrodnieniowe typu encefalopatii narządowych, lub tzw. neuropatie nowotworowe.

Wśród przebadanych przypadków zmiany występujące u psa 431/65 przedstawiają się dość typowo dla encefalopatii wątrobowej ze względu na obecność specyficznych postaci komórek tzw. nagich jąder Alzheimera i komórek Opalskiego. Zaniki komórkowe w korze mózgu z nasileniem w warstwie VI, zaniki komórek Purkinjego i przerzedzenie warstwy ziarnistej mózdzku oraz spłowienie demielinizacyjne istoty białej, stanowią uzupełnienie tego obrazu. Pochodzenie zwyrodnień komórek nerwowych jest tutaj trudne do rozstrzygnięcia, ale wydaje się, że można przyjąć związek obserwowanych uszkodzeń z patologią wątrobową, zwłaszcza ze względu na zmiany glejowe, które są uważane za najbardziej stały element morfologiczny obrazu encefalopatii wątrobowych (Mossakowski 1966).

W żadnym przypadku nie udało się natomiast jednoznacznie stwierdzić określonego zespołu neuropatii nowotworowych w znaczeniu takim, w jakim znane są u ludzi. Patologia tych zespołów może wyrażać się procesami zwyrodnieniowymi, zapalnymi, demielinizacyjnymi i martwiczymi (Wilkinson i wsp. 1967). Występujące w niektórych przypadkach znaczne ubytki komórek Purkinjego i przerzedzenia warstwy ziarnistej kory mózdku wymagają omówienia w związku z charakterystycznym dla neuropatii rakowych zespołem podostrego zwyrodnienia kory mózdku (Greenfield 1954).

Nowotworowe zwyrodnienia mózdku rozpoznawane są u ludzi na podstawie klinicznych objawów mózdkowych, występujących w przebiegu raka i neuropatologicznego obrazu zmian wybiórczych w mózdku w postaci rozlanego zaniku komórek Purkinjego, lub warstwy ziarnistej (Boudin 1965, Brain i wsp. 1958, Osetowska 1963, Wilkinson i wsp. 1967).

W naszym materiale zaniki komórkowe w korze mózdku w przypadkach 385/65, 9/68 i 8/68 są dość rozległe, jednak zawsze stanowią część ogólnomózgowych zmian zanikowo-zwyrodnieniowych. W warstwie ziarnistej natomiast zaznacza się wyraźnie okołonaczyniowe zaakcentowanie opustoszeń. W mózgach starczych zaniki komórek Purkinjego są często spotykane. Niektórzy autorzy zaliczają je do zmian związanych z wiekiem, inni podkreślają szczególną wrażliwość tych komórek na różne czynniki szkodliwe, działające w ciągu życia i mogące warunkować narastanie zaników wraz z wiekiem. Ten ostatni pogląd znajduje poparcie w pracy Schenka i Entersa (1970), którzy przeprowadzili ilościową analizę gęstości komórek w warstwie komórek Purkinjego u ludzi, w różnych grupach schorzeń. Autorzy ci stwierdzili, że pewne schorzenia jak np. marskość wątroby, powodują wzrost uszkodzeń komórek Purkinjego w starszym wieku, natomiast nie obserwowano w sposób wyraźny wpływu samego wieku na liczbę komórek Purkinjego.

Różnicowania z neuropatiami nowotworowymi wymagają również zmiany w rdzeniu kręgowym, korzonkach i nerwach obwodowych. Rozległe ubytki komórek rogów przednich, demielinizacja systemowa sznurów tylnych rdzenia i korzonków nerwów obwodowych są zmianami opisywanymi zarówno w wieku starczym (Graux i wsp. 1962) jak i w mielopatiach rakowych (Brain i Henson 1958, Henson i wsp. 1954, Wilkinson i wsp. 1967). W obu przypadkach patogeneza tych mielopatii pozostaje dyskusyjna. Jedna z teorii, starających się tłumaczyć patogenezę zespołów paranowotworowych przyjmuje istnienie utajonych abiotrofii, ujawniających się pod wpływem choroby nowotworowej. W wieku starczym zmiany o tym samym charakterze mogą być następstwem uszkodzeń układu naczyniowego, powodujących narastanie wraz z wiekiem wrażli-

wości długich dróg rdzenia na różne zaburzenia ogólnoustrojowe (Graux i wsp. 1962).

W naszym materiale trudno jest ustalić genezę obserwowanych zmian zwyrodnieniowych ze względu na współistnienie obu spraw tj. starości i nowotworów. Rozstrzygające byłyby badania przyżyciowe kliniczno-laboratoryjne, o ile wykazałyby jednoczasowy rozwój zespołu neurologicznego z rozwojem nowotworu.

W zespołach paranowotworowych u ludzi oprócz zmian zwyrodnieniowych opisywano przypadki ze zmianami zapalnymi mózgu i rdzenia (Russel 1961). Obserwowane przez nas w przypadkach 374/65 i 383/65 rozsiane plaki naciekowe glejowo-naczyniowe występowały zasadniczo w istocie białej i charakteryzowały się niewielkim rozprzestrzenieniem. W strukturze ich dominował rozplem komórkowy w ścianach naczyń, typ histiocytarno-limfocytarnych nacieków naczyniowych i rozplem w ich otoczeniu mikro- i makrogleju. W przypadku 383/65 dodatkowo występowały rozproszone gdzieś drobne obrąbki okołonaczyniowych nacieków limfocytarnych. Obraz ten wykazuje zasadnicze różnice w topografii i strukturze z zapaleniami opisywanymi w neuropatiach nowotworowych u ludzi (Russel 1961, Corsellis i wsp. 1968), gdzie zmiany zapalne zajmują głównie istotę szarą w okolicach limbicznych lub w rdzeniu kręgowym i wyrażone są przez mufkowate nacieki limfocytarne oraz towarzyszące im grudki mikroglejowe.

Warto zaznaczyć, że w obu wyżej wymienionych przypadkach obecne były nowotwory dolnych odcinków przewodu pokarmowego, jednak przyjęcie związku nacieków mózgowych z nowotworami byłoby zbyt pochopne, tym bardziej, że u psów i w ogóle w materiale porównawczym brak jest na ten temat danych w literaturze. U chorych z nowotworami, rzadko występują komplikacje neurologiczne nie związane z przerzutami (Brain i Henson 1958, Wilkinson i wsp. 1967). Przypuszczalnie podobna sytuacja może dotyczyć i psów, jednak potwierdzenie tego wymagałoby badań na znacznie większym materiale. Częstsze i lepiej znane w przebiegu nowotworów powikłania neurologiczne spowodowane przerzutami do mózgow są reprezentowane w badanym materiale przez przypadek 426/65, u którego przyczyną klinicznych objawów neurologicznych był przerzut raka płuc do mózgu.

Wyniki naszych badań wskazują, że w praktyce konieczne jest uwzględnienie spraw nowotworowych w badaniach neurogerontologicznych u psów ze względu na możliwość występowania przerzutów lub zmian zwyrodnieniowych, związanych z nowotworami, tak w obrazie klinicznym, jak i neuropatologicznym. O ile sprawy przerzutowe nie wymagają dodatkowego komentarza, to w stosunku do zmian zwyrodnieniowych należy podkreślić brak swoistego charakteru encefalopatii nowotworowych,

co oznacza, że np. atrofia mózdkowa przedstawia się tak samo, występując w związku z rakiem jak w przewlekłych zatruciach, czy w pierwotnym zwyrodnieniu starczym. Stwarza to szczególną trudność w interpretacji zmian i różnicowanie neuropatologiczne nie zawsze może być rozstrzygające. Ustalenie patogenezы obserwowanych uszkodzeń wymaga na pewno rozszerzonych badań, zwłaszcza dla wyjaśnienia w jakim stopniu na ostateczny obraz encefalopatii określanej mianem „paranowotworowa” ma wpływ sam guz, a w jakim stopniu zmiany te mogą być wynikiem nakładania się czynników miejscowych uwarunkowanych np. starzeniem się i czynników ogólnych, związanych z obecnością nowotworu, ale niespecyficznych, takich jak ubytki, czy zaburzenia czynnościowe narządów, lub rozpad tkanek itp.

W piśmiennictwie polskim podkreśla się ostatnio znaczenie prowadzenia badań nad nowotworami samoistnymi u zwierząt, stanowiącymi naturalny model porównawczy dla onkologii ludzkiej (Szuperski 1969). Wydaje się, że warto byłoby rozszerzyć to zagadnienie o badania nad nie wyjaśnioną istotą różnego typu zespołów paranowotworowych, które dotychczas nie były brane pod uwagę w materiale zwierzęcym. Niewątpliwie większa dowolność kierunkowania przyżyciowych badań kliniczno-laboratoryjnych u zwierząt mogłaby wzbogacić fakty znane z patologii ludzkiej o nowe dane.

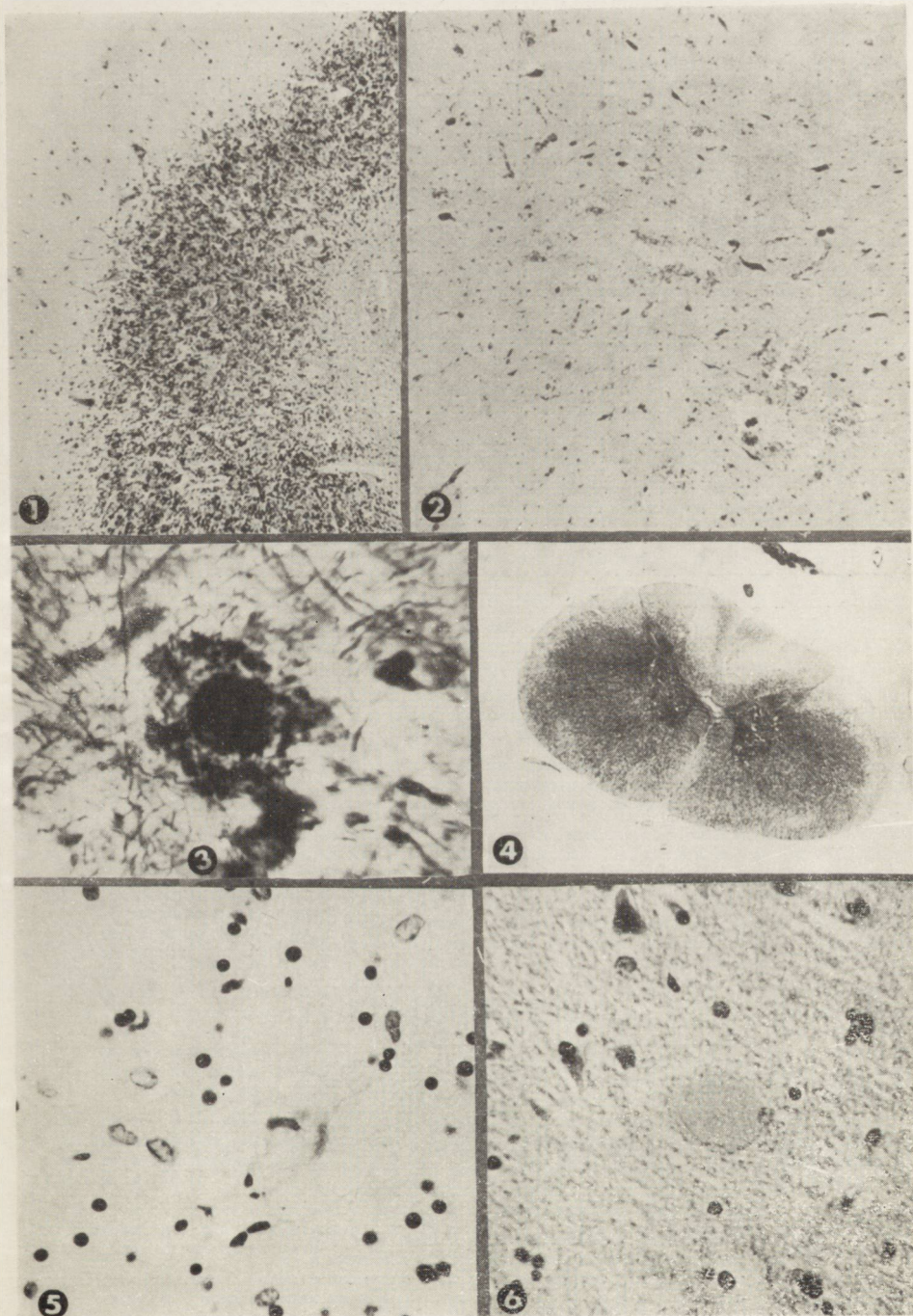
Autorzy pracy składają podziękowanie Pani dr med. Marii Dąbskiej z Zakładu Patologii Nowotworów Instytutu Onkologii w Warszawie za cenną pomoc w ustaleniu rozpoznania histopatologicznych guzów, oraz Panu Ryszardowi Szopińskiemu za wykonanie dokumentacji fotograficznej.

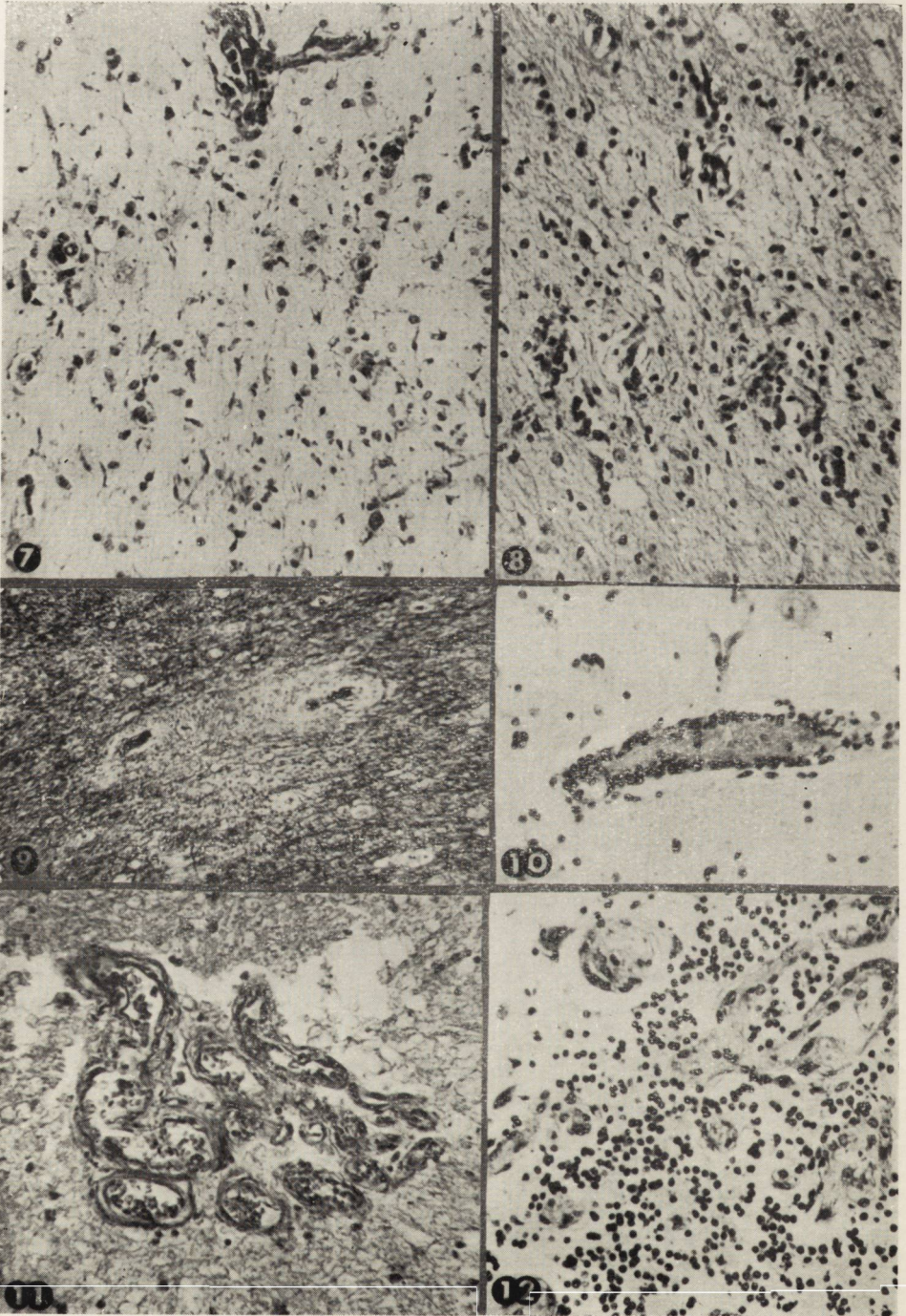
А. Тарашевска, Г. Левицка-Высоцка, Б. Ноздрын-Плотницки

НЕВРОПАТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ У ПРИСТАРЕЛЫХ СОБАК С ОПУХОЛЯМИ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ

Резюме

Исследовали мозги 8 пристарелых собак возраста 10—15 лет, у которых обнаружили при вскрытии наличие опухолей внутренних органов. В нейропатологической картине, кроме типичных изменений для пристарелого возраста, в одном случае обнаружили мозговой метостаз рака легких, и в одном случае — изменения характерные для печеночной энцефалопатии и связанные с раком печени. В остальных случаях обсуждалась возможность влияния опухолевой болезни на рост дегенеративных изменений в мозгу, особенно на уровне коры мозжечка и на уровне спинного мозга, сравнивая их с описанными в человеческой патологии параопуховевыми энцефалопатиями.





A. Taraszewska, H. Lewicka-Wysocka, B. Nozdryn-Plotnicki

NEUROPATHOLOGICAL ANALYSIS OF CHANGES IN AGED DOGS WITH
TUMOURS OF INTERNAL ORGANS

Summary

The brains of eight aged dogs (10—15 years) were examined in which section demonstrated tumours of internal organs. Beside changes typical for old age in the neuropathological picture, a brain metastase of lung cancer was found in one case, and in another changes characteristic for liver encephalopathy connected with liver cancer. In the remaining cases the possibility of the tumour disease influencing the intensity of degenerative changes in the brain, particularly at the level of cerebellar cortex and spinal cord is discussed in connection with neoplastic encephalopathies described in human pathology.

PÍSMIENNICTWO

1. Boudin G.: Les syndromes paranéoplasmiques. XXXV Congrès Français de Médecine, Paris 1965, Ed. Masson et Cie, 1965.
2. Brain R., Henson R. A.: Neurological syndromes associated with carcinoma. The carcinomatous neuromyopathies. *Lancet*, 1958, 7054, 971—974.
3. Brain W. R., Daniel P. M., Greenfield J. G.: Subacute cortical cerebellar degeneration and its relation to carcinoma. *J. Neurol. Neurosurg. Psych.*, 1958, 24, 59—75.
4. Braunmühl A.: Kongophile Angiopathie und „senile Plaques“ bei greisen Hunden. *Arch. Psych. Nervenkr.*, 1956, 194, 336—414.
5. Constantinidis J.: Indications fournies par différentes examens sériques dans l'étude des syndromes démentiels des vieillards. Recherche de corrélations entre troubles sériques et lésiones cérébrales. *Psychiat. Neurol.*, 1962, 144, 193—211.
6. Corsellis J. A. N., Goldberg G. J., Norton A. R.: „Limbic encephalitis“ and its association with carcinoma. *Brain*, 1968, 91, 481—496.
7. Graux P., Guazzi G. C., Gesquière C.: La moelle épinière du vieillard. *Rev. neurol.*, 1962, 107, 337—352.
8. Greenfield J. G.: The spino-cerebellar degenerations. Blackwell, Oxford 1954.
9. Henson R., Russel D. S., Wilkinson M.: Carcinoma neuropathy and myopathy. A clinical and pathological study. *Brain*, 1954, 77, 82—122.
10. Lewicka-Wysocka H.: Dysocjacja topograficzna i ilościowa zmian miażdżycowych i zmian starczych mózgu. *Neuropat. Pol.*, 1969, 7, 1—26.
11. Mossakowski M. J.: Patomorfologia i histochemia spontanicznych i doświadczalnych encefalopatii pochodzenia wątrobowego. *Neuropat. Pol.*, 1966, 4, 231—304.
12. Osetowska E.: Zaniki kory mózdzku w przebiegu raka narządów wewnętrznych. *Neuropat. Pol.*, 1963, 1, 91—100.
13. Osetowska E.: Zmiany morfologiczne w mózгах starczych psów. *Neuropat. Pol.*, 1966, 4, 97—110.
14. Russel D. S.: Encephalomyelitis and „carcinomatous neuropathy“. *Encephalitis. Elsevier. Amsterdam* 1961, 131—135.

15. Schenk V. W. D., Enters J. H.: Evaluation of Purkinje Cell Density. *Psychiat. Neurol. Neurochir.*, 1970, 73, 77—86.
16. Szuperski T.: Onkologia zwierząt w polskim piśmiennictwie weterynaryjnym. *Med. Wet.*, 1969, 25, 1—6.
17. Wilkinson M., Croft P. B., Urich H.: The remote effects of cancer on the nervous system. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1967, 60, 683—692.

Adres autorów: Zespół Neuropatologii CMD i K PAN, Warszawa, ul. Pasteura 3.

PODPISY POD RYCINY

Ryc. 1. Zanik komórek Purkinjego i przerzedzenie komórkowe w warstwie ziarnistej kory mózdku. Parafina. H—E. Pow. 60 ×.

Fig. 1. Atrophy of Purkinje cells and partial disappearance of cells in the granular layer of the cerebellar cortex. Paraffin. H—E. × 60.

Ryc. 2. Opustoszenia komórkowe w rogu przednim rdzenia i współistniejące drobne krwinkotoki okołonaczyniowe. Parafina. Fiolet krezyłu. Pow. 60 ×.

Fig. 2. Disappearance of cells in anterior spinal horn and concomitant small perivascular haemorrhages. Paraffin. Cresyl violet. × 60.

Ryc. 3. Klasyczna „plaka starcza” w korze mózgu. Mrozik. Met. Bielschowskiego. Pow. 60 ×.

Fig. 3. Classical „senile plaque” in cerebral cortex. Frozen section. Bielschowsky's method. × 60.

Ryc. 4. Spłowienie demielinizacyjne wybitnie nasilone w sznurach tylnych rdzenia. Parafina. Met. Heidenhaina. Pow. lupowe.

Fig. 4. Discolouration due to demyelination pronounced in posterior columns of spinal cord. Paraffin. Heidenhain's method. Magn. glass.

Ryc. 5. Zmiany komórek glejowych w postaci nagich jąder typu Alzheimer II. Parafina. Fiolet krezyłu. Pow. 400 ×.

Fig. 5. Changes in glial cells in the form of naked nuclei of the Alzheimer II type. Paraffin. Cresyl violet. × 400.

Ryc. 6. Komórka o charakterystycznym obrazie odpowiadającym komórce Opalskiego. Parafina. H—E. Pow. 400 ×.

Fig. 6. Characteristic picture corresponding to Opalski cell. Paraffin. H—E. × 400.

Ryc. 7. Plaka naciekowego rozplemu komórek glejowych i naciek histiocytarno-limfocytarny w ścianie naczynia. Parafina. Fiolet krezyłu. Pow. 200 ×.

Fig. 7. Plaque of infiltrative glial cell proliferation and histiocytic-lymphocytic infiltration in vascular wall. Paraffin. Cresyl violet. × 200.

Ryc. 8. Nacieki naczyniowe i zagęszczenie komórek glejowych ogniskowo w istocie białej. Parafina. H—E. Pow. 200 ×.

Fig. 8. Vascular infiltrations and glial cells proliferation in white matter. Paraffin. H—E. × 200.

Ryc. 9. Odpowiadająca naciekom demielinizacja istoty białej, głównie okołonaczyniowa. Parafina. Met. Heidenhaina. Pow. 100 ×.

Fig. 9. Demyelination of white matter, mainly perivascular, corresponding to infiltrations. Paraffin. Heidenhain's method. × 100.

Ryc. 10. Drobny okołonaczyniowy naciek limfocytarny bez towarzyszących odczynów glejowych. Parafina. Fiolet krezyłu. Pow. 200 ×.

Fig. 10. Small perivascular lymphocytic infiltration not associated with glial reactions. Paraffin. Cresyl violet. × 200.

Ryc. 11. Skupisko drobnych naczyń ze zmianami włóknistymi ścian, tworzących kłębek naczyniowy. Parafina. Met. van Gieson. Pow. 200 ×.

Fig. 11. Cluster of small vessels with fibrous changes in walls forming a vascular glomerulus. Paraffin. Method of van Gieson. × 200.

Ryc. 12. Rozplem komórkowy w ścianach naczyń z obliteracją światła. Parafina. Fiolet krezyłu. Pow. 200 ×.

Fig. 12. Cells proliferation in vascular walls with obliteration of lumen. Paraffin. Cresyl violet. × 200.

JÓZEF KARKOS

OBRAZ MORFOLOGICZNY PRZERZUTU RAKOWIAKA JELITA BIODROWEGO DO MÓZDŻKU

Pracownia Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego w Pruszkowie
Kierownik: doc. dr med. J. Dymecki

Rakowiak jako odrębna jednostka morfologiczna opisany został przez Lubarscha w roku 1888. Mimo to poglądy na jego histiogenezę i patomechanizm zespołu klinicznego nie są ostatecznie uzgodnione.

W wyniku przeprowadzonych dotychczas badań okazało się, że poszczególne rakowiaki w zależności od tkanki, w której się rozwijają, wykazują nie tylko różnice histologiczne i histochemiczne, ale posiadają również szczególne cechy kliniczne, biochemiczne, a także odmienny sposób reagowania na leczenie (Barclay, Robb 1968, Black 1968, Carneira i wsp. 1968, Lillie, Glenner 1960, Peart i wsp. 1963, Simpson 1969, Weiss, Ingram 1961, Williams, Sandler 1963).

Nowotwór ten budzi szczególne zainteresowanie, ponieważ wydziela substancje o określonym działaniu farmakologicznym (np. serotoninę). Wyjątkowo rzadko daje przerzuty do ośrodkowego układu nerwowego. W dostępnym piśmiennictwie znaleziono zaledwie 4 przypadki przerzutów wewnątrzczaszkowych tego nowotworu, we wszystkich przypadkach umiejscowione w przysadce mózgowej (Roberts, Sjoerdsma 1964). Poniżej podajemy opis przypadku przerzutu rakowiaka jelita biodrowego do ośrodkowego układu nerwowego.

Obraz kliniczny

Chora M. Z., lat 72, została przyjęta 9.XII.1969 do Oddziału Neurologicznego Szpitala dla Nerwowo i Psychicznie Chorych w Pruszkowie (Nr historii choroby 4875/69) z powodu występujących od 5 miesięcy bólów głowy w okolicy potylicznej, promieniujących do czoła. Ponadto u chorej występowały napadowe zawroty głowy z uczuciem wirowania. Wkrótce dołączyły się nudności i chlustające wymioty. Dwa miesiące przed przyjęciem do Szpitala chora zauważyła trudności w mówieniu. W 6 tygodni później wystąpiły silne bóle brzucha z powodu których została skierowana do oddziału chirurgicznego. Wykonane badania kontrastowe żołądka oraz woreczka żółciowego nie wykazały odchyień od normy.

Po konsultacji neurologicznej chorą skierowano do oddziału neurologicznego z podejrzeniem zespołu Barré-Liéou. Przy przyjęciu stwierdzono lewostronny zespół mózdkowy oraz dyskretny prawostronny zespół piramidowy. W czasie pobytu w oddziale dolegliwości nie ustępowały, z wyjątkiem wymiotów, które uległy złagodzeniu. Chora zmarła nagle w czasie snu 3.1.1970 r. po prawie miesięcznym pobycie na oddziale neurologicznym.

Badania dodatkowe: Eeg: zapis patologiczny w lewej okolicy środkowo-tylno-skroniowej. Rtg czaszki: objawy zaniku kostnego grzebienia siodła; zwapnienie w szyjnym łożu położone centralnie. Rtg kręgosłupa szyjnego: zmiany zwyrodnieniowe na poziomie C₅—C₆. Dno oka: bez odchyłań od normy. Pozostałe badania pomocnicze w normie.

Rozpoznanie kliniczne: podejrzenie guza tylnej jamy czaszki, uogólnione stwardnienie tętnic, zwyrodnienie mięśnia sercowego.

Na sekcji ogólnej (dr J. Winowski) w obrębie jelita biodrowego, w odległości 15 cm przed zastawką Bauhina stwierdzono śródścienny guz o średnicy 30 mm, barwy białawo-kremowej, o jednolitej spoiwości, pokryty niezmienną błoną śluzową. W węzłach chłonnych wnęki wątrobowej oraz w prawym płacie wątroby obecne były rozległe, białawo-żółtawe ogniska przerzutowe. Poza tym stwierdzono uogólniony proces miażdżycowy, zatory małych rozgałęzień tętnicy płucnej i prawostronne zapalenie odoskrzelowe płuc. Badaniem mikroskopowym rozpoznano rakowiaka. Reakcji histochemicznych na materiale z narządów wewnętrznych nie badano.

Na sekcji mózgu nie stwierdzono zmian w obrębie półkul. W prawej półkuli mózdku znaleziono ognisko kształtu owalnego, o średnicy 2,5 × 2 cm, szarawo-kremowe, spoiwości kruchej, o delikatnej budowie zrazikowej, dobrze odgraniczone od otoczenia (ryc. 1). Ognisko to obejmowało płacik prosty, płacik półksiężycowaty górny i płacik półksiężycowaty dolny. Migdałki mózdku uwypuklone przylegały szczelnie do opuszki. Widoczne były również pojedyncze blaszki miażdżycowe w tętnicach podstawy mózgu.

Po wykonaniu sekcji ogólnej mózgowie zostało w całości utrwalone w 10% formalinie, a następnie sekcjonowane po upływie 6 tygodni. Barwienie histologiczne i reakcje histochemiczne wykonano na skrawkach z materiału zatopionego w parafinie oraz na skrawkach mrożonych, po upływie 5 miesięcy od sekcji mózgu. Barwienie histologiczne: hematoksylina-eozyna, met. van Gieson i mucykarmin Meyera. W celu wykrycia tłuszczów zastosowano Sudan czarny B oraz Oil Red O.

Badania histochemiczne oraz ich wyniki przedstawia tabela 1.

Fluorescencję komórek guza uzyskano ze skrawków utrwalonych w formalinie, przy pomocy mikroskopu „Standard” Reicherta (lampa HBO 200, filtr żarówkowy UG-1, filtr okularowy GG-9).

Obraz neuropatologiczny

Utkanie guza składało się głównie z gniazd komórkowych o kształcie owalnym lub okrągłym oraz zbitych układów pasm i sznurów komórkowych. Granice poszczególnych komórek w barwieniu hematoksylina-eozyna były niewidoczne, nieco wyraźniej zaznaczały się w barwieniu met. van Gieson. Cytoplazma komórek była skąpa, ziarnista. Jądra komórkowe na ogół duże, okrągłe lub owalne, położone z reguły centralnie zawierały niewielką ilość chromatyny. Figury podziałowe występowały dość często. Obserwowano również pojedyncze komórki z dwoma jądrami. Poza opisanymi gniazdami komórkowymi widoczne były także skupiska komór-

rek wykazujące w środku znaczne rozluźnienie układu, z większym zagęszczeniem komórek na obwodzie. Komórki takie wydłużały się, przypominając formy cylindryczne, a jądra ich umiejscowione były bardziej przy podstawie. Układy te przypominały struktury gruczołowe i rozetowate (ryc. 2).

Tabela 1. Reakcje histochemiczne i ich wyniki
Table 1. Histochemical reactions and their results.

Rodzaj reakcji Reaction type	Metoda Method	Wynik Result
I. Reakcje redukcyjne Reductive reaction		
A — srebrowe — silver		
a — argyrofilne — argyrophilic	Schultze	—
	Bieschowsky	—
b — argentafinowe — argentophinic	Masson-Fontana	—
B — redukcja żelazicyjanku żelaza — ferrocyanide reduction	Schmorl	+
II. Reakcje dwuazowe • Diazo reactions	Lisson-Gomori (Fast Red B) Pearse (Fast Garnet GBC)	— —
III. Reakcja PAS — PAS Reaction	Pearse	+
IV. Reakcja z rozcieńczoną hematoksyliną Clara Reaction with diluted Clara's hematoxyline	Lillie	—

W niektórych obszarach guz wykazywał zmiany wsteczne i nacieki zapalne. Występowały one pod postacią ognisk martwicy i obrzęku, którym towarzyszył zazwyczaj skąpy nacisk drobnookrągłokomórkowy.

Udział tkanki łącznej w utkaniu guza był niewielki. Włókna, klejodajne i srebrochłonne występowały pod postacią delikatnych pęczków i siateczki, niekiedy znacznie zagęszczonej, oplatającej większe skupiska komórek nowotworowych. Znaczny rozrost tkanki łącznej obserwowano na pograniczu guza. W tkance tej występowały obficie naczynia krwionośne, których ściana nie wykazywała zróżnicowania na poszczególne warstwy. Guz był skąpo unaczyniony. W tkance nerwowej, w sąsiedztwie nowotworu nie stwierdzono zmian.

W barwieniu mucykarminem wykazano obecność śluzu w cytoplazmie komórek nowotworowych. Występował on w niewielkiej ilości, w sposób rozproszony. Badania na obecność tłuszczów dały wyniki ujemne.

W cytoplazmie komórek guza stwierdzono obecność substancji fluoryzującej, której widmo emisyjne odpowiadało serotoninie. Fluorescencja występowała w niektórych częściach guza ze szczególnym nasileniem (ryc. 3).

Zestawienie uzyskanych wyników barwień histologicznych oraz reakcji histochemicznych w porównaniu z wynikami innych autorów, uzyskanych w badaniach nad rakowiakami o różnym umiejscowieniu przedstawia tabela 2.

Tabela 2. Porównanie wyników uzyskanych z piśmiennictwa z wynikami własnymi
 Table 2. Comparison of data from the literature with our own results.

Autor Author	Umiejscowienie guza Localisation of tumour	Metody — Methods						
		F	R	A	S	H-C	M	PAS
Horn 1949	<i>cecum + colon ascendens colon transv. rectum valv. Bauhini</i>		+—				+—	
Lillie, Glenner 1960	<i>appendix div. Meckeli intest. tenue ileum + cecum cecum</i>		+— + +— + —	+— + +— — —	+— + +— + —	+— + +— + +		—
Weiss, Ingram 1961	<i>bronchus</i>		+—	+				
Peart i wsp. 1963	<i>pancreas</i>	+	+					
Foley, Davis 1965	hodowla tkankowa z przerzutu guza — tissue culture of tumour metastasis		+—					
Black 1968	<i>appendix gaster iejunum ileum rectum</i>		+ + +— + +	—				
Doležel i wsp. 1969	<i>Intestinum tenue</i>	+	+	—				
Hernandez, Reid 1969	<i>appendix colon gaster</i>		+ — —				+	
Własny przypadek Own case	przerzut do mózdzku metastasis to cerebellum	+	+	—	—	—	+	+

Legenda: F — fluorescencja w ultrafiolecie
 Legend: fluorescence in UV
 R — reakcje redukcyjne
 reductive reactions
 A — reakcje dwuazowe
 diazo reactions
 S — Sudany — Sudans
 H-C — rozcieńczona hematoksylina Clara
 diluted Clara's hematoxyline
 M — mucykarmin Meyera
 Meyer mucicarmine

Wyniki:
 Results:
 + dodatni
 positive
 — ujemny
 negative
 +— dodatni i ujemny
 positive and negative

OMÓWIENIE

Przerzut rakowiaka jelita biodrowego do mózdzku w naszym przypadku wykazuje cały szereg charakterystycznych cech morfologicznych, a mianowicie:

1) W ognisku przerzutowym widoczne są, poza zbitymi gniazdami komórek o niewyraźnych granicach cytoplazmy, także komórki o kształcie cylindrycznym, wykazujące tendencję do tworzenia form gruczołowatych lub rozetowatych. Tego typu utkanie występuje szczególnie często w rakowiakach o innym umiejscowieniu, np. w rakowiakach oskrzela i jelita grubego (Barclay, Robb 1968, Lillie, Glenner 1960, Weiss, Ingram 1961). Rakowiaki te cechuje czynność śluzowydzielnicza, która została uwidoczniiona także w naszym przypadku.

2) Cechą charakterystyczną przedstawionego przypadku jest również brak właściwości redukcyjnych ziarnistości cytoplazmatycznych i to zarówno w reakcjach argyrofilnych, jak i argentafinowych, a także brak zdolności tworzenia połączeń dwuzawowych. Ponieważ guz pierwotny rozwinął się w obrębie jelita biodrowego, a rakowiaki o tym umiejscowieniu cechuje najwyższy stopień występowania reakcji redukcyjnych i dwufazowych (Barclay, Robb 1968, Lillie, Glenner 1960) należy przyjąć, że ujemny wynik tych reakcji w przerzucie nowotworu związany jest ze szczególnymi cechami podłoża, na którym rakowiak się rozwijał, a które w naszym przypadku stanowiła tkanka nerwowa mózdzku. Ujemny wynik powyższych reakcji może być częściowo związany również z długim okresem utrwalania tkanki w formalinie (5 miesięcy).

3) Wzrostowi tkanki nowotworowej towarzyszy odczyn ze strony tkanki łącznej, która wyraźnie odgranicza nowotwór od tkanki nerwowej. Być może jest to przyczyną braku zmian morfologicznych w tkance nerwowej mózdzku, sąsiadującej z tkanką guza. Pobudzenie tkanki łącznej do rozrostu w rakowiakach o innym umiejscowieniu jest zjawiskiem często opisywanym (Peart i wsp. 1963, Simpson 1969 i inni).

4) W tkance nowotworowej stwierdzono autofluorescencję serotoniny, co wobec ujemnej reakcji argentafinowej przemawia za brakiem bliższego związku między ziarnistościami argentafinowymi komórek rakowiaka, a wydzielaniem przez nie serotoniny. Zależność ta jest przez niektórych autorów szczególnie podkreślana (Black 1968), chociaż spotkać można również stanowisko zgodne z wynikiem naszych badań (Hernandez, Reid 1961).

Przedstawiony przypadek jest również interesujący z punktu widzenia klinicznego. Okazuje się bowiem, że objawami dominującymi w obrazie klinicznym przerzutu rakowiaka do ośrodkowego układu nerwowego są objawy ogniskowe, a nie objawy charakterystyczne dla zespołu

rakowiaka, które nawet gdy występują, mogą ująć uwagę na skutek zamaskowania przez znacznie nasilone objawy neurologiczne. Wczesne rozpoznanie tego typu nowotworu ma istotne znaczenie dla klinicysty ze względu na możliwość zastosowania odpowiedniego leczenia farmakologicznego (Simpson 1969).

Ю. Каркос

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА МЕТАСТАЗА ОРОГОВЕВШЕГО РАКА
ПОДВЗДОШНОЙ КИШКИ В МОЗЖЕЧОК

Резюме

Автор представил случай метастаза ороговевающего рака в центральную нервную систему.

У больной 72 лет, у которой был установлен клинически диагноз мозжечкового симптома анатомопатологическим исследованием был установлен ороговевающий рак подвздошной кишки а также метастазы этой опухоли в печень и в правое полушарие мозжечка. Микроскопически метастаз в мозжечок характеризовался тенденцией дифференциации строения опухоли в направлении железевидных и розетовидных форм, а клетки принимали цилиндрическую форму. Цитоплазматические зернистости клеток опухоли обнаруживали положительную реакцию Шморля и ПАС. Клетки опухоли также обнаруживали автофлуоресценцию соответствующую эмиссионному спектру серотонина.

На периферии опухолевого строения обнаруживалась гиперплазия соединительной ткани, обильно васкуляризированной. Морфологические изменения в районе опухоли не обнаруживались.

J. Karkos

A MORPHOLOGIC PICTURE OF THE ILIAC INTESTINE CARCINOID
METASTASIS TO THE CEREBELLUM

Summary

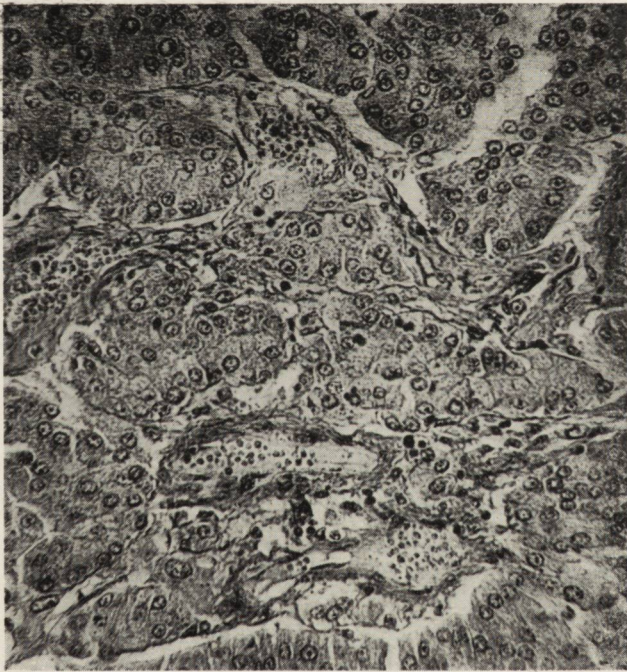
The author reported the case of a carcinoid metastasis to the central nervous system.

An anatomicopathologic examination of case concerning patient (a 72 years old woman) with clinically diagnosed cerebellar syndrom revealed an iliac intestine carcinoid and its metastases to the liver and to the right hemisphere of the cerebellum. Microscopically, the metastasis to cerebellum was characterized by a tendency of the neoplastic structure to create of glandular and rosette-like forms, whereby the cells assumed a cylindric shape. Cytoplasmic granulations of the neoplastic cells exhibited positive Schmorl- and PAS reactions. The tumour cells exhibited autofluorescence corresponding to the emission spectrum of serotonin. Proliferation of the richly vascularized connective tissue occurred on the circumference of the neoplastic texture. No morphologic changes were noticed in the neighbour hood of the tumour.



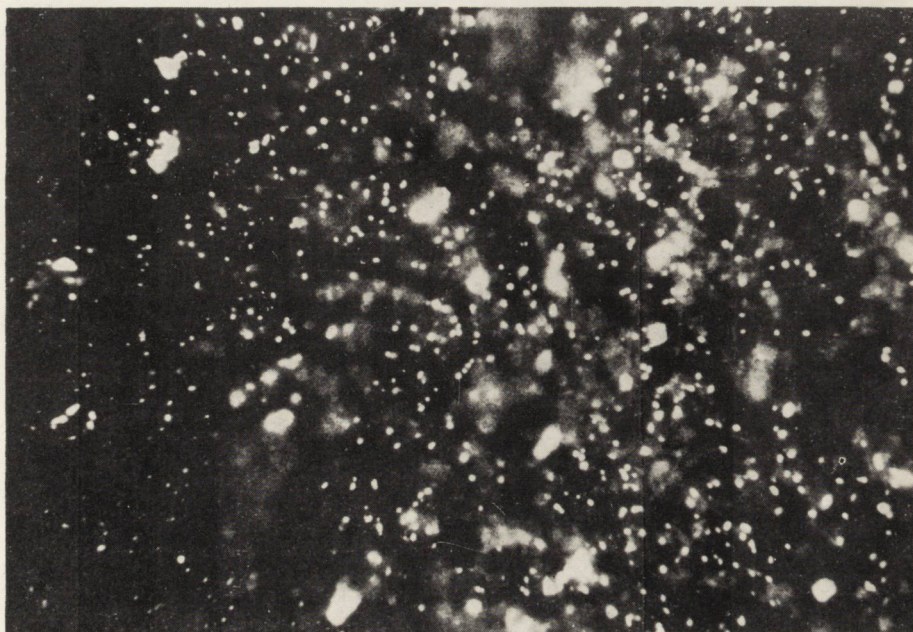
Ryc. 1. Prawą półkulę mózdzku, widoczne dobrze ograniczone ognisko nowotworowe, o zaznaczonej budowie zrazikowej.

Fig. 1 A well restricted neoplastic focus with a marked lobular structure is seen in the right hemisphere of the cerebellum.



Ryc. 2. Utkanie nowotworu wykazuje tendencję do różnicowania się w kierunku form gruczołowatych. Komórki przybierają kształt cylindryczny, a jądra położone są przeważnie przy podstawie. Met. van Gieson. Pow. 200 \times .

Fig. 2. The texture of the neoplasm exhibits a tendency to create glandular forms. The cells assume a cylindrical form and the nuclei are in most cases situated near the base. $\times 200$.



Ryc. 3. Autofluorescencja serotoniny w komórkach nowotworu. Pow. 200 \times .
Fig. 3. Autofluorescence of serotonin in neoplastic cells. \times 200.

PIŚMIENNICTWO

1. Barclay G. P. T., Robb W. A. T.: A clinicopathologic study of carcinoid tumors. *Surg. Gynecol. Obst.*, 1968, 126, 483—496.
2. Black W. C.: Enterochromaffin cell types and corresponding carcinoid tumors. *Lab. Invest.*, 1968, 19, 473—486.
3. Carvalheira A. F., Welsch U., Pearse A. G. E.: Cytochemical and ultrastructural observations on the argentaffin and argyrophil cells in the gastro-intestinal tract in mammals, and their place in the APUD series of polypeptide — secreting cells. *Histochemie*, 1968, 14, 33—46.
4. Doležel S., Filkuka J., Tomášek V., Vlašín Z.: Histochemical demonstration of 5-hydroxytryptamine in a malignant carcinoid of the small intestine. *Neoplasma*, 1969, 16, 209—214.
5. Foley J. F., Davis R. B.: Growth of carcinoid tumors in tissue culture. *Nature*, 1965, 205, 785—786.
6. Hernandez F. J., Reid J. D.: Mixed carcinoid and mucus — secreting intestinal tumors. *Arch. Path.*, 1969, 88, 489—496.
7. Horn R. C.: Carcinoid tumors of the colon and rectum. *Cancer*, 1949, 2, 819—837.
8. Lillie R. D., Glenner G. G.: Histochemical reactions in carcinoid tumors of the human gastrointestinal tract. *Am. J. Path.*, 1960, 36, 623—652.
9. Lillie R. D.: *Histopathologic technic and practical histochemistry*. The Blakiston Co., New York 1954.
10. Pearse A. G. E.: *Histochemistry: Theoretical and applied*. Little, Brown and Co., Boston 1960.
11. Feart W. S., Porter K. A., Robertson J. I. S., Sandler M., Baldock E.: Carcinoid syndrome due to pancreatic — duct neoplasm secreting 5-hydroxytryptophan and 5-hydroxytryptamine. *Lancet*, 1963, 1, 239—242.
12. Roberts W. C., Sjoerdsma A.: The cardiac disease associated with the carcinoid syndrome (Carcinoid Heart Disease). *Am. J. Med.*, 1964, 36, 5—34.
13. Simpson A. J.: The carcinoid tumor syndrome and spectrum. *North Carolina Med. J.*, 1969, 30, 399—414 i 452—457.
14. Weiss L., Ingram M.: Adenomatoid bronchial tumors. *Cancer*, 1961, 14, 161—178.
15. Williams E. D., Sandler M.: The classification of carcinoid tumours. *Lancet*, 1963, 1, 238—239.

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

KRYSTYNA DOMAŃSKA-JANIK, BARBARA BRONISZEWSKA-ARDELT

EFFECT OF POTASSIUM ON GLUCOSE METABOLISM OF GUINEA PIG AND RAT BRAIN SLICES *IN VITRO*

Department of Neurochemie, Experimental nad Clinical Medical Research Centre
Head of Department: dr. biol. sci. A. Gromek

The regional differences in the sensitivity of various regions of the central nervous system to the anoxic conditions has been well known from both human pathological observations and experimental data. However, the factors underlying these topographic sensitivity differences remain till now unclear in many essential points. It has been suggested that they are determined by angioarchitecture factors (Spielmayer 1922), as well as by the specific physico-chemical or metabolic properties of particular structural units of the central nervous system (Geiger 1958, Friede, Arbor 1962, Dixon 1965).

Glucose metabolism is the only physiological source of energy for the brain (Sokoloff 1960), although *in vitro* other compounds also may serve as respiratory substrates for this tissue. It is a specific property of the metabolism of excitable tissues that they utilize a large proportion of energy to produce and maintain electric potentials and gradients of ion concentration across their cell membranes (Baker et al. 1962, Hillman 1961, Li, Mc Ilwain 1957).

This energy stored in the high-energy P bonds and directly utilized during the excitation of nerve cells, is generated during glycolysis and respiration in the Krebs cycle. The effect of potassium ions on respiration and glycolysis was described for the first time in 1935, by Ashford, and Dickens. Chemical and electrical excitation of nervous tissue resemble one another in the mechanism they involve, both leading to changes in the polarity of neuron cell membranes and affecting secondarily the energy metabolism of cells, which may be observed as a specific response of metabolism to a stimulus (Mc Ilwain 1963). It involves the triggering of processes leading to the generation of chemical energy for the process of repolarization.

The purpose of the present work was to characterize the basic glucose metabolism in various anatomical parts of the brain. By using two different potassium concentrations in experiments with brains of rats and guinea pigs an attempt was made to establish the metabolic exponent of nerve excitation and its topographic differences.

MATERIAL AND METHODS

Three-month-old rats and six-month-old guinea pigs were decapitated and their brains were removed, put into a vessel kept on ice, washed with cold physiological saline, and divided into five anatomical parts: cerebral hemisphere (only the cortex was used), diencephalon, midbrain, brain stem*, and cerebellum.

Free-hand sections were prepared and suitable quantities were put into an incubation vessel.

Determination of respiration

Oxygen uptake was determined by Warburg's manometric method (Umbreit et al. 1957).

The material was incubated for 1/2 hour at 37°C with continuous shaking. Krebs-Ringer fluid buffered with Tris (0.32 M of pH 7.4) and with two different potassium ion concentrations (6 mM and 98 mM) was used as the incubation medium. Before the oxygen uptake determination, the material was preincubated in Krebs-Ringer's solution with 6 mM of potassium. For measurement of respiration in the presence of glucose oxygen uptake was determined in this medium, and then 1.9 M KCl was added from a side limb of the vessel to bring the potassium concentration to 98 mM and then oxygen uptake was measured over the next 30 minutes. Endogenous respiration was measured simultaneously in the two potassium ion concentrations (6 mM and 98 mM) over 30 minutes. Each vessel contained about 100 mg of wet tissue. Oxygen uptake was recorded in $\mu\text{l O}_2$ per 1 mg of wet tissue per hour.

Determinations of glycolysis

The material, in portions of about 100 mg, was incubated in Warburg vessels at 37°C for two hours with continuous shaking. Krebs-Ringers solution with potassium ions in concentrations of 2.5 mM and 98 mM (pH 7.4) was used as the incubation medium.

Glycolytic activity under aerobic and anaerobic conditions was determined from the amount of lactic acid produced. The latter was determined with the use of lactic dehydrogenase by the method of Horn and Bruns (1956). Absorbance was measured in a Hilger spectrophotometer at 340 m μ .

Air was the gaseous phase in aerobic glycolysis. In anaerobic glycolysis measurements the vessels were filled with technical nitrogen, purified according to the method of Umbreit et al. (1957).

* Blocks of the brain stem contained both pons and medulla.

Table 1. Glycolysis in the guinea pig brain slices in the two potassium ion concentrations (μ moles of lactic ac./2h/100 mg wet tissue)

Tabela 1. Glikoliza w skrawkach mózgu świnki morskiej w dwu stężeniach jonów potasowych (μ mole kwasu mlekowego/2 godz./100 mg mokrej tkanki)

Parts of the brain	Aerobic glycolysis		Anaerobic glycolysis		% of the Pasteur effect
	K ⁺ conc-2.5 mM	K ⁺ conc-98 mM	K ⁺ conc-2.5 mM	K ⁺ conc-98 mM	K ⁺ conc 2.5 mM
Cerebral cortex	6.50±1.54 (5)*	11.00±2.7 (3)	11.00±1.60 (5)	6.35±1.51 (4)	69.0
Cerebellum	5.05±1.47 (5)	8.13±0.88 (5)	10.60±3.10 (5)	5.10±2.90 (4)	110.0
Diencephalon	7.70±0.26 (3)	6.65±1.04 (7)	13.10±2.26 (5)	8.15±1.68 (4)	70.0
Midbrain	7.15±1.68 (5)	7.30±0.75 (6)	12.20±3.40 (5)	6.32±1.51 (4)	70.5
Brain stem	5.75±1.87 (4)	5.11±0.64 (6)	6.40±2.81 (4)	4.16±0.32 (4)	11.2

*) The results are given as a mean \pm SD; in parantheses — number of experiments.

*) Wyniki przedstawiono w postaci średnich \pm odchylenie standardowe; w nawiasach liczba doświadczeń.

Table 2. Glycolysis in the rat brain slices in the two potassium ion concentrations (μ moles of lactic ac. /2h/100 mg wet tissue)

Tabela 2. Glikoliza w skrawkach mózgu szczura w dwu stężeniach jonów potasowych (μ mole kwasu mlekowego /2 godz./100 mg mokrej tkanki)

Parts of the brain	Aerobic glycolysis		Anaerobic glycolysis		% of the Pasteur effect
	K ⁺ conc-2.5 mM	K ⁺ conc-98 mM	K ⁺ conc-2.5 mM	K ⁺ conc-98 mM	K ⁺ conc-2.5 mM
Cerebral cortex	6.90±1.78 (5)*	9.75±1.17 (3)	11.70±2.24 (5)	4.95±1.56 (3)	69.5
Cerebellum	6.23±0.80 (5)	11.00±2.86 (3)	8.10±1.36 (5)	3.25±0.75 (3)	30.0
Diencephalon	7.14±1.65 (5)	9.25±1.66 (3)	14.22±1.93 (5)	6.75±2.00 (3)	99.5
Midbrain	5.60±1.55 (5)	6.15±1.95 (3)	8.80±1.85 (5)	4.76±2.20 (3)	57.0
Brain stem	3.80±0.28 (5)	3.66±2.14 (3)	4.16±1.16 (5)	2.00±1.98 (3)	9.5

*) The results are expressed as a mean \pm SD; in parantheses — number of experiments.

*) Wyniki przedstawiono w postaci średnich \pm odchylenie standardowe; w nawiasach — liczba doświadczeń.

RESULTS

Table 1 shows that at the lower concentration of potassium ions there were no significant differences between the various parts of guinea pig brain in the amount of lactic acid produced under aerobic conditions. The higher ion concentration stimulated glycolysis in the brain cortex and cerebellum sections but had no major effect on the diencephalon, mesencephalon and brain stem. Under anaerobic conditions, glycolysis (in the presence of potassium ions 2.5 mM) increased conspicuously in the cortex, diencephalon, midbrain and cerebellum sections, with the Pasteur effect averaging 70 per cent against only 11 per cent for the brain stem. The higher potassium ion concentration inhibited glycolysis under anaerobic conditions and completely suppressed the Pasteur effect for all parts of the brain.

Table 2 shows the production of lactic acid during incubation of rat brain sections in experiments run with the same two concentrations of potassium ions also under aerobic and anaerobic conditions. There were significant differences in glycolytic activity between the different parts of brain, although under aerobic conditions glycolysis by brain stem sections seemed to be lower than that by the other parts of the brain with both potassium ion concentrations.

Potassium ions 98 mM stimulated glycolysis most effectively under aerobic conditions in cortex and cerebellum sections. As in the case of guinea pig brain tissue, there was a high Pasteur effect for all brain parts except the brain stem (with potassium ions concentration of 2.5 mM). The higher concentrations inhibited glycolysis under anaerobic conditions and completely suppressed the Pasteur effect.

Table 3. Respiration of the guinea pig brain slices in the two concentrations of potassium in the presence and absence of glucose ($\mu\text{l O}_2/\text{h}/\text{mg}$ wet tissue)
Tabela 3. Oddychanie skrawków mózgu świnki morskiej w dwu stężeniach potasu w obecności i pod nieobecność glukozy ($\mu\text{l O}_2/\text{godz.}/\text{mg}$ mokrej tkanki)

Parts of the brain	Exogenic respiration (10 mM Gluc.)		Endogenic respiration	
	K ⁺ conc- -6 mM*)	K ⁺ conc- -98 mM*)	K ⁺ conc- -6 mM*)	K ⁺ conc- -98 mM*)
Cerebral cortex	0.87±0.05 (8)	1.33±0.08 (8)	0.73±0.14 (8)	0.76±0.12 (8)
Cerebellum	0.89±0.03 (8)	1.26±0.07 (8)	0.67±0.15 (8)	0.69±0.07 (8)
Midbrain	0.90±0.03 (8)	0.94±0.06 (8)	0.59±0.05 (6)	0.62±0.04 (6)
Brain stem	0.72±0.04 (8)	0.59±0.03 (8)	0.48±0.08 (6)	0.42±0.09 (6)

*) The results are given as a mean ± SD; in parantheses — number of experiments.

*) Wyniki przedstawiono w postaci średnich ± odchylenie standardowe; w nawiasach — liczba doświadczeń.

Table 4. Respiration of the rat brain slices in the two concentrations of potassium in the presence and absence of glucose ($\mu\text{l O}_2/\text{h}/\text{mg}$ wet tissue).

Tabela 4. Oddychanie skrawków mózgu szczura w dwu stężeniach potasu w obecności i nieobecności glukozy ($\mu\text{l O}_2/\text{godz.}/\text{mg}$ mokrej tkanki).

Parts of the brain	Exogenic respiration (10 mM Gluc.)		Endogenic respiration	
	K ⁺ conc- -6 mM*)	K ⁺ conc- -98 mM*)	K ⁺ conc- -6 mM*)	K ⁺ conc- -98 mM*)
Cerebral cortex	1.26 ± 0.12 (10)	1.69 ± 0.17 (10)	1.18 ± 0.08 (5)	1.11 ± 0.11 (5)
Cerebellum.	1.12 ± 0.11 (6)	1.47 ± 0.06 (6)	0.95 ± 0.07 (5)	0.85 ± 0.09 (5)
Midbrain	1.11 ± 0.13 (6)	1.26 ± 0.11 (6)	0.93 ± 0.10 (5)	0.91 ± 0.09 (5)
Brain stem	0.74 ± 0.11 (6)	0.76 ± 0.09 (6)	0.75 ± 0.06 (5)	0.71 ± 0.07 (5)

*) The results are given as a mean ± SD; in parentheses — number of experiments.

*) Wyniki przedstawiono w postaci średnich ± odchylenie standardowe; w nawiasach — liczba doświadczeń.

Higher concentration of potassium ions stimulated respiration of rat and guinea pig brain sections only when exogenous glucose was present (Tables 3, 4). The stimulation was most pronounced in the tissue of the cerebral cortex (rat 34%, guinea pig 53%) and cerebellum (rat 31%, guinea pig 41%). Stimulation was insignificant in the midbrain and totally absent in the brain stem of rats, while in the case of guinea pigs even a slight decrease of oxygen uptake in the brain stem was observed.

When exogenous glucose was absent, respiration was slightly less intensive (no Crabtree effect) and was not stimulated by the higher potassium ion concentration.

DISCUSSION

Studies of the basic glucose metabolism in the presence of two different concentrations of potassium ions, which have distinct and specific effects on the metabolism of nerve tissue owing to their modifying influence on the polarization of the membranes of excitable cells, made it possible observe certain differences between various parts of the brain. Higher concentrations of potassium (98 mM) stimulated aerobic glucose metabolism exclusively in structures containing a high proportion of cellular neuronal elements, i.e., in the cerebral cortex and cerebellum. Total absence of the metabolic effect of potassium ions in the brain stem may suggest that it depends mostly on the presence of neuronal pericaria, but does not involve either the nerve fibres or synapses directly. The typical response of the sensitive elements of the nerve tissue to an increase in

the potassium ion concentration consists in intensified respiration and aerobic glycolysis (in our experiments by some 50 per cent) and suppression of the Pasteur effect, which is high under hypokalemic conditions.

As reported in the literature, the Crabtree effect does not occur in the tissue of the central nervous system. During endogenous respiration in the conditions of high potassium ion concentration, their stimulating effect, typical for exogenous respiration, is absent; respiration is even slightly depressed as compared with controls in low potassium concentration (6 mM K^+). This is readily understood, concerning the fact that glucose is, for the nerve tissue, the principal respiratory substrate and the main source of energy for the processes connected with the excitability of nerve cells. Ames and Gurian (1963) demonstrated that there is an abrupt loss of electrical activity in the excitable tissue when glucose is absent. Since intensified aerobic metabolism due to an increase of potassium ion concentration in the external milieu is the specific reactions of a depolarized nerve cell, the absence of such a reaction would be equivalent to a loss of excitability. It should be emphasized that according to modern views the loss of excitability either in hypoglycemic or hypoxic conditions need not necessarily be a direct result of exhaustion of the energy sources of the cells concerned (Geiger 1958). On the contrary, some studies, chiefly those concerning the reversibility of these changes, seem to indicate more direct connections between the loss of excitability under these conditions, and structural changes of the excitable membrane of nerve cells (Swanson 1969, Li, McIlwain et al. 1957, Davrainville, Gayet 1965).

The metabolic effect of changing potassium ion concentrations in the medium surrounding nerve cells might also come into play *in vivo*. Data recorded in the literature (Li, McIlwain 1957) suggest that in some physiological or pathological conditions the local concentration of potassium ions in the neighbourhood of active neurons attains such a level at which the resting potentials of neurons are considerably lowered or suppressed. The metabolic effect of potassium ions should be expected to appear in addition to their direct excitability-increasing influence on nerve cells. In keeping with the fact that metabolic reaction of nerve tissue rises in high potassium concentration in the medium under normal oxygen supply (as it has been described above) energy generation is increased by aerobic metabolism.

But if the oxygen supply is perturbed, there appears an evident inhibition of anaerobic glycolysis by potassium ions, and this upsets the only energy-generating process that would otherwise be possible under these conditions. This may be the mechanism directly responsible for the se-

lective injury to the neuronal elements, and the relation between the severity of lesions and the activity of neurons at the moment of action of the noxious stimulus.

The authors wish to acknowledge the help of technical assistants Mrs T. Czechmańska and Mrs O. Lenkiewicz.

K. Domańska-Janik, B. Broniszewska-Ardelt

WPLYW POTASU NA METABOLIZM GLUKOZY W MÓZGU SZCZURA I ŚWINKI MORSKIEJ W WARUNKACH IN VITRO

Streszczenie

Przebadano wpływ jonów potasu na oddychanie i aktywność glikolityczną skrawków tkankowych z pięciu różnych okolic mózgu: kory, mózdzku, między i śródmózgowia oraz opuszki.

Oddychanie skrawków mierzono manometryczną metodą Warburga, natomiast aktywność glikolityczną oceniano przez oznaczanie metodą enzymatyczną poziomu wytworzonego kwasu mlekowego.

Wykazano, że typowy dla tkanki nerwowej wpływ jonów potasu stymulujący aktywność glikolityczną w warunkach tlenowych oraz oddychanie występuje głównie w strukturach bogatych w elementy neuronalne w korze i mózdzku. W śródmózgowiu działanie jego jest nieznaczące, a w opuszce brak go zupełnie.

Wysokie stężenia jonów potasu znoszą występujący wyraźnie we wszystkich częściach mózgu (poza opuszką) efekt Pasteura, a produkcja kwasu mlekowego w warunkach beztlenowych jest niższa niż w warunkach tlenowych.

К. Доманьска-Яник, Б. Бронижевска-Ардельт

ВЛИЯНИЕ КАЛИЯ НА МЕТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ МОЗГОВЫХ СРЕЗОВ МОРСКИХ СВИНОК И КРЫС ИН ВИТРО

Резюме

Исследовалось влияние ионов калия на дыхание и гликолитическую активность тканевых срезов из 5 разных районов мозга: коры, мозжечка, промежуточного мозга, среднего мозга и продолговатого мозга.

Дыхание срезов определялось манометрическим методом Варбурга, а гликолитическая активность оценивалась при помощи энзиматического метода определением уровня образованной молочной кислоты.

Обнаружено, что типический для нервной ткани эффект ионов калия, стимулирующий гликолитическую активность в кислородных условиях и дыхание, имеет место главным образом в структурах богатых нейрональными элементами — в коре и мозжечке. В среднем мозге этот эффект незначителен, а в продолговатом мозге — полностью отсутствует.

Высокая концентрация ионов калия снимает выступающий во всех частях мозга (кроме продолговатого мозга) отчетливый эффект Пастера и образование молочной кислоты в анаэробных условиях является более низкой, чем в аэробных условиях.

REFERENCES

1. Ames A., Gurian B. S.: Effects of glucose and oxygen deprivation on function of isolated mammalian retina. *J. Neurophysiol.*, 1963, 26, 617—634.
2. Ashford C. A., Dixon K. C.: The effect of potassium on the glycolysis of brain tissue with reference to the Pasteur effect. *Biochem. J.*, 1935, 29, 157.
3. Baker P. F., Hodgkin A. L., Shaw T. I.: The effects of changes in internal ionic concentrations on the electrical properties of perfused giant axon. *J. Physiol.*, 1962, 355—360.
4. Davrainville J. L., Gayet J.: Effect of two blood plasma protein fractions on respiratory activity and cationic distribution of brain cortex slices „in vitro”. *J. Neurochem.*, 1965, 12, 771—782.
5. Dean R. B., Dixon W. J.: Simplified Statistics for Small Numbers of Observations. *Analytical Chemistry*, 1951, 23, 636—638.
6. Dickens F., Greville C. D.: The metabolism of normal and tumor tissues. XIII. Neutral salt effects. *Biochem. J.*, 1935, 29, 1468.
7. Dixon K. C.: Ischaemia and the neurone. In: *Neurochemistry*, Ed. C. W. Adams, Elsevier, 1965, 558—598.
8. Friede R. L., Arbor A.: Chemoarchitecture and Neuropathology. In: *Histochemistry and Biochemistry of the Diseases of the Central and Peripheral Nervous System*. Ed.: G. Thieme, Stuttgart 1962, 70—75.
9. Geiger A.: Correlation of brain metabolism and function by use of a brain perfusion method *in situ*. *Physiol. Rev.* 1958, 38, 1—20.
10. Hillman H. H.: Membrane potentials an guinea pig cerebral cortex slices in vitro. Their dependence on substrate and oxygen. The effect of clupein and ganglioside preparations. *J. Neurochem.*, 1961, 8, 257.
11. Horn H. D., Bruns F. M.: Quantitative Bestimmung von L (+) — Milchsäure mit Milchsäure dehydrogenase. *Biochim. Biophys. Acta*, 1956, 21, 376—380.
12. Lj C. L., McIlwain H.: Maintenance of resting membrane potentials in slices of mammalian cerebral cortex and other tissues *in vitro*. *J. Physiol.*, 1957, 139, 178—180.
13. McIlwain H.: Chemical exploration of the brain. A study of ion movements and cerebral excitability. Elsevier, 1963.
14. Sokoloff L.: Metabolism of the Central Nervous System „in vivo”. *Handbook of Physiology*. Ed. J. Field., Am. Physiol. Soc., Washington 1960 vol III p. 1847.
15. Swanson P. D.: The effects of oxygen deprivation on electrically stimulated cerebral cortex slices. *J. Neurochem.* 1969, 16, 35—45.
16. Umbreit W. W., Burris J. F., Stauffer J. F.: *Manometric Techniques*. Burgess Publ. Co. Minn., 1957, p. 147—150.
17. Vogt C., Vogt O.: Allgemein Ergebnisse Unserer Hirnforschung *J. Psychol. Neurol.*, 1919, 25, 277.

Authors' address: Department of Neurochemie, Experimental and Clinical Medical Research Centre, Warsaw, Poland, Dworkowa str. 3.

MAGDALENA ROSSOWSKA

WPŁYW NIEDOTLENIENIA ZWIERZĄT NA PROCESY OKSYDACYJNEJ FOSFORYLACJI I AKTYWNOŚĆ DEHYDROGENAZY GLUTAMINIANOWEJ W OŚRODKOWYM UKŁADZIE NERWOWYM

Zespół Neurochemii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN
Kierownik Zespołu: dr n. biol. A. Gromek

Znany jest fakt dużej wrażliwości ośrodkowego układu nerwowego (o.u.n.) na niedotlenienie. Nieodwracalność zaburzeń występujących w mózgu zwierząt poddanych ostremu niedotlenieniu może być między innymi uwarunkowana szybkim zużyciem substancji energetycznych Thorn i wsp. (1958) wykazali, że w czasie stopniowego niedotlenienia zwierząt stwierdza się obniżenie podstawowych substancji energetycznych o.u.n. takich jak fosfokreatyna i ATP przy równoczesnym wzroście ADP i fosforanu nieorganicznego. Zaobserwowane przez tych autorów zjawisko dużego gromadzenia się kwasu mlekowego, oraz wzrost zawartości glukozy (Domańska-Janik 1970) w pierwszym okresie niedotlenienia, może również świadczyć o zaburzeniach w metabolizmie węglowodanów. Aczkolwiek powyższe obserwacje mogą sugerować, że niedotlenienie zwierząt prowadzi do zaburzeń w metabolizmie energetycznym, a tym samym do uszkodzeń struktury frakcji mitochondrialnej, to jednak badania Boime i wsp. (1968) przeprowadzone na frakcji mitochondrialnej wątroby wskazują na dużą odporność enzymów oksydacyjnej fosforylacji na długotrwałe niedotlenienie. Dopiero kilkugodzinne niedotlenienie w podwyższonej temperaturze powoduje zmiany w metabolizmie energetycznym i w strukturze mitochondriów.

Na podstawie danych z piśmiennictwa można powiedzieć, że mitochondria mózgu nie różnią się w zasadzie od mitochondriów uzyskanych z wątroby czy innych tkanek. Istnieją jednak pewne charakterystyczne różnice, spośród których należy szczególnie podkreślić dużą heterogenność frakcji mitochondrialnej mózgu, wysoką aktywność ATP-azy uwarunkowaną dużymi stężeniami jonów Mg^{++} oraz obecność glikolitycznego enzymu — heksokinazy (Brungraber i wsp. 1963, Lagnado i wsp. 1959).

W związku z tym należy sądzić, że niedotlenienie zwierząt może w różnym stopniu wpływać na biochemiczną funkcję i strukturę morfologiczną mitochondriów różnych narządów i tkanek organizmu. Jak wiadomo dehydrogenaza glutaminianowa jest jednym z charakterystycznych enzymów związanych ze strukturą mitochondriów. Określenie aktywności tego enzymu stanowi niejednokrotnie kryterium zaburzeń struktury frakcji mitochondrialnej.

Celem niniejszej pracy było przebadanie wpływu niedotlenienia na procesy oksydacyjnej fosforylacji i aktywność dehydrogenazy kwasu glutaminowego, jako wykładników zaburzeń funkcji biochemicznej i struktury mitochondriów kory mózgu świnek morskich.

MATERIAŁ I METODY

Do badań używano świnki morskie (samce i samice) o wadze 250 g. Niedotlenienie zwierząt wywoływano umieszczając je w szczelnej komorze przez którą przepuszczano mieszaninę gazową czystego azotu pod ciśnieniem 0,5Kp/cm². Mieszanina zawierała około 1% tlenu. W celu wyeliminowania wpływu ewentualnych zanieczyszczeń znajdujących się w mieszaninie gazowej azotu, przeprowadzono analogiczne badania stosując oczyszczony azot wg Umbreita i wsp. (1957). Ponieważ otrzymane wyniki badań kontrolnych nie wykazywały żadnych różnic w porównaniu do gazu używanego bezpośrednio z butli, w dalszych badaniach nie prowadzono dodatkowego oczyszczania azotu. Jako kryterium niedotlenienia przyjęto fizjologiczny stan zwierząt, między innymi brak samoistnego oddechu, który na ogół występował po 3—5 min niedotlenienia. Zwierzęta były wtedy wyjmowane z komory i pobudzane sztucznym oddychaniem, po czym ponownie umieszczane w komorze i niedotleniane. Łączny czas takiego rodzaju niedotlenienia trwał 30 min. Następnie zwierzęta używane do badań dzielono na trzy grupy doświadczalne. Pierwszą grupę (I) stanowiły zwierzęta których mózgi pobierano bezpośrednio po 30 min. niedotlenienia. Drugą grupę (II) stanowiły zwierzęta których mózgi pobierano po upływie 2 godzin od chwili zakończenia niedotlenienia i trzecią grupę (III) po upływie 24 godz. od zakończenia niedotlenienia. Jako grupę kontrolną użyto zwierzęta bez uprzedniego niedotlenienia. Frakcję mitochondrialną otrzymywano z kory mózgu wg. metody podanej przez Bacilia i wsp. (1964). Stopień oksydacyjnej fosforylacji otrzymanych frakcji mitochondrialnych badano przez pomiar zużycia tlenu w aparacie Warburga oraz oznaczenie przyrostu ATP (akceptorem fosforanu nieorganicznego był ADP) w obecności bursztynianu i glutaminianu jako substratów.

Pomiar stężenia ATP wykonano metodą enzymatyczną przy pomocy układu zawierającego kinazę kwasu fosfoglicerynowego (2.7.2.3.) oraz dehydrogenazę aldehydu 3-fosfoglicerynowego (1.2.1.12.) stosując ogólne postępowanie wg. Bergmeyera (1963). Aktywność dehydrogenazy glutaminianowej mitochondriów kory mózgu zwierząt kontrolnych i niedotlenionych badano stosując dwa sposoby ujawniania aktywności tego enzymu. Pierwszy sposób polegał na 1-godzinnej inkubacji frakcji mitochondrialnej zawieszanej w roztworze 0,25M sacharozy z dodatkiem EDTA w temp. 37°C, natomiast drugi sposób na rozbięciu frakcji mitochondrialnej Tritonem X-100 w stężeniu 0,5%. W tym przypadku mitochondria inkubowano przez 10 min. w temperaturze pokojowej i następnie pobierano do badań całkowitej ak-

tywności dehydrogenazy glutaminianowej. Jako kontrola służyły mitochondria świeże, bezpośrednio po ich otrzymaniu.

We wszystkich przypadkach aktywność dehydrogenazy glutaminianowej określono wg metody podanej w „Methods of Enzymatic Analysis” (1963) i wyrażono w jednostkach Wróblewskiego w przeliczeniu na 1 mg białka mitochondrialnego (Layne 1957).

Równoległe do badań aktywności dehydrogenazy glutaminianowej przeprowadzono oznaczenia zawartości glutaminianu wg metody podanej w „Methods of Enzymatic Analysis” (1963).

WYNIKI

Ocena wpływu niedotlenienia na aktywność dehydrogenazy glutaminianowej i zawartość glutaminianu w korze mózgu świnek morskich

Tabela 1. Wpływ czynnika termicznego i Tritonu X-100 na aktywność dehydrogenazy glutaminianowej mitochondriów kory mózgu.

Table 1. The effect of a thermal factor and Triton X-100 on the glutamate dehydrogenase activity in brain cortex mitochondria.

	J. Wróblewskiego/mg białka Wróblewski units/mg of protein	
Mitochondria nieuszkodzone Non-damaged mitochondria	Mitochondria po 1 godz. in- kubacji 37° C Mitochondria after 1 h in- cubation at 37° C	Mitochondria rozbite Trito- nem X-100 Mitochondria treated with Triton X-100
Nie wykryto (7)	31,83 ± 7,6 (6)	67,86 ± 11,02 (8)

Wyniki przedstawiają średnie ± przedziały ufności obliczone wg Deana i Dixona (1951). The means ± the confidence intervals, calculated acc. to Dean and Dixon (1951) are presented.

Liczby w nawiasach przedstawiają ilość doświadczeń.

In parentheses — number of experiments.

Dane dotyczące czynników zewnętrznych (temperatura i Triton X-100) na aktywność enzymu przedstawia tabela 1. Jak wynika z tabeli świeże mitochondria używane do badań bezpośrednio po ich otrzymaniu nie wykazują żadnej aktywności dehydrogenazy glutaminianowej. Przyjmując za kryterium uszkodzenia struktury mitochondriów występowanie aktywności dehydrogenazy glutaminianowej należy stwierdzić, że stosowana przez nas metoda pozwala na otrzymanie względnie nieuszkodzonych mitochondriów. W tabeli 2 przedstawiono wyniki dotyczące aktywności dehydrogenazy glutaminianowej w korze mózgu zwierząt kontrolnych, bezpośrednio, 2 godziny i 24 godz. po niedotlenieniu. We wszystkich badanych grupach otrzymane frakcje mitochondrialne poddane były 1-go-

dzinnej inkubacji w temp. 37°C i następnie pobierane do oznaczeń aktywności enzymu. Jak wynika z tabeli obserwuje się tendencję wzrostu ujawniania aktywności dehydrogenazy glutaminianowej w mitochondriach kory mózgu bezpośrednio i w 2 godz. po niedotlenieniu. Wyniki te ze względu na występowanie dużego rozrzutu we wszystkich grupach doświadczalnych nie są statystycznie znamienne. Jedynie w grupie 24 godz. po niedotlenieniu obserwuje się statystycznie znamienny wzrost ujawniania aktywności enzymu w porównaniu do grupy kontrolnej.

Tabela 2. Aktywność dehydrogenazy glutaminianowej mitochondriów z kory mózgu świnek morskich kontrolnych i poddanych niedotlenieniu.

Table 2. The glutamate dehydrogenase activity in brain cortex mitochondria of guinea pigs submitted to normal and anoxic conditions.

Warunki doświadczenia Experimental conditions	Aktywność dehydrogenazy glutaminianowej j. Wróblewskiego/mg białka Glutamate dehydrogenase activity Wróblewski units/mg of protein	
Kontrola Control	31,83 ± 7,6	(6)
Bezpośrednio po niedotlenieniu Directly after anoxia	33,50 ± 3,6	(4)
2 godz. po niedotlenieniu 2 h after anoxia	35,80 ± 9,2	(8)
24 godz. po niedotlenieniu 24 h after anoxia	56,0 ± 9,7	(5)

Wyniki przedstawiają średnie ± przedziały ufności obliczone wg Deana i Dixona (1951). The means ± confidence intervals calculated acc. to Dean and Dixon (1951) are presented. Liczby w nawiasach przedstawiają ilość doświadczeń. In parentheses — number of experiments.

Tabela 3 przedstawia wyniki z analogicznych grup doświadczalnych w których dla ujawnienia całkowitej aktywności enzymu stosowano Triton X-100. Otrzymane wyniki wskazują na obniżenie całkowitej aktywności enzymu w mitochondriach kory mózgu otrzymanych po 24 godzinach od chwili zakończenia niedotlenienia. W pozostałych grupach doświadczalnych nie stwierdza się statystycznie znamiennych różnic w aktywności badanego enzymu. Wyniki dotyczące oznaczeń zawartości glutaminianu przedstawia tabela 4. Stwierdzono wyższy poziom tego substratu po 24 godzinach od chwili zakończenia niedotlenienia zwierząt w porównaniu do wartości znalezionych w korze mózgu zwierząt kontrolnych.

Tabela 3. Aktywność dehydrogenazy glutaminianowej mitochondriów z kory mózgu świnek morskich po zadziałaniu Tritonu X — 100 w kontroli i po niedotlenieniu

Table 3. The glutamate dehydrogenase activity in guinea pig brain cortex mitochondria after Triton X — 100 in control and after anoxia.

Warunki doświadczenia Experimental conditions	Aktywność dehydrogenazy glutaminianowej j. Wróblewskiego/mg białka Glutamate dehydrogenase activity Wróblewski units/mg of protein	
Kontrola Control	67,86 ± 11,02	(8)
24 godz. po niedotlenieniu 24 h after anoxia	46,10 ± 8,80	(6)

Wyniki przedstawiają średnie przedziały ± ufności obliczone wg Deana i Dixona (1951).
The means — the confidence intervals, calculated acc. to Dean and Dixon (1951) are presented.

Liczby w nawiasach przedstawiają ilość doświadczeń.
In parentheses — number of experiments.

Tabela 4. Zawartość glutaminianu w korze mózgu świnek morskich kontro'nych i poddanych niedotlenieniu

Table 4. The glutamate content in the brain cortex of guinea pigs submitted to normal and anoxic conditions.

Warunki doświadczenia Experimental conditions	Glutaminian μ mole/g świeżej tkanki Glutamate μ moles/g of fresh tissue	
Kontrola Control	5,60 ± 0,92	(7)
24 godz. po niedotlenieniu 24 h after anoxia	6,88 ± 1,22	(7)

Wyniki przedstawiają średnie ± przedziały ufności obliczone wg Deana i Dixona (1951).
The means — the confidence intervals, calculated acc. to Dean and Dixon (1951) are presented.

Liczby w nawiasach przedstawiają ilość doświadczeń.
In parenthesis — number of experiments.

Ocena wpływu niedotlenienia na proces oksydacyjnej fosforylacji w korze mózgu świnek morskich

Wyniki badań dotyczące wpływu niedotlenienia na procesy oksydacyjnej fosforylacji mitochondriów kory mózgu świnek morskich ilustruje tabela 5. Otrzymane dane wskazują, że niezależnie od czasu przetrzymy-

wania zwierząt po niedotlenieniu, mitochondria otrzymane z kory mózgu zwierząt doświadczalnych wykazują zarówno w obecności bursztynianu, jak i glutaminianu taką samą zdolność do oksydacyjnej fosforylacji, jak i mitochondria otrzymane z kory mózgu zwierząt kontrolnych. We wszystkich przebadanych przypadkach wskaźnik oksydacyjnej fosforylacji P:O utrzymuje się w zasadzie na jednakowym poziomie.

Tabela 5. Fosforylacja tlenowa mitochondriów z kory mózgu świnek morskich kontrolnych i poddanych niedotlenieniu.

Table 5. Oxidative phosphorylation in brain cortex mitochondria of guinea pigs submitted to normal and anoxic conditions

Warunki doświadczenia Experimental conditions	P/O	
	Bursztynian Succinate	Glutaminian Glutamate
Kontrola Control	1,46 ± 0,44 (6)	2,32 ± 0,60 (6)
Bezpośrednio po niedotlenieniu Directly after anoxia	2,0	2,74 ± 0,52 (5)
2 godz. po niedotlenieniu 2 h after anoxia	1,5	
24 godz. po niedotlenieniu 24 h after anoxia	2,0	2,57 ± 0,72 (4)
	1,6	
	2,07 ± 0,64 (4)	2,80 ± 0,72 (4)

Medium inkubacyjne: 0,25 M sacharoza, 0,01 M Tris (pH 7,4), 0,2 mM EDTA, 0,01 M KCl, 0,005 M Pi, 10 mM glutaminian lub bursztynian, 3 mM ADP, mitochondria (3 mg białka/ml).

Incubation medium: 0,25 M sucrose, 0,01 M Tris (pH 7,4), 0,2 mM EDTA, 0,01 M KCl, 0,005 M Pi, 10 mM glutamate and succinate, 3 mM ADP, mitochondria (3 mg of protein/ml).

Wyniki przedstawiają średnie ± przedziały ufności obliczone wg Deana i Dixona (1951). The means ± the confidence intervals, calculated acc. to Dean and Dixon (1951) are presented.

Liczby w nawiasach przedstawiają ilość doświadczeń.

In parentheses — number of experiments.

OMÓWIENIE

Stosowany przez nas model niedotlenienia podobnie jak i inne sposoby wywoływania hypoksji posiada szereg ujemnych parametrów, które wpływają na niejednorodność wyników. Należy do nich przede wszystkim różnorodna wrażliwość zwierząt na takie same warunki niedotlenienia. U niektórych zwierząt umieszczonych w komorze z przepływającym azotem, obserwowano już w ciągu 2—3 minut występowanie typowych objawów jak bezdech, drgawki, które niejednokrotnie prowa-

dziły do śmierci zwierzęcia. U innych zwierząt występowanie wyżej wymienionych objawów obserwowano po upływie 5 minut. Aczkolwiek proces reanimacji zwierząt rozpoczynano zawsze po wystąpieniu bezdechu to jednak trudno jest z całą pewnością twierdzić, że stopień niedotlenienia był jednakowy u wszystkich badanych zwierząt. Występowanie dużych rozrzutów wyników, w tych samych grupach doświadczalnych, może być tłumaczone z jednej strony właściwościami osobniczymi badanych zwierząt, z drugiej niejednakowym stopniem niedotlenienia. Tym niemniej stosowany przez nas sposób niedotlenienia pozwala na przeprowadzenie badań *in vivo* na zwierzętach nie poddanych żadnym innym zabiegom, z dokładną kontrolą czasu trwania niedotlenienia, ciśnienia mieszaniny gazowej i okresu przechowywania zwierząt po zakończeniu niedotlenienia. Pozwala to na uchwycenie ewentualnych rozwijających się w mózgu wtórnych zaburzeń biochemicznych.

Jednym z podstawowych zadań przedstawionej pracy było określenie wpływu niedotlenienia na aktywność dehydrogenazy glutaminianowej jako wykładnika uszkodzeń błon mitochondrialnych. Przeprowadzone badania aktywności enzymu w mitochondriach kory mózgu pobieranych do doświadczeń bezpośrednio po ich otrzymaniu nie wskazują na głębokie uszkodzenia błon mitochondrialnych. We wszystkich przebadanych przypadkach świeże mitochondria wykazywały zerową aktywność dehydrogenazy glutaminianowej. Dopiero 1-godzinna inkubacja zawiesiny mitochondriów w temperaturze 37°C prowadzi do ujawnienia aktywności enzymu, jednakże w stopniu dwukrotnie niższym w porównaniu do aktywności znalezionej po zadziałaniu Tritonu X-100. Można więc przypuszczać, że działanie czynnika termicznego prowadzi do częściowych uszkodzeń strukturalnych, natomiast 10-minutowa inkubacja zawiesiny mitochondriów z Tritonem X-100 powoduje pełne rozbicie struktury mitochondriów i ujawnienie całkowitej aktywności enzymu. Otrzymane wyniki pozostają w zgodzie z danymi Lusena (1965), który w badaniach enzymów mitochondrialnych wątroby szczura wykazał, że dopiero pełne rozbicie frakcji mitochondrialnej pozwala na określenie całkowitej aktywności dehydrogenazy glutaminianowej i dehydrogenazy kwasu 3-hydroksymasłowego. Wywołane uszkodzenie struktury mitochondriów pozwoliło na prześledzenie różnic pomiędzy aktywnością dehydrogenazy glutaminianowej mitochondriów kory mózgu zwierząt kontrolnych i poddanych niedotlenieniu. Należy przy tym dodać, że wyniki oznaczeń aktywności otrzymane po 1-godzinnej inkubacji mitochondriów w 37°C różnią się zasadniczo od wyników otrzymanych po traktowaniu mitochondriów Tritonem X-100. W pierwszym przypadku, zwłaszcza w grupie III (tabela 2) mamy do czynienia ze wzrostem (ok. 40%) ujawniania aktywności enzymu, co mogłoby wskazywać na występowanie „dyskretnych”

zmian w strukturze błon mitochondrialnych. Występowanie tego zjawiska dopiero po 24 godzinach od momentu zakończenia niedotlenienia, wskazuje na stopniowy rozwój zaburzeń i pozostaje w zasadzie w zgodzie z obserwacjami Boime i wsp. (1968), którzy wykazali występowanie zaburzeń w metabolizmie energetycznym dopiero po długotrwałym niedotlenieniu.

W drugiej serii doświadczeń, w której badano wpływ niedotlenienia na „całkowitą” aktywność dehydrogenazy glutaminianowej (tabela 3), zaobserwowane zjawisko obniżenia aktywności enzymu, również szczególnie wyraźne po 24 godzinach od momentu zakończenia niedotlenienia można łączyć bądź z ewentualnym uwalnianiem enzymu do cytoplazmy, bądź z częściowym uszkodzeniem białka enzymatycznego wskutek niedotlenienia.

Porównując wyniki aktywności dehydrogenazy glutaminianowej w mitochondriach zwierząt kontrolnych (tabele 1, 2, 3) nie wydaje się, ażeby zjawisko występujących pod wpływem niedotlenienia zmian w aktywności enzymu było uzależnione wyłącznie od bezpośredniego działania Tritonu X-100, bądź czynnika termicznego. Obserwowany jednocześnie wzrost stężenia glutaminianu, po 24 godzinach od momentu zakończenia niedotlenienia (tabela 4), można częściowo łączyć z obniżeniem całkowitej aktywności dehydrogenazy glutaminianowej oraz z metabolizmem kwasu gammaaminomasłowego. Liczni autorzy donoszą o korelacji pomiędzy zawartością kwasu glutaminowego i γ -aminomasłowego w różnych stanach patologicznych (Balazs 1965, Bunatian 1963). Wood i wsp. (1968) stwierdzili wzrost zawartości kwasu γ -aminomasłowego w mózgu świnek morskich po niedotlenieniu w zależności od stężenia tlenu w mieszaninie gazowej. Z drugiej strony wiadomo, że po zadziałaniu środków farmakologicznych, podczas szoku, w stanach hypoksyjnych obserwuje się wzrost poziomu amoniaku w mózgu (Verba i wsp. 1958). Zaobserwowany przez nas wzrost zawartości glutaminianu w korze mózgu mógłby być wyrazem procesów detoksykacji amoniaku wytwarzanego w nadmiarze podczas niedotlenienia.

Występującym zmianom w aktywności dehydrogenazy glutaminianowej nie towarzyszą zaburzenia procesów oksydacyjnej fosforylacji. Otrzymane dane (tabela 5) wskazują, że niezależnie od czasu pobrania mózgu po zakończeniu niedotlenienia, mitochondria otrzymane z kory mózgu wszystkich grup doświadczalnych wykazują pełną zdolność oksydacyjnej fosforylacji, podobnie jak mitochondria otrzymane z kory zwierząt kontrolnych. Otrzymane wyniki wskazują, że podobnie jak w przypadku wpływu niedotlenienia na system enzymów wątroby (Boime i wsp. 1968), również enzymy mitochondriów mózgu wykazują dużą odporność na stosowaną przez nas hypoksję. Aczkolwiek w obecnej pracy zaobserwowa-

nym zmianom w aktywności wewnątrzmitochondrialnych enzymów (dehydrogenaza glutaminianowa) nie towarzyszyły zaburzenia procesów oksydacyjnej fosforylacji, to jednak analiza ujawniania aktywności dehydrogenazy glutaminianowej pozwala przypuszczać, że stosowane przez nas niedotlenienie wywołuje „dyskretne” zmiany błon mitochondriów.

Prowadzone przez nas dalsze badania frakcji mitochondrialnej mózdzku świnek morskich wskazują na obniżenie aktywności oksydacyjnej fosforylacji po niedotlenieniu (Rossowska 1970). Być może zjawisko to łączy się z uwalnianiem wolnych kwasów tłuszczowych z mitochondriów pod wpływem niedotlenienia, co wg niektórych autorów byłoby odpowiedzialne za zmiany metaboliczne (Boime i wsp. 1968, Helinski, Cooper 1960).

Składam serdeczne podziękowanie dr A. Gromkowi, Kierownikowi Zespołu Neurochemii CMD i K PAN za pomoc w przygotowaniu pracy oraz p. H. Nowińskiej za współudział w wykonywaniu doświadczeń.

M. Россовска

ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ ЖИВОТНЫХ НА ПРОЦЕССЫ ОКСИДАТИВНОЙ ФОСФОРИЛЯЦИИ И АКТИВНОСТЬ ДЕГИДРОГЕНАЗЫ ГЛЮТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

Резюме

Исследовалось влияние гипоксии на процессы оксидативной фосфорилизации и активность глутаминат-дегидрогеназы как показателей нарушений биохимической функции и структуры митохондрии мозговой коры морских свинок. Гипоксия вызвалась помещением животных в герметическую камеру через которую пропускался в течение 30 мин технический азот. Гипоксия животных не вызвала существенных изменений в процессах оксидативной фосфорилизации как в присутствии сукцината так и глутамината в качестве субстратов. После 24 часов от момента окончания гипоксии наблюдалось увеличение степени освобождения энзима на около 40%, зато полная активность энзима в этой группе животных снижалась. Спустя 24 часов после окончания гипоксии наблюдалось увеличение концентрации глутамината в мозговой коре.

M. Rossowska

EFFECT OF ANOXIA ON THE OXIDATIVE PHOSPHORYLATION PROCESSES AND ON GLUTAMATE DEHYDROGENASE ACTIVITY IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

Summary

The investigations concerned the effect of hypoxia on the behaviour of the mitochondria of guinea pig cerebral cortex in respect of oxidative phosphorylation and glutamic dehydrogenase activity as exponents of their function and structural state.

Animals were subjected to hypoxia in a camera flushed with technical nitrogen during one-half hour. No changes in the capacity of the cortical mitochondria of oxidative phosphorylation following hypoxia were found. Twenty four hours after hypoxia the activity of free glutamic dehydrogenase was found to have increased by some 40 percent with a simultaneous decrease in total activity. The level of glutamate in the cerebral cortex of experimental animals was raised 24 hours after hypoxia.

PISMIENICTWO

1. Bacilia M., Campello A. P., Vianna C. H. M., Voss D. O.: The respiratory chain of rat cerebrum and cerebellum mitochondria. *J. Neurochem.*, 1964, 11, 231—242.
2. Balazs R.: Control of glutamate metabolism. *J. Neurochem.*, 1965, 12, 63.
3. Bergmeyer H. U.: „Methods of Enzymatic Anal. 1963.
4. Boime J., Smith E. E., Hunter F. E.: Stability of oxidative phosphorylation and structural changes of mitochondria in ischemic rat liver. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1968, 128, 704—715.
5. Brungraber E. G., Aguilar V., Occomy W. G.: The intracellular distribution of glycolytic and tricarboxylic acid cycle enzymes in rat brain mitochondrial preparations. *J. Neurochem.*, 1963, 10, 433—438.
6. Bunatian A. Ch.: The role of γ -aminobutyric acid in the metabolism of glutamic acid and glutamine in brain. *J. Neurochem.*, 1963, 10, 461—469.
7. Dean R. B., Dixon W. J.: Simplified statistics for small numbers of observations. *Analyt. Chem.*, 1951, 23, 636.
8. Domańska-Janik K.: Doświadczalne niedotlenienie a niektóre zagadnienia tlenowego metabolizmu glukozy w ośrodkowym układzie nerwowym, praca doktorska — maszynopis 1970.
9. Helinski D. R., Cooper C.: Studies on the action of bovine albumin on aged rat liver mitochondria. *J. Biol. Chem.*, 1960, 235, 3573—79.
10. Lagnado J. R., Balazs R., Richter D.: Some properties of adenosine triphosphatase of rat brain mitochondria. *Biochem. J.*, 1959, 73, 18P.
11. Layne E.: Protein estimation with Folin-Ciocalten Reagent Methods in *Enzymology* Ed. Colowicks P., Kaplan N. O. Acta. Press, N. York 1957, 3, 448—450.
12. Lusena C. V.: Release of enzymes from rat liver mitochondria by freezing. *Can. J. Biochem.*, 1965, 43, 1787.
13. Rossowska M.: Metabolizm glutaminianu w mózdku świnek morskich w normie i po niedotlenieniu. Maszynopis 1970.
14. Thorn W., Sholl H., Pflleiderer G., Mueldner B.: Metabolic processes in the brain at normal reduced temperatures and under anoxic and ischaemic conditions. *J. Neurochem.*, 1958, 2, 150—165.
15. Umbreit W. W., Burris R. H., Stauffer J. F.: *Manometric Techniques*, 1957.
16. Verba R., Folberger J., Kanturek V.: On the metabolism of ammonia formation in guine pig brain slices. *J. Neurochem.*, 1958, 2, 187—196.
17. Wodd J. D., Watson W. J., Ducker A. J.: The effect of hypoxia on brain γ -aminobutyric acid levels. *J. Neurochem.*, 1968, 15, 603—8.

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

JERZY ŁEBKOWSKI, ZENON MNICH, EMANUEL TREMBACZOWSKI, ZUZANNA
WIŚNIEWSKA

ODDZIAŁYWANIE MOCZNIKA NA ROZKŁAD RADIOAKTYWNOŚCI
³²P-ORTOFOSFORANU W OBRZĘKOWO ZMIENIONEJ
TKANCIE MÓZGOWEJ

Instytut Chorób Nerwowych i Narządów Zmysłów AM, w Białymstoku

Dyrektor Instytutu: doc. dr med. J. Łębkowski

Zakład Fizyki AM, w Białymstoku

Kierownik Zakładu: doc. dr n. mat.-fiz. E. Trembaczowski

Zagadnienie obrzęku tkanki nerwowej pozostaje nadal w sferze zainteresowań badaczy zarówno z punktu widzenia rozważań teoretycznych, jak również z powodu naglących potrzeb klinicznych.

Najogólniej przez obrzęk mózgu rozumie się wzrost objętości mózgu spowodowany zwiększoną zawartością wody w tkance mózgowej. Zaburzenie równowagi pomiędzy wodą zawartą w tkance mózgowej, a wodą obecną w naczyniach spowodowane jest czynnikami, których ustalenie jest celem wielu podejmowanych prac.

Doświadczalny obrzęk mózgu można wywoływać wieloma sposobami. Wspólną cechą wszystkich stosowanych metod jest większe, lub mniejsze uszkodzenie bariery krew-mózg, w wyniku którego jej przepuszczalność ulega znacznemu zwiększeniu. W obrzękowo zmienionym mózgu dochodzi do znacznego wzrostu ilości wody i sodu przy obniżonej zawartości potasu (Papius, Gulati 1963). Zwiększa się również ilość białka w obrzękowo zmienionej okolicy mózgu (Bakay, Hague 1964). W badaniach doświadczalnych na zwierzętach zaobserwowano zwiększone gromadzenie wprowadzonego dożylnie ortofosforanu przez zmieniony obrzękowo mózg (Bakay 1956). Zwiększone gromadzenie fosforanów występowało w substancji białej. W procesie obrzękowym mózgu substancja biała wykazuje największe gromadzenie wody. Istniejąca równoległość pomiędzy wzrostem zawartości wody, a radioaktywnością ³²P-fosforanu oraz ich lokalizacje w obrzękowo zmienionej substancji białej nasuwały pytanie, czy procesy te są z sobą powiązane, czy też podlegają niezależnym mechanizmom. W tym celu postanowiliśmy prześledzić gromadzenie ortofosforanu w ob-

rzękowo zmienionej substancji białej, poddanej działaniu środka zmniejszającego w niej zawartości wody.

Jak się ogólnie przyjmuje najsilniej działającym związkiem przeciwobrzękowym jest mocznik (Fremont-Smith, Forbes, cyt. wg Davsona 1967, Smythe L. i wsp. 1950). Duża efektywność mocznika w zmniejszeniu obrzęku wynika ze względnie wolnego wydalania tego związku z łożyska naczyniowego i niezbyt wielkiej zdolności przenikania bariery krew-mózg, krew-płyn mózgowo-rdzeniowy (Bradbury, Coxon 1962, Kleeman i wsp. 1962, Reed, Woodbury 1962, Schoolar i wsp. 1960).

MATERIAŁ I METODA

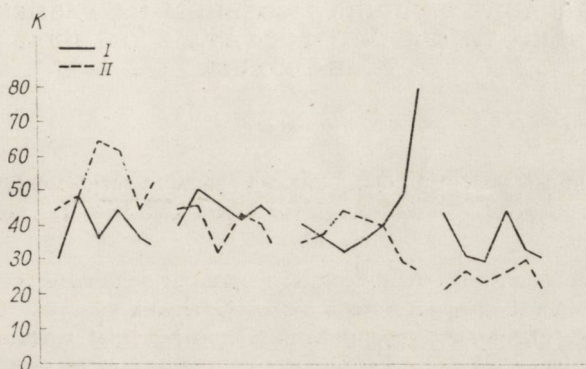
Badania przeprowadzono na ośmiu kotach. Po uśpieniu zwierząt eterem otwierano im czaszkę w okolicy środkowego zawoju mózgu. Uszkodzenia tkanki mózgowej dokonywano wprowadzając do niej rozgrzaną do czerwonego zabarwienia sondę metalową o średnicy 1 mm, na głębokość 0,5 cm, po czym ranę zaopatrywano antybiotykami (penicylina) i zamykano jałowo. Przygotowane w ten sposób zwierzęta podzielono na dwie grupy. W 48 godzin po zabiegu operacyjnym podejmowano dalszy etap doświadczenia. Zwierzętom grupy I wprowadzano dożylnie dwuzasadowy ^{32}P -ortofosforan sodu o radioaktywności właściwej 0,7 mCi/ml w ilości 1 mCi/kg ciężaru zwierzęcia. Postępowanie w grupie II było identyczne jak w grupie I, różniło się tylko dożylnym wprowadzeniem 30% roztworu mocznika na 5 minut przed podaniem znakowanego ortofosforanu w ilości 45 ml/kg wagi ciała. Po dwóch godzinach od wprowadzenia promieniotwórczego fosforanu zwierzęta dekapitowano. Po usunięciu sklepienia czaszki wyjmowano w całości mózgowie. Mrożono je i cięto na skrawki o grubości 1 mm. Z każdego mózgowia wybierano 6 skrawków, których płaszczyzny przekroju przechodziły przez okolicę uszkodzenia termicznego. Stosując detektor AAH o głębokości odcinka 1,5 mg/cm² w zestawieniu z przelicznikiem elektronowym LL-1 z odpowiednio dobraną przesłoną, mierzono aktywność substancji białej w okolicy sąsiadującej bezpośrednio z miejscem urazu. Drugi pomiar przeprowadzono w symetrycznie położonej okolicy nieuszkodzonej półkuli. W celu uzyskania wizualnego obrazu rozkładu aktywności na powierzchni przekroju mózgu, wykonano autoradiogramy wprowadzając skrawki w kontakt z materiałem światłoczułym (Fotopan 26 Din) na 10–14 dni. Po okresie ekspozycji poddawano materiał światłoczuły obróbce fotograficznej.

OMÓWIENIE I WYNIKI

Z przeprowadzonych doświadczeń uzyskano liczbowe wartości rozkładu radioaktywności w porównywanych okolicach i autoradiograficzne obrazy dające możliwość jakościowej oceny gromadzenia ortofosforanu. Gromadzenie fosforanu wyrażane wskaźnikiem „K” w poszczególnych grupach badanych zwierząt przedstawiono graficznie na rycinie 1.

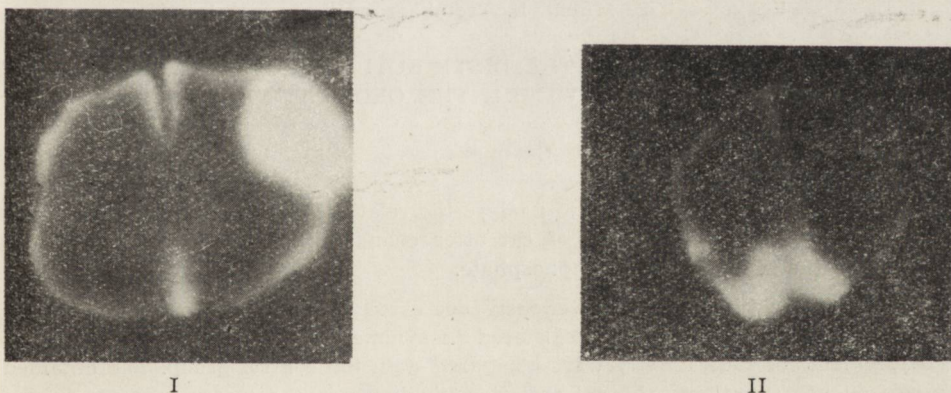
Uzyskane wyniki pomiarów radioaktywności nie stanowiły rozkładu normalnego. W celu ich statystycznej oceny posłużono się testem χ^2 . Przeprowadzone obliczenia wykazały brak statystycznie znamiennych róż-

nic w radioaktywności fosforanu w obydwu porównywanych grupach. Autoradiogramy obydwu grup wykazują dość podobny obraz. Na wszystkich zdjęciach widoczne jest ognisko wzmożonego gromadzenia, zlokalizowane w miejscu urazu. Duże gromadzenie fosforanów wykazuje substancja biała sąsiadująca z miejscem urazu. Podwyższone lecz znacznie mniejsze gromadzenie stwierdza się w części korowej i obrębie jąder podstawy mózgu. Autoradiogram kontrolnej grupy I podobnie jak i preparaty mózgu wykazują wyraźną asymetrię. Przekroje poprzeczne mózgu kotów otrzymujących mocznik (grupa II) nie wykazywały tej asymetrii. Poza szeregiem indywidualnych różnic w tych grupach nie daje się stwierdzić innych nieprawidłowości.



Ryc. 1. Wartość współczynnika K w badanych grupach; I — bez mocznika, II — z mocznikiem.

Fig. 1. The value of K coefficient in the examined groups; I — without urea, II — with urea.



Ryc. 2. Autoradiogramy mózgow badanych kotów; I — bez mocznika, II — z mocznikiem.

Fig. 2. Autoradiogram of the examined brains of cats; I — without urea, II — with urea.

Uzyskany rozkład aktywności fosforanu w mózgu poddanym termicznemu urazowi jest w dużym stopniu podobny do wyników przedstawionych przez Bakaya (1958). Pewne różnice w obszarze gromadzenia wydają się wynikać z rozległości urazu.

Na podstawie uzyskanych wyników można sądzić, że gromadzenie się ortofosforanu w obrzękowo zmienionej substancji białej jest niezależne od doświadczalnie wywołanych przesunięć równowagi wodnej. Należy przypuszczać, że odmienny jest mechanizm transportu wody i ortofosforanu w obrębie uszkodzonej bariery krew — mózg.

Е. Лэбковский, З. Мних, Э. Трэмбачовски, З. Висьневска

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МОЧЕВИНЫ НА РАЗМЕЩЕНИЕ
РАДИОАКТИВНОСТИ ^{32}P -ОРТОФОСФАТА В ОТЕЧНОЙ МОЗГОВОЙ
ТКАНИ КОШЕК

Резюме

Целью настоящей работы был анализ зависимости между содержанием воды в измененном отеком белом веществе мозга кошки и количеством скопленного ортофосфата.

Путем внутривенной подачи мочевины изменяли величину отека мозга. Регистрировали активность ортофосфата в симметрических участках белого вещества мозга. Измерения активности сравнивали с контрольной группой. Полученные результаты указывают на то, что не существует зависимости между содержанием воды в белом веществе и найденной в нем активностью ортофосфата. На этом основании авторы предполагают, что существует другой транспортный механизм ортофосфатов и воды в измененном отеком белом веществе мозга кошки.

J. Łebkowski, Z. Mnich, E. Trembaczowski, Z. Wiśniewska

THE EFFECT OF UREA UPON THE DISTRIBUTION OF THE RADIOACTIVITY
OF ^{32}P -ORTHOPHOSPHATE WITHIN THE OEDEMATOUS BRAIN TISSUE

Summary

The purpose of this work was to analyse the relationship between the water contents in the brain white matter of cat after changes caused by oedema and the quantity of the accumulated orthophosphate.

The urea administrated intravenously decreased the brain oedema. The radioactivity of orthophosphate was registered in symmetric sites of the white matter. Measurements of radioactivity were compared with the control group. The obtained results do not show that there is relationship between the water contents in the white matter and the activity of the accumulated orthophosphate. On this basis the authors suggest that there is another mechanism of orthophosphate and water transport into the white matter changed by oedema.

PIŚMIENNICTWO

1. Bakay L.: The blood-brain barrier. Ch. Thomas Publ. Springfield, Illinois USA 1956.
2. Bakay L., Hague I. U.: Morphological and chemical studies in cerebral oedema. I Cold induced oedema. *J. Neuropath.*, 1964, 23, 393—418.
3. Bradbury M. W. B., Coxon R. V.: The penetration of urea into the central nervous system at high blood levels. *J. Physiol.*, 1962, 163, 423—435.
4. Davson H.: Physiology of cerebrospinal fluid. J. A. Churchill Ltd. 104 Gloucester Place, London 1967.
5. Kleeman C. R., Davson H., Levin E.: Urea transport in the central nervous. *Amer. J. Physiol.*, 1962, 203, 739—747.
6. Pappius H. M., Gulati D. R.: Water and electrolyte content of cerebral tissues in experimentally induced oedema. *Acta Neuropath.*, 1963, 2, 451—460.
7. Reed D. J., Woodbury D. M.: Effect of hypertonic urea on cerebrospinal fluid pressure and brains volumen. *J. Physiol.*, 1962, 164, 252—264.
8. Schoolar J. C., Barlow C. F., Roth L. J.: The penetration of carbon C-14 urea into cerebrospinal fluid and various areas of the cat brain. *J. Neuropath.*, 1960, 19, 216—227.
9. Smythe L., Smythe G., Settlege P.: The effect of intravenous urea on cerebrospinal fluid pressure in monkeys. *J. Neuropath.*, 1950, 9, 438—442.

Adres autorów: Instytut Chorób Nerwowych i Narządów Zmysłów AM. Białystok, ul. M. Curie-Skłodowskiej 24a.

MARIA OSTENDA, HALINA STRUGALSKA

ZMIANY HISTOCHEMICZNE W PŁYTKACH KOŃCOWYCH I WRZECIONACH MIĘŚNIOWYCH U DOJRZEWAJĄCYCH SZCZURÓW PO NAPROMIENIANIU GAMMA*

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

Kierownik Zespołu: doc. dr med. M. J. Mossakowski

Klinika Neurologiczna AM, w Warszawie

Kierownik Kliniki: prof. dr med. I. Hausmanowa-Petrusewicz

Napromienianie zwierząt doświadczalnych w okresie poprzedzającym zakończenie miogenezy opóźnia dojrzewanie ekstrafuzalnych włókien mięśniowych (Kamieniecka, Ostenda 1969). Nie rozstrzygnięte jest zagadnienie, czy zjawisko to jest uwarunkowane bezpośrednim uszkodzeniem tkanki mięśniowej, czy odgrywa tu rolę uszkodzenie układu nerwowego, a zmiany mięśniowe mają charakter wtórny. Nie wiadomo również, czy zakończenia nerwowe w dojrzewających mięśniach napromienianych szczurów ulegają zmianom równoległe do zmian w tkance mięśniowej. Celem przedstawionych badań była ocena obrazu histochemicznego i jego zmian w zakończeniach nerwowych w dojrzewających mięśniach szczu-
ra w warunkach prawidłowych i po napromienianiu.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 44 szczurach szczepu Wistar; 26 noworodków napromieniono w czwartym dniu życia dawką 300 r promieni gamma na całe ciało. Źródłem napromieniania była bomba kobaltowa typu „Eldorado A” (o średniej mocy 100 r/min.). Szczury dekapitowano bez narkozy w 5, 8, 10, 14 i 20 dniu życia i pobierano do badania mięśnie 1ich tylnych podudzi. Jedno podudzie skrawano na kriostacie w temperaturze -18°C i wykonywano badanie aktywności następujących enzymów: dehydrogenazy bursztynianowej (SDH), dehydrogenazy mleczanowej (LDH), dehydrogenazy-alfa-glicerofosforanowej (DH alfa G), dehydrogenazy-glikozo-6-fosforanowej (DHG6P) (Barka 1965), adenozy-no-trój-fosfatazy miofibrylarnej (ATP-aza) (Padykula, Herman 1963), fosforylasy a, a + b (Fa, Fab) (Godlewski 1963). Drugie podudzie po 1-godzinnym utrwaleniu w 10% formalinie obojętnej skrawano na kriostacie i wykonywano odczyn na acetylocholinesterazę (ACHE) wg Koelle w modyfikacji Gerebtzoffa (1953). Kontrolę metody przeprowadzano dodając do płynu inkubacyjnego fizostygminę w rozcieńczeniu końcowym

* Praca częściowo wykonana w oparciu o pomoc finansową NINDB NIH — Bethesda; nr umowy 05-002-i.

10⁻⁵. Pozostałe części bloczków zatapiano w parafinie i barwiono hematoksyliną-eo-zyną oraz metodą van Gieson. Jako kontrola służyło 15 szczurów nienapromienianych, dekapitowanych w tych samych okresach życia i badanych tymi samymi metodami.

Dla zorientowania się w obrazie enzymatycznym zakończeń nerwowych, we wczesnych okresach rozwoju, wykonano te same badania na podudziach 4 noworodków szczurzych: 3 w wieku 1 dnia i 1 — 3-dniowego.

WYNIKI

Aktywność ACHE w płytkach ruchowych rozwijających się mięśni u zwierząt nienapromienianych

1—5 dzień — Aktywność ACHE uwidocznia się w tym okresie w postaci intensywnie zabarwionych tworów, okrągłych lub półksiężycowatych, o gładkich zarysach, leżących na włóknach mięśniowych. Płytki te pozbawione są rozgałęzień typowych dla płytki dojrzałej. Charakterystyczne dla dodatniego odczynu histochemicznego brunatne zabarwienie występuje również we włóknach nerwowych dochodzących do płytek, nie różniąc się od nich intensywnością (ryc. 1).

8 dzień — Na tle obrazu analogicznego, jak w grupie poprzedniej pojawiają się pojedyncze, wyraźnie wyodrębnione płytki ruchowe. Ich aktywność enzymatyczna jest wysoka, struktura prosta. Niekiedy występuje wyraźnie już zaznaczona segmentacja.

10—14 dzień — W tym okresie występują liczne płytki o zróżnicowanej strukturze, z mnogimi segmentami. W części środkowej w wielu z nich pojawia się „perforacja”, stanowiąca objaw rozpoczynającej się segmentacji. Aktywność enzymatyczna we włóknach nerwowych zmniejsza się nieco w porównaniu z okresem poprzednim, pozostając nadal wysoką w płytkach (ryc. 3). Płytki ruchowe spotykane w obrębie wrzecion nie różnią się ani strukturą ani aktywnością od płytek położonych wśród włókien ekstrakuczalnych.

20 dzień — Pojedyncze płytki mają liczne rozgałęzienia i segmenty o wysokiej aktywności. Odczyn we włóknach nerwowych zanika całkowicie. Obraz histochemiczny odpowiada typowemu dla mięśni dojrzałych szczurów (ryc. 4).

Aktywność enzymów we wrzecionach mięśniowych w toku rozwoju mięśni zwierząt nienapromienianych

1—5 dzień — Wrzeciono zbudowane jest z kilku (1—3) włókien mięśniowych, zwanych włóknami intrafuzalnymi, otoczonych włóknistą torebką łącznotkankową. Pomiedzy torebką a włóknami intrafuzalnymi znajduje się szczelinowata, pusta lub wypełniona jednorodną masą przestrzeń

limfatyczna. Wyróżnia się dwa typy włókien intrafuzalnych — szersze z jądrami zgrupowanymi w części równikowej włókna, tzw. „bag” i węższe, których jądra ułożone są linijnie wzdłuż osi długiej włókna, w jego części centralnej, tzw. „chain”. Natężenie aktywności fosforylaz we włóknach typu „chain” i „bag” różni się znacznie — jest wyraźnie intensywniejsze we włóknach szerokich (ryc. 5). Aktywność dehydrogenaz i ATP-azy jest jednakowa we wszystkich włóknach, niezależnie od ich szerokości i typu rozkładu jąder. Na przekrojach poprzecznych, w części środkowej niektórych włókien znajdują się pola pozbawione aktywności enzymatycznej, odpowiadające prawdopodobnie położeniu jąder komórkowych (ryc. 5). W torebce włóknistej odczyn na dehydrogenazy jest dodatni, na fosforylasy ujemny. W otaczających wrzeciona włóknach ekstrakufalnych zróżnicowanie typów metabolicznych jeszcze nie występuje.

8 dzień — Wzorzec reakcji histochemicznej włókien intrafuzalnych nie różni się zasadniczo od obrazu obserwowanego w okresie poprzednim. Jedynym odchyleniem jest pojawienie się dyskretnych różnic w aktywności dehydrogenaz i ATP-azy pomiędzy poszczególnymi włóknami mięśniowymi wrzecion. Liczne włókna ekstrakufalne występują nadal w postaci miotuby; w sąsiedztwie wrzecion spotyka się jednak głównie włókna mięśniowe dojrzałe.

10—14 dzień — Włókna ekstrakufalne są już zróżnicowane na typy metaboliczne. We wrzecionach występuje nieco większa liczba włókien mięśniowych (4—6), a ich rozmiary zmniejszają się w porównaniu do stadiów wcześniejszych, zbliżając się do rozmiarów włókien ekstrakufalnych. Odczyn na fosforylasy jest intensywny we włóknach szerokich, a słabszy we włóknach wąskich (ryc. 6 i 7). Aktywność dehydrogenaz i ATP-azy jest nadal słabo zróżnicowana (ryc. 8).

20 dzień — Włókna intrafuzalne są wyraźnie zróżnicowane na dwa typy metaboliczne: szerokie o wysokiej aktywności fosforylaz i umiarkowanej aktywności dehydrogenaz i ATP-azy oraz wąskie, w których aktywność enzymów kształtuje się odwrotnie. Torebka łącznotkankowa wykazuje ujemny odczyn na fosforylasy i słabą aktywność dehydrogenaz. Odczyny histochemiczne w przestrzeni limfatycznej są ujemne. Obraz ten odpowiada spotykanemu u zwierząt dojrzałych.

Aktywność ACHE w płytkach ruchowych rozwijających się mięśni u zwierząt napromienianych

5 dzień — W 24 godziny po napromienianiu struktura płytek ruchowych nie różni się od obserwowanej w tym okresie u zwierząt nienapromienianych. Jednakże odczyn histochemiczny zarówno w płytkach jak i we włóknach nerwowych wykazuje znaczną nierównomierność inten-

sywności. Obok płytek o wysokiej aktywności, wyższej od spotykanej w normie, spotyka się również takie, których kontury są ledwie zaznaczone słabą aktywnością ACHE (ryc. 2).

8 dzień — Po upływie 96 godzin od napromieniania utrzymuje się nadal wyraźna nierównomierność odczynu w poszczególnych płytkach.

10—20 dzień — Obraz aktywności ACHE nie różni się od spotykanego u zwierząt nienapromienianych w analogicznych okresach rozwoju. Dotyczy to zarówno płytek ruchowych włókien ekstrakfuzalnych jak i intrakfuzalnych (ryc. 10).

*Aktywność enzymów we wrzecionach mięśniowych w toku
rozwoju mięśni zwierząt napromienianych*

5 dzień — Liczba włókien intrakfuzalnych pozostaje bez zmian. Aktywność fosforylaz w pojedynczych włóknach mięśniowych wrzeciona, podobnie jak u zwierząt nienapromienianych jest zróżnicowana, przy całkowicie niezróżnicowanej aktywności dehydrogenaz.

8 dzień — W przeciwieństwie do zwierząt nienapromienianych, liczne włókna ekstrakfuzalne położone w otoczeniu wrzecion mięśniowych znajdują się jeszcze w stadium miotuby. Aktywność fosforylaz włókien intrakfuzalnych bywa często obniżona w porównaniu do grupy kontrolnej.

10—14 dzień — W licznych wrzecionach aktywność fosforylaz włókien intrakfuzalnych jest wyraźnie obniżona, co prowadzi do zatarcia ich zróżnicowania metabolicznego (ryc. 9). Aktywność dehydrogenaz nie wykazuje różnic w porównaniu z grupą zwierząt nienapromienianych.

20 dzień — Obraz histochemiczny odpowiada spotykanemu w tym okresie u zwierząt nienapromienianych (ryc. 11).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

W okresie rozwoju noworodków szczurzych, obejmującym pierwsze trzy tygodnie życia pozapłodowego obserwowano kolejne stadia dojrzewania strukturalnego płytki ruchowej ekstra- i intrakfuzalnych włókien mięśniowych. Wyraziło się ono w przekształceniu prostych struktur płytkowych obserwowanych w pierwszych dniach życia (1—5 dzień) w typową, charakterystyczną dla mięśni dojrzałych bogato rozgałęzioną, wielosegmentową płytkę ruchową. Najwcześniejsze objawy segmentacji, w formie „perforacji” i pofałdowania prostej płytki ruchowej obserwowano od 8 dnia życia noworodka. W 20 dniu życia wszystkie płytki ruchowe wykazywały cechy charakterystyczne dla płytek spotykanych w mięśniach zwierząt dorosłych. Zwraca uwagę fakt, że już w stadium płytki prostej, wykazywały one wysoką aktywność ACHE, utrzymującą się w stadium płytki strukturalnie zróżnicowanej. Jediną zmianą histoche-

miczną w aktywności ACHE było stopniowe zmniejszanie się aż do zupełnego zaniku aktywności enzymatycznej we włóknach nerwowych obserwowane w miarę strukturalnego zróżnicowania płytki. Być może zanik ten związany był z zakończeniem mielinizacji włókien (Teräväinen 1968). Tym bardziej, że inkubacja z dodatkiem fizostygminy wykazywała niezupełny zanik odczynu histochemicznego we włóknach nerwowych, przy jego całkowitym zniesieniu w płytkach. Wskazywać to może na występowanie w nich aktywności nieswoistej CHE, czynnej w okresie mielinizacji.

Aktywność ACHE wewnątrz wrzecion mięśniowych występowała tylko w ich okolicy biegunowej, w miejscu gdzie znajdują się płytki ruchowe (Nakajima i wsp. 1968, Mayr 1969). Tym też zapewne należałoby tłumaczyć rzadkie występowanie aktywności ACHE w naszym materiale. Nieliczne płytki ruchowe włókien intrafuzalnych nie wykazywały różnic strukturalnych i enzymatycznych w stosunku do płytek włókien ekstrakfuzalnych.

Struktura wrzecion mięśniowych w obserwowanym okresie rozwoju nie ulegała istotnym zmianom. Już w najwcześniejszych okresach rozwoju (1 dzień życia) składały się one, podobnie jak i dojrzałe wrzeciona, z pęczka włókien intrafuzalnych otoczonych przestrzenią limfatyczną i włóknistą torebką łącznotkankową. W toku rozwoju zwiększała się liczba włókien mięśniowych we wrzecionach i zmniejszały się ich rozmiary.

Zróżnicowanie aktywności fosforylaz włókien intrafuzalnych wyprzedzało nieco w czasie zróżnicowanie aktywności enzymów oksydacyjno-redukcyjnych — była ona wyższa we włóknach szerokich typu „bag” już w pierwszym dniu życia szczura, podczas gdy zróżnicowanie aktywności dehydrogenaz pojawiało się dopiero 8—10 dniu życia. Podobnie zachowywała się aktywność ATP-azy. Dopiero więc od 8—10 dnia życia szczura można było stwierdzić cechy różnicowania metabolicznego włókien intrafuzalnych. U szczurów 20-dniowych obraz histochemiczny wrzecion odpowiadał w przybliżeniu stosunkom spotykanym u osobników dojrzałych, to znaczy można było wyodrębnić dwie odmiany metaboliczne intrafuzalnych włókien mięśniowych. Badania histochemiczne prowadzone na różnych gatunkach zwierząt pozwalają przypuszczać, że typy metaboliczne włókien intrafuzalnych odpowiadają typom włókien ekstrakfuzalnych. Liczba wyodrębnionych typów zależy od gatunku badanego zwierzęcia (Nyström 1968, Nakajima i wsp. 1968, Dorn 1968, Anda 1968), a częściowo od liczby i rodzaju enzymów wg których różnicowano typy włókien (Kugelberg, Edstrom 1969, Romanul 1967). Poza tym histochemiczna odczynowość włókna intrafuzalnego jest inna w jego części równikowej, bogatej w mitochondria, a uboższej w miofibryle, niż na biegunach, gdzie stosunki struktur subkomórkowych są odwrotne (Nakajima i wsp. 1968, Anda 1968).

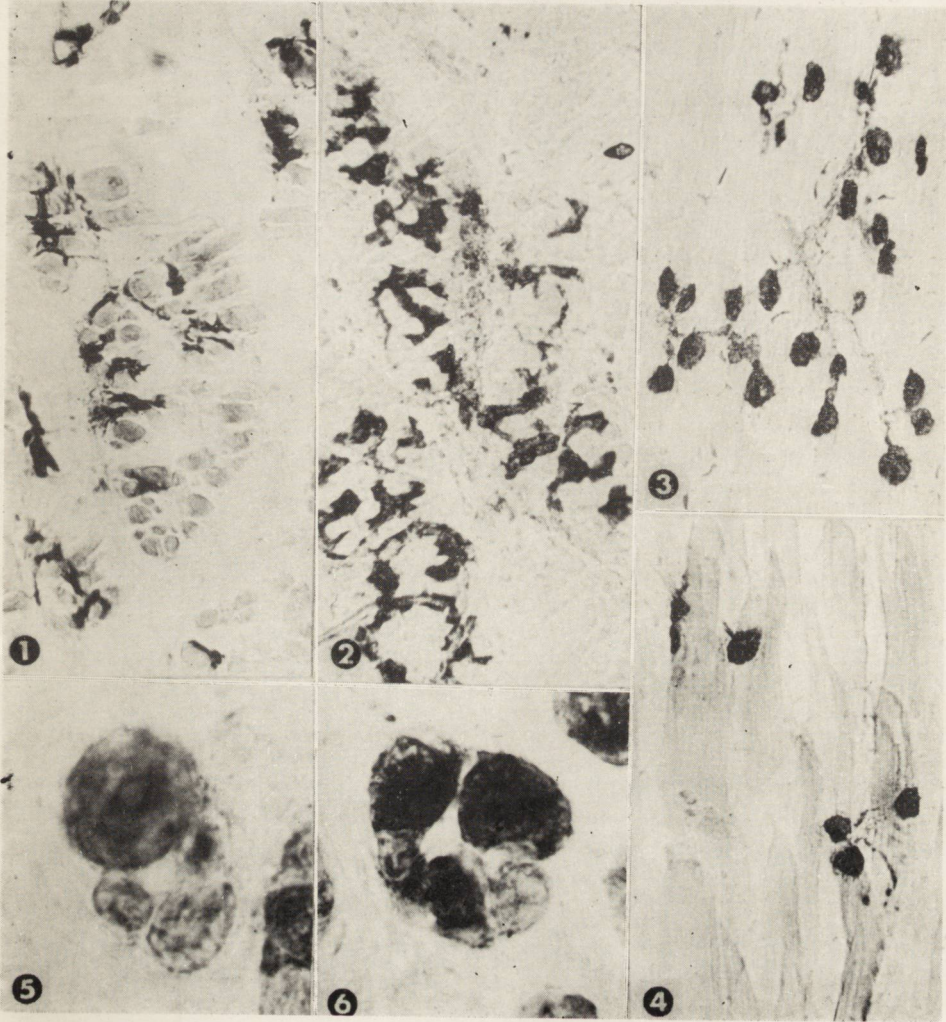
Naświetlanie szczurów promieniami gamma we wczesnym okresie ich rozwoju (4 dzień życia) prowadziło do powstawania istotnych zmian w obrazie histochemicznym zakończeń nerwowych w mięśniach. Obserwowane zmiany kształtowały się odmiennie we wrzecionach i w płytkach ruchowych.

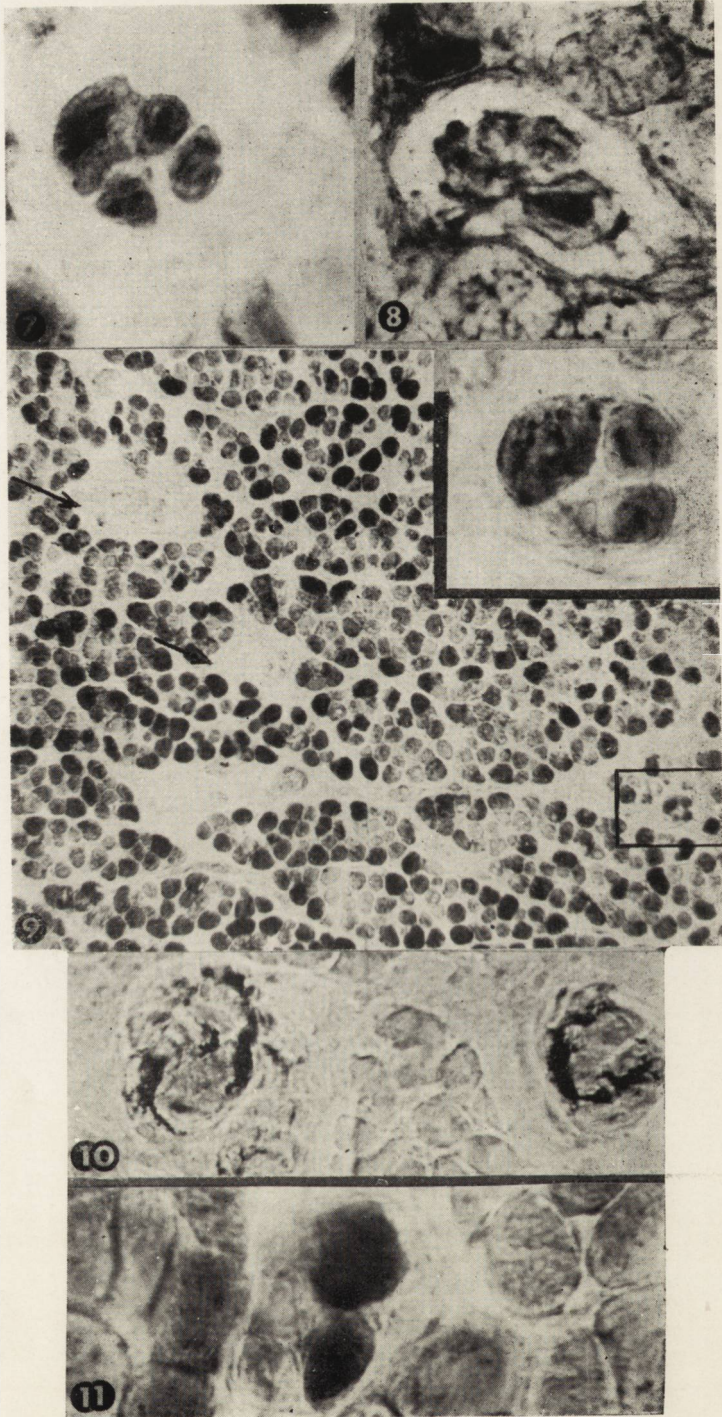
Wrzeciona mięśniowe uchodzą na ogół za struktury dość odporne na działanie czynników uszkodzających. Jak dotychczas jedyną niewątpliwą, doświadczalnie potwierdzoną przyczyną zmian patologicznych we wrzecionach jest odnerwienie. Powoduje ono różnego stopnia zanik włókien intrafuzalnych i pogrubienie torebki łącznotkankowej (Cazzato, Walton 1968). Bravo-Rey i wsp. (1970) stwierdzili, że napromienianie noworodków może spowodować zmniejszenie liczby wrzecion, czego nie udało się potwierdzić w naszym materiale. Zmiany histochemiczne we wrzecionach mięśniowych w warunkach patologicznych były do tej pory rzadko opisywane. W doświadczeniach naszych po napromienianiu wystąpił znaczny spadek aktywności fosforylaz, uchwytany po upływie 72 godzin od ekspozycji (8 dzień życia), a maksymalnie nasilony w okresie 10—14 dnia życia tj. w 6—10 dni po napromienianiu. Zmiany te całkowicie cofały się do 20 dnia życia zwierzęcia.

Zwracał ponadto uwagę fakt, że w przeciwieństwie do zwierząt grupy kontrolnej, u 10-dniowych szczurów napromienianych wrzeciona mięśniowe występowały w polach, w których obecne były liczne włókna ekstrakufalne znajdujące się w stadium miotuby. Mogłoby to wskazywać na opóźnienie, w następstwie napromieniania, procesu dojrzewania włókien ekstrakufalnych w stosunku do dojrzewania wrzecion.

Zmiany enzymatyczne płytek końcowych występowały wcześniej niż we wrzecionach mięśniowych. Już po upływie 24—72 godzin po napromienianiu w pojedynczych płytkach ruchowych obserwowano znaczny spadek aktywności ACHE. Cofał się on całkowicie w okresie między 6 i 10 dniem po ekspozycji i to zarówno w płytkach ruchowych włókien ekstra- jak i intrafuzalnych. W 20 dniu życia histochemiczny i strukturalny obraz płytek ruchowych wykazywał cechy typowe dla zwierząt rozwijających się w warunkach prawidłowych.

Zmiany stwierdzone w zakończeniach nerwowych mięśni szczurów nie nosiły cech swoistości. Świadczyły one jedynie o tym, że dojrzewające zakończenia nerwowe są równie wrażliwe na zastosowany czynnik uszkodzający jak i otaczająca je tkanka mięśniowa. Jak stwierdzono poprzednio, napromienianie noworodków szczurzych powodowało również okresowe zatrzymanie rozwoju ekstrakufalnych włókien mięśniowych w stadium miotuby (Kamieniecka, Ostenda 1969).





Spośród badanych enzymów dwa wykazały większą promienioczułość niż pozostałe, były to ACHE i fosforylazy. Enzymy te okazują szczególną labilność w stosunku do czynników uszkodzających (Maletta, Timiras 1966, Kugelberg, Edstrom 1968). Należy jednak podkreślić, że przy zastosowanej dawce promieni gamma zaburzona aktywność obu enzymów w zakończeniach nerwowych powracała do normy, a okresowy jej spadek nie wywierał widocznego wpływu na różnicowanie typów metabolicznych włókien mięśniowych, ani na dalsze dojrzewanie samych zakończeń nerwowych.

M. Ostenda, G. Strugalska

ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В НЕРВНОМЫШЕЧНЫХ ПЛАСТИНКАХ И МЫШЕЧНЫХ ВЕРЕТЕНАХ У СОЗРЕВАЮЩИХ КРЫС ПОСЛЕ ГАММА ОБЛУЧЕНИЯ

Резюме

Исследовалась локализация энзимов в нервномышечных окончаниях в созревающих мышцах крысы в нормальном развитии, а также после гамма облучения дозой 300 р на 4 день жизни. В рассматриваемый период жизни крысы (1—20 дней) нервномышечная пластинка подвергается значительной дифференцировке. Структура мышечных веретен не подвергается зато существенным изменениям, увеличивается только количество интрафузальных волокон (около 8 дня жизни) и появляется их дифференциация на два метаболических типа.

У животных, облученных, после экспозиции имеет место кратковременное падение активности (24—72 часа) ACHE в некоторых нервномышечных пластинках, а также снижение (от 72 часа) активности фосфорилаз в интрафузальных одиночных волокнах. Эти изменения исчезают на 20-тый день жизни, не производя заметного влияния на дифференциацию экстрафузальных мышечных волокон и на созревание нервномышечных окончаний.

M. Ostenda, H. Strugalska

HISTOCHEMICAL CHANGES IN END-PLATES AND IN MUSCLE SPINDLES IN DEVELOPING RAT MUSCLES FOLLOWING γ -IRRADIATION

Summary

The localisation of enzymes in nerve endings in maturing rat muscles was examined both under conditions of normal development and following γ -irradiation with a 300 r dosis, in the fourth day of life.

In the life period of rat taken into consideration, the terminal plate undergoes a significant differentiation. At this time, however, no essential changes occur in the structure of muscle spindles, with an exception for an increase of the amount of intrafusal fibres (at about the 8th day of life); the latter differentiate into 2 metabolic types.

In irradiated animals after exposition a short-time decrease (24—72 h) in the acetylcholinesterase activity occurs in some of the motor plates and — from the 72nd hour on — that in phosphorylase activity in intrafusal fibres of individual spindles. These changes retreat till the 20th day of life, without affecting both the differentiation of extrafusal muscle fibres and the maturation of nerve endings.

PIŚMIENNICTWO

1. Anda G., Rebollo M. A.: Histochemistry of the neuromuscular spindles in the chicken during development. *Acta. histochem.*, 1968, 31, 287—295.
2. Barka T., Anderson P.: Histochemistry. Theory. Practice. Bibliography. Harper and Rev. New York 1965.
3. Bravo-Rey M. C., Yamazaki J. N., Eldred E., Maier A.: Ionizing irradiation on the development of the muscle spindles. *Exp. Neurol.*, 1970, 25/4, 596—602.
4. Cazzato G., Walton J. N.: The pathology of the muscle spindle A study of biopsy material in various muscular and neuromuscular diseases. *J. Neurol., Sci.*, 1968, 7, 1, 15—70.
5. Dorn A.: Enzymhistochemische Befunde an Muskelspindeln. *Acta Histochem.*, 1968, 31, 14—23.
6. Godlewski H. G.: Are active and inactive phosphorylases histochemically distinguishable? *J. Histochem. Cytochem.*, 1963, 11, 108—112.
7. Gerebtzoff M. A.: Recherches histochimiques sur les acetylcholine et choline estérases. *Acta Anat.*, 1953, 19, 366—379.
8. Kamieniecka Z., Ostenda M.: Histochemical investigations on maturation of rats skeletal muscles after whole-body gamma irradiation at 4th day of life. *J. Neurol. Sci.*, 1969, 9, 347—359.
9. Kugelberg E., Edström L.: Differential histochemical effects of muscle contraction on phosphorylase and glycogen in various types of fibres: relation to fatigue. *J. Neurol. Neurosurg. Psych.*, 1968, 31, 415—423.
10. Maletta G. J., Timiras P. S.: Acetyl- and butyrylcholinesterase activity of selected brain areas in developing rats after neonatal X-irradiation. *J. Neurochem.*, 1966, 13, 2, 75—84.
11. Mayr R.: Untersuchungen an isolierten Muskelspindeln der Ratte nach Cholinesterasedarstellung und Sudanschwarz-Färbung. *Z. Zellforsch.*, 1969, 93, 594—606.
12. Nakajima Y., Shantha T. R., Bourne G. H.: Enzyme histochemical studies on the muscle spindle. *Histochemie*, 1968, 16, 1—8.
13. Nyström B.: Histochemical studies of end-plate bound esterases in „slow-red” and „fast-white” cat muscles during postnatal development. *Acta Neurol. Scandinav.*, 1968, 44, 295—318.
14. Padykula H. A., Herman E.: The specificity of the histochemical methods for adenosine triphosphatase. *J. Histochem., Cytochem.*, 1955, 3, 170—195.
15. Romanul F. C. A., Van Der Meulen J. P.: Slow and fast muscles after cross innervation: Enzymatic and physiological changes. *Arch. Neurol.*, 1967, 17, 387—402.
16. Teräväinen H.: Development of the myoneural junction in the rat. *Z. Zellforsch.*, 1968, 87, 249—265.

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

PODPISY POD RYCINY

Ryc. 1. Pasma płytek ruchowych w mięśniu szczura 5-dniowego. Aktywność ACHE jest wysoka w płytkach końcowych i w pniach nerwowych zaopatrujących płytki ruchowe. Pow. 450 \times . Met. ACHE.

Fig. 1. The muscle of 5 days rat. Numerous end-plates are visible. The ACHE activity is high in end-plates and in nerve trunks. ACHE \times 450.

Ryc. 2. Pasma płytek ruchowych w mięśniu szczura 5-dniowego napromienionego w 4 dniu życia dawką 300 r. Widocznych jest kilka płytek o aktywności bardzo niskiej, zaznaczonej jedynie ziarnistościami. Pow. 450 \times . Met. ACHE.

Fig. 2. The muscle of 5 days rat whole body irradiated at 4th day of life with 300 r gamma ray. In some end-plates activity is decreased. AChE \times 450.

Ryc. 3. Pasma płytek ruchowych w mięśniu szczura 14-dniowego. Pojawiają się płytki z „perforacją” w części środkowej. Aktywność w pniach nerwowych jest nieco niższa niż w płytkach końcowych. Pow. \times 450. Met. ACHE.

Fig. 3. The muscle of 14 days rat. The end-plates with high enzymes activity; in nerve trunks the activity is moderate. In some end-plates the „perforation” in the central part is visible. AChE \times 450.

Ryc. 4. Pasma płytek ruchowych w mięśniu szczura 20-dniowego. Jedynie ślad aktywności jest widoczny w pniach nerwowych. Pow. 450 \times . Met. ACHE.

Fig. 4. The muscle of 20 days rat. The enzyme activity is high in end-plates, in the nerve trunk it is almost absent. AChE \times 450.

Ryc. 5. Wrzeciona mięśniowe w mięśniu szczura 3-dniowego, włókna intrafuzalne różnią się wielkością i natężeniem odczynu na fosforylasy. W części środkowej widoczne jest blade pole prawdopodobnie mieści się tu jądro. Pow. 850 \times . F a + b.

Fig. 5. The muscle of 3 days rat. Muscle spindle. The enzyme activity is differentiated. In the central part of intrafusal fibre pale area is visible perhaps the site of the nucleus. Ph a + b \times 850.

Ryc. 6. Mięsień szczura 10-dniowego. Wielkość włókien intrafuzalnych zbliżona do ekstrafuzalnych — odczyn na fosforylasy zróżnicowany. Pow. 850 \times F a + b.

Fig. 6. The muscle of 10 days rat. The activity is already differentiated in extrafusal and intrafusal fibres. Ph a + b \times 850.

Ryc. 7. Mięsień szczura 14-dniowego. Aktywność enzymu jest we włóknach intrafuzalnych słabo zróżnicowana, ich rozmiary mniejsze niż w poprzednich okresach. Pow. 850 \times F a + b.

Fig. 7. The muscle of 14 days rat. The enzyme activity is moderate in smaller in intrafusal fibres. Ph a + b \times 850.

Ryc. 8. Szczur 14-dniowy. Aktywność DHB pozostaje jeszcze niezróżnicowana we włóknach intrafuzalnych. Pow. 850 \times .

Fig. 8. Rat 14 days old, SDH — activity of intrafusal fibres remains still undifferentiated. \times 850.

Ryc. 9. Mięsień szczura 10-dniowego napromienionego. Aktywność zróżnicowana w typach metabolicznych włókien ekstrafuzalnych tworzy mozaikę, w której znajdują się liczne włókna w stadium miotuby należące do obu typów metabolicznych. W kilku wrzecionach nastąpił znaczny spadek aktywności (strzałki). W polu ujętym w prostokąt i powiększonym (850 \times) znajduje się wrzeciono o zachowanej aktywności. Pow. 430 \times . Met. F a + b.

Fig. 9. The muscle of 10 days rat, irradiated. The differentiated enzyme activity forms checkerboard pattern in extrafusal fibres. The fibres in the stage of myotubes belong to both metabolic types (arrows). In the muscle spindles the phosphorylase activity is decreased. Ph a + b \times 430.

Ryc. 10. Wrzecziona mięśniowe w mięśniu szczura 14-dniowego napromienionego. Aktywność w płytkach ruchowych włókien intrafuzalnych jest zachowana. Pow. 850 \times . Met. ACHE.

Fig. 10. The muscle of 14 days rat, irradiated. The enzyme activity in muscle spindles is as in control animals. AChE \times 850.

Ryc. 11. Wrzeczono mięśniowe w mięśniu szczura 20-dniowego napromienionego. Aktywność enzymu jest wysoka, zróżnicowana we włóknach intrafuzalnych — obraz odpowiada spotykanemu u osobników dorosłych w normie. Pow. 850 \times . Met. Fa + b.

Fig. 11. The muscle of the 20 days rat, irradiated. The enzyme activity is reciprocal in extrafusal and intrafusal fibres. Localization of activity as in control animals. Ph a + b \times 850.

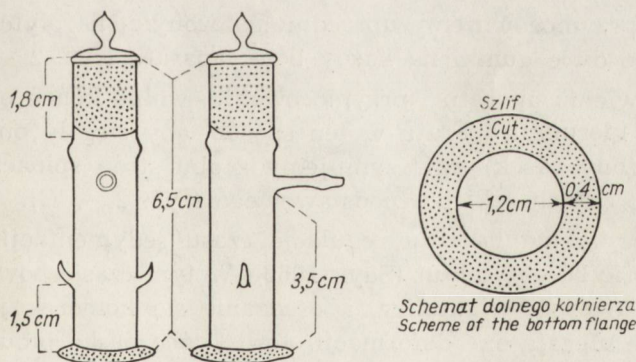
STANISŁAW STEFANKO, HANNA SZYDŁOWSKA, ELŻBIETA JUNIKIEWICZ

BADANIE CYTOLOGICZNE PŁYNU MÓZGOWO-RDZENIOWEGO UPROSZCZONĄ METODĄ SEDYMENTACYJNĄ

Pracownia Neuropatologii Instytutu Neurologii AM, w Krakowie
Kierownik: dr hab. S. Stefanko

Pomyślne wyniki, które uzyskaliśmy stosując w badaniach cytologicznych płynu mózgowo-rdzeniowego prosty aparat szklany (Stefanko 1970), zamiast kosztownego aparatu Sayka, skłaniają nas do przedstawienia szczegółów postępowania technicznego, które mogą mieć istotne znaczenie. Głównym naszym celem było dostosowanie techniki badania do możliwości terenowych placówek Służby Zdrowia, przy czym staraliśmy się, aby metodę tę można było stosować w rutynowych badaniach płynu mózgowo-rdzeniowego.

Dla przypomnienia podajemy opis używanego przez nas aparatu do sedymentacji. Wymiary aparatu zostały nieznacznie zmienione w stosunku do pierwowzoru. Wysokość komory sedymentacyjnej ustalono na 6,5 cm, średnicę na 1,2 cm (Sayk 1960). Od góry aparat zamyka szklany, szlifowany korek, wysokości 1,8 cm (ryc. 1).



Ryc. 1. Aparat do sedymentacji składników morfotycznych płynu mózgowo rdzeniowego.

Fig. 1. Apparatus for sedimentation of the morphotic elements of the cerebrospinal fluid.

Na wysokości 3,5 cm odchodzi od aparatu pod kątem prostym rurka o średnicy 0,5 cm i długości 1,5 cm, którą w czasie badania zatyka się niewielką ilością waty, tak, aby powietrze dostawało się do wnętrza aparatu bez zanieczyszczeń. Dolny wylot aparatu opatrzony jest płaskim szlifowanym kołnierzem grubości około 0,1 cm, szerokości około 0,4 cm. Bolce szklane (zaczepy dla gumek aptecznych przytrzymujących aparat) są umieszczone, jak w poprzednim modelu na wysokości 1,5 cm od podstawy aparatu.

Aparat montujemy na płytce szklanej grubości 0,3—0,4 cm, szerokości 6 cm, o oszlifowanych brzegach. Długość płytki wyznacza liczba aparatów, które mogą być umieszczone równocześnie na jednej płytce (w celu jednoczesnego badania kilku próbek) (ryc. 2 i 3).

Montaż aparatu

1. Na płytkę szklaną naciągamy najpierw gumki przytrzymujące aparat (po dwie na każdy bolec aparatu), w odległości równej szerokości szkiełka podstawowego (około 2,5 cm) (ryc. 2 — A).

2. Szkiełko podstawowe układamy między gumkami, prostopadle do osi długiej płytki (ryc. 2 — B).

3. Na szkiełku podstawowym umieszczamy pasek bibuły elektroforetycznej Whatman No 1, szerokości 2,5 cm (szerokość szkiełka podstawowego), długości 28,7 cm (połowa długości arkusza bibuły Whatmana). Paski tnie się zgodnie z kierunkiem włókien bibuły. W środku paska wycięty jest okrągły otwór o średnicy 1,3 cm (o 0,1 cm większej niż wewnętrzna średnica komory sedymentacyjnej (Sayk 1960) (ryc. 2 — C).

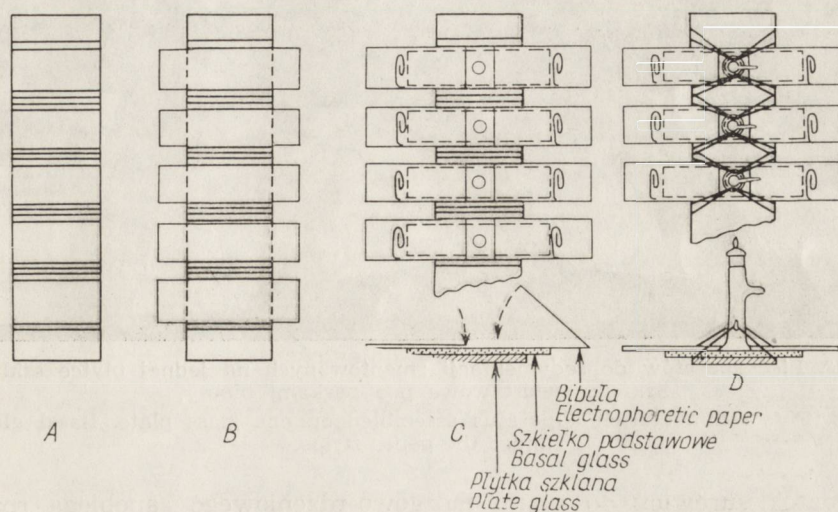
4. Na pasku bibuły ustawiamy komorę sedymentacyjną tak, aby dolny wylot rurki znajdował się dokładnie w miejscu wycięcia.

5. Aparat przymocowujemy uprzednio założonymi na płytce gumkami, zakładając po dwie gumki na każdy bolec aparatu (ryc. 2 — D).

6. Po ustawieniu aparatu i przymocowaniu, wolne końce paska bibuły zaginamy w kierunku aparatu w ten sposób, aby sięgały one podstawy aparatu. Złożony pasek przytrzymujemy z obu stron spinaczami biurowymi przy brzegach szkiełka podstawowego (ryc. 2 — C).

Złożenie paska ma na celu regulację czasu sedymentacji, który powinien wynosić 20—30 minut (Sayk 1960). W tym czasie bowiem nie zachodzą jeszcze procesy autolizy, a osadzanie się komórek jest na tyle wolne, że nie ulegają one deformacji. Jeśli końce paska bibuły dotykają podstawy aparatu, większość płynów skąpokomórkowych, o niewielkiej zawartości białka wchłaniana jest przez bibułę w czasie 17—25 minut. Rozłożenie paska bibuły na całą jego długość powoduje zwolnienie wchłaniania płynu, ponieważ zdolność chłonna pojedynczej warstwy bibuły

jest mniejsza niż warstwy podwójnej. Warstwę tę można zwielokrotnić wsuwając między dwa płatki zagiętej bibuły dodatkowe paski. Robimy to wówczas, gdy sedymentacja przebiega wyjątkowo wolno (płyny bogatomórkowe, opalizujące, o dużej zawartości białka, płyny z dużą domieszką krwi).



Ryc. 2. Schemat montowania kilku aparatów do sedymentacji na jednej płytce szklanej.

- A — gumki do przytrzymywania aparatów nałożone na płytkę.
- B — szkiełka podstawowe ułożone na płytce między nałożonymi gumkami.
- C — paski bibuły elektroforetycznej nałożone na szkiełka podstawowe, z końcami zagiętymi w kierunku wyciętego otworu i przytrzymanymi spinaczami.
- D — Ustawione aparaty, przymocowane gumkami.

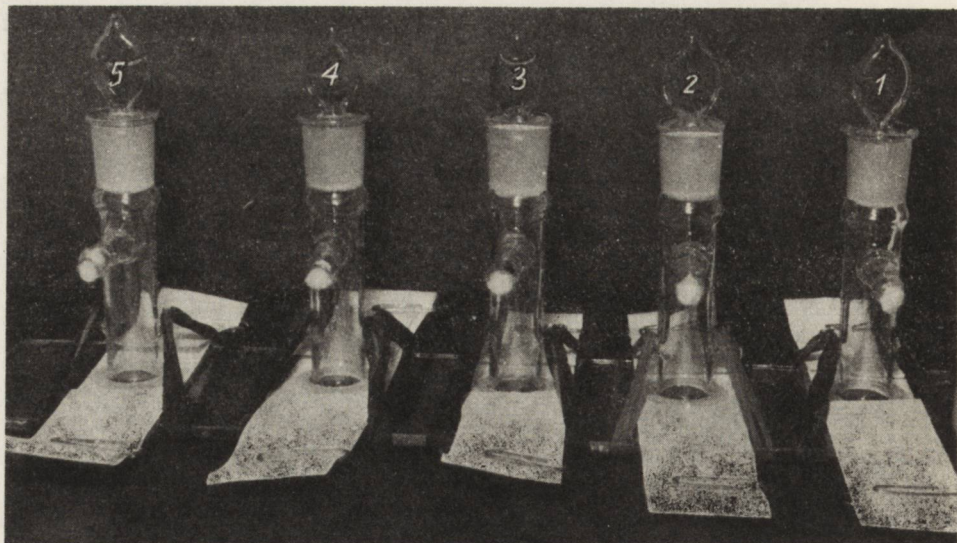
Fig. 2. Assembly scheme of a number of sedimentation apparatus, on one glass plate.

- A — Rubbers holding the apparatus, fixed to the plate.
- B — Basal glasses layed on the plate between the rubers.
- C — Electrophoretic paper strips placed on basal glasses, with the ends turned down in the direction of the hole and fixed with the clips.
- D — Assembled apparatus, fixed with the rubers.

Sedymentacja

1. Do wysterylizowanej, suchej strzykawki lekarskiej, o pojemności 1 ml pobieramy najpierw 0,4 ml surowicy krwi, a następnie 0,6 ml świeżo pobranego płynu mózgowo-rdzeniowego.

2. Po zdjęciu igły ze strzykawki zmieszany z surowicą płyn mózgowo-rdzeniowy wstrzykujemy ostrożnie do komory sedymentacyjnej. Sedymentacja rozpoczyna się od momentu napełnienia komory. W czasie sedymentacji górny otwór aparatu zamyka doszlifowany korek.



Ryc. 3. Pięć aparatów do sedymentacji zmontowanych na jednej płytce szklanej. Szkiełka podstawowe pod paskami bibuły.

Fig. 3. Five sedimentation apparatus assembled on one glass plate. Basal glasses under the paper strips.

Dodatek surowicy do płynu mózgowo-rdzeniowego zapobiega rozpadowi elementów morfotycznych płynu, ich deformacji oraz ucieczce zbyt wielkiej liczby komórek między włókna bibuły (Forster 1930). Ponadto płyn zmieszany z surowicą można przechowywać w temperaturze 0°C około 2 godzin, bez obawy rozpadu składników komórkowych, co pozwala w razie konieczności na przechowywanie i transport płynu. W naszych badaniach używaliśmy surowicy cielęcej, dostarczanej przez Zakład Surowicy i Szczepionek w Lublinie. Można jednak użyć innej surowicy zwierzęcej lub ludzkiej.

Nie stosowaliśmy natomiast białka jaja kurzego, zalecanego przez niektórych autorów, jako ochronę przed deformacją komórek (Röder, Rehm 1942); białko bowiem czopuje przestrzenie kapilarne bibuły utrudniając wchłanianie płynu.

Po całkowitym wchłonięciu płynu przez bibułę ostrożnie zdejmujemy aparat, a następnie pasek bibuły. Szkiełko podstawowe z osadzonymi komórkami pozostawiamy na wolnym powietrzu w temperaturze pokojowej, póki nie wyschnie. Czas ten jest krótki i wynosi 3—5 minut. Osady z płynów obficie komórkowych schną nieco dłużej.

Wysuszony osad barwimy rutynowo metodą May-Grünwalda Giemsy, podobnie jak rozmazy krwi (Romeis 1948). W razie potrzeby można stosować również inne metody barwienia.

Po zabarwieniu preparat suszymy na powietrzu i zamykamy w balsamie kanadyjskim, rozpuszczonym w chloroformie (nie w ksylenie!). Preparaty zachowują zabarwienie przez długi okres czasu.

Obrazy cytologiczne uzyskane opisaną metodą są bardzo przejrzyste. Prostota metody umożliwia stosowanie jej nawet w słabo wyposażonych laboratoriach szpitalnych.

C. Стефанко, Г. Шыдловска, Е. Юникевич

ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СПИННО-МОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ УПРОЩЕННЫМ МЕТОДОМ СЕДИМЕНТАЦИИ

Резюме

Представлен метод цитологического исследования спинно-мозговой жидкости. В исследованиях пользовались аппаратом собственной конструкции. Работа аппарата основана на том же принципе, что и работа седиментационной камеры Сайка. В качестве стабилизатора клеточных элементов в жидкости применялась примесь сыворотки животных. Окрашивания проводились по методу Май Грюнвальда/Гиемзы.

Представленный метод характеризуется простотой и дает возможность проводить обычные цитологические исследования спинно-мозговой жидкости в средне оснащенных аналитических лабораториях.

S. Stefanko, H. Szydłowska, E. Junikiewicz

CYTOLOGIC EXAMINATION OF THE CEREBROSPINAL FLUID WITH A SIMPLIFIED SEDIMENTATION METHOD

Summary

A method is presented for cytologic examination of the cerebrospinal fluid. A simple instrument of our own construction was used in these investigations. Operation of this instrument is based on the same principle as that of the Sayk sedimentation chamber. An admixture of animal serum was applied as a stabilizer for the cellular elements in the fluid. The preparations were stained with the May-Grunwald/Giemsa method.

Characteristic for the present method is its simplicity, which enables average analytical laboratory to carry out routine cytologic examinations of the cerebrospinal fluid.

PIŚMIENNICTWO

1. Forster E.: Die Bedeutung des Liquorzellbildes für die Diagnostik der Tumoren des Zentralnervensystems und die vom Plexus und den Meningen ausgehenden Tumoren. *Z. f. d. ges. Neur. u. Psych.*, 1930, 126, 683—695.
2. Röder F., Rehm O.: Die Cerebrospinalflüssigkeit. Springer Verl., Berlin 1942.
3. Romeis B.: Mikroskopische Technik. München, 1948.
4. Sayk J.: Cytologie der cerebrospinalflüssigkeit. Ver. G. Fischer Verl., Jena 1960.
5. Stefanko S.: Uproszczona metoda uzyskiwania osadu do badań cytologicznych płynu mózgowo-rdzeniowego. *Przegląd Metod. AM, Kraków* 1970.

Adres autora: Pracownia Neuropatologii, Instytut Neurologii AM, Kraków, ul. Botaniczna 3.

ASSOCIATION INTERNATIONALE
DE CYBERNÉTIQUE
A. S. B. L.

COMMUNIQUE

Le VIe Congrès International de Cybernétique, organisé à Namur (Belgique) du 7 au 11 septembre 1970, par l'Association Internationale de Cybernétique a connu un important succès. 175 conférences et communications figuront à son programme. Leurs auteurs appartiennent à l'élite scientifique de 31 pays.

Ce succès est la consécration de l'effort déployé par l'Association depuis sa fondation en 1956, en vue de répandre la pensée cybernétique.

L'Association Internationale de Cybernétique a publié les Actes des cinq congrès précédents: 1956, 1958, 1961, 1964 et 1967. Elle édite depuis 1958 une revue trimestrielle: „Cybernetica”.

La souscription aux Actes du VIe Congrès est ouverte.

Il est rappelé que l'Association Internationale de Cybernétique est ouverte à tous ceux qui s'intéressent au développement et aux applications de la Cybernétique. En y adhérant, ils participent à un courant de pensée qui s'inscrit dans la perspective de la science moderne.

Ceux qui souhaitent devenir membres de l'Association Internationale de Cybernétique, se procurer les résumés des communications du VIe Congrès, souscrire aux Actes de ce VIe Congrès, ou se procurer les publications antérieures, sont priés de s'adresser au siège de l'Association Internationale de Cybernétique, Palais des Expositions, Place André Rijckmans, B-5000 Namur (Belgique).

T R E Ś C

M. Wender, Z. Adamczewska, J. Dymecki, J. Kulczycki: Cerebral lipids in amaurotic idiocy	189
M. Mossakowski, I. Zelman, T. Majdecki: The problem of coexistence of neuronal lipid storage diseases and various forms of leucodystrophies	201
M. Marciniak, M. Dąbbska, B. Wiszczor-Adamczyk: Zmiany neuropatologiczne w zespole napadów skłonów	211
A. Taraszewska, H. Lewicka-Wysocka, B. Nozdryn-Plotnicki: Analiza neuropatologiczna zmian u psów starczych z nowotworami narządów wewnętrznych	219
J. Karkos: Obraz morfologiczny przerzutu rakowiaka jelita biodrowego do mózdzku	231
K. Domańska-Janik, B. Broniszewska-Ardelt: Effect of potassium on glucose metabolism of guinea pig and rat brain slices in vitro	239
M. Rossowska: Wpływ niedotlenienia zwierząt na procesy oksydacyjnej fosforylacji i aktywność dehydrogenazy glutaminianowej w ośrodkowym układzie nerwowym	247
J. Łebkowski, Z. Mnich, E. Trembaczowski, Z. Wiśniewska: Oddziaływanie mocznika na rozkład radioaktywności ³² P-ortofosforanu w obrzękowo zmienionej tkance mózgowej	257
M. Ostenda, H. Strugalska: Zmiany histochemiczne w płytkach końcowych i wrzecionach mięśniowych u dojrzewających szczurów po napromienieniu gamma	263
S. Stefanko, H. Szydłowska, E. Junikiewicz: Badanie cytologiczne płynu mózgowo-rdzeniowego uproszczoną metodą sedymentacyjną	273

СО Д Е Р Ж А Н И Е

M. Вендер, З. Адамчевска, Е. Дымецки, Е. Кульчицки: Мозговые липиды в Amaurotic Idiocy	189
M. Е. Моссаковский, И. В. Зельман, Т. Майдецкий: Вопрос сосуществования нейролипидозов с разными видами лейкодистрофии	201
M. Мартиняк, М. Домбска, Б. Вишчор-Адамчик: Нейропатологические изменения в симптоме дистонических приступов	211
A. Тарашевска, Г. Левицка-Высоцка, Б. Ноздрын-Плотницки: Невропатологический анализ изменений у престарелых собак с опухолями внутренних органов	219
Ю. Каркос: Морфологическая картина метастаза ороговевшего рака подвздошной кишки в мозжечок	231
K. Доманьска-Яник, Б. Бронишевска-Ардельт: Влияние калия на метаболизм глюкозы мозговых срезов морских свинок и крыс in vitro	239
M. Россовска: Влияние гипоксии животных на процессы оксидативной фосфорилиции и активность дегидрогеназы глютаминовой кислоты в центральной нервной системе	247
E. Лэбковский, З. Мних, Э. Трэмбачовски, З. Висьневска: Исследование влияния мочевины на размещение радиоактивности ³² -р-ортофосфата в отечной мозговой ткани кошек	257
M. Остенда, Г. Стругальска: Гистохимические изменения в нервномышечных пластинках и мышечных веретенах у созревающих крыс после гамма-облучения	263
C. Стефанко, Г. Шидловска, Е. Юникевич: Цитологическое исследование спинно-мозговой жидкости упрощенным методом седиментации	273

CONTENTS

M. Wender, Z. Adamczewska, J. Dymecki, J. Kulczycki: Cerebral lipids in amaurotic idiocy	189
M. Mossakowski, I. Zelman, T. Majdecki: The problem of coexistence of neuronal lipid storage diseases and various forms of leucodystrophies	201
M. Marciniak, M. Dąbska, B. Wiszczor-Adamczyk: Neuropathologic changes in the syndrom of infantile spasm	211
A. Taraszewska, H. Lewicka-Wysocka, B. Nozdryn-Plotnicki: Neuropathological analysis of changes in aged dogs with tumours of internal organs	219
J. Karkos: A morphologic picture of the iliac intestine carcinoid metastasis to the cerebellum	231
K. Domańska-Janik, B. Broniszewska-Ardelt: Effect of potassium on glucose metabolism of guinea pig and rat brain slices in vitro	239
M. Rossowska: Effect of anoxia on the oxidative phosphorylation processes and on glutamate dehydrogenase activity in the central nervous system	247
J. Łebkowski, Z. Mnich, E. Trembaczowski, Z. Wiśniewska: The effect of urea upon the distribution of the radioactivity of ^{32}P -orthophosphate within the oedematous brain tissue	257
M. Ostenda, H. Strugalska: Histochemical changes in end-plates and in muscle spindles in developing rat muscles following γ -irradiation	263
S. Stefanko, H. Szydłowska, E. Junikiewicz: Cytologic examination of the cerebrospinal fluid with a simplified sedimentation method	273

Cena zł 25.—

WARUNKI PRENUMERATY

Cena prenumeraty krajowej:

rocznie — zł 100,—

półrocznie — zł 50,—

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

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

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

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

Indeks: 36910