

eqz 2

STOWARZYSZENIE NEUROPATOLOGÓW POLSKICH



NEUROPATOLOGIA POLSKA

TOM IX

1971

ZESZ. 4

WARSZAWA

NEUROPATHOLOGIA POLSKA

KWARTALNIK

Tom IX

Październik—Grudzień 1971

Nr 4

KOMITET REDAKCYJNY

Maria Dąbbska (Warszawa), *Jerzy Dymecki* (Pruszków), *Andrzej Głuszczyk* (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. Graszczekow* (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

ALICJA PRONASZKO-KURCZYŃSKA, MIROŚLAW J. MOSSAKOWSKI,
MARIA OSTENDA, JAN KORTHALS

ZMIANY ZAWARTOŚCI GLIKOGENU W MÓZGU W DOŚWIADCZALNEJ ISCHEMII *)

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

Odkładanie się glikogenu w ośrodkowym układzie nerwowym w warunkach różnego typu uszkodzeń jest zjawiskiem pospolitym. Nieprawidłowe złogi wielocukru, stanowiące wyraz zaburzeń metabolizmu glikozy występują zazwyczaj albo w otoczeniu ognisk nieodwracalnie uszkodzonej tkanki nerwowej, np. dookoła ognisk martwicy niezależnie od jej pochodzenia (Shimizu, Hamuro 1958, Klatzo i wsp. 1961, 1970, Guth, Watson 1968), lub w tkance nie wykazującej w ogóle histologicznych cech uszkodzenia (Miquel i wsp. 1963, Mossakowski i wsp. 1968, Long i wsp. 1971, Mossakowski, Zelman 1971). Odkładanie się przeto histochemicznie wykrywalnego glikogenu może być traktowane jako morfologiczny wykładnik zaburzeń metabolicznych tkanki nerwowej i jej uszkodzeń leżących poniżej progu wykrywalności przy użyciu rutynowych metod histologicznych.

Spośród różnorodnych czynników uszkadzających, prowadzących do gromadzenia się glikogenu w ośrodkowym układzie nerwowym w warunkach doświadczalnych, dużą grupę stanowią czynniki, których cechą wspólną jest ograniczenie dopływu tlenu do tkanki nerwowej. Mossakowski i wsp. (1968) opisali obfite nagromadzenie się glikogenu w warunkach okołoporodowej asfiksji noworodków małp. Na to samo zjawisko, w następstwie umiarkowanego niedokrwienia ośrodkowego układu nerwowego, zwracają uwagę Long i wsp. (1971) oraz Ibrahim i wsp. (1970). Ci sami autorzy obserwowali gromadzenie się glikogenu w tkance nerwowej w następstwie doświadczalnej anoksji prostej. Crowell i wsp. (cyt. za Klatzo i wsp. 1970) stwierdzali analogiczne zmiany w warunkach przejściowego niedokrwienia mózgu u małp.

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

Większość badań, poza doświadczeniami Rivery i wsp. (1970) dotyczącymi modelu asfiksji okołoporodowej, była prowadzona metodami histochemicznymi, z natury rzeczy ograniczającymi możliwość ilościowej oceny zjawiska.

Celem podjętych przez nas badań była ilościowa analiza zmian w zawartości glikogenu w mózgu szczurów w warunkach jego częściowego niedokrwienia oraz próba oceny ich dynamiki w czasie.

MATERIAŁ I METODY

Badania prowadzono na 10-tygodniowych szczurach, rasy Wistar, obu płci. Zwierzętom doświadczalnym w narkozie eterowej podwiązywano obustronnie tętnice szyjne wspólne. Zwierzęta grupy kontrolnej poddawano wyłącznie narkozie eterowej, przez okres czasu odpowiadający trwaniu zabiegu operacyjnego u zwierząt doświadczalnych*).

Zwierzęta obu grup zabijano przez dekapitację po upływie 6, 12, 24, 48, 72 i 120 godzin od podwiązania tętnic szyjnych lub od zastosowania narkozy, a następnie pobierano mózg do badań biochemicznych lub histologicznych i histochemicznych.

Dodatkową grupę kontrolną stanowiły szczury nie poddane żadnemu zabiegowi doświadczalnemu.

Badania biochemiczne

Do oznaczeń glikogenu pobierano obie półkule mózgowe. Tkanekę zamrażano natychmiast w mieszaninie alkoholu metylowego i suchego lodu (-70°C). Czas pobierania tkanki od momentu dekapitacji do chwili zamrożenia nie przekraczał 1,5 minuty. Zamrożone części mózgu ważono na wadze torsyjnej i wrzucano do probówek z wrzącym 30% KOH (3 ml). Tkanekę mózgową hydrolizowano we wrzącej łaźni wodnej przez 45 minut. Następnie do każdej probówki dodawano 3,6 ml etanolu celem wytrącenia z płynu glikogenu i pozostawiano w chłodni do następnego dnia. Glikogen odwirowywano. Osad glikogenu zawieszano w mieszaninie chloroformu i alkoholu metylowego i ogrzewano w ultratermostacie w 50°C (5 min.), po czym ponownie odwirowywano. Ekstrakcję wykonywano trzy razy. Oczyszczony glikogen zawieszano w 1 N HCL i hydro-

*) W doświadczeniach wstępnych stwierdzono, że nie ma różnic w zawartości glikogenu w mózgu między zwierzętami poddanymi wyłącznie działaniu narkozy eterowej a szczurami, u których wykonano zabieg rzekomy, polegający na nacięciu skóry szyi i wyłonieniu obustronnym pęczka naczyniowo-nerwowego, bez podwiązania tętnic szyjnych.

lizowano przez 3 godziny we wrzącej łaźni wodnej. Zhydrolizowany roztwór glikogenu zobojęnianiano i uzupełniano H₂O do 7 ml. Oznaczanie glukozy wykonywano metodą kolorymetryczną wg Nelsona (1944). Natężenie barwy odczytano na fotometrze spektralnym „Spekol” przy długości fali 540 m μ . Stężenie glukozy odczytywano z krzywej wzorcowej wykonanej z 10, 20, 40, 80 i 100 μ g glukozy. Roztwór wyjściowy wynosił 100 μ g glukozy w 1 ml. Wyniki zawartości glikogenu wyrażano w mg glukozy w przeliczeniu na 100 g tkanki mózgowej. Obliczenia statystyczne wykonano wg testu Studenta.

Badania morfologiczne

Badania morfologiczne, obejmujące rutynowe barwienie skrawków hematoksyliną i eozyną oraz histochemiczne oznaczanie glikogenu wykonano na 18 mózgach szczurów, w tym 8 doświadczalnych i 10 kontrolnych.

Mózg po wydobyciu z czaszki dzielono dwoma cięciami w płaszczyźnie czołowej (1 — przez płaty czołowe na wysokości guza popielatego, 2 — do tyłu od ciał suteczkowatych) na bloki, które utrwalano w płynie Rossmanna, zatapiano w parafinie i skrawano na mikrotomie na skrawki grubości 10 μ .

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

Badanie mikroskopowo-elektronowe

Do badań mikroskopowo-elektronowych użyto 3 szczury (2 po podwiązaniu tętnic szyjnych wspólnych i 1 poddany wyłącznie działaniu narkozy eterowej) z 48-godzinnym przeżyciem po zabiegu. Zwierzęta uśmiercano przez dekapitację po czym szybko otwierano czaszkę i pobierano drobne wycinki tkanki z okolicy czołowo-ciemieniowej obu półkul mózgu. Pobrany materiał utrwalano przez 2 godziny w 4% roztworze aldehydu glutarowego w buforze fosforanowym o pH 7,3, a następnie przez 1 godzinę w 2% czterotlenku osmu. Tkanekę odwadniano w etanolu o wzrastającym stężeniu i zatapiano w Eponie 812. Materiał krojono na ultramikrotomie f-my Reichert. Ultracienkie skrawki podbarwiane octanem uranylu i cytrynianem ołowiu oglądano w mikroskopie elektronowym JEM-7A.

WYNIKI

Obserwacje kliniczne

Żadne ze zwierząt doświadczalnych po wyjściu z narkozy nie zdradzało objawów świadczących o uszkodzeniu układu nerwowego, poza obecnością u większości z nich obustronnej ptozy, której wystąpienie wiązano z uszkodzeniem współczulnych splotów tętniczo-szyjnych w czasie podwiązania *a. carotis*.

Oznaczenia ilościowe

Wyniki oznaczeń glikogenu zarówno grupy zwierząt z podwiązanymi obustronnie tętnicami, jak i grupy zwierząt kontrolnych poddanych narkozie eterowej zestawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Zawartość glikogenu w mózгах szczurów w różnym czasie po obustronnym podwiązaniu tętnie szyjnych i zastosowaniu narkozy

Table 1. Glycogen content in brain tissue of rats, at various times following bilateral carotid arteries ligation and ether anaesthesia

Czas po zabiegu (godz.) Time following experiment (hrs)	Zawartość glikogenu (mg/100 g tkanki) Glycogen content (mg/100 g of tissue)		t	p
	zwierzęta doświadczalne (operowane) experimental animals (operated)	zwierzęta kontrolne (narkoza) control animals (anaesthetized)		
6	47,9* ± 5,2** (5)***	38,6 ± 7,5 (5)	2,3	0,1 > p > 0,05
12	55,9 ± 4,8 (7)	45,3 ± 4,6 (7)	4,2	0,02 > p > 0,01
24	53,4 ± 2,5 (5)	30,9 ± 4,0 (5)	10,7	< 0,001
48	73,0 ± 4,9 (6)	38,3 ± 3,3 (6)	14,5	< 0,001
72	70,5 ± 5,3 (5)	29,2 ± 3,7 (5)	5,4	0,02 > p > 0,01
120	63,2 ± 2,3 (4)	32,0 ± 1,7 (4)	21,8	< 0,001

*) średnia arytmetyczna
arithmetic mean

**) odchylenie standardowe
standard deviation

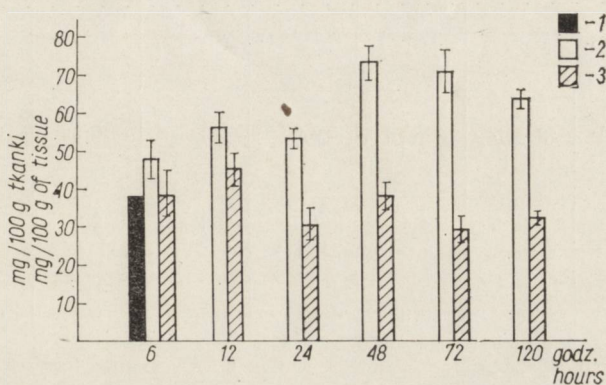
***) liczba zwierząt w grupie
number of animals

t — zmienna losowa testu Studenta
Student's test

p — prawdopodobieństwo
significance of difference

Zawartość glikogenu w mózgu u zwierząt doświadczalnych we wszystkich grupach czasowych jest wyższa od jego poziomu u zwierząt kontrolnych. W pierwszej badanej grupie czasowej tj. w 6 godz. po podwiązaniu tętnicy szyjnej wspólnej różnice w zawartości glikogenu między grupą doświadczalną, a kontrolną nie są statystycznie znamienne.

We wszystkich następnych grupach natomiast, poczynając od 12 godziny doświadczenia, różnice te są już statystycznie wysoce znamienne. Zwiększanie się zawartości glikogenu przebiega dość łagodnie (schemat 1). Maksymalny przyrost przypada w 48 godzinie doświadczenia, utrzymuje się na tym poziomie przez dalsze godziny i po upływie 120 godzin od podwiązania tętnic nadal jeszcze różni się w sposób znamieny od poziomu glikogenu grupy kontrolnej.



Schemat 1. Zawartość glikogenu w mózgach szczurów w różnym czasie po obustronnym podwiązaniu tętnic szyjnych i zastosowaniu narkozy w porównaniu ze zwierzętami nie poddanymi zabiegom doświadczalnym: 1 — zwierzęta nie poddane żadnym zabiegom doświadczalnym, 2 — zwierzęta operowane, 3 — zwierzęta poddane narkozie.

Diagram 1. Differences in glycogen content in the brain tissue of rats at various time intervals following bilateral carotid arteries ligation and ether anaesthesia, compared with that in normal animals: 1 — normal animals, 2 — operated animals, 3 — anaesthetized animals.

Poziom glikogenu w mózgach zwierząt kontrolnych ulega niewielkim wahaniom w okresie pierwszej doby po zastosowaniu narkozy eterowej w porównaniu do zawartości glikogenu w mózgach zwierząt nie poddanych żadnym zabiegom. Jednakże zmiany te w odniesieniu do poziomu wyjściowego (tabela 2) nie są statystycznie znamienne w 6 i 24 godzinie doświadczenia. Jedynie nieznaczny przyrost glikogenu, mający jednakże cechy znamienności statystycznej stwierdzono w 12 godzinie po podaniu narkozy.

Obraz morfologiczny

Obraz histologiczny mózgow zwierząt z podwiązanymi tętnicami szyjnymi nie różnił się w sposób istotny od obrazu mózgow zwierząt kontrolnych, niezależnie od czasu jaki minął od wykonania zabiegu. U jednego tylko szczura, uspiętego po upływie 120 godzin po podwiązaniu

Tabela 2. Porównanie zawartości glikogenu w mózgach szczurów nietkniętych i poddanych narkozie eterowej

Table 2. Comparison of glycogen content in the brains of normal and anaesthetized rats

Grupa zwierząt Group of animals		Zawartość glikogenu (mg/100 g tkanki) Glycogen content (mg/100 g of tissue)			t	p
Zwierzęta nietknięte Normal animals		37,9*	± 1,2**)	(6)***)	—	—
Zwierzęta podda- ne narkozie, badane po: Anaesthetized animals after:	6 godz. hrs	38,5	± 5,6	(8)	0,29	0,8 > p > 0,7
	12 godz. hrs	44,4	± 4,7	(7)	3,3	< 0,01
	24 godz. hrs	30,9	± 4	(5)	2,27	0,05 > p > 0,02

*) średnia arytmetyczna
arithmetic mean

***) odchylenie standardowe
standard deviation

***) liczba zwierząt
number of animals

t — zmienna losowa testu Studenta
Student's test

p — prawdopodobieństwo
significance of difference

tętnic szyjnych stwierdzono rozległe ognisko selektywnej martwicy ko-
ry mózgu, obejmujące jednostronnie obszar położony w zakresie una-
czynienia tętnicy środkowej mózgu.

Obraz histochemiczny

U zwierząt kontrolnych skąpe, ziarniste złoże glikogenu występowały
w komórkach wyściółki komór, w warstwie podwyściółkowej, w komór-
kach splotu naczyńnkowego, w oponach miękkich oraz w ścianach
niektórych tętnic mózgu, zwłaszcza oponowych. Obraz ten odpowiadał
sposzreganemu u zwierząt nie poddanych żadnym zabiegom doświad-
czalnym.

W grupie doświadczalnej stwierdzono występowanie obfitych, ziarnis-
tych złogów glikogenu w półkulach mózgu. Poza obszarami ich typowej
lokalizacji występowały one w korze mózgu, a rzadziej w utkaniu zwo-
jów podstawy. W pojedynczych przypadkach widoczne były również w
podkorowej istocie białej. Złoże te występowały w postaci drobnych zia-
ren rozsianych w neuropilu w substancji szarej, grupujących się w więk-

szych skupieniach w otoczeniu naczyń krwionośnych (ryc. 1), lub dokoła jąder gleju, przede wszystkim astrocytarnego (ryc. 2), w sposób sugerujący ich śródplazmatyczne nagromadzenie. Niekiedy obfite złoże wielocukru wypełniające zarówno pericarion jak i wypustki astrocytów uwiadczały ich sylwetki w sposób przypominający obrazy impregnacyjne (ryc. 3). Korowe złoże glikogenu obejmowały zwykle całą jej szerokość, rzadziej wykazywały układ warstwowy, niekiedy były plackowato rozsiadane na tle skądinąd niezmienionej tkanki.

W wspomnianym uprzednio przypadku z martwicą kory mózgu bardzo obfite złoże glikogenowe — okołonaczyniowe, astrocytarne i luźno rozrzucone w neuropilu tworzyły szeroki wał dookoła ogniska martwicy (ryc. 4).

Złoże glikogenowe o tym samym charakterze i rozmieszczeniu w mózgu stwierdzono we wszystkich grupach zwierząt doświadczalnych, niezależnie od czasu przeżycia po podwiązaniu tętnic szyjnych. Jediną uchwytą różnicą, dotyczącą rozmieszczenia złożeń, była ich obecność w neuropilu jąder podstawy u zwierząt usypianych po upływie 6 i 12 godzin od zabiegu, podczas gdy w pozostałych grupach ograniczały się zasadniczo do kory mózgu.

Obraz mikroskopowo-elektronowy

W badaniu elektronowo-mikroskopowym mózgow zwierząt z podwiązanymi tętnicami szyjnymi stwierdzono bardzo znaczne nagromadzenie glikogenu w astrocytach, przede wszystkim w ich wypustkach okołonaczyniowych. Wokół naczyń włosowatych równomiernie rozrzucone ziarna glikogenu gromadziły się w bardzo znacznie obrzękłych wypustkach astrocytarnych (ryc. 5). Ilość ziaren w poszczególnych wypustkach, otaczających nawet to samo naczynie różniła się bardzo znacznie. Zgrupowane wokół naczyń przedwłosowatych wypustki glejowe były mniej obrzękłe, lub nie wykazywały w ogóle cech obrzęku, a gromadzące się w nich złoże glikogenowe wypełniały miejscami całkowicie ich cytoplazmę.

Ponadto stwierdzono gromadzenie glikogenu w częściach perikaryalnych astrocytów kory mózgu oraz w ich wypustkach nie związanych bezpośrednio z naczyniami (ryc. 6). Nieco większe nagromadzenie glikogenu obserwowano w wypustkach astrocytarnych, otaczających „ciemne” neurony.

W obrazie ultrastrukturalnym glikogen występował w postaci luźno leżących w cytoplazmie pojedynczych ziaren, lub też typowych układów rozetowych. Poza tym widoczne były różnopostaciowe skupienia kilku lub kilkunastu ziaren glikogenu.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Stwierdzony przez nas wzrost zawartości glikogenu w mózgach szczurów z doświadczalnie wywołanym ograniczeniem ukrwienia ośrodkowego układu nerwowego stanowi ilościowe potwierdzenie dotychczasowych obserwacji histochemicznych, prowadzonych na identycznym modelu doświadczalnym przez Ibrahima i wsp. (1970) i Longa i wsp. (1971). Obserwowany przyrost ilościowy znajduje swój pełny odpowiednik w uzyskanych przez nas wynikach badań histochemicznych.

Nieprawidłowe, histochemicznie uchwytne złogi glikogenu, w warunkach zastosowanego modelu doświadczalnego pojawiają się po upływie 6 godzin od podwiązania tętnic szyjnych (Ibrahim i wsp. 1970, Long i wsp. 1971). W tym samym mniej więcej czasie opisywano najwcześniejsze astrocytarne złogi glikogenowe w okołoporodowej asfiksji u małp (Mossakowski i wsp. 1968). W naszym materiale po upływie 6 godzin od zadziałania czynnika uszkadzającego obserwuje się również wzrost zawartości glikogenu w mózgu, nie ma on jednak cech znamienności statystycznej. Rozbieżność ta może tłumaczyć się tym, że pojawiające się w tym czasie niewielkie złogi, obejmujące jedynie poszczególne formacje anatomiczne ośrodkowego układu nerwowego są zbyt nikłe, aby mogły rzutować na globalną zawartość wielocukru w mózgu. Statystycznie znamienny wzrost zawartości glikogenu występuje dopiero po upływie 12 godzin od podwiązania tętnic szyjnych, osiągając swój szczyt po 48 godzinach i utrzymując się na znamienne podwyższonym poziomie do końca doświadczenia tj. do piątego dnia od zadziałania czynnika uszkadzającego.

Dynamika zmian w zawartości glikogenu w naszym materiale różni się od obserwacji Rivery i wsp. (1970), uzyskanych w modelu asfiksji okołoporodowej u małp. Autorzy ci bowiem stwierdzili, że maksymalne ilościowe nagromadzenie glikogenu w mózgach zwierząt po asfiksji przypada na 12 godzinę doświadczenia. Po upływie 48 godzin zawartość glikogenu spada do poziomu wartości kontrolnych, podczas gdy w naszych badaniach na ten okres właśnie przypada szczytowe nagromadzenie wielocukru. Źródeł tych rozbieżności szukać zapewne należy w różnicach gatunkowych użytych w jednym i drugim przypadku zwierząt, bądź też w zależnej od wieku zwierząt różnej wrażliwości układu nerwowego na działanie czynnika uszkadzającego, lub wreszcie w odmienności modelu doświadczalnego — krótkotrwałej, przejściowej asfiksji w doświadczeniach Rivery i wsp. (1970) i trwałego podwiązania tętnic szyjnych w naszym. Na rolę czynników gatunkowych, wiekowych, a nawet topograficznych mogą w tym względzie wskazywać między innymi różnice w czasie pojawiania histochemicznie uchwytanych złogów

glikogenowych w warunkach tego samego modelu doświadczalnego. W częściowym niedokrwieniu rdzenia kręgowego u kotów, najwcześniejsze złogi glikogenu pojawiały się już po upływie jednej godziny od podwiązania aorty brzusznej (Long i wsp. 1971).

Większość autorów zajmujących się zagadnieniem pojawiania się glikogenu w tkance nerwowej pod wpływem czynników upośledzających jej zaopatrzenie w tlen (Mossakowski i wsp. 1968, Ibrahim i wsp. 1970, Klatzo i wsp. 1970, Long i wsp. 1971, Mossakowski, Zelman 1971) zwraca uwagę na całkowitą odwracalność zmian i na odkładanie się złogów wielocukru w tkance morfologicznie nieuszkodzonej. W przedstawionej serii doświadczeń nie udało się nam potwierdzić pierwszego spostrzeżenia. Zawartość glikogenu w mózgu jeszcze po upływie 120 godzin od podwiązania tętnic szyjnych przewyższa znacznie jego poziom u zwierząt kontrolnych. Istnieją jednak podstawy, aby przypuszczać, że w zastosowanym modelu doświadczalnym (stałe podwiązanie tętnic szyjnych) powrót do normy następuje dopiero w okresie późniejszym. Nieprawidłowe złogi glikogenowe w rdzeniu kręgowym, poddanym częściowemu niedokrwieniu utrzymują się do 7 — 10 dni (Long i wsp. 1971). Natomiast gromadzenie się glikogenu w naszym materiale, podobnie jak i u innych autorów, dotyczyło wyłącznie struktur mózgu nie wykazujących histologicznych cech uszkodzenia.

Na odrębną uwagę zasługuje topograficzny rozkład złogów glikogenowych. Siedzibą ich jest wyłącznie kora mózgu, w znacznie mniejszym stopniu zwoje podstawy. Złogi w istocie białej należą do rzadkości i pojawiają się tu jedynie w okresie późniejszym. Topografia złogów nie ulega przy tym zasadniczym zmianom w czasie po zadziałaniu bodźca uszkadzającego. Badanie histochemiczne pozwala na astrocytarną i neuropilową lokalizację złogów. Ta ostatnia, jak wynika z badań mikroskopowo-elektronowych odpowiada również ich nagromadzeniu w obrzmiących wypustkach astrocytów. Nie obserwowano nigdy neuronalnych złogów wielocukru.

Topograficzne rozmieszczenie złogów wskazuje na fakt, że gromadzą się one w obrębie tych formacji ośrodkowego układu nerwowego, które wykazują największe zużycie glukozy, a ich lokalizacja śródkomórkowa dotyczy astrocytów — komórek, które zgodnie z poglądami Friede (1954) i Oksche (1961) odgrywają podstawową rolę w metabolizmie i w transporcie glukozy w ośrodkowym układzie nerwowym. Pozwala to przypuszczać, że gromadzenie się glikogenu w tkance nerwowej w następstwie ograniczania jej zaopatrzenia w tlen stanowi wyraz upośledzonego użytkowania glukozy przez tkankę. Obniżona zdolność użytkowania glukozy w tych warunkach może dotyczyć przede wszystkim komórek nerwowych, które z jednej strony są jej głównymi

konsumentami, z drugiej zaś charakteryzują się największą wrażliwością na niedotlenienie. W obecnym stanie badań mechanizm ewentualnego obniżenia zużytkowania glukozy przez tkankę nerwową w następstwie niedotlenienia pozostaje niewyjaśniony. Być może, że ograniczenie zużytkowania glukozy w następstwie obniżenia puli związków wysokoenergetycznych, jest przyczynowo związane z obniżeniem syntezy białek, na co wskazywały badania Yapa i Spectora (1965).

Z chwilą obniżenia zużytkowania glukozy przez komórki nerwowe, lub jej gromadzenia się w nadmiarze w tkance nerwowej w następstwie hypoksji (Thorn i wsp. 1959, Steward i wsp. 1970, Domańska-Janik 1970) może ona gromadzić się w postaci glikogenu w cytoplazmie transportujących ją w układzie nerwowym astrocytów (Hager 1966). Gromadzenie się glikogenu w ośrodkowym układzie nerwowym może stanowić następstwo bądź jego wzmożonej syntezy, bądź też zmniejszonego rozpadu. Badania Klatzo i wsp. (1970) przesądzają to zagadnienie na rzecz pierwszego mechanizmu.

Hypoksja, jak wykazali Passonneau i Lowry (1962) stanowi czynnik stymulujący fosforylację glukozy. Glukoza-6-fosforan jest z kolei aktywatorem glukozylotransferazy UDPglukoza-glikogen (Basu, Bachawat 1961, Stossel i wsp. 1970). Wydaje się przeto możliwe, że sama gromadząca się w układzie nerwowym glukoza może prowadzić w tych warunkach do aktywacji układu enzymów syntetyzujących glikogen i jego następczego odkładania się. Badania histochemiczne Mossakowskiego i wsp. (1968), Goldberga i O'Toole'a (1969), Ibrahima i wsp. (1970) oraz Longa i wsp. (1971), dotyczące aktywności enzymów metabolizujących glikogen i ich związku z gromadzeniem się glikogenu w mózgu, potwierdzają tę możliwość. Na taki również mechanizm odkładania się złogów glikogenowych w ośrodkowym układzie nerwowym wskazują badania Śmiałka i wsp. (1971) nad aktywnością glukozylotransferazy UDPglukoza — glikogen w warunkach niedokrwienia mózgu.

Istotnym zagadnieniem jest rola narkozy, jako czynnika prowadzącego do wzrostu zawartości glikogenu w mózgu. Na jej wpływ na poziom glikogenu w tkance nerwowej zwracają uwagę Oksche (1961) i Goldfied i wsp. (1966). Rivera i wsp. (1970) stwierdzili lekki wzrost zawartości glikogenu w mózgach zwierząt kontrolnych w ciągu pierwszych 6 godzin obserwacji i przypuszczali, że zmiany te należy wiązać z działaniem środka narkotycznego. W naszych badaniach, w analogicznym okresie stwierdzano również nieznaczne wahania w zawartości glikogenu w mózgach poddanych narkozie zwierząt kontrolnych. Jednakże analiza statystyczna wykazała, że zmiany te nie mają cech znamienności w stosunku do wahań zawartości glikogenu w mózgach zwierząt dekapitowa-

nych, bez żadnych zabiegów poprzedzających. Można jednak przyjąć nieznaczny wpływ narkozy na zawartość glikogenu u zwierząt badanych w 12 godzin po zastosowaniu środka znieczulającego. W okresach późniejszych wpływ ten zanika całkowicie.

WNIOSKI

1. Obustronne podwiązanie tętnic szyjnych wspólnych u 10-tygodniowych szczurów prowadzi do znacznego przyrostu zawartości glikogenu w mózgu, przy braku jego strukturalnego uszkodzenia. Przyrost ten wykazuje cechy znamienności statystycznej w stosunku do grupy kontrolnej po upływie 12 godzin, a osiąga swój ilościowy szczyt po 48 godzinach od podwiązania tętnic szyjnych. W okresie 5 dni po zabiegu nie obserwuje się powrotu zawartości glikogenu do poziomu wyjściowego.

2. Uchwytne histochemicznie nieprawidłowe złogi glikogenu w tkance nerwowej umiejscowione są w formacjach szarych mózgu, przede wszystkim w korze, a w mniejszym stopniu i tylko w okresach wczesnych w jądrach podstawy. Złogi w istocie białej należą do rzadkości.

Badanie mikroskopowo-elektronowe wskazuje, że złogi wielocukru gromadzą się wyłącznie w cytoplazmie astrocytów i w ich wypustkach.

3. Eterowe znieczulenie ogólne prowadzi do nieznacznego, lecz statystycznie znamiennego wzrostu zawartości glikogenu w mózgu wyłącznie w 12 godzin po podaniu środka znieczulającego. W okresie późniejszym wpływ ten zanika całkowicie.

A. Пронашко-Курчиньска, М. Я. Моссаковски, М. Остенда, Я. Кортхальс

ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ГЛИКОГЕНА В МОЗГУ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИСХЕМИИ

Резюме

Проводились количественные определения содержания гликогена в мозгах 10-недельных крыс расы Вистар, которым подвязывали общие сонные артерии с обеих сторон. Определение содержания гликогена проводилось в течение 6, 12, 24, 48, 72 и 120 часов после подвязки артерий.

Биохимические исследования дополнялись гистологическими и ультраструктурными исследованиями, а также гистохимическим определением гликогена. На основании проведенных исследований авторы выдвигают следующие заключения:

1. Обусторонняя подвязка общих сонных артерий ведет к значительному росту содержания гликогена в мозгу при отсутствии свойств его структурного

повреждения. Это приращение обнаруживает статистическую достоверность по отношению к контрольной группе спустя 12 часов и достигает количественного максимума в 48 часов после подвязки сонных артерий. В течение 5 дней от операции не наблюдается возврат содержания гликогена до исходного уровня.

2. Заметные гистохимические неправильные отложения гликогена в нервной ткани находятся в серых образованиях мозга, прежде всего в коре, и в меньшей степени и только в ранних периодах в базальных ядрах. Отложения в белом веществе принадлежат к редкости. Электронно-микроскопическое исследование указывает на то, что полисахаридные отложения накапливаются исключительно в астроцитах и их отростках.

3. Общая эфирная анестезия ведет к незначительному, однако статистически достоверному росту содержания гликогена в мозгу спустя 12 часов от подачи анестетика. В последующий период это влияние исчезает полностью.

Авторы выдвигают предположение, что накопление гликогена в условиях частичного недостаточного кровоснабжения мозга связано с ухудшенным использованием глюкозы нервной тканью.

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

CHANGES IN BRAIN GLYCOGEN CONTENT IN EXPERIMENTAL ISCHEMIA

S u m m a r y

Glycogen was quantitatively determined in brains of 10-week-old Wistar rats with bilaterally ligated common carotid arteries, at 6, 12, 24, 48, 72, and 120 h after artery ligation.

The biochemical investigations were supplemented by histological and ultrastructural studies as well as by histochemical glycogen determination. On the basis of the studies performed the following conclusions are drawn:

1. Bilateral common carotid artery ligation leads to a considerable rise of the brain glycogen level without any signs of brain structural lesion. This increase is statistically significant as compared with the control group after 12 h, and reaches its peak 48 h after artery ligation. For 5 days after the operation no return of the glycogen level to the initial value was observed.

2. Histochemically noticeable abnormal glycogen deposits in the nerve tissue are found in the grey formations of the brain, and in the first place in the cortex, they are less frequent and appear only in earlier periods in the basal nuclei. Deposits in the white matter are extremely rare. Electron microscopic inspection shows that polysaccharide deposits accumulate exclusively in the cytoplasm of astrocytes and in their processes.

3. Ether general anaesthesia leads to a slight, but statistically significant rise of the brain glycogen level exclusively at 12 h after application of the anaesthetic. At a later time this influence is no more noticeable.

The authors suggest that glycogen accumulation under conditions of moderate brain ischemia is connected with defective glucose utilisation by the nerve tissue.

PIŚMIENNICTWO

1. Basu D. K., Bachhawat B. K.: Purification of uridine diphosphoglucoseglycogen transglucosylase from sheep brain. *Biochim. Biophys. Acta*, 1961, 50, 123 — 128.
2. Bulmer D.: Dimedone as an aldehyde blocking reagent to facilitate the histochemical demonstration of glycogen. *Stain Technol.*, 1959, 34, 95 — 98.
3. Domańska-Janik K.: Doświadczalne niedotlenienie a niektóre zagadnienia tlenowego metabolizmu glukozy w ośrodkowym układzie nerwowym. W druku.
4. Friede R. L.: Die Bedeutung der Glia für den zentralen Kohlenhydratstoffwechsel. *Zbl. allg. Path. Anat.* 1954, 92, 65 — 74.
5. Gaffied P. D., Lowry O. H., Schuetz D. W., Passonneau J. V.: Regional energy reserves in mouse brain and changes with ischaemia and anaesthesia. *J. Neurochem.*, 1966, 13, 185 — 195.
6. Goldberg N. D., O'Toole A. G.: The properties of glycogen synthetase and regulation of glycogen biosynthesis in rat brain. *J. Biol. Chem.*, 1969, 244, 3053 — 3061.
7. Guth L., Watson P. K.: A correlated histochemical and quantitative study on cerebral glycogen after brain injury in the rat. *Exp. Neurol.*, 1968, 22, 590 — 602.
8. Hager H.: Die frühen Alterationen des Nervengewebes nach Hypoxidose und die fortgeschrittene Nekrose im elektronenmikroskopischen Bild. *Proc. V. Inter. Congr. Neuropath.*, Ed. F. Lüthy, A. Bischoff. *Exc. Med. Found.*, Amsterdam 1966, 64 — 78.
9. Ibrahim M. Z. M., Pascoe E., Alam S., Miquel J.: Glycogen and phosphorylase activity in rat brain during recovery from several forms of hypoxia. *Amer. J. Pathol.*, 1970, 60, 403 — 415.
10. Klatzo I., Miquel J., Tobias C., Haymaker W.: Effects of particle radiation on the rat brain including vascular permeability and glycogen studies. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1961, 20, 459 — 483.
11. Klatzo I., Farkas-Bargeton E., Guth L., Miquel J., Olsson Y.: Some morphological and biochemical aspects of abnormal glycogen accumulation in the glia. *VI Inter. Congr. Neuropath. Paryż 1970*, 351 — 365.
12. Long D. M., Mossakowski M. J., Klatzo I.: Early histochemical and ultrastructural changes in central nervous system ischaemia, 1971, w druku.
13. Miquel J., Klatzo I., Menzel D. B., Haymaker W.: Glycogen changes in X-irradiated rat brain. *Acta Neuropath.* 1963, 2, 482 — 490.
14. Mossakowski M. J., Long D. M., Myers R. E., de Curet H. R., Klatzo I.: Early histochemical changes in perinatal asphyxia. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1968, 27, 500 — 516.
15. Mossakowski M. J., Zelman I. B.: Zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym na skutek niedoboru tlenowego w warunkach doświadczalnych. *Postępy Astro-nautyki, Supl. 1*, 1971, 37 — 50.
16. Nelson N.: A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.*, 1944, 153, 375 — 380.
17. Oksche A.: Der histochemisch nachweisbare Glykogenaufbau und abbau in der Astrocyten und Ependymzellen als Beispiel einer Funktionsabhängigen Stoffwechselaktivität der Neuroglia. *Z. Zellforsch.* 1961, 54, 307 — 361.
18. Passonneau J. V., Lowry D. H.: Phosphofructokinase and the Pasteur effect. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, 1962, 7, 10 — 15.

19. Rivera A., Brann A. W., Myers R. E.: Brain glycogen of the recovering asphyxiated monkey newborn. *Exp. Neurol.*, 1970, 26, 309 — 315.
20. Shimizu N., Hamuro Y.: Deposition of glycogen and changes in some enzymes in brain wounds. *Nature* 1958, 181, 781 — 782.
21. Stewart M. A., Sherman W. R., Kurion M. M., Moonsammy G. L., Wisgerhof M.: Polyol accumulations in nervous tissue of rats with experimental diabetes and galactosaemia. *J. Neurochem.*, 1967, 14, 1057 — 1066.
22. Stosel T. P., Murad F., Mason R. J., Vaughan M.: Regulation of glycogen metabolism in polymorphonuclear leukocytes. *J. Biol. Chem.*, 1970, 245, 6228 — 6234.
23. Śmiałek M., Sikorska M., Bicz W., Mossakowski M. J.: UDPglucose: glycogen α -4-glucosyltransferase (EC 2.4.1.11) and α -1,4-glucan:orthophosphate glucosyltransferase (EC 2.4.1.1) activity in rat brain in experimental ischemia. In press.
24. Thorn W., Isselhard W., Moldener B.: Glycogen-, Glucose- und Milchsäuregehalt in Warmblüterorganen bei unterschiedlicher Versuchsanordnung und anoxischer Belastung mit Hilfe optischer Fermentteste ermittelt. *Biochem. Z.* 1959, 331, 545 — 562.
25. Yap S. L., Spector R. G.: Cerebral protein synthesis in anoxic-ischemic brain injury in the rat. *J. Path. Bact.* 1965, 90, 543.

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

PODPISY POD RYCINY

Ryc. 1. Ziarna glikogenu rozsiane w neuropilu i zgrupowane okołonaczyniowo w korze mózgu szczura w 24 godzinie po obustronnym podwiązaniu tętnic szyjnych. PAS-dimedon. Pow. 400 ×

Fig. 1. Glycogen grains disseminated in the neuropile and perivascularly grouped in the rat cerebral cortex 24 h after bilateral ligation of common carotid arteries. PAS-dimedone. × 400.

Ryc. 2. Ziarniste złoży glikogenu rozsiane w neuropilu i zgrupowane dookoła jąder astrocytów w korze mózgu szczura w 48 godzinie po obustronnym podwiązaniu tętnic szyjnych. PAS-dimedon. Pow. 1200 ×

Fig. 2. Granular deposits of glycogen disseminated in the neuropile and grouped around the astrocytic nuclei in the rat cerebral cortex 48 h after bilateral ligation of common carotid arteries. PAS-dimedone. × 1200

Ryc. 3. Złoży glikogenu w cytoplazmie i wypustkach astrocytu w podkorowej istocie białej mózgu szczura w 72 godzinie po podwiązaniu obustronnym tętnic szyjnych. PAS-dimedon. Pow. 1200 ×

Fig. 3. Glycogen deposits in the astrocyte cytoplasm and processes in the subcortical white matter of the rat brain 72 h after bilateral ligation of common carotid arteries. PAS-dimedone. × 1200

Ryc. 4. Obfite złoży glikogenu rozsiane luźno w tkance i zgrupowane w cytoplazmie astrocytów w polu otaczającym ognisko martwicy w korze mózgu szczura w 120 godzinie po obustronnym podwiązaniu tętnic szyjnych. PAS-dimedon. Pow. 200 ×

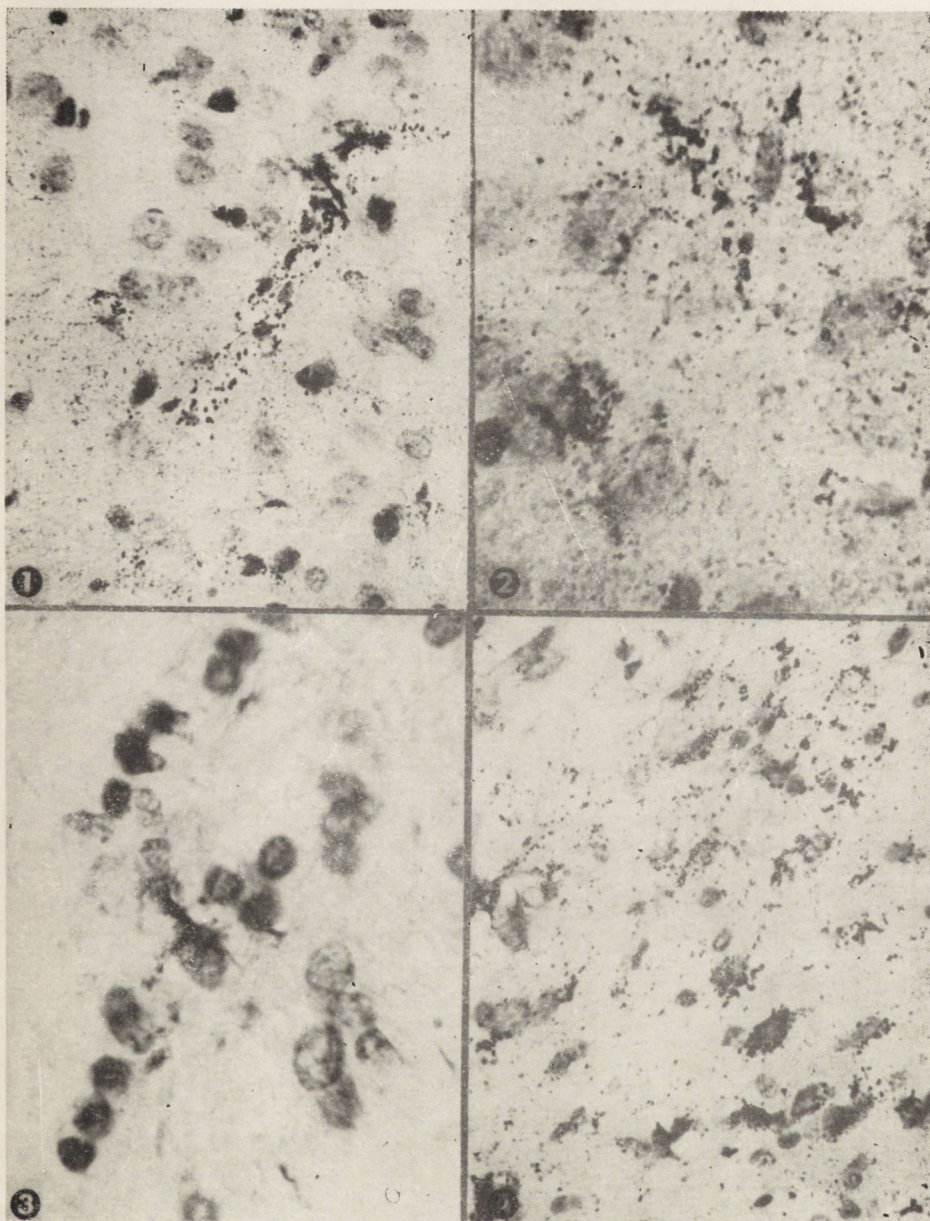
Fig. 4. Profuse glycogen deposits loosely disseminated in the tissue and accumulated in the astrocyte cytoplasm in the field surrounding a necrotic focus in the cerebral cortex of a rat 120 h after bilateral common carotid artery ligation. PAS-dimedone. × 200

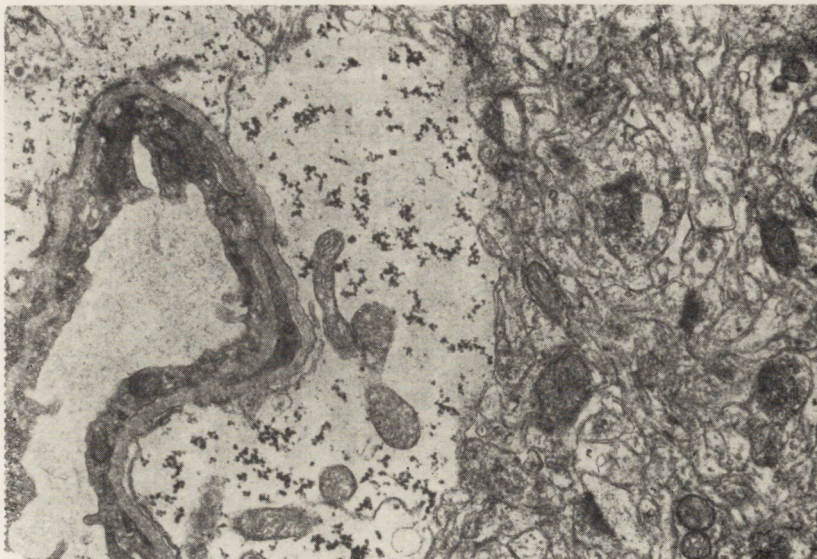
Ryc. 5. Bardzo znaczne obrzmienie okołonaczyniowych wypustek astrogleju, zawierających obfite ziarna glikogenu. Kora mózgu szczura w 48 godzinie po obustronnym podwiązaniu tętnic szyjnych. ME. Pow. 15.000 ×

Fig. 5. Considerable swelling of perivascular astroglial processes containing numerous glycogen grains. Cerebral cortex of rat 48 h after bilateral ligation of common carotid arteries. ME × 15.000.

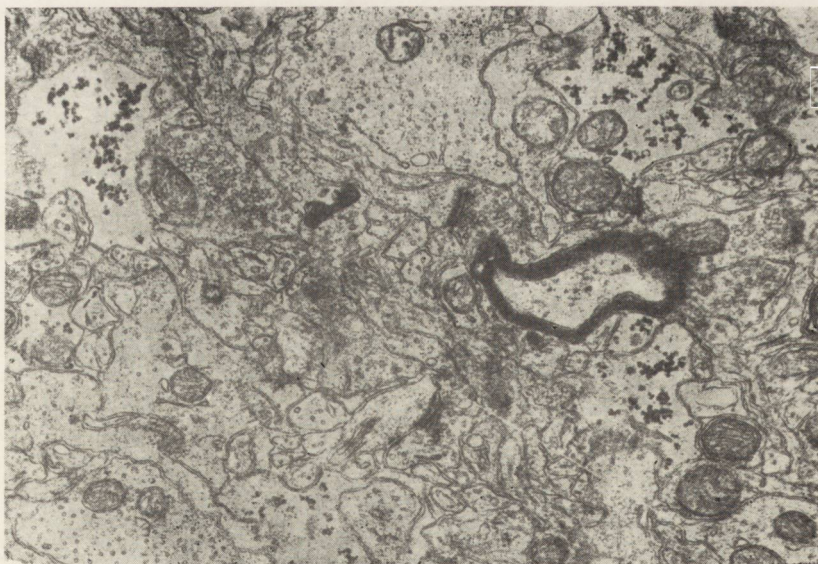
Ryc. 6. Obrzmiałe wypustki astrogleju kory mózgu, zawierające charakterystyczne skupienia ziaren glikogenu. Szczur uśpiony w 48 godzinie po obustronnym podwiązaniu tętnic szyjnych. ME. Pow. 17.000 ×

Fig. 6. Swollen processes of cerebral cortex astroglia, containing characteristic glycogen grains accumulation. Rat sacrificed 48 h after bilateral ligation of common carotid arteries. ME. × 17.000.





Ryc. 5.



Ryc. 6.

MARIA DAŃBSKA, MARIA LIEBHARDT, ZOFIA FERENS, MARIA MARCINIAK

USZKODZENIE UKŁADU NERWOWEGO A ZAKAŻENIE POPŁODU
I ZMIANY W PŁUCACH NOWORODKÓW

Zespół Neuropatologii, Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

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

II Klinika Położnictwa i Chorób Kobięcych AM w Warszawie

Kierownik Kliniki: prof. dr med. J. Roszkowski

W patologii okołoporodowej niejednokrotnie można zaobserwować następujący łańcuch przyczyn prowadzących do śmierci płodu lub noworodka. Przedwczesne lub niewczesne pęknięcie pęcherza płodowego powoduje wstępujące zakażenie popłodu (Benirschke 1962), a przedłużający się w tych przypadkach poród prowadzi do niedotlenienia dziecka. Niedostatek tlenowy z kolei pobudza ośrodek oddechowy z następującą aspiracją zakażonych wód płodowych. Noworodek, jeżeli przeżyje to uszkodzenie, rodzi się w stanie niedotlenienia i ze zmianami patologicznymi w płucach. Ten zespół zmian może oddziaływać na noworodka w dwojaki sposób: poprzez bezpośrednie uszkodzenia zapalno-toksyczne ustroju oraz poprzez zaburzenia oddechowe, prowadzące do niedotlenienia. Zagrożenie noworodków asfiksją znane jest w zespole błon szklistych (Potter 1957, Gajl-Pęczalska 1964, Avery 1968 i inni), stanowiącym częstą przyczynę zgonu wcześniaków. Okołoporodowe zapalenie płuc stwarza podobnie niekorzystne warunki (Langley 1959, Joppich, Schulte 1969), jednak jego skutki są trudniejsze do oceny ze względu na złożony mechanizm uszkodzeń.

Częstość występowania w naszym materiale tego typu zaburzeń skłoniła nas do podjęcia próby wyjaśnienia patomechanizmu uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego u noworodków obciążonych przedwczesnym pęknięciem pęcherza płodowego z ewentualnym zakażeniem popłodu oraz przedłużającym się porodem.

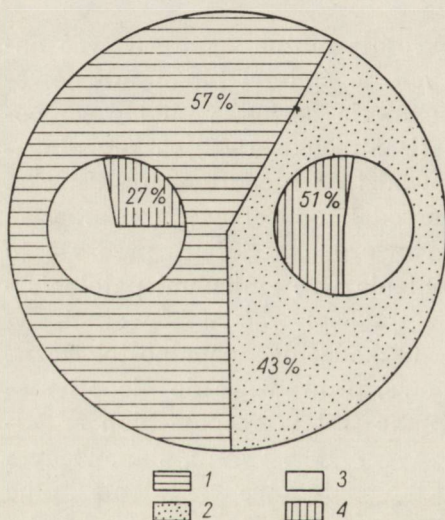
Bezpośrednim celem badań było ustalenie w jakim stopniu zakażenie popłodu zagraża przejściem procesu zapalnego na płód, a w szczególności na jego układ nerwowy oraz ustalenie, czy istnieją w tych przypadkach dane wskazujące na istotną rolę asfiksji płucno-pochodnej w kształ-

towaniu się obrazu klinicznego i w powstawaniu zmian morfologicznych w mózgu.

MATERIAŁ I METODY

Przedmiotem analizy wstępnej było 140 noworodków w wieku rozwojowym, od 20 do 40 tygodnia życia płodowego, które zmarły w okresie do 6 dnia po porodzie i u których nie stwierdzono zaburzeń rozwojowych, ani okołoporodowego urazu mechanicznego. We wszystkich przypadkach wykonano badanie histologiczne płodu na skrawkach parafinowych, barwionych hematoksyliną i eozyną, pobieranych z pępownicy, błon płodowych i płyty łożyskowej.

Z materiału tego wydzielono 50 przypadków, w których stwierdzono zmiany zapalne w płodzie (schemat 1) i które stanowią właściwy przedmiot niniejszej analizy.



Schemat 1. Częstość zmian zapalnych w płucach w stosunku do częstości zakażeń płodu: — 1 płód bez zmian, 2 — zmiany zapalne w płodzie, 3 — płuca bez zmian, 4 — zmiany zapalne w płucach.

Diagram 1. Frequency of inflammatory changes in lungs in relation to the frequency of after-birth infection: 1 — after-birth without changes, 2 — after-birth with inflammatory changes, 3 — lungs without changes, 4 — lungs with inflammatory changes.

Badanie mikroskopowe obejmowało, poza wymienionymi elementami płodu, narządy wewnętrzne i mózg. Wycinki z płuc, wątroby i nerek przeprowadzono w sposób standardowy do parafiny, a skrawki parafinowe barwiono hematoksyliną i eozyną.

Do badania neuropatologicznego pobierano skrawki z 2 — 3 poziomów półkul mózgowych, z pnia mózgu i mózdzku. Skrawki parafinowe barwiono fioletem krezyłu, hematoksyliną i eozyną, a w części przypadków dodatkowo wg metody Heidenhaina.

Dla celów porównawczych przebadano ponadto w sposób analogiczny mózgi z dwóch przypadków, w których nie stwierdzono zmian zapalnych w płodzie, ale obecny był zespół błon szklistych w płucach.

WYNIKI

Obserwacje kliniczne

Przebieg ciąży, analizowany z punktu widzenia możliwego niedotlenienia płodu, w 6 przypadkach był powikłany objawami zatrucia ciążowego matki, w 2 przypadkach cukrzycą i w 2 chorobą gorączkową (określaną jako „grypa”) bezpośrednio przed porodem. Niemal we wszystkich przypadkach odnotowano przedwczesne lub niewczesne pęknięcie pęcherza płodowego (aż do tygodnia przed porodem), lub krwawienie z dróg rodnych poprzedzające poród. Noworodki w 13 przypadkach urodziły się w zamartwicy, z której nie udało się ich wyprowadzić i zmarły bezpośrednio po nieskutecznej reanimacji: w 24 przeżyły w stanie ciężkim kilka godzin; w 6 przeżyły 2 dni, a w 7 do 6 dni. U wszystkich noworodków zgon poprzedzały narastające zaburzenia krążeniowo-oddechowe.

Badanie płodu

We wszystkich 50 przypadkach stwierdzono obecność nacieków limfocytarnych i leukocytarnych w kosmówce i doczesnej błon, rzadziej w owodni. W kilku przypadkach obraz odpowiadał świeżym ropniom lub ogniskom martwicy. W pewnym stopniu spotykano nacieczenia leukocytarne najczęściej zlokalizowane w ścianie żył, przechodzące niekiedy na galaretę Worthona (ryc. 1). W łożysku były obecne obfite nacieki limfocytarne w płycie kosmówkowej, rzadziej w doczesnej podstawowej (ryc. 2).

Badanie narządów wewnętrznych

Makroskopowo — we wszystkich przypadkach stwierdzono uogólniony zastój, niekiedy z wybroczynami podnasilczkowymi i podopłucnowymi.

Mikroskopowo — w 27 przypadkach, wśród których przeważały noworodki z przeżyciem co najmniej kilkugodzinnym, stwierdzono w płucach nacieki zapalne. W większości przypadków towarzyszyły im elementy wód płodowych w pęcherzykach płucnych. Nacieki zapalne zlokalizowane były wówczas okołooskrzelowo (ryc. 3), a w ich składzie znajdowały się liczne leukocyty. W pojedynczych przypadkach stwierdzono śródmiąższowe zapalenie płuc z charakterystycznym rozproszeniem nacieków w zrębie (ryc. 4), niekiedy z zaznaczonym jego włóknieniem. Poza układem oddechowym jedynie u dwóch noworodków stwierdzono nacieki zapalne w opłucnej i w otrzewnej.

Badanie układu nerwowego

Obraz zmian makroskopowych, stwierdzanych w naszym materiale, wykazywał wyraźną zależność od wieku rozwojowego noworodków. W przypadkach od 24 do 34 tygodnia rozwoju przeważały zmiany zastoinowo-krwotoczne, przy czym wynaczynienia śródmiąższowe zlokalizowane były najczęściej wokół układu komorowego (ryc. 5). Ognisko krwotoczne przebiegało niejednokrotnie do światła komory, dając obraz *haemocephalus internus*. W mózgach noworodków o niewielkim wczesniactwie i noworodków donoszonych zmiany tego typu były rzadsze, natomiast stwierdzano znaczny zastój krwi w półkulach mózgu i mózdzku. W całym materiale często spostrzegano wynaczynienia podoponowe i do splotu komór bocznych.

W obrazie mikroskopowym opisane wylewy okołokomorowe miały najczęściej charakter świeżych krwotoków, bezodczynowych, umiejscowionych w obrębie przykomorowych gniazd macierzy. W maksymalnie rozszerzonych naczyniach żylnych, w tych okolicach, stwierdzało się niekiedy świeże zakrzepy przyścienne. Wylana krew niszcząca wyściółkę przedostawała się zwykle do komory, niekiedy też rozprzestrzeniała się w kierunku istoty białej półkul.

W mózgach noworodków rozwojowo starszych zmiany były zlokalizowane przede wszystkim w strukturach szarych, w korze mózgu, mózdzku i jądrach pnia oraz w podkorowej istocie białej. Na pierwszy plan wysuwał się tu uogólniony zastój krwi, obejmujący cały układ naczyniowy (ryc. 6) łącznie z naczyniami włosowatymi. W korze mózgu stwierdzano ubytki komórek nerwowych, najczęściej w postaci opustoszeń okołonaczyniowych (ryc. 7).

W mózdzku komórki Purkinjego, rzadziej neurocyty warstwy ziarnistej kory i jąder zębatych (ryc. 8) były uszkodzone i przerzedzone. W obrębie jąder pnia mózgu stwierdzano również zmiany o charakterze nierównej barwliwości, obkurczenia i wypadania poszczególnych neuronów (ryc. 9). W istocie białej wokół nastrzykniętych naczyń występowały w poszczególnych przypadkach rozluźnienia utkania, niekiedy wyraźne zmiany martwicze. W obrębie uszkodzonego podłoża były widoczne liczne przerosłe komórki glejowe o obfitej, jednorodnej protoplazmie (ryc. 10). Jedynie w 3 przypadkach stwierdzono w oponach znacznie nasilone nacieki zapalne (ryc. 11), złożone z komórek limfocytopodobnych, wielojądrzastych monocytów, histiocytów o obfitej, jasnej protoplazmie oraz mniej licznych leukocytów. W tych przypadkach w tkance nerwowej występowały również mniejsze lub większe zmiany martwiczo-naciekowe. W czterech innych przypadkach znaleziono jedynie bardzo dyskretnie nacieki w oponach bez zmian śródmiąższowych.

W celu zilustrowania zespołu zmian stanowiących przedmiot naszych rozważań wybraliśmy 2 przypadki, uznane za typowe, które przedstawiamy bardziej szczegółowo.

Przypadek 1. B. „C”. Zatrucie ciążowe matki. Poród przedwczesny, w 34 tygodniu ciąży. Dziecko urodzone w stanie dość ciężkim żyło 30 godzin, zmarło wśród narastających zaburzeń krążeniowo-oddechowych. W badaniu pośmiertnym stwierdzono w łożysku nacieki zapalne doczesnej podstawowej, w płucach rozległe zmiany zapalne, bardzo znacznie ograniczające powierzchnię oddechową. W układzie nerwowym cechą dominującą był uogólniony zastój krwi, największy w okolicy korowo-podkorowej i w mózdzku. W strukturach szarych, zwłaszcza w korze, stwierdzono rozsiane uszkodzenia komórek nerwowych.

Przypadek 2. S. „C”. Poród o czasie. Dziecko urodzone w stanie dobrym. Stan dziecka pogarszał się stopniowo. Wystąpiły zaburzenia oddechania i krążenia, wśród których dziecko zmarło po 6 dniach życia. W badaniu pośmiertnym stwierdzono nacieki zapalne w błonach płodowych, płycie kosmówkowej i płycie podstawnej, w płucach rozległe zmiany zapalne. W mózgu istniał uogólniony zastój żylny zwłaszcza w półkulach, ponadto znaczne rozsiane uszkodzenia komórkowe. Dotyczyły one szczególnie kory, gdzie widoczne były plackowate opustoszenia. Podobne zmiany obejmowały również zwoje podstawy i mózdzek, a także pień mózgu.

Powyższe przypadki porównano z dwoma, w których przyczyną zgonu noworodków był zespół błon szklistych. W obu mózgach zmiany miały podobną strukturę i topografię. Polegały na znacznym przekrwieniu i uogólnionym uszkodzeniu neuronów.

OMÓWIENIE

Podstawowym kryterium kwalifikującym przypadki z naszego materiału do badań szczegółowych było ustalenie, czy stwierdzone zmiany w płodzie wskazywały na jego zakażenie. Za wykładnik zakażenia uznano wyraźne skupienia nacieków z obecnością leukocytów i nacieki limfocytarne w tych przypadkach, gdy tworzyły one masywne ugrupowania w doczesnej podstawowej. Nie uznawano za wykładnik zapalenia pojedynczych granulocytów rozproszonych w tkance, ani nacieków ograniczonych wyłącznie do ścian pępowiny (Benirschke 1962, Pisarski 1969).

Na podstawie topografii zmian zapalnych w płodzie określano mechanizm jego zakażenia. W większości, bo aż w 47 przypadkach można było ustalić wstępujący poprzez kanał rodny charakter infekcji. Zakażenie tego typu odznaczało się naciekami występującymi w pierwszym

rzędzie w błonach płodowych, następnie w pepowinie, a na końcu w płycie kosmkowej. Zakażenie zstępujące z krwiobiegu matki do krwiobiegu płodu przez barierę łożyskową, wyrażające się tylko nielicznymi ogniskami nacieku w płycie doczesnowej, znaleziono jedynie u 3 noworodków.

W przebadanym materiale zakażenie popłodu doprowadziło w 51% przypadków do zapalenia płuc, które w ich większości miały charakter zapalenia odoskrzelowego, spowodowanego aspiracją zakażonych wód płodowych. Tylko sporadycznie stwierdzano zmiany zapalne również w innych narządach, wśród których układ nerwowy był dotknięty częściej niż pozostałe. W 3 przypadkach obserwowane zmiany możemy określić jako zapalenie oponowo-mózgowe, o obrazie morfologicznym odpowiadającym wiekowi rozwojowemu noworodka (Eicke 1956, Dąbska 1967). Nacieki oponowe w 4 przypadkach są interpretacyjnie nie jednoznaczne; mogą być wyrazem rozpoczynającego się zapalenia opon, nie można jednak wykluczyć miejscowej reakcji symptomatycznej na wynaczynioną krew.

Zasadniczy zespół zmian mózgowych we wszystkich przypadkach to ciężkie uszkodzenie tkanki nerwowej o obrazie odpowiadającym różnym formom niedotlenienia okołoporodowego. Struktura i topografia tych zmian jest uwarunkowana wiekiem rozwojowym noworodków (Hallervorden, Meyer 1956, Towbin 1969). W grupie przypadków najmłodszych, urodzonych do końca VIII miesiąca ciąży przeważają krwotoki okołomorowe. Podejmowana już wielokrotnie analiza ich patomechanizmu pozwala na stwierdzenie, że występują one często w uszkodzeniach spowodowanych niedotlenieniem, nawet bez współistnienia jakiegokolwiek czynnika urazowego (Larroche 1964, Ross, Dimette 1965, Towbin 1968, Dąbska i wsp. 1971). W miarę przenoszenia się „punktu ciężkości” w procesie dojrzewania ku różnicującej się korze i wchodzącej w okres mielinizacji istocie białej struktury te bywają w przypadku niedostatku tlenowego coraz wyraźniej uszkodzane. Brak tlenu prowadzi do narastania poziomu CO_2 i spadku pH krwi, co powoduje rozszerzenie naczyń i zwolnienie przepływu krwi (Ingwar 1968). Narasta przekrwienie tkanki i narządów, które jest dominującym objawem obserwowanym w mózgach o wieku rozwojowym od 35 do 40 tygodni. Przy dłuższym działaniu niedotlenienia pojawiają się uszkodzenia tkanki nerwowej, w pierwszym rzędzie struktur szarych, a niekiedy również istoty białej w okolicach, w których proces mielinizacji powoduje zwiększenie zapotrzebowania energetycznego (Towbin 1969). Zadaliśmy sobie pytanie, w jakim stopniu zmiany stwierdzone w przebadanych mózgach możemy wiązać z zespołem anoksji anoksemicznej wywołanej znacznym ograniczeniem wy-

miany gazowej w płucach objętych procesem zapalnym. W większości przypadków trudno o ocenę znaczenia tego mechanizmu uszkodzeń, ponieważ poza toksycznym wpływem samego zakażenia, który musimy brać pod uwagę, w większości przypadków istnieją dodatkowe czynniki mogące prowadzić do zaburzeń krążeniowo-niedotlenieniowych u płodu. Porównanie nasilenia zmian wśród noworodków z zapaleniem płuc i bez jego objawów również nie jest miarodajne, ponieważ działały na nie pozostałe, podobne mechanizmy uszkodzające. Bliższa analiza wykazała nawet, że wiele z noworodków bez zapalenia płuc żyło krócej w związku z cięższymi zmianami, związanymi z przebiegiem porodu. Jedynie dwa przedstawione szczegółowo przypadki pozwalają na przesłedzenie stopniowego narastania w mózgu uszkodzeń anoksemicznych, równoległe do rozwijającego się zapalenia płuc. W tych przypadkach zapalenie płuc jest głównym czynnikiem prowadzącym do poporodowych zaburzeń krążeniowo-oddechowych i zgonu dziecka. U noworodka, który przeżył 30 godzin dominuje w układzie nerwowym zastój i rozsiane, ale niezbyt nasilone zmiany komórkowe. U noworodka, który żył 6 dni z objawami zaburzeń oddechowych stwierdzono uogólnione znaczne uszkodzenie struktur szarych.

W dwóch przypadkach, w których zgon dziecka spowodowało narastanie w płucach zespołu błon szklistych spotkaliśmy tę samą strukturę zmian w mózgu. Od uszkodzeń opisywanych w tym zespole przez Neubürgera i Schencka (1962) i Schèda (1966) nasze przypadki różnią się tylko większymi zmianami w korze mózgu w porównaniu z uszkodzeniami komórek Purkiniego w mózdzku.

Należy zwrócić uwagę na spostrzegane przez nas zmiany w jądrach pnia mózgu, większe niż spotyka się w przypadkach podobnych uszkodzeń w mózgach dojrzałych. Odpowiadają one raczej uszkodzeniom obserwowanym w doświadczalnej anoksji okołoporodowej (Windle 1963).

Przedstawione obserwacje pozwalają na ich następujące podsumowanie:

1. Wstępujące zakażenie w czasie porodu połączone z niedotlenieniem noworodka prowadzi w połowie przypadków do zapalenia płuc oraz zespołu ciężkich zmian anoksemicznych, powodującego często wczesny zgon dziecka.

2. W okresie tym rzadko dochodzi do objęcia procesem zapalnym ośrodkowego układu nerwowego.

3. W mózgach obserwuje się uszkodzenia odpowiadające zmianom niedotlenieniowym o obrazie morfologicznym, charakterystycznym dla poszczególnych faz jego rozwoju.

M. Домбска, М. Либхардт, З. Ференс, М. Марциняк

POWREJDZENIE NERWNOJ SYSTEMY I INFЕКЦИЈА ПОСЛЕДА
I ИЗМЕНЕНІЯ В ЛЕГКИХ НОВОРОЖДЕННЫХ

Резюме

Предметом исследований был анализ патомеханизма и характера повреждений нервной системы 50 новорожденных после преждевременного разрыва плодного пузыря, связанного с инфекцией последа и затягивающимися родами. Было обнаружено, что в этих условиях в половине случаев доходит до воспаления легких и комплекса тяжелых аноксемических изменений, вызывающих часто ранний смертельный исход ребенка. Только в редких случаях воспалительный процесс охватывает центральную нервную систему. В мозгу наблюдаются повреждения типа гипоксических изменений, свойственных отдельным периодам его развития.

M. Dąmbska, M. Liebhardt, Z. Ferens, M. Marciniak

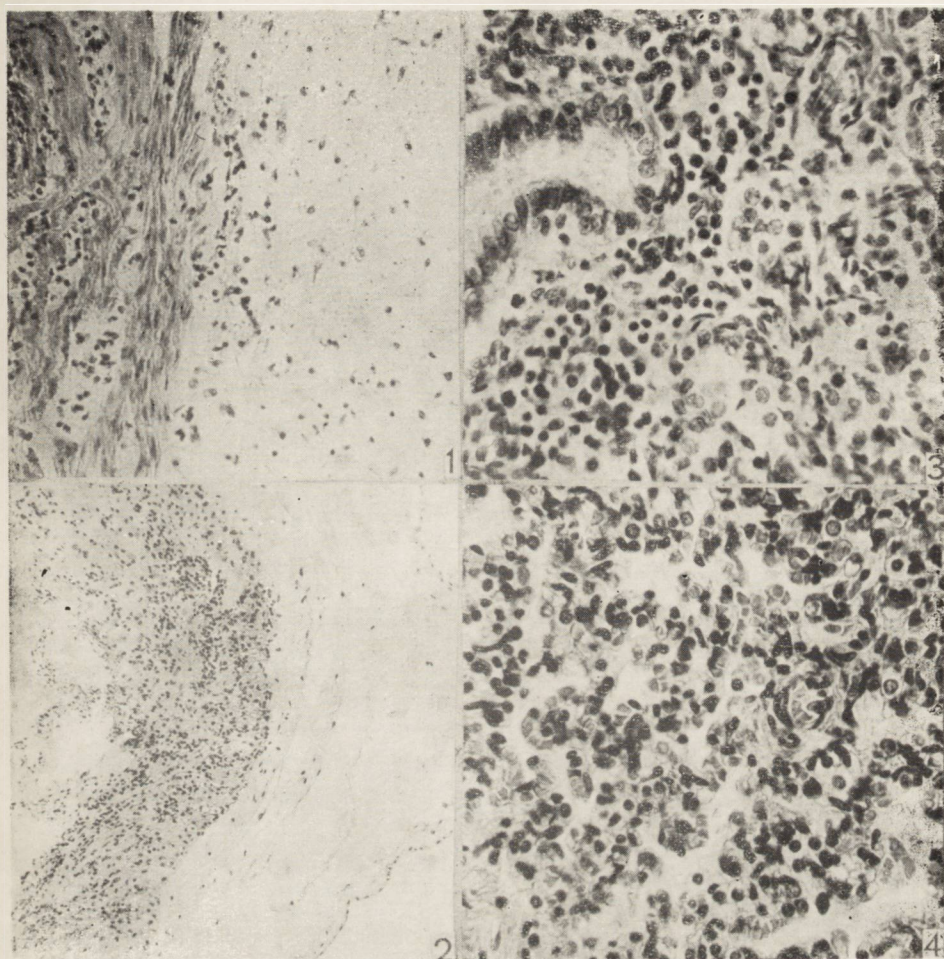
LESIONS OF NERVOUS SYSTEM AND AFTERBIRTH INFECTION
AND CHANGES IN THE LUNGS OF NEWBORN INFANTS

S u m m a r y

The patomechanism and the character of the lesions of the nervous system were analysed in 50 newborn infants affected by premature bursting of the amniotic sac in connection with infection of the afterbirth and protracted labour. It was found that in half of the cases under these conditions pneumonia occurs with a syndrome of severe anoxaemic changes, frequently causing the death of the child. Only in rare cases the inflammatory process involves the central nervous system. Lesions of the type of hypoxic changes are observed in the brain, corresponding to respective periods of its development.

PIŚMIENNICTWO

1. Avery M. E.: The lung and its disorders in the newborn infant. W. B. Saunders Company, Philadelphia 1968.
2. Benirschke K.: A review of the pathologic anatomy of the human placenta. An. J. Obstet. Gynec. 1962, 84, 1595.
3. Dąmbska M.: Martwice a zapalenia w mózgzach płodów i noworodków. Neuropatologia Polska, 1967, V, 1—34.
4. Dąmbska M., J. Szamborski, M. Troszyński.: Krwotoki około- i dokomorowe wcześniaków. Neuropat. Pol., 1971, 1, 71—79.
5. Eicke W. J.: Les maladies inflammatoires de l'encephale chez le foetus. Malformations congenitales du cerveau, 1959, 80—92.
6. Gajl-Pęczalska K.: Zespół błon szklistych płuc noworodka w świetle badań ich struktury metodą immunohistochemiczną. Rozprawy Wydziału Nauk Medycznych, R. X — T. I. 1964, 5—32.
7. Hallervorden J., Meyer J. E.: Cerebrale Kinderlähmung. Handb. der Spec. Pathol. Anat. u. Histol. Henke-Lubarsch. Berlin 1956, XIII/4, 194—282.
8. Ingvar D.: The pathophysiology of cerebral anoxia. Acta anaest. Scand. 1968, suppl. XXIX, 47—59.
9. Joppich G., Schulte F. J.: Neurologie des Neugeborenen Springer Verl., Berlin 1968.



Ryc. 1. Naciek leukocytny w ścianie żyły pępowinowej przechodzący na galarete Whartona. H-E. Pow. 60 ×.

Fig. 1. Leukocytic infiltration in wall of umbilical vein passing to Whartons' gelatin. H-E. × 60.

Ryc. 2. Naciek zapalny w kosmówce i doczesnej podstawowej. H-E. Pow. 80 ×.

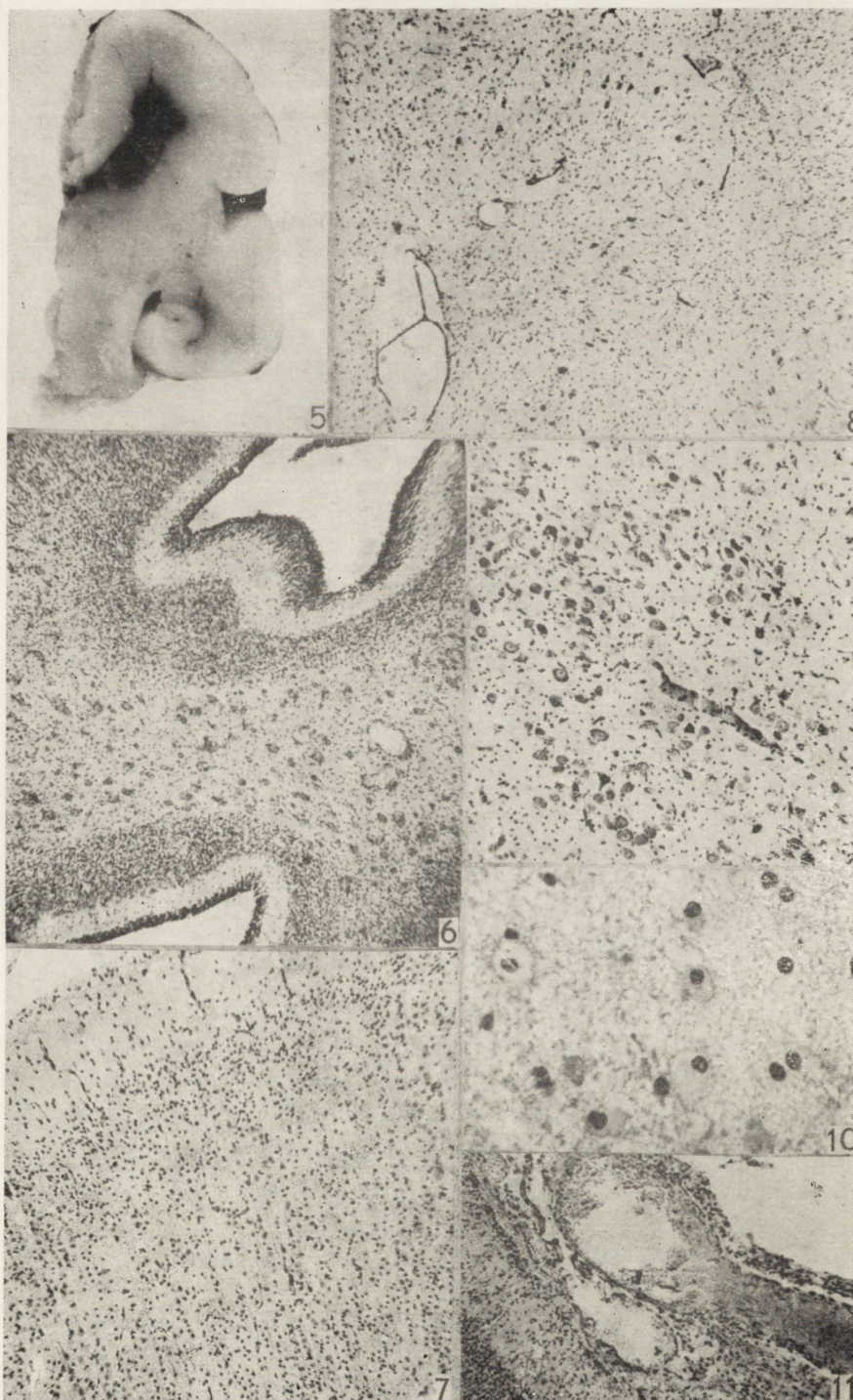
Fig. 2. Inflammatory infiltration in chorion and decidua basalis. H-E. × 80.

Ryc. 3. Odoskrzelowe nacieki zapalne w następstwie aspiracji wód płodowych. H-E. Pow. 200 ×.

Fig. 3. Peribronchial inflammatory infiltrations due to aspiration of amniotic fluid. H-E. × 200.

Ryc. 4. Zapalenie płuc z rozproszonym naciekiem w zrębie tkanki płucnej. H-E. Pow. 200 ×.

Fig. 4. Pneumonia with disseminated infiltration within pulmonary stroma. H-E. × 200.



10. Langley F. A.: Perinatal pneumonia. J. Obstetrics and gynecology of the British Empire, 1959, LXVI, 12—25.
11. Larroche J. C.: Hémorragies cérébrales intraventriculaires chez le prématuré Ie partie: Anatomie et physiopathologie. Biologia Neonatorum, 1964, 7, 26—56.
12. Neubürger K., Schenck S.: Lesions of the brain in hyaline membrane disease of infants. IV Intern. Congress of Neuropath., 1962, str. 50. Stuttgart-Thieme.
13. Pisarski T.: Morfologiczne wykładniki zmian zapalnych w płodzie. Pamiętnik I Konferencji Naukowej Sekcji Medycyny Perinatalnej PTG, Poznań 1969, 128—162.
14. Potter E. L.: Anoxia. Pathology of the fetus and the newborn, 1957, 74—83.
15. Ross J., Dimmette R. M.: Subependymal cerebral haemorrhages in infancy. Amer. J. Dis. Child, 1965, 110, 531—542.
16. Towbin A.: Cerebral Intraventricular Hemorrhage and Subependymal Matrix Infarction in the Fetus and Premature Newborn. Amer. J. of Pathology, 1968, 51/1, 121—133.
17. Towbin A.: Cerebral hypoxie damages of fetus and newborn. Arch. of Neurol., 1969, 20, 35.
18. Schéda W.: Über die Kombination von hyalinon Membranen (der Lunge) und Kleinhirndegeneration beim Neugeborenen. Zbl. Allg. Path. Anat., 1966, 109/1, 72—76.
19. Windle W. F.: Selective vulnerability of the central nervous system of Rhesus monkeys to asphyxia during birth. Selective vulnerability of the Brain in Hypoxaemia. Blackwell-Oxford 1963, 251—255.

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

Ryc. 5. Krwotok około- i dokomorowy. Preparat makroskopowy. Pow. 1½ ×.

Fig. 5. Peri- and intraventricular haemorrhage. Macroscopic preparation. × 1.5.

Ryc. 6. Zastój krwi w naczyniach istoty białej mózdzku. Fiolet krezyłu. Pow. 80 ×.

Fig. 6. Blood stasis in vessels of cerebellar white matter. Cresyl violet. × 80.

Ryc. 7. Ubytki komórkowe i opustoszenia okołonaczyniowe w korze mózgu. Fiolet krezyłu. Pow. 80 ×.

Fig. 7. Neuronal loss and perivascular empty spaces in cerebral cortex. Cresyl violet. × 80.

Ryc. 8. Bardzo znaczne ubytki i uszkodzenia neuronów w jądrze zębatym. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×.

Fig. 8. Considerable cellular loss and neuronal injury in dentate nucleus. Cresyl violet. × 100.

Ryc. 9. Jądro nerwu ślimaka z uszkodzonymi komórkami. Fiolet krezyłu. Pow. 150 ×.

Fig. 9. Cochlear nerve nucleus with damaged cells. Cresyl violet. × 150.

Ryc. 10. Zmiany martwicze w istocie białej mózgu z przerosłymi elementami glejowymi. Fiolet krezyłu. Pow. 300 ×.

Fig. 10. Necrotic changes in brain white matter with hypertrophic glial elements. Cresyl violet. × 300.

Ryc. 11. Naciek zapalny w oponach mózgu. Fiolet krezyłu. Pow. 80 ×.

Fig. 11. Inflammatory infiltration in leptomeninges. Cresyl violet. × 80.

HALINA WEINRAUDER

WŁAŚCIWOŚCI ANTYGENOWE DOJRZEWAJĄCEGO MÓZGU SZCZURA *)

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

Van Alten i La Velle (1966) oraz La Velle i Van Alten (1969) u chomików, Roboz Einstein i wsp. (1970) u królika, Warecka i Müller (1969) na materiale ludzkim stwierdzili różnice antygenowe tkanki nerwowej zależne od stadium jej rozwoju.

Celem podjętych w naszym Zespole i znajdujących się w toku badań jest skorelowanie zachodzących zmian antygenowych w rozwijającym się mózgu szczura z właściwościami immunogennymi tego mózgu i postępującą mielinizacją. Wydaje się celowe użycie w takich badaniach surowic odpornościowych skierowanych nie tylko przeciwko dojrzałemu mózgowi z całkowicie utrwalonymi cechami antygenowymi, ale także surowic zawierających przeciwciała przeciwko antygenom mózgu w różnych stadiach rozwoju.

W przedstawianej obecnie pracy zastosowano do badań surowice królicze przeciwko mózgom noworodków szcurzych (do 24 godz.) oraz przeciwko mózgom szcurów dorosłych (ok. 3 mies.).

MATERIAŁ I METODY

Immunizowanie królików. Króliki albinosy, samce, wagi 2,5—3 kg były uodporniane domięśniowo, w odstępach miesięcznych, homogenatami mózgu szczura w soli fizjologicznej z niepełnym adjuwantem Freund'a w stosunku 1 : 1. Każdy królik otrzymywał co miesiąc 1 ml homogenatu zawierający 250 g wilgotnej masy mózgu.

Siedem królików immunizowano homogenatem perfundowanego mózgu dorosłego szczura; do badań użyto dwie z uzyskanych surowic (nr 19 i nr 26).

*) Praca wykonana częściowo w oparciu o pomoc finansową PL 480 US Public Health Service. Agreement 227704.

Trzy króliki uodporniano homogenatem nieperfundowanych mózgow noworodków szczurzych; do badań użyto również dwie surowice uzyskane od zwierząt nr 16 i 17. Króliki od których pochodziły wybrane surowice przez cały czas uodporniania, trwającego kilka miesięcy, nie wykazywały klinicznych objawów zapalenia mózgu.

Surowice pobierano w trzy tygodnie po każdym szczepieniu i testowano w odczynie immunodyfuzji, aż do uzyskania zadowalających wyników.

Technika badań immunologicznych. Szczegóły dotyczące szczepienia królików, przeprowadzania perfuzji, otrzymywania antygenów rozpuszczalnych oraz przygotowywania surowic i wykonania odczynu immunodyfuzji podano w poprzednich pracach (Weinrauder 1969, 1970).

Przygotowywanie homogenatów. Oprócz antygenów rozpuszczalnych do odczynu Ouchterlony'ego używano również homogenaty narządów. Z narządów pobranych od szczura przygotowywano 20% homogenaty i przechowywano przed użyciem w -20°C . Rozmrożone tkanki homogenizowano w homogenizatorze szklanym w soli fizjologicznej. Używane przy niektórych odczynach supernatanty pochodziły z odwirowania takich homogenatów w 0° przy 12 tys. obr./min., przez 30 minut.

WYNIKI

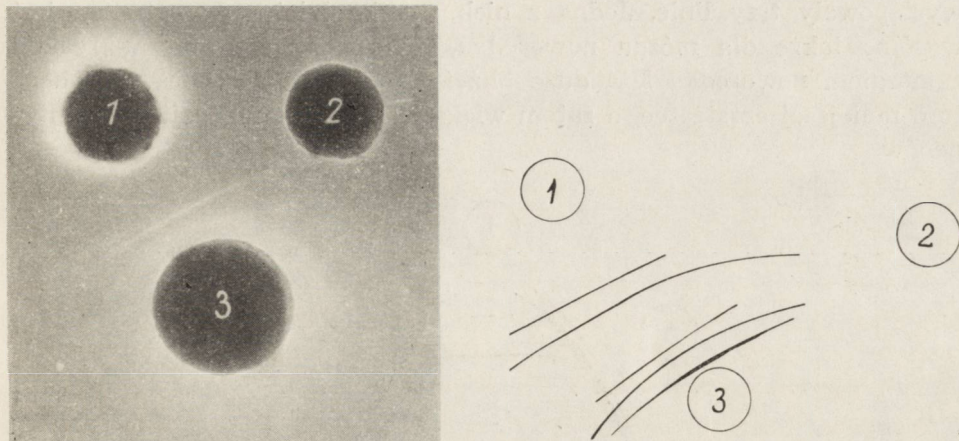
1. Użycie antygenów rozpuszczalnych i pełnych homogenatów

Surowica przeciwko mózgowi dorosłego szczura w reakcji z rozpuszczalnym antygenem z mózgu dorosłego dawała 4 wyraźne pasma precipitacji. Czasem pojawiało się piąte pasmo, słabo widoczne, zanikające po wysuszeniu i zabarwieniu płytek. Obraz takiej reakcji jest widoczny na ryc. 1 i schemacie 1. Z surowicą normalną szczura surowica ta nie reaguje.

Surowica antymózg noworodka (mózgi nieperfundowane) w reakcji z antygenem rozpuszczalnym dojrzałego mózgu daje dwa wyraźne pasma. Daje również dodatnią reakcję z antygenami normalnej surowicy (schemat 2). O tym, że nie są to wspólne antygeny świadczy brak linii precipitacyjnych łączących się przy obu antygenach.

Kierując się sugestiami zawartymi w pracy Van Altena i La Velle (1966) w sprawie używania w miejsce rozpuszczalnych antygenów w precipitacji dyfuzyjnej pełnych homogenatów, część badań wykonano przy użyciu tych ostatnich.

Na schemacie 3 przedstawiono reakcję uzyskaną przy użyciu surowicy antymózg dorosłego szczura i antygenów rozpuszczalnych z dojrzałego

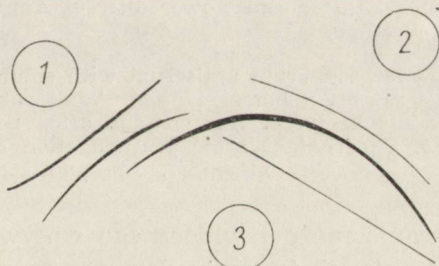


Ryc. 1. 1. Antygen z mózgu szczura 20 mg/ml, 2. Surowica normalna rozcieńczona 1:3, 3. Surowica antymózg szczura dorosłego nr 19.

Fig. 1. 1. Rat brain antigen 20 mg/ml, 2. Normal serum diluted 1:3, 3. Adult rat brain antiserum No. 19.

Schemat 1. Reakcja surowicy antymózg dorosłego szczura z antygenem mózgowym i surowicą szczura. 1. Rozpuszczalny antygen z mózgu 20 mg/ml, 2. Normalna surowica szczura rozcieńczona 1:3, 3. Królicza surowica odpornościowa nr 19.

Diagram 1. Reaction of adult rat brain antiserum with rat brain antigen and serum. 1. Soluble brain antigen 20 mg/ml, 2. Normal rat serum diluted 1:3, 3. Rabbit immune serum No. 19.

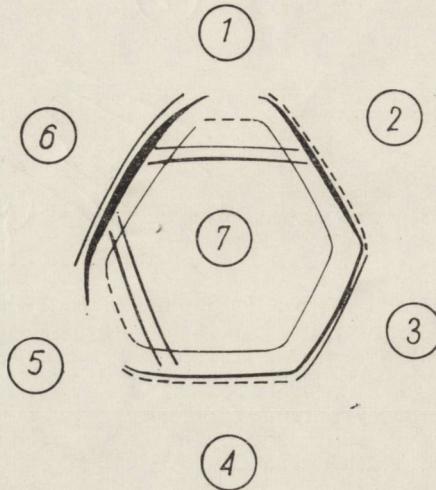


Schemat 2. Reakcja surowicy antymózg noworodka szczura z antygenem z mózgu i surowicą szczura. 1. Rozpuszczalny antygen z mózgu dorosłego szczura 20 mg/ml, 2. Surowica normalna rozc. 1:3, 3. Królicza surowica odpornościowa nr 17.

Diagram 2. Reaction of newborn rat brain antiserum with rat brain antigen and serum. 1. Soluble brain antigen 20 mg/ml, 2. Normal rat serum diluted 1:3, 3. Rabbit immune serum No. 17.

mózgu oraz pełnych homogenatów z mózgu szczura dorosłego i noworodka. Przy takim porównaniu stwierdzono, że pasmo najdalsze od zbiornika z surowicą występuje wyraźnie tylko przy użyciu antygeny rozpuszczalnego. Obserwuje się także różnice w intensywności linii. Natomiast nie stwierdzono różnic w liczbie pasm precypitacyjnych. Zawsze

występowały trzy linie. Jedna z nich, najbardziej wewnętrzna jest wspólna także dla mózgu noworodka, dwie pozostałe linie w reakcji z mózgiem noworodka leżą dużo bliżej zbiornika z surowicą. Świadczy to o mniejszej cząsteczce, a zatem większej szybkości dyfuzji tych antygenów.



Schemat 3. Reakcja surowicy antymózg szczura dorosłego z antygenami rozpuszczalnymi i homogenatami mózgu. 1. Homogenat mózgu noworodka, 2. Homogenat mózgu dorosłego szczura, 3. Rozpuszczalny antygen z mózgu dorosłego szczura, 4. Supernatant po wirowaniu homogenatu mózgu dorosłego szczura, 5. Supernatant po wirowaniu homogenatu mózgu noworodka, 6. Antygen rozpuszczalny, 7. Surowica odpornościowa nr 26.

Diagram 3. Reaction of adult rat brain antiserum with soluble antigens and brain homogenates. 1. Newborn rat brain homogenate, 2. Adult rat brain homogenate, 3. Soluble antigen from adult brain, 4. Supernatant after centrifugation of adult rat brain homogenate, 5. Supernatant after centrifugation of newborn rat brain homogenate, 6. Soluble antigen, 7. Immune serum No. 26.

Zastosowane wirowanie nie ma widocznego wpływu na intensywność i układ linii precypitacyjnych tworzonych przez surowicę antymózg dorosłego szczura i homogenaty mózgu noworodka.

2. Porównanie reakcji surowicy antymózg dorosły i antymózg noworodka szczurzego z homologicznymi antygenami

Reakcja taka jest przedstawiona na schemacie 4. Surowice przeciwko mózgowi dorosłego szczura i noworodka tworzą odmienne w charakterze obrazy linii precypitacyjnych z homologicznymi antygenami. Surowica przeciwko mózgowi dorosłemu wykrywa dwa wspólne dla obu mózgow antygeny, które łączą się w jedno pasmo, a ponadto dwa inne — przy

zbiorniku z mózgiem dorosłym położone bliżej niego, zaś przy zbiorniku z mózgiem noworodka zlokalizowane pomiędzy tymi dwoma wspólnymi pasmami. Surowica antymózg noworodka daje z antygenem homologicznym dwa — cztery pasma: dwa z nich (lub jedno podwójne) są wspólne z antygenami mózgu dorosłego. Linie tworzone przez antygeny

Schemat 4. Reakcja surowic antymózg szczura dorosłego i noworodka z homologicznymi antygenami. 1. 20% homogenat z mózgu noworodka. 2. Surowica antymózg noworodka nr 16, 3. Surowica antymózg szczura dorosłego, 4. 20% homogenat mózgu dorosłego szczura.

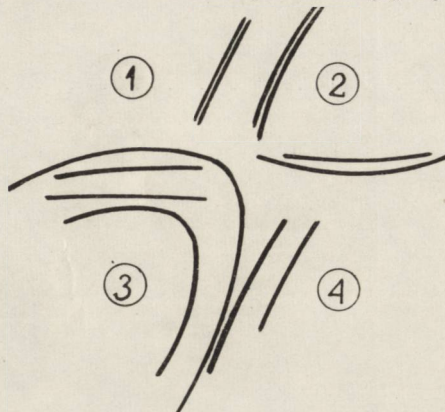


Diagram 4. Reaction of adult rat brain antiserum and newborn rat brain antiserum with homological antigens. 1. 20% newborn rat brain homogenate, 2. Newborn rat brain antiserum, 3. Adult rat brain antiserum, 4. 20% adult rat brain homogenate.

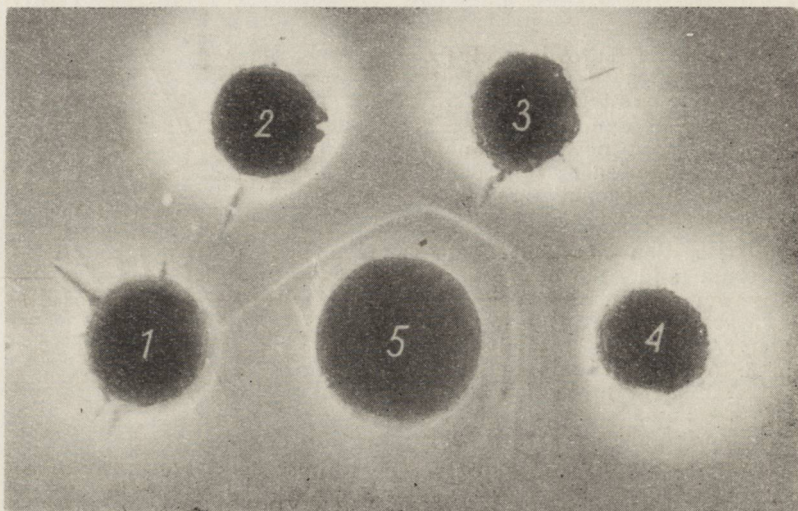
z mózgu noworodka są mniej ostre, rozlane, często robią wrażenie linii podwójnych, stąd trudność w ostatecznym wypowiedzeniu się co do liczby wykrywanych antygenów.

Nie ulega wątpliwości, że surowice te reagują z antygenami różniącymi się od siebie szybkością dyfuzji i stężeniem w homogenacie. Można również przypuszczać, że „komplet” antygenów mózgu noworodka i dorosłego szczura — wykrywany tymi metodami — różni się także liczbą antygenów.

3. Reakcje z surowicą przeciwko mózgowi szczura dorosłego

Surowica pochodząca od królika immunizowanego pełnym homogenatem mózgu dorosłego szczura daje wyraźne pasma precypitacyjne z rozpuszczalnymi antygenami mózgu, wątroby i nerki pochodzącymi od dorosłych zwierząt (ryc. 2). W mózgu dorosłego szczura występują co najmniej trzy wspólne z innymi narządami antygeny, które wykrywa surowica antymózg dojrzały: pasmo „zewnętrzne”, „środkowe” i „wewnętrzne” licząc od zbiornika z antygenem. Pasma wewnętrzne zajmuje raczej stałą pozycję, natomiast dwa pozostałe mają tendencję do zmiany pozycji w zależności od narządu. Antygeny odpowiadające tym liniom są immunologicznie identyczne, ale różnią się wielkością cząsteczki. Można również sądzić, że ich stężenie w różnych narządach nie jest jednakowe. Wyraźnie jest to widoczne na schemacie 5, przedstawiającym obraz uzyskany przy użyciu do odczynu pełnych homogenatów narządów.

Oprócz opisanych antygenów wspólnych, obserwuje się w różnych układach jedno lub dwa pasma dodatkowe, które prawdopodobnie reprezentują antygeny swoiste dla mózgu, co jednak wymaga potwierdzenia w dokładniejszych badaniach przy użyciu surowic absorbowanych.



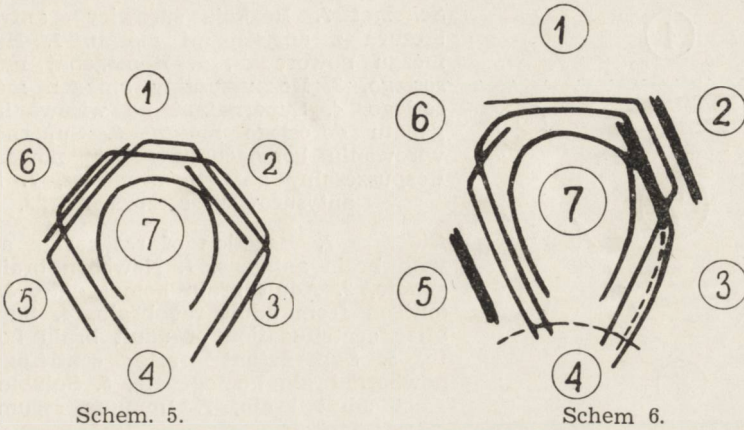
Ryc. 2. 1. Surowica normalna rozcz. 1:3, 2. Antygen z mózgu, 3. Antygen z wątroby, 4. Antygen z nerki, 5. Surowica antymózg szczura dorosłego nr 19.

Fig. 2. 1. Normal serum diluted 1:3, 2. Brain antigen, 3. Liver antigen, 4. Kidney antigen, 5. Adult rat brain antiserum No 19.

Mózg dorosłego szczura zawiera także dalsze antygeny wspólne z innymi narządami, ujawniają się one w postaci dodatkowych pasm położonych przy zbiornikach z antygenami wątroby i nerki. Wskazuje to na silne właściwości immunogenne tych wspólnych antygenów, których stężenie w homogenacie użytym do uodpornienia zwierząt jest wystarczające do wyprodukowania przeciwciał, natomiast zbyt słabe do ujawnienia się w reakcji serologicznej.

Reakcję surowicy antymózg dorosłego szczura z mózgiem szczura dorosłego, mózgiem noworodka i innymi antygenami przedstawia schemat 6. Surowica użyta w tym doświadczeniu pochodzi z późniejszego okresu immunizacji i zawiera przeciwciała precypitujące dla większej liczby antygenów. Z antygenem homologicznym tworzy 5 — 6 pasm, w tym opisane już co najmniej trzy wspólne z innymi narządami. Te wspólne antygeny znajdują się także w mózgu noworodka, ale ich lokalizacja na płycie wskazuje, że różnią się one od antygenów w mózgu dojrzałego szczura szybkością dyfuzji. W dotychczasowych badaniach przy użyciu opisywanej metody nie udaje się wykryć innych — poza wspólnymi — antygenów w mózgu noworodka, jakkolwiek podwójna

linia oznaczona na schemacie linią przerywaną przy zbiorniku z homogenatem mózgu noworodka, a ciągiłą przy antygenie z mózgu dorosłego mogłaby wskazywać na istnienie innego jeszcze antygeny o bardzo zbliżonej szybkości dyfuzji. Natomiast w homogenatach mózgu dorosłego



Schemat 5. Reakcja surowicy antymózg szczura dorosłego z homogenatami różnych narządów. 1. 20% homogenat z mózgu dorosłego szczura, 2. 20% homogenat z nerki, 3. Homogenat mózgu jak 1), 4. Surowica normalna, 5. Homogenat mózgu, 6. 20% homogenat wątroby, 7. Surowica antymózg dorosłego szczura, nr 26.

Diagram 5. Reaction of adult rat brain antiserum with homogenates of various organs. 1. 20% adult rat brain homogenate, 2. 20% kidney homogenate, 3. Brain homogenate, 4. Normal serum, 5. Brain homogenate, 6. 20% liver homogenate, 7. Adult rat brain antiserum No. 26.

Schemat 6. Reakcja surowicy antymózg szczura dorosłego z homogenatami różnych narządów. 1. Homogenat wątroby, 2. Homogenat mózgu dorosłego, 3. Homogenat mózgu noworodka, 4. Surowica normalna, 5. Homogenat mózgu dorosłego, 6. Homogenat mózgu noworodka, 7. Surowica antymózg dorosłego szczura nr 26.

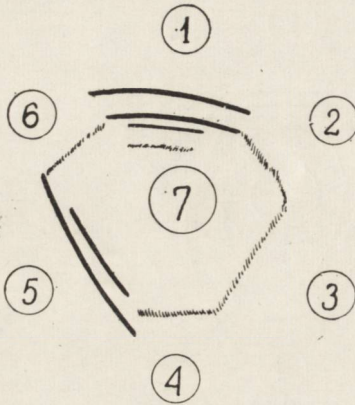
Diagram 6. Reaction of adult rat brain antiserum with homogenates of various organs. 1. Liver homogenate, 2. Adult brain homogenate, 3. Newborn brain homogenate, 4. Normal serum, 5. Adult brain homogenate, 6. Newborn brain homogenate, 7. Adult rat brain antiserum No. 26.

go szczura wykrywa się tą surowicą dalsze pasmo (lub pasma) leżące blisko zbiornika z antygenem, które nie mają swoich odpowiedników w pozostałych homogenatach.

Długi okres immunizowania królików nawet dokładnie perfundowanym mózgiem powoduje, że w surowicy odpornościowej znajdują się przeciwciała skierowane przeciwko białkom normalnej surowicy. Przeciwciała te dają z surowicą normalną słabo widoczne, rozlane pasmo precipitacyjne. Reakcja z surowicą anty surowica szczura wskazuje, że w homogenatach perfundowanych mózgow znajduje się pewna ilość surowicy — reakcja jest przedstawiona na schemacie 7.

4. Reakcje z surowicą antymózg noworodka szczurzego.

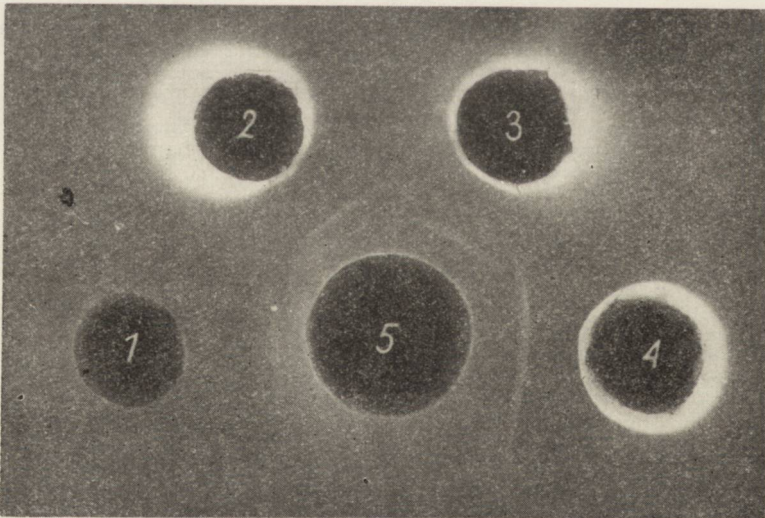
W surowicy antymózg noworodka znajdują się przeciwciała przeciwko wszystkim antygenom użytym do badań (ryc. 3, schemat 8). Z anty-



Schemat 7. Reakcja surowicy antysurowica szczura z antygenami mózgu. 1. Homogenat mózgu noworodka, 2. Homogenat mózgu dorosłego, 3. Rozpuszczalny antygen mózgu dorosłego, 4. Supernatant po wirowaniu homogenatu dorosłego mózgu, 5. Supernatant po wirowaniu homogenatu mózgu noworodka, 6. Rozpuszczalny antygen z mózgu, 7. Surowica antysurowica szczura nr 22.

Diagram Reaction of rat serum antiserum with brain antigens. 1. Newborn brain homogenate, 2. Adult brain homogenate, 3. Soluble antigen from adult rat brain, 4. Supernatant after centrifugation of adult brain homogenate, 5. Supernatant after centrifugation of newborn brain homogenate, 6. Soluble antigen from adult brain, 7. Immune serum nr 22.

genami z mózgu dorosłego szczura surowica taka daje szereg linii, z których jedna wyraźnie łączy się z linią przy antygenie z wątroby i nerki. Ponadto w mózgu dorosłego szczura znajduje się jeszcze jeden wykrywany przy pomocy tej surowicy antygen, a linia mu odpowiadająca znajduje się bliżej zbiornika z surowicą. Pozostałe wspólne antygeny



Ryc. 3. 1. Surowica normalna, 2. Antygen z mózgu, 3. Antygen z wątroby, 4. Antygen z nerki, 5. Surowica antymózg noworodka nr 16.

Fig. 3. 1. Normal serum 2. Brain antigen, 3. Liver antigen, 4. Kidney antigen, 5. Newborn rat brain antiserum No. 16.

występują w większym stężeniu w wątrobie i nerce, co szczególnie staje się widoczne przy użyciu surowicy zagęszczonej (ryc. 4). Zwraca uwagę pojawienie się większej liczby pasm przy zbiorniku z nerką, na co jeszcze zwrócimy uwagę przy omawianiu surowic absorbowanych.

Schemat 8. Reakcja surowicy antymózg noworodka z antygenami rozpuszczalnymi z różnych narządów. 1. Normalna surowica, 2. Antygen rozpuszczalny z mózgu szczura dorosłego 20 mg/ml, 3. Antygen z wątroby 10 mg/ml, 4. Antygen z nerki 10 mg/ml, 5. Surowica antymózg noworodka nr 16.

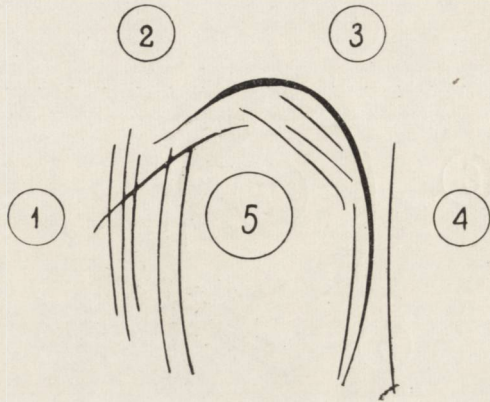
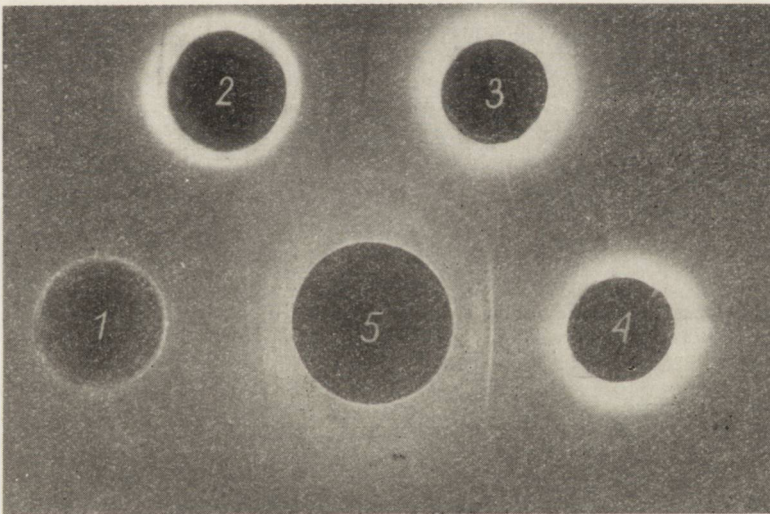


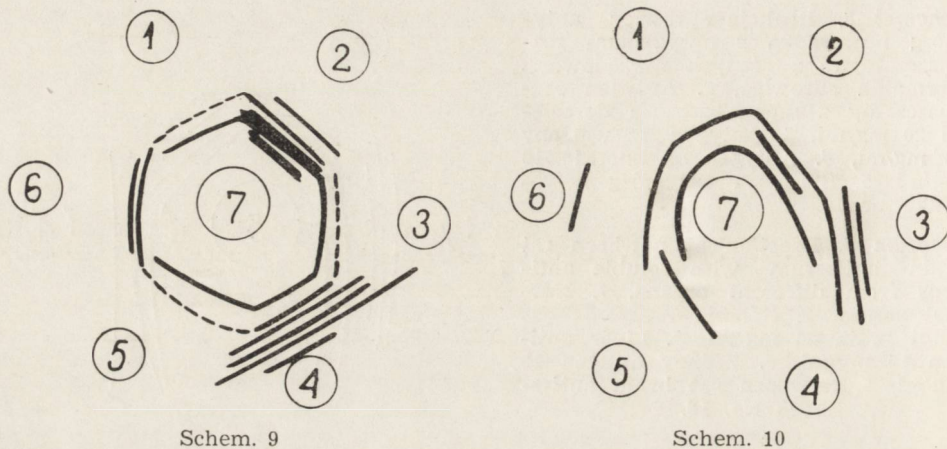
Diagram 8. Reaction of newborn rat brain antiserum with soluble antigens from different organs. 1. Normal serum, 2. Soluble antigen from adult brain 20 mg/ml, 3. Liver antigen 10 mg/ml, 4. Kidney antigen 10 mg/ml, 5. Newborn rat brain antiserum No. 16.



Ryc. 4. 1. Surowica normalna, 2. Antygen z mózgu, 3. Antygen z wątroby, 4. Antygen z nerki, 5. Surowica antymózg szczura noworodka nr 16 zagęszczona 2 ×.
Fig 4. 1. Normal serum, 3. Liver antigen, 4. Kidney antigen, 5. Newborn rat brain antiserum concentrated 2 ×.

Surowica antymózg noworodka nr 16, pochodząca z późniejszego okresu immunizacji, w układzie przedstawionym na schemacie 9 zawiera przeciwciała przeciwko jednemu wspólnemu antygenowi tkankowemu, natomiast drugi wspólny antygen może być antygenem surowicy ponie-

waż linia ta, jakkolwiek bardzo słaba przy zbiorniku z homogenatem dorosłego mózgu jednak wydaje się łączyć, tworząc regularny sześciokąt. I tu również zwraca uwagę duża liczba antygenów wspólnych dla mózgu noworodka i nerki dorosłego szczura.



Schem. 9

Schem. 10

Schemat 9. Reakcja surowicy antymózg noworodka z homogenatami narządów dorosłego szczura. 1. Homogenat mózgu, 2. Homogenat wątroby, 3. Homogenat mózgu, 4. Homogenat nerki, 5. Homogenat mózgu, 6. Surowica normalna, 7. Surowica antymózg noworodka nr 16.

Diagram 9. Reaction of newborn brain antiserum with homogenates of adult rat organs. 1. Brain homogenate, 2. Liver homogenate, 3. Brain homogenate, 4. Kidney homogenate, 5. Brain homogenate, 6. Normal serum, 7. Newborn rat brain antiserum No. 16.

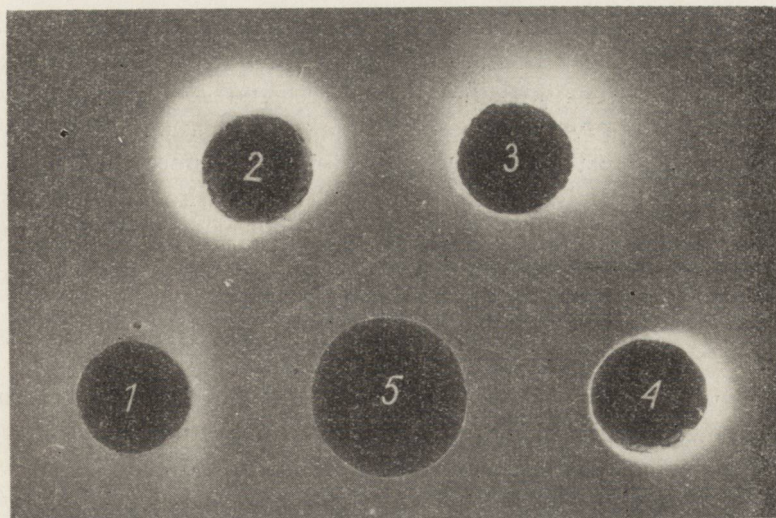
Schemat 10. Reakcja surowicy antymózg noworodka z antygenami różnych narządów 1. Mózg dorosłego szczura, 2. Wątroba, 3. Nerka, 5. Surowica normalna rozcz. 1:3, 6. Mózg noworodka, 7. Surowica antymózg noworodka nr 16.

Diagram 10. Reaction of newborn rat brain antiserum with antigens from various organs. 1. Adult rat brain, 2. Liver, 3. Kidney, 5. Normal serum diluted 1:3, 6. Newborn rat brain, 7. Newborn rat brain antiserum No. 16.

Surowica antymózg noworodka z antygenem homologicznym tworzy dwa pasma reprezentujące antygeny wspólne dla mózgu, wątroby i nerki oraz jedno pasmo, dość słabe i leżące bardzo blisko zbiornika z antygenem — ewentualny swoisty antygen mózgowy. Reakcję tę przedstawia schemat 10.

5. Reakcje z surowicami absorbowanymi

Wyabsorbowanie surowicy antymózg szczura dorosłego surowicą normalną (ryc. 5, schemat 11) nie wpływa w sposób zasadniczy na obraz linii precipitacyjnych. Z wyjątkiem pasm przy zbiorniku z nerką liczba pasm reprezentujących główne antygeny wspólne lub też swoiste

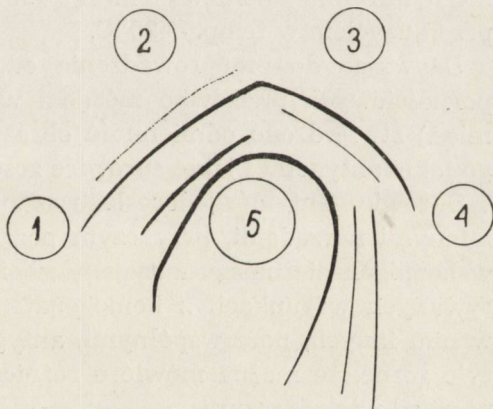


Ryc. 5. 1. Surowica normalna, 2. Antygen z mózgu, 3. Antygen z wątroby, 4. Antygen z nerki, 5. Surowica antymózg szczura dorosłego nr 19 absorbowana surowicą.

Fig. 5. 1. Normal serum, 2. Brain antigen, 3. Liver antigen, 4. Kidney antigen, 5. Adult rat brain antiserum absorbed with serum.

Schemat 11. Reakcja surowicy antymózg dorosłego szczura absorbowanej surowicą z antygenami rozpuszczalnymi z różnych narządów. 1. Surowica normalna, 2. Antygen z mózgu 20 mg/ml, 3. Antygen z wątroby 10 mg/ml, 4. Antygen z nerki 10 mg/ml, 5. Surowica antymózg dorosłego szczura absorbowana surowicą normalną.

Diagram 11. Reaction of adult rat brain antiserum absorbed with serum, with soluble antigens from various organs, 1. Normal rat serum, 2. Brain antigen 20 mg/ml, 3. Liver antigen 10 mg/ml, 4. Kidney antigen 10 mg/ml, 5. Adult rat brain antiserum absorbed with normal rat serum.



antygeny mózgowe nie zmienia się. Natomiast absorpcja jednoczesna surowicą i wątrobą usuwa z surowicy odpornościowej antymózg prawie wszystkie przeciwciała. Jedynie w reakcji z homogenatem dorosłego mózgu widoczne są słabe, rozlane dwa pasma (lub jedno podwójne). W reakcji z homogenatem mózgu noworodka po takiej absorpcji nie pojawia się żadna linia precypitacyjna.

Surowica antymózg noworodka absorbowana surowicą i homogenatem wątroby reaguje z homogenatem mózgu noworodka tworząc jedno, słabe pasmo. Nie reaguje z mózgiem dorosłego szczura, ani z wątrobą natomiast pozostają w niej przeciwciała skierowane przeciwko wspólnym antygenom występującym w dużej ilości w nerce. Wynika z tego, że do usunięcia przeciwciał skierowanych przeciwko antygenom wspólnym nie wystarcza stosowana dotychczas absorpcja wątrobą, tak jak to ma miejsce w przypadku surowicy antymózg dorosłego szczura.

OMÓWIENIE

Immunizując wielokrotnie króliki homogenatami mózgu szczura dorosłego i noworodka z niepełnym adiuwantem Freund'a uzyskano precypitujące surowice, zawierające przeciwciała skierowane przeciwko całemu szeregowi antygenów. Zarówno mózg noworodka jak i mózg dorosłego szczura okazały się względnie dobrymi immunogenami nie wymagającymi stosowania dodatkowych zabiegów. O takiej konieczności donoszą Van Alten i La Velle (1969), którzy nie otrzymali surowic precypitujących przeciwko świeżemu mózgowi dorosłego chomika, a „dobre” surowice uzyskiwali stosując cykl 8-krotnego zamrażania-odmrażania. W naszym przypadku miało miejsce jednokrotne tylko zamrożenie-odmrożenie, ponieważ mózgi lub homogenaty były przechowywane przed użyciem w temp. -20°C .

Używając do przeprowadzenia odczynu immunodyfuzji surowic odpornościowych przeciwko mózgom w 2 stadiach rozwoju (24 godz. i 3 mies.) stwierdzono odmiennosc obrazu na płytkach w zależności od tego jakie antygeny i jakie surowice zostały użyte.

Surowica antymózg dorosłego szczura reaguje z mózgiem dorosłym i innymi narządami, przy czym poza antygenami wspólnymi, wykrywa w homogenacie mózgu antygeny swoiste. Surowica taka reagując w opisywanych warunkach z homogenatem mózgu noworodka nie wykrywa w nim innych, poza wspólnymi, antygenów. Obrazy takich reakcji są na tyle różne, że można mówić o różnicach antygenowych mózgu w zależności od wieku szczura.

Surowica antymózg noworodka tworzy dwa lub trzy pasma z antygenem homologicznym, przy czym dwa z nich są antygenami wspólnymi z innymi narządami, zaś jedno pasmo reprezentuje antygen swoisty dla mózgu noworodka, dla którego przeciwciała pozostają w surowicy po absorpcji surowicą normalną i wątrobą. Surowica ta wykrywa w homogenacie dorosłego mózgu jedynie antygeny wspólne. Podobne wyniki uzyskali Van Alten i La Velle (1966) u chomika. Dotyczy to przede wszystkim dających najwyraźniejsze reakcje antygenów wspólnych,

których rola w dojrzewaniu mózgu jest nieznana. La Velle i Van Alten (1969) sądzą, że występowanie antygenów w dojrzałych narządach i w mózgu w okresie jego rozwoju przy jednoczesnym braku tych antygenów w mózgu dojrzałego zwierzęcia jest szczególnie interesujące. W naszym przypadku można sugerować istnienie takich wspólnych z nerką antygenów, występujących w mózgu noworodka, które nie ujawniają się w reakcji między surowicą antymózg dorosłego szczura i antygenami z dorosłych narządów.

Trudno w tej chwili stwierdzić, czy w mózgu występuje zjawisko pojawiania się bądź „znikania” antygenów w procesie dojrzewania tego narządu. Wydaje się jednak, że na podstawie porównania reakcji z surowicami przeciwko mózgowi 1-dniowego i 3-miesięcznego zwierzęcia oraz na podstawie lokalizacji pasm pozostających na płytce po wyabsorbowaniu surowic, można brać pod uwagę istnienie różnych swoistych antygenów. Aby to jednak potwierdzić, konieczne są dalsze badania przy użyciu antygenów z różnych stadiów rozwoju mózgu i surowic im odpowiadających. Wydaje się bowiem niesłuszne ograniczanie się tylko do użytych dwu surowic. Cytowani już Van Alten i La Velle (1966) stwierdzili, że najlepsza „wieloważna” jest surowica przeciwko mózgowi 5-dniowego chomika, zaś Gaitonde i Martenson (1970) badając metabolizm zasadowych białek w rozwijającym się mózgu szczura zauważyli różnice w ich charakterystyce między mózgiem 5-cio i 10-dniowego szczura. Przemawia więc to za użyciem także i innych surowic — badania takie są w toku.

Badań podobnych do opisanych w niniejszej pracy i w pracach Van Altena i La Velle (1966), a wykonanych na mózgu ssaków jest niewiele. Na ogół badano pojawienie się określonych antygenów — głównie posiadających właściwości encefalitogenne — w rozwijającym się mózgu. Roboz Einstein i wsp. (1970) stwierdzili pojawienie się takiego antygeny w mózgu 3-tygodniowego płodu królika, a wcześniej jeszcze w jego rdzeniu. Friedman i Wenger (1965) wykryli antygen białkowy reagujący z frakcją 7S antysurowicy, który osiągał najwyższe miano 12 dnia inkubacji zarodka kurzego. Warecka i Bauer (1968) uważają, że zidentyfikowana przez nich swoista dla mózgu α -glikoproteina pojawia się w mózgu ludzkim około 7 miesiąca życia płodowego, a Warecka i Müller (1969) stwierdzili korelację między występowaniem tej glikoproteiny, a mielinizacją. Niektórzy autorzy sugerują również „znikanie” antygenów w trakcie dojrzewania mózgu — jak gdyby „maskowanie” ich przez dojrzewającą mielinę (La Velle, Van Alten 1969, McCallion, Trott 1964, 1965), lub występowanie antygenów „przejściowych” — na pewnych tylko etapach rozwoju.

Zagadnienie pozostaje otwarte. Nasze dalsze badania nad różnicami w składzie antygenów mózgu i ich właściwości immunogennych w zależności od stadium rozwoju, a także nad korelacją występowania antygenów a mielinizacją, są w toku.

Praca została wykonana przy współpracy technicznej p. Haliny Nowickiej.

Г. Вэинраудэр

АНТИГЕНОВЫЕ СВОЙСТВА СОЗРЕВАЮЩЕГО МОЗГА КРЫСЫ

Резюме

Исследовано антигены мозга новорожденных и взрослых крыс, используя антисыворотки кролика. Исследования проведено методом иммунодиффузии.

Многokратно иммунизируя кролики гомогенатами мозга с неполным адьювантом Фрейнда, получено сыворотки дающие несколько дуг преципитации.

Антигены мозга находящегося в разных периодах развития не тождественны, о чем свидетельствует разница в иммунологических реакциях полученных между сывороткой против мозга взрослой и новорожденной крысы, а гомологическими антигенами.

В исследованных периодах созревания мозга резко обозначены тканевые антигены, общие для мозга, печени и почек.

Органоспецифические антигены мозга взрослой и новорожденной крысы, выявленные при помощи абсорбированных антисывороток, диффундируют в желе с разной скоростью, что доказывает нетождественность антигенов.

H. Weinrauder

ANTIGENIC PROPERTIES OF THE DEVELOPING RAT BRAIN

S u m m a r y

Antigens of the newborn and adult rat brain were assayed by immunodiffusion, with the use of rabbit immune sera.

Well precipitating antisera were prepared by multiple immunization of rabbits with brain homogenates with incomplete Freund adjuvant.

As shown by the reaction of newborn brain antiserum and adult brain antiserum with homologous antigens, brain antigens are not identical depending on the age of the animal. In both periods of the development, tissue antigens common with those of the liver and kidney were found to be present in the brain. Brain organ-specific antigens, as detected by antisera absorbed with serum and liver, exhibit age-dependent differences in gel diffusion rate, suggesting differences between them.

PIŚMIENNICTWO

1. Friedman H. P., Wenger B. S.: Adult brain antigens demonstrated in chick embryos by fractionated antisera. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, 1965, 13, 35—43.
2. Gaitonde M. K., Martenson R. E.: Metabolism of highly basic proteins of rat brain during postnatal development. *Journal of Neurochemistry*, 1970, 17, 551—563.
3. La Velle A., Van Alten P. J.: Antigenic changes in the developing brain of the hamster, *Experimental Neurology*, 1969, 25, 177—189.
4. McCallion D. J., Trott J. C.: Transient embryonic antigens in the chick. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, 1964, 12, 511—516.
5. McCallion D. J., Trott J. C.: Changes in antigenicity of the brain of the chick embryo. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 1965, 43, 369—372.
6. Roboz Einstein E., Dalal K. B., Csejtey J.: Biochemical maturation of the central nervous system. II. Protein and proteolytic enzyme changes. *Brain Research*, 1970, 18, 35—49.
7. Van Alten P. J., La Velle A.: Antigenic changes in developing hamster brain using antisera to myelinated and unmyelinated brain. *Experimental Neurology*, 1966, 14, 115—133.
8. Warecka K., Bauer H. J.: Untersuchungen über ein hirnspezifisches α_2 -Glykoprotein in der fetalen und postnatalen Lebensperiode beim Menschen. *Deutsche Zeitschrift für Nervenheilkunde*, 1968, 194, 66—75.
9. Warecka K., Müller D.: The appearance of human „brain-specific” glycoprotein in ontogenesis. *Journal of the neurological Sciences*, 1969, 8, 329—345.
10. Weinrauder H.: Studies on cat brain antigens. I. Soluble Precipitation protein antigens. *Bulletin de l'Académie Polonaise des Sciences*, Cl. VI. 1969, XVII, 423—426.
11. Weinrauder H.: Studies on cat brain antigens. II. Immunoelectrophoretic assay of the soluble protein antigens. *Bulletin de l'Académie Polonaise des Sciences*, Cl. VI. 1970, XVIII, 329—332.

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

MIECZYSLAW WENDER, ZOFIA ADAMCZEWSKA, JERZY DYMECKI, BOGNA
SCHMIDT-SIDOR

A JUVENILE CASE OF GM₁ GANGLIOSIDOSIS

Department of Neurology, Medical Academy, Poznań

Head of Department: prof. dr. med. M. Wender

Neuropathological Department of Psychoneurological Institute, Pruszków

Head of Department: doc. dr. med. J. Dymecki

GM₁ — gangliosidoses belong to lipidoses which have been classified on the basis of chemical identification of a particular lipid, GM₁ ganglioside which is the main substance stored, and which occur mainly in the early and late infantile period of life. This applies equally well to cases which were confirmed chemically (Suzuki and Chen, 1967; Suzuki et al. 1968; Hoofstede et al. 1969; Wolfe et al. 1970), as to those which were classified retrospectively (Norman et al. 1959; Landing et al. 1964; O'Brien et al. 1965; Gonatas and Gonatas, 1965). Lastly Mossakowski et al. (1971) described an interesting case of GM₁ — generalized gangliosidosis with unusual involvement of the white matter.

According to the survey by Derry et al. (1968) of cases of GM₁ monosialogangliosidosis — these cases may be divided into two main types.

Type I is characterized by the appearance of neurological symptoms as early as the very first months of life and by significant affliction of the skeleton and viscera. A clinical onset of the disease around the age of one year with a distinguished preponderance of storage processes in the central nervous system — is symptomatic for the II type of this disease. Since only a small number of cases other than the Tay-Sachs disease (GM₂ gangliosidosis) have been distinguished on a chemical basis up till now the presentation of a juvenile case of GM₁ gangliosidosis seemed to be purposeful.

CLINICAL FINDINGS

The patient, a girl, was the first of four children of young, healthy and unrelated parents. The three younger brothers and sisters were normal. Her birth was normal and her mother had been well through

pregnancy. The child developed normally until the 6th year of life. At the age of 7 the child became bradyphrenic and difficulties in learning were observed. At the age of 8 first grand-mal fits were noted, to be followed by absence-type fits. Gradually difficulties in swallowing and impairment of the gait appeared. The child became apathetic, silent, almost motionless. At the age of 9 a full syndrome of dementia developed. The girl ceased to speak, take care of herself and incontinence of stools and urine appeared.

At admission to the hospital the child was in a state of deep dementia and exhibited a moderate hepatosplenomegalia and enlargement of lymph-nodes. The following neurological symptoms were observed: generalized muscular hypertonus, unevenness of deep reflexes, ataxia, hesitant and unsteady gait. No impairment of vision or audition was found. Fundus was normal.

Laboratory findings: Haemoglobin 57%. Red blood cells — 2 800 000/mm³, pathologic liver function tests. The chest radiographs showed enlargement of lymph nodes in the right hilus. Pneumoencephalography showed symmetrical dilatation of the ventricular system EEG — demonstrated generalized pathological disturbances, with high-voltage delta and theta activity and the alpha rhythm lacking entirely.

During the 4-year hospital treatment severe dementia and inanitia developed together with increasing muscular tonus leading to flexor contractures. Because of frequent choking the child had to be fed by a stomach-tube. In the EEG records spikes and waves appeared. The disease covered a span of 7 years, and the girl died at the age of 13 displaying a picture of extreme mental and physical inanition.

PATHOLOGICAL FINDINGS

In histological sections from the patient's spleen and liver, large storage cells were found. These cells were partially vacuolized containing small-or medium-sized droplets which gave positive staining with Sudan black B and with PAS and weakly positive reaction with amido-black.

Histopathology of brain. A balloon-like distention of neurones was the dominating feature found in brain sections. The degree of storage displayed by individual cells was not uniform. These pathological changes were most prominent in the motor cells of the anterior horns of the spinal cord, in the neurocytes of cranial nerves, in neurones of the substantia nigra and of the nucleus dentatus. The neurocytes of the basal nuclei were afflicted to a lesser degree. On the whole the storage

process in the cortex was much less pronounced than in the neurocytes of the brain stem and spinal cord, and still the motor cortex was the least affected. Within the cerebellum intensive storage was found in the neurocytes of the nucleus dentatus, while the Purkinje cells were changed less severely.

In paraffin-embedded material only a part of the stored material in the neurocytes was Sudan black B and PAS-positive.

The frozen sections displayed a generalized positive reaction with Sudan black B and with PAS. After acetylation the PAS-reaction disappeared, to reappear after reacetylation. The perfomic acid — Schiff reaction was positive. The stored material did not show metachromatic properties, neither did it stain with Nile blue nor with Alcian blue. The reactions of Schulze and of Smith-Ditrich after chroming were negative. The stored material was soluble in pyridine, acetone and ethyl ether and only partially soluble in chloroform-methanol and in ethanol.

The above described storage changes were accompanied by a diffuse degenerative process in the central nervous system. The IInd layer of the cerebral cortex showed spongy degeneration and massive cellular losses, the remaining nerve cells displaying symptoms of chronic cell disease. Generalized cellular and fibrillary gliosis was evident all over the sections. In the cerebellar cortex a severe and diffuse reduction in number of granular cells together with proliferation of the Bergmann glia was visible. The white matter when stained for myelin, showed diffuse fading of the myelin and a marked distension of some fibres. These changes were accompanied by a marked cellular and fibrillary gliosis.

BIOCHEMICAL FINDINGS

Analytical procedure. The lipid composition of the white and grey matters was analyzed by column and thin-layer chromatography. The lipids were extracted with chloroform-methanol (2:1) according to the method of Folch-Pi et al. (1957). The lipid constituents of the extract were separated according to the procedure of Svennerholm (1964). Cholesterol was estimated after Sperry and Webb (1958). The separated phospholipid and cerebroside fractions were quantitatively determined by the respective methods of Bartlett (1959) and Rodin et al. (1953). Gangliosidoses were separated according to the method of Jatzkewitz et al. (1965) and quantitatively determined by the procedure of Suzuki (1964). The fatty acid composition of the total lipid extract was estimated by means of gas-liquid chromatography. The lipid were hy-

drolized and the released fatty acids methylated according to Endres (1966). The methyl esters of fatty acids, dissolved in ethyl-ether were applied to 210 cm/0.4 mm columns packed with 12% diethyl-glycol-succinate (DEGS) and 10% polyethyl-glycol-adipate (PEGA) 2:1 on cellite 100/120 mesh. The fatty acid peaks were identified according to their retention times and by comparison with a fatty acid-methyl ester standard mixture chromatographed in the same conditions. The individual fatty acids are described by their number of carbon atoms present in the chain: the number of double bonds.

No material from other organs than the brain was available for biochemical investigations. A brain of Tay-Sachs disease was included for lipid analysis. The brain of a 16 year old male, who died of non-neurological disease, examined with the same biochemical methods was used as a control material.

RESULTS

Data concerning the composition of the grey matter ganglioside spectrum revealed that GM₁ ganglioside contributes 77.6% to the total NANA content (table 1). These results are in contrast with those found

Table 1. Distribution of gangliosides in the cerebral white and grey matter
Distribution of NANA (%)

Tabela 1. Rozdział gangliozydów w istocie białej i szarej mózgu
Rozdział NANA (%)

Ganglio- side fraction	White matter			Grey matter		
	Control case	Present case	T. — S. di- sease	Control case	Present case	T. — S. di- sease
	16 years	13 years	16 months	16 years	13 years	16 months
G ₀	0.0	0.0	0.0	5.1	2.1	0.9
G ₁ (G _{T1})	5.5	1.2	2.7	5.1	2.7	1.0
G ₂ (G _{D1b})	9.3	1.2	2.8	7.7	0.6	1.0
G ₃ (G _{D1a})	10.5	2.5	6.1	9.0	5.5	4.3
G ₄ (G _{M1})	46.9	76.3	7.5	47.4	77.6	8.3
G ₅ (G _{M2})	16.7	18.8	74.6	15.4	7.1	83.4
G ₆ (G _{M3})	11.1	0.0	6.3	10.3	4.4	1.1

in an early infantile amaurotic idiocy case (Tay-Sachs disease) — described previously — in which GM₁ ganglioside furnished only 8.3% whereas GM₂ ganglioside supplied as much as 83.4% of the total NANA content.

The predominating ganglioside species in the white matter of the present case was also the GM₁ ganglioside (76.3%), contrary to the white matter in the Tay-Sachs case — where GM₂ ganglioside was found in abundance (74.6%).

The content of phospho- and galactolipids as well as of free cholesterol in the grey matter of the investigated case was essentially unaltered except for the increase in the sulphatide fraction — similarly as in the Tay-Sachs case listed in the tables for comparative purposes. In the present case however, the sphingomyelin fractions (both C₁₈ and C₂₄ sphingomyelins) were found to be increased (table 2).

Table 2. Lipid content in the cerebral white and grey matter (in g/100 g of dry tissue)
Tabela 2. Zawartość lipidów w istocie białej i szarej mózgu (w g/100 g suchej masy)

Lipids	White matter					Grey matter				
	Control case	Present case			T.S.-dis-ease	Control case	Present case			T.S.-dis-ease
		Occipital lobe	Frontal lobe	Internal capsule			Occipital lobe	Frontal lobe	Basal nuclei	
	16 years	13 years			16 months	16 years	13 years			16 months
Phosphatidyl choline	3.30	3.12	3.25	3.50	5.0	1.93	2.12	2.10	2.11	3.63
Phosphatidyl ethanolamine	3.30	3.10	3.13	3.30	3.25	1.40	1.50	1.37	1.50	2.50
Sphingomyelin C ₁₈	4.14	7.25	6.75	6.62		2.87	3.62	3.50	3.75	1.25
Sphingomyelin C ₂₄	2.17	2.87	3.12	3.25	2.50	0.87	1.25	1.37	1.12	
Cerebrosides	8.05	5.98	5.98	5.98	11.88	4.37	4.60	4.28	4.28	4.60
Sulphatides	3.45	4.78	4.65	4.74	2.99	1.70	3.36	3.36	3.36	3.11
Free cholesterol	11.60	8.40	8.60	9.00	8.25	5.50	6.20	6.10	6.05	6.50
Esterified cholesterol	0	0	0	0	0.85	0	0	0	0	0.75

In the white matter — the sphingomyelin content was also elevated, especially that of C₁₈ sphingomyelin with concomitantly decreased cerebroside and free cholesterol contents.

In the examined case, the long-chain unsaturated fatty acids of the total lipid extract of both the grey and white matter (docosenoic acid — C_{22:1} and nervonic acid — C_{24:1}) were found to be present in much higher relative concentrations than in normal brain. The fatty acid composition of the total brain lipids is shown in table 3.

Table 3. Percent composition of fatty acids in total lipid extract of cerebral white and grey matter

Tabela 3. Procentowy skład kwasów tłuszczowych w całkowitym wyciągu z istoty białej i szarej

Fatty acid	White matter			Grey matter		
	Control case (16 years)	Present case (13 years)	T.S. disease (16 months)	Control case (16 years)	Present case (13 years)	T.S. disease (16 months)
9 : 0	0.1	—	—	0.1	0.3	0.1
10 : 0	0.1	0.3	1.0	0.3	—	0.1
11 : 0	—	—	—	0.2	—	—
12 : 0	0.1	—	1.7	0.1	0.2	—
13 : 0	0.1	—	0.7	0.1	—	—
14 : 0	19.4	2.7	2.0	19.3	3.5	1.4
15 : 0	1.0	0.6	1.0	1.0	0.6	0.6
uniden- tified	—	—	2.4	—	—	—
16 : 0	16.8	23.8	18.7	21.0	26.3	28.0
16 : 1	1.1	1.6	2.7	1.0	1.5	2.6
17 : 0	0.6	0.7	0.8	—	0.8	0.6
uniden- tified	0.3	0.4	1.6	—	0.5	—
18 : 0	18.8	23.3	39.0	18.5	24.9	21.5
18 : 1	24.2	32.9	5.5	22.0	27.5	30.8
18 : 2	6.8	4.6	0.6	7.8	4.0	2.9
18 : 3	0.9	0.4	2.1	1.0	0.5	0.5
19 : 0	—	—	0.3	—	—	—
20 : 0	—	—	1.6	—	—	—
20 : 1	2.4	2.8	2.0	1.1	2.1	2.3
20 : 2	1.8	1.1	—	3.3	0.6	0.6
20 : 4	—	—	0.6	—	—	0.7
20 : 5	—	—	—	—	—	—
21 : 2	1.3	0.6	—	—	0.7	—
22 : 0	—	—	2.4	0.5	—	0.8
22 : 1	—	1.6	7.6	—	2.8	2.3
22 : 2	—	—	0.8	—	—	1.0
22 : 6	—	—	1.4	—	—	0.9
24 : 0	4.2	—	1.1	2.9	—	0.7
24 : 1	—	2.6	2.4	—	3.2	1.6

DISCUSSION

The dominating chemical event observed in the juvenile lipidosis described is the significant increase in the content of the main monosialoganglioside, which exceeds that of other gangliosides several times both in the grey and the white matter. According to the nomenclature

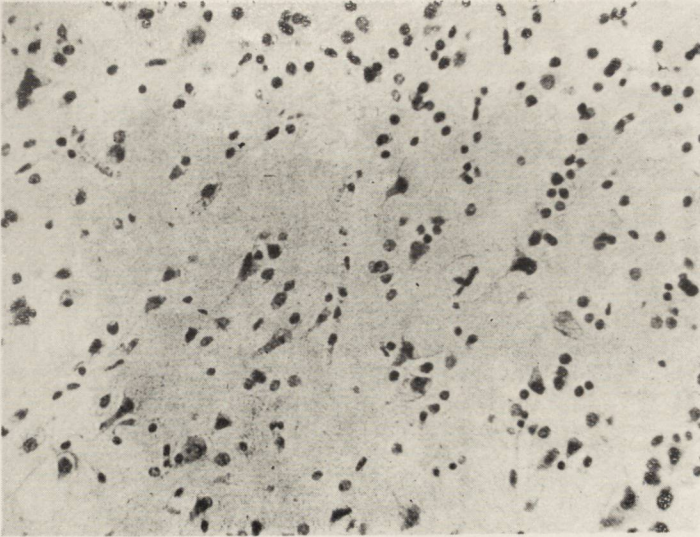


Fig. 1. Neurocytes of the occipital cortex demonstrating a variety of enlargement and rounding off. The nuclei are pyknotic and displaced to the periphery. Cresyl violet. $\times 200$

Ryc. 1. Komórki nerwowe kory potylicznej wykazują różnego stopnia powiększenie i zaokrąglenie. Jądra są pyknotyczne i przemieszczone na obwód. Fiolet krezyłu. Pow. 200 \times

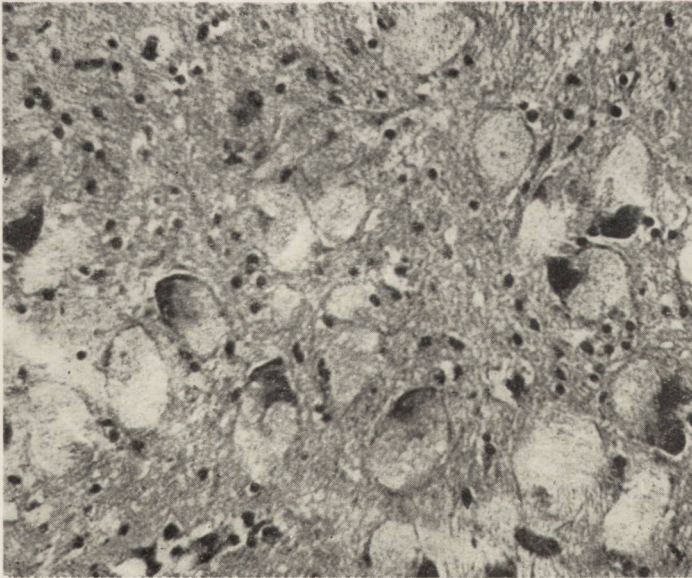


Fig. 2. Motor cells of the nucleus of the IIIrd nerve balloonlike with displacement of hyperchromatic nuclei towards the cell periphery. H-E. $\times 400$.

Ryc. 2. Komórki ruchowe jądra neuronu III balonowato rozdęte z przemieszczeniem hyperchromatycznego jądra na obwód. H-E. Pow. 400 \times .

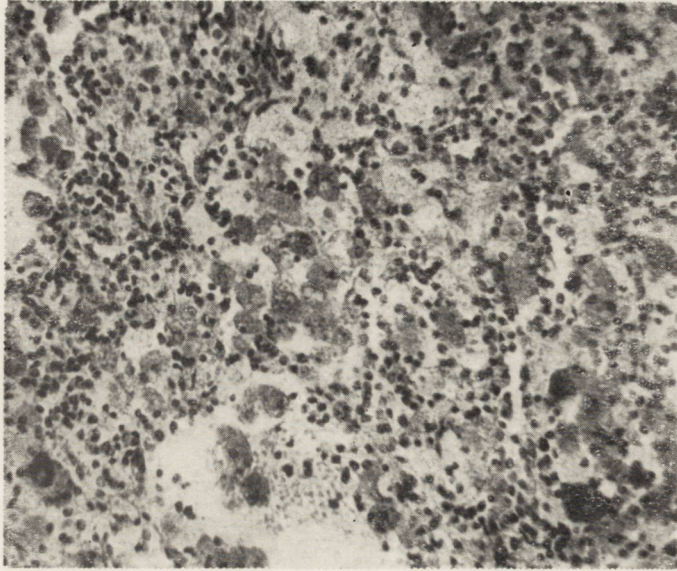


Fig. 3. Stored material in the reticulo-endothelial spleen cells demonstrating a PAS-positive reaction. $\times 200$

Ryc. 3. Materiał spichrzany w komórkach układu siateczkowo-śródbłonkowego śledziony wykazuje reakcję PAS-dodatnią. Pow. 200 \times

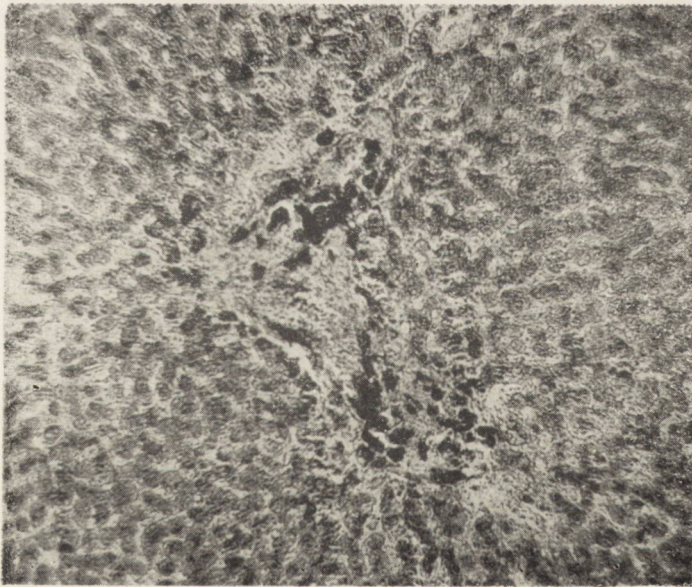


Fig. 4. Staining with Sudan black B showing a positive reaction in the material stored within the reticulo-endothelial cells of the liver. $\times 100$

Ryc. 4. Materiał spichrzany w komórkach układu siateczkowo-śródbłonkowego wątroby wykazuje dodatnią reakcję z Sudanem czarnym B. Pow. 100 \times

of Svennerholm (1963) — this ganglioside is called GM₁ ganglioside, while according to Korey and Gonatas (1963) — it is described as G₄ ganglioside.

Apart from neuronal lipidosis, histological investigations revealed large storage cells present in the spleen and liver.

In addition to the prevailing GM₁ ganglioside content — another chemical alteration was observed and this was the elevation of both sphingomyelin fractions (C₁₈ and C₂₄) distinctly greater in the white than in the grey matter. The increase of sphingomyelin content in the central nervous system accompanied by storage changes in the liver and spleen gave rise to the suggestion that we were dealing with sphingomyelin lipidosis (Niemann-Pick disease). Further neurochemical investigations particularly detailed ganglioside analysis, allowed to advance our present diagnosis, that of a generalized GM₁ gangliosidosis.

Cases in which GM₁ ganglioside is predominantly stored in the central nervous system — and which, according to the chemical nature of the material stored, are described as GM₁ gangliosidoses are regarded as an inborn error of metabolism, which is entirely distinct from that in the Tay-Sachs disease (GM₂ — gangliosidosis). This disease was previously known under various descriptive terms, such as Tay-Sachs disease with visceral involvement, pseudo-Hurler disease, systemic late infantile lipidosis, generalized gangliosidosis. A deficiency of β -galactosidase activity in the brain and in other tissues has been described in infantile cases of this disease (Sacrez et al. 1967, Okada and O'Brien, 1968 and others), but no definite evidence is available as to the direct responsibility of this enzymatic deficiency for the storage of GM₁ ganglioside.

Basing on the fact that apart from the highly abnormal ganglioside pattern, also some alterations in the sphingomyelin content in the brain were found, the question may be raised of some relationship of the described case of GM₁ gangliosidosis to the Niemann-Pick disease.

Increased contents of sphingomyelins in the brain cases classified as gangliosidoses is not an unusual event, though only a few cases have been described so far. Suzuki et al. (1969) have reported a slightly increased sphingomyelin level in the grey matter of a Tay-Sachs case and in a GM₁ gangliosidosis case. A similar observation has been made by Klibansky et al. (1970) in a case of late infantile systemic GM₂ gangliosidosis.

On the other hand, in cases classified as Niemann-Pick disease the presence of abnormal gangliosides has been reported (Booth et al. 1960). Abnormalities in the ganglioside content in Niemann-Pick cases have been reported by other writers as well. Phillipart et al. (1969) describing a Niemann-Pick case pointed to the increased level of the GM₂ (Tay-Sachs) ganglioside, whereas Komoshito et al. (1969) observed an elevated content of GM₃ ganglioside in their Niemann-Pick case. The same observations were made by Seiter and McCluer (1970), who found abnormal amounts of GM₂ and GM₃ gangliosides in brains affected with the Niemann-Pick disease, and who conclude that chemically distinct variants of the Niemann-Pick cases have to be considered.

In the case described here, the abnormal ganglioside picture dominates decisively over the only slightly expressed changes in the sphingomyelin content in the brain. It seems therefore, that this case should undoubtedly be classified as a generalized GM₁ gangliosidosis. However it should be emphasized that owing to the late appearance of clinical symptoms, the case has to be assigned to the juvenile type of that disease.

M. Wender, Z. Adamczewska, J. Dymecki, B. Schmidt-Sidor

MŁODZIEŃCZY PRZYPADEK GANGLIOZYDOZY TYPU GM₁

Streszczenie

Autorzy przedstawili przypadek uogólnionej lipidozy, której pierwsze objawy kliniczne pojawiły się w wieku lat 7, doprowadzając wśród objawów postępującego rozlanego uszkodzenia układu nerwowego do śmierci w wieku 13 lat. W mózgu stwierdzono rozlane zmiany spichrzeniowe, o większym natężeniu w obrębie rdzenia kręgowego i w pniu mózgu a mniej nasilone w korze mózgowej. Spichrzany materiał wykazał reakcję dodatnią z PAS'em oraz sudanem czarnym B. Również w wątrobie i śledzionie stwierdzono obecność dużych komórek spichrzeniowych, wykazujących podobne wyniki badań histochemicznych.

Badania biochemiczne, które wykazały znamienne przesunięcie obrazu gangliozydów w mózgu w postaci wyraźnego zwiększenia odsetka głównego monosialogangliozydu (gangliozyd GM₁) pozwalają zaliczyć ten przypadek do uogólnionej gangliozydozy typu GM₁.

Na uwagę zasługuje stwierdzony również lekki wzrost zawartości sfingomielin w mózgu oraz późne wystąpienie objawów choroby, które pozwala z punktu widzenia klinicznego zakwalifikować go jako młodzieńczą postać choroby.

М. Вендер, З. Адамчевска, Я. Дымецки, Б. Шмидт-Сидор

ЮНОШЕСКИЙ СЛУЧАЙ ГАНГЛИОЗИДОЗА ТИПА GM₁

Резюме

Авторы представили случай обобщенного липидоза, первые клинические симптомы которого появились в возрасте 7 лет, что привело к смерти среди прогрессирующего разлитого повреждения нервной системы в возрасте 13 лет. В мозгу были обнаружены разлитые кумулятивные изменения с большей степенью проявления в районе спинного мозга и в мозговом стволе и менее выраженные в мозговой коре. Нагромаженный материал обладал положительной ПАС и черный судан В реакцией. Также в печени и селезенке было обнаружено наличие больших кумулятивных клеток, обнаруживающих аналогичные результаты гистохимических исследований.

Биохимические исследования, обнаруживающие достоверные сдвиги в картине ганглиозидов мозга в виде отчетливого увеличения процента главного моносиалоганглиозида (ганглиозид GM₁) позволяют зачислить этот случай к обобщенному ганглиозидозу типа GM₁.

Обращает внимание обнаруженный также легкий рост содержания сфингомиэлинов в мозгу и позднее наступление симптомов болезни, которое позволяет с клинической точки зрения зачислить его к юношеской форме болезни.

REFERENCES

1. Bartlett, G.: Phosphorus assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.*, 1959, 234, 466—468.
2. Booth, D., H. Goodwin, J. Cumings: Abnormal gangliosides in Tay-Sachs disease, Niemann-Pick disease, and gargoylism. *J. Lipid Res.*, 1966, 7, 337—342.
3. Derry, D., J. Fawcett, T. Andermann and L. Wolfe: Late infantile systemic lipidosis. *Neurology (Minneapolis)*, 1968, 18, 340—348.
4. Endres, J.: An apparatus for the rapid preparation of fatty acid esters from lipid for gas chromatographic analysis. *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 1966, 43, 600.
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. Gonatas, N. and J. Gonatas. Ultrastructural and biochemical observations on a case of systemic late infantile lipidosis and its relationship to Tay-Sachs disease and gargoylism. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1965, 24, 318—340.
7. Hooft, C., M. Senesael, M. Delbeke, J. Kint and G. Dacremont: The GM₁ gangliosidosis (Landing Disease). *Europ. Neurol.*, 1969, 2, 225—241.
8. 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.
9. Kamoshita, S., A. Aron, K. Suzuki and K. Suzuki: Infantile Niemann-Pick disease. *Amer. J. Dis. Child.*, 1969, 117, 379—394.

10. Klibansky, Ch., A. Saifer, N. Feldman, L. Schneck and B. Volk: Cerebral lipids in a case of systemic GM₂ — gangliosidosis of a late infantile type. *J. Neurochem.*, 1970, 17, 339—346.
11. Korey, S. and J. Gonatas: Separation of human brain gangliosides. *Life Sci.*, 1963, 2, 296.
12. Landing, B., F. Silverman, J. Craig, M. Jacoby, M. Lahey and D. Chadwick: Familial neurovisceral lipidosis. *Amer. J. Dis. Child.*, 1964, 108, 503—522.
13. Mossakowski, M. J., Zelman I., Majdecki T., Baranowicz B.: GM₁ — Generalized Gangliosidosis with unusual involvement of the white matter. *Neuropat. Pol.*, 1971, IX, 1, 23—37.
14. Norman, R., H. Ulrich, A. Tingey, and R. Goodbody: Tay-Sachs'disease with visceral involvement and its relationship to Niemann-Pick's disease. *J. Path. & Bacter.*, 1959, 78, 409—421.
15. O'Brien, J., M. Stern, B. Landing, J. O'Brien, and G. Donnell: Generalized gangliosidosis. *Amer. J. Dis. Child.*, 1965, 109, 338—345.
16. Okada, S. and J. O'Brien: Generalized gangliosidosis. β -Galactosidase deficiency. *Science*, 1968, 160, 1002—1004.
17. Philippart, M., L. Martin, J. Martin and J. Menkes: Niemann-Pick disease. *Arch. Neurol.*, 1969, 20, 227—238.
18. Radin, N., F. Lavin and J. Brown: Determination of cerebroside. *J. Biol. Chem.*, 1955, 217, 789—796.
19. Sacrez, R., J. Juif, J. Gigonnet and J. Gruner: La maladie de Landing ou idiotie amaurotique infantile précoce avec gangliosidose généralisée de type GM₁. *Pédiatrie*, 1967, 22, 143—162.
20. Seiter, C. and R. Mc Cluer: Analysis of the structure of two gangliosides which accumulate in the brain in Niemann-Pick disease. *J. Neurochem.*, 1970, 17, 1525—1526.
21. Sperry, W. and M. Webb: A revision of the Shoenheimer-Sperry method for cholesterol determination. *J. Biol. Chem.*, 1950, 187, 97—106.
22. Suzuki, K.: A simple and accurate micromethod for quantitative determination of ganglioside pattern. *Life Sciences*, 1964, 3, 1227—1233.
23. Suzuki, K. and G. Chen: Brain ceramide hexosides in Tay-Sachs disease and generalized gangliosidosis (GM₁ — gangliosidosis). *J. Lip. Res.*, 1967, 8, 105—113.
24. Suzuki, K., K. Suzuki and G. Chen: Morphological, histochemical and biochemical studies on a case of systemic late infantile lipidosis (generalized gangliosidosis). *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1968, 27, 15—38.
25. Suzuki, K. and K. Suzuki, S. Kamoshita: Chemical pathology of GM₁ — gangliosidosis (generalized gangliosidosis). *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1969, 28, 25—73.
26. Svennerholm, L.: Chromatographic separation of human brain gangliosides. *J. Neurochem.*, 1963, 10, 613—618.
27. Svennerholm, L.: The distribution of lipids in the human nervous system. *J. Neurochem.*, 1964, 11, 839—853.
28. Wolfe, L., J. Callahan, J. Fowcett, F. Andermann and C. Scriver: GM₁ — gangliosidosis without chondrodystrophy or visceromegaly. *Neurology (Minneapolis)*, 1970, 20, 23—44.

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

TADEUSZ MAJDECKI, KRYSZYNA JEZIERSKA

OBRAZ MIKROSKOPOWO-ELEKTRONOWY DZIECIĘCEJ
ENCEFALOPATII GĄBCZASTEJ *)

Zespół Neuropatologii, Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN
Kierownik Zespołu: prof. dr med. M. J. Mossakowski
Klinika Neurologiczna AM, w Warszawie
Kierownik Kliniki: prof. dr med. I. Hausmanowa-Petrusewicz

Zwyrodnienie gąbczaste tkanki nerwowej stanowi stosunkowo częste zjawisko w patologii układu nerwowego wieku dziecięcego. Opisywano je między innymi w przypadkach uogólnionych zaburzeń przemiany materii o charakterze określonego bloku metabolicznego, takich np. jak choroba syropu klonowego (Diezel, Martin 1964) czy głuptactwo fenylłopirogronowe (Malamud 1966). W znacznej jednak większości opisywanych przypadków encefalopatii gąbczastych u dzieci nie udało się określić czynnika przyczynowego choroby, podobnie jak nadal jest nieznanym mechanizm patogenetyczny gąbczastego zwyrodnienia tkanki nerwowej.

W ostatnich latach podjęto liczne próby podziałów encefalopatii gąbczastych w oparciu o ich obraz i przebieg kliniczny oraz cechy morfologiczne uszkodzeń tkankowych. W klasyfikacji podanej w roku 1970 przez Seitelbergera zostały wyodrębnione trzy postaci encefalopatii gąbczastych: 1) forma rozlana — dziecięce zwyrodnienie gąbczaste ośrodkowego układu nerwowego, typu van Bogaerta-Bertranda, 2) forma ogniskowa rozsiana — podostra encefalopatia martwicza, oraz 3) forma przebiegająca z postępującym zwyrodnieniem istoty szarej — dystrofia glejowo-neuronalna. Równocześnie w wielu pracach podejmowano próby wyjaśnienia patomechanizmu gąbczastych uszkodzeń tkanki nerwowej, zarówno na podstawie badań doświadczalnych (Bignami i wsp. 1967, Ule i wsp. 1967, Gruner 1967, Gonatas 1970, Ule 1968), jak i morfologicznych obserwacji w przypadkach klinicznych. Tylko w nielicznych spośród tych prac przeprowadzone były badania mikroskopowo-elektronowe.

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

Tym bardziej celowe wydaje się opisanie przypadku dziecięcej encefalopatii gąbczastej, który zaliczyć można, jak się wydaje, do trzeciej grupy wg podziału Seitelbergera (1970) oraz omówienie pewnych elementów mogących mieć znaczenie dla poznania patogenezы omawianego procesu chorobowego. Przypadek niniejszy rozpoznany na podstawie obrazu ultrastrukturalnego może również stanowić przykład przydatności diagnostycznej badań mikroskopowo-elektronowych materiału biopsyjnego w chorobach zwyrodnieniowych mózgu.

OPIS PRZYPADKU

Dane kliniczne. Chłopiec K.P. lat 4 (nr hist. choroby 643/69) został przyjęty do Kliniki z powodu zahamowań rozwoju ruchowego i psychicznego, datujących się od piątego miesiąca życia oraz kilkakrotnych napadów drgawek, obserwowanych w drugim i trzecim roku życia. Jest dzieckiem z drugiej, prawidłowej ciąży. Dziecko z pierwszej ciąży wykazywało podobne objawy kliniczne i zmarło w 18 miesiącu życia.

W okresie pobytu w Klinice dziecko było wyniszczone i nie nawiązywało kontaktu z otoczeniem. Niekiedy wodziło gąbkami ocznymi za kolorowymi zabawkami i reagowało na bodźce dźwiękowe. Ułożenie przymusowe: kończyny górne zgięte we wszystkich stawach i przywiedzione, kończyny dolne z tendencją do przykurczów zgięciowych. Obserwowano obustronny grubofalisty oczopląs poziomy o zmiennym nasileniu. W zakresie kończyn skąpe nieskoordynowane ruchy, mniej wydatne po stronie lewej. Napięcie w kończynach zmienne, częściej wzmożone, o typie pozapiramidowym. Odruchy kolanowe i skokowe żywsze po stronie lewej. Tarcze nerwów wzrokowych o granicach wyraźnych, bledsze od skroni, naczynia o przebiegu prawidłowym, siatkówka ze zmianami zwyrodnieniowymi.

Podsumowując — wywiad i obraz kliniczny wskazywały na proces zwyrodnieniowy ośrodkowego układu nerwowego, prawdopodobnie rodzinny, o nie wyjaśnionym charakterze.

Wyniki badań laboratoryjnych. Rutynowe badania laboratoryjne nie wykazywały odchyień od normy. W proteinogramie z płynu mózgowo-rdzeniowego stwierdzono obniżenie poziomu γ -globulin do 4,15%. Badania w kierunku fenyloketonurii dały wynik ujemny, ciał metachromatycznych w moczu i w biopsji ze śluzówki odbytu nie znaleziono. W badaniu eeg stwierdzono zapis o uogólnionych cechach patologicznych miernego stopnia. Pneumoencefalografia ujawniła znacznie poszerzony, symetryczny układ komorowy oraz duże nagromadzenie powietrza na sklepiści mózgu i w zbiornikach podstawy.

W Klinice Neurochirurgicznej AM w Warszawie pobrano w celach diagnostycznych (dr J. Wocjan) przez otwór trepanacyjny wycinek tkanki mózgowej z okolicy czołowej mózgu (zakręt F₂). Uzyskany materiał poddano badaniom w mikroskopie świetlnym i elektronowym.

Badanie histopatologiczne. W materiale parafinowym barwionym hematoksyliną-eozyną i metodą Nissla stwierdzono w korze ogniskowe

obszary opustoszeń z komórek nerwowych. Zachowane neurocyty w większości były obkurczone i bardzo intensywnie zabarwione. Astroglej nie wykazywał cech przerostu i bujania; miejscami był wyraźnie uboższy niż w tkance prawidłowej. Podłoże tkankowe nadmiernie przereźdzone: wokół jąder niektórych astrocytów obserwowano puste przestrzenie.

Badanie mikroskopowo-elektronowe. Pobraną tkankę mózgową krojono na 1 — 2 mm³ wycinki, które utrwalano przez 1,5 godz. w zbuforowanym octanem weronalu 1% O_sO₄ o pH 7,4. Po odwodnieniu w etanolu o wzrastających stężeniach, fragmenty tkanki zatapiano w Eponie 812. Materiał krojono na ultramikrotomie f-my Reichert. Skrawki grubości 1 — 2 μ barwiono w alkalicznym roztworze błękitu toluidyny i oglądano w mikroskopie świetlnym. Ultracienkie skrawki montowano na siatki i barwiono octanem uranylu i cytrynianem ołowiu. Materiał oglądano w mikroskopie elektronowym JEM — 7A.

N e u r o n y. Komórki nerwowe w większości miały wygląd tzw. „dark neurons” (ryc. 1, 2, 3). Cytoplazma ich była obkurczona i ciemna w wyniku gęstego ułożenia rybosomów i siatki śródplazmatycznej. Jądra neuronów były ciemne ze zbitą niekiedy w większe, gęste elektronowo konglomeraty chromatyny jądrowej (ryc. 1). Błony jądrowe i komórkowe nie wykazywały istotnych zmian patologicznych (ryc. 2). Cytoplazma niektórych komórek nerwowych zawierała wodniczki o nierównych obrysach, otoczone miejscami podwójną błoną. Były to prawdopodobnie znacznie zmienione mitochondria (ryc. 1). W części komórek nerwowych obserwowano gęste elektronowo ciała wtrętowe, o nieregularnych konturach i ziarnistej macierzy, w których często stwierdzało się obecność okrągłych wodniczek o ostrych obrysach i mniejszej gęstości elektronowej. Ciała wtrętowe miały cechy ultrastrukturalne odpowiadające obrazowi lipofuscyny (ryc. 3). Części postsynaptyczne złącz komórek nerwowych były powiększone, zawierały przereźdzoną cytoplazmę, miejscami były całkowicie opustoszałe (ryc. 4). Na przekrojach poprzecznych wypustek nerwowych obserwowano zmienione, najczęściej powiększone, mitochondria z porożywanymi strukturami błoniastymi, lub zagęszczoną macierzą. Osłonki mielinowe dolnych warstw kory nie wykazywały istotnych cech patologicznych.

G l e j. Zmiany dotyczyły przede wszystkim komórek astrogleju, wykazujących najczęściej cechy tzw. „komórek wodnistych” („waterly cells”). Cytoplazma większości astrocytów była prawie całkowicie opustoszała, z zachowanymi jedynie pojedynczymi wolno leżącymi błoniaszymi strukturami siatki śródplazmatycznej (głównie „szorstkiej”) i nielicznymi zmienionymi mitochondriami (ryc. 5). Błoniaste struktury

siatki śródplazmatycznej nie wykazywały w zasadzie zmian, a obserwowane czasem dyskretne odchylenia od prawidłowego ich obrazu nie korelowały ze stopniem uszkodzenia cytoplazmy. Zachowane mitochondria miały zagęszczoną macierz, lub były rozdęte z poprzerwanymi grzebieniami mitochondrialnymi.

Mniej uszkodzone astrocyty cechowało mniejsze przerzedzenie cytoplazmy, a zmiany w mitochondriach polegały w nich głównie na zagęszczeniu ich macierzy. Jądra astrocytów i ich błony nie wykazywały istotnych zmian patologicznych, podobnie jak błony komórkowe. Astrocytów zupełnie niezmiennych nie obserwowano prawie wcale.

Nasilenie patologicznych cech w komórkach astrogleju niezależne było od umiejscowienia w stosunku do naczyń krwionośnych. Cechy znacznego obrzmienia z całkowitym, lub częściowym opustoszeniem obserwowano również w wypustkach glejowych. Na ich przekrojach poprzecznych niekiedy obecne były mitochondria z cechami zbliżonymi do stwierdzanych w mitochondriach perikarialnych. Zarówno w cytoplazmie astrocytów, jak i ich wypustkach nie obserwowano poszerzenia siatki śródplazmatycznej. Rozdęte wypustki glejowe tworzyły czasem rozleglejsze puste przestrzenie otoczone często poprzerwanymi (prawdopodobnie artefaktycznie) strukturami błoniastymi (ryc. 6). Oligodendrocyty w zasadzie były niezmiennymi tylko w pojedynczych z nich ujawniono bardzo słabo nasilone cechy patologiczne o charakterze zbliżonym do obserwowanych w astrogleju.

Naczynia krwionośne. Ściany naczyń krwionośnych (naczynia włosowate) nie wykazywały istotnych zmian. W cytoplazmie pojedynczych pericytów stwierdzano jedynie czasem złogi o cechach analogicznych z ciałami wtętowymi, stwierdzanymi w cytoplazmie neurocytów, a rozpoznawanymi jako lipofuscyna. Bardzo często naczynia na pewnych odcinkach ich obwodu otoczone były obrzękniętymi przynaczyniowymi nóżkami astrocytów. Liczne z okołonaczyniowych wypustek glejowych nie wykazywały jednak cech obrzęku. ;

OMÓWIENIE

Obserwowane w naszym przypadku zmiany ultrastrukturalne zbliżone są swoim charakterem do obrazu uszkodzenia tkanki nerwowej w dwóch przypadkach dziecięcej encefalopatii gąbczastej opisanych przez Ule i wsp. (1967).

Zmiany patologiczne dotyczyły głównie astrocytów i komórek nerwowych przy minimalnym udziale w procesie chorobowym komórek

gleju skąpowypustkowego i braku istotnych uszkodzeń układu naczyniowego. Zmiany w obrazie ultrastrukturalnym astrocytów polegały na wybitnym obrzmieniu ich cytoplazmy perikarialnej i wypustek, i prawdopodobnie stanowiły podłoże rozrzedzenia utkania tkanki nerwowej. Przy narastającym powiększaniu się wypustek astrogleju mogło dochodzić również do tworzenia się większych ubytków w następstwie porozrywania otaczających je struktur błoniastych. Na taki mechanizm mogłyby wskazywać jamiste ogniska uszkodzeń obserwowane w naszym materiale. Trzeba jednak pamiętać, że zmiany tego typu należy interpretować z wielką ostrożnością. Możliwe jest bowiem również, że stwierdzane braki ciągłości błon są artefaktami powstałymi w czasie pobierania lub obróbki laboratoryjnej materiału biopsyjnego. Wiadomo, że w następstwie nadmiernego nawodnienia tkanki nerwowej, czy też niektórych tylko jej elementów, jest ona bardziej podatna na uszkodzenie ciągłości struktur komórkowych (np. w tkance nerwowej płodów). Na ten mechanizm powstawania artefaktów mikroskopowo-elektronowych zwracał szczególną uwagę Kidd (1967).

Drugą grupę uszkodzeń stanowią zmiany dotyczące komórek nerwowych. Mają one charakter zmian opisywanych w piśmiennictwie jako tzw. „dark neurons”, a rozpoznawanych często zarówno w badaniach w mikroskopie świetlnym jak i elektronowym, jako artefakty. Zwraca jednak uwagę fakt, że takie same zmiany komórkowe w doświadczalnej encefalopatii gąbczastej wywołanej sulfoiminotlenkiem metioniny (Ule i wsp. 1968) nie były uznawane na podstawie obrazów elektronowo-mikroskopowych za artefakty. Można zatem przypuszczać, że obserwowane przez nas zmiany neuronalne wskazują na objęcie procesem chorobowym poza elementami glejowymi, również neurocytów. Gontas i wsp. (1964) podkreślają równoczesność uszkodzenia astrocytów i komórek nerwowych w procesach patologicznych, przebiegających ze zwyrodnieniem gąbczastym tkanki nerwowej u dorosłych (np. w chorobie Jakoba-Creutzfeldta). Na to samo zjawisko zwraca uwagę Kidd (1967), podkreślając pierwotny charakter tych zmian. Należy zwrócić jednak uwagę na zasadniczą różnicę obrazu zmian ultrastrukturalnych komórek nerwowych opisywanych przez tych autorów w stosunku do naszego przypadku.

Drugim elementem uszkodzeń neuronalnych obserwowanych w naszym przypadku jest bardzo znaczne obrzmienie postsynaptycznych odcińków wypustek nerwowych, dotyczące większości złączy komórek nerwowych, identyczne z opisanym w dwóch przypadkach encefalopatii dziecięcej przez Ule i wsp. (1967). W opisanym przypadku zmiany te były szczególnie zaakcentowane na tle zagęszczenia i obkurczenia cy-

toplazmy neuronów. Zwraca uwagę, podobnie jak w przypadkach Ule i wsp. (1967) brak jakichkolwiek zmian w presynaptycznych odcinkach złącz, podczas gdy ci sami autorzy podkreślają, że w większości procesów patologicznych obrzmieniu ulegają właśnie odcinki presynaptyczne. Zdaniem Ule i wsp. (1967) w przypadkach dziecięcych encefalopatii gąbczastych, opisane zmiany w synapsach mogą być odpowiedzialne za obraz kliniczny choroby.

Brak istotnych cech patologicznych w komórkach oligodendrogleju wskazuje na fakt, że obserwowany proces chorobowy gleju dotyczy w zasadzie tylko astrogleju. W przypadkach encefalopatii gąbczastej dorosłych Sluga i Seitelberger (1967) traktują proces chorobowy jako uwarunkowaną zaburzeniami metabolicznymi dystrofię astrogleju. W przypadkach dziecięcych natomiast brak udziału oligodendrogleju w omawianym procesie chorobowym nie jest objawem stałym. Wskazuje na to między innymi przypadek opisany przez Nelsona i Auerbecka (1966), w którym oligodendroglej wykazywał cechy znacznego uszkodzenia.

Istnieje utrwalony w piśmiennictwie neuropatologicznym pogląd, że u podłoża obserwowanych w encefalopatii gąbczastej zmian leży uszkodzenie mechanizmów bariery krew-mózg. Podstawę dla tego przypuszczenia stanowi między innymi opisane przez Slugę i Seitelbergera (1967) uszkodzenie ścian naczyń w przypadkach encefalopatii gąbczastej u dorosłych. Poza tym Sluga i Seitelberger (1967), Foncin (1967) oraz Kidd (1967) podkreślają znaczne poszerzenie siatki śródplazmatycznej w astrocytach w encefalopatii gąbczastej dorosłych. Rozdęcie przestrzeni między błonami siatki śródplazmatycznej może wskazywać na zaburzenia gospodarki wodnej w cytoplazmie komórek.

W naszym przypadku, podobnie jak w przypadkach Ule i wsp. (1967) nie obserwowano istotnych zmian w ścianach naczyń, ani zależności uszkodzeń wypustek glejowych od ich położenia w stosunku do naczyń. Podobnie Nelson i Auerbeck (1966) w zweryfikowanym w mikroskopie elektronowym przypadku encefalopatii gąbczastej u dziecka nie wspominają o zmianach w ścianach naczyń. We wszystkich wymienionych przypadkach nie zmieniona była również siatka śródplazmatyczna, nawet w astrocytach bardzo uszkodzonych.

Różnorodność uszkodzeń opisanych w różnych postaciach encefalopatii gąbczastych, a w szczególności fakt znikomej liczby opisów zmian ultrastrukturalnych w przypadkach dziecięcych, nie upoważniają do jednoznacznych stwierdzeń odnośnie istniejących różnic między charakterem zmian ultrastrukturalnych w przypadkach dziecięcych i u dorosłych. Podkreślenia jednak wymaga, fakt, że w nielicznych wpraw-

dzie opisach zmian ultrastrukturalnych dziecięcej encefalopatii gąbczastej nie stwierdzono tych cech uszkodzenia bariery krew-mózg, które obserwowano u dorosłych. U dzieci natomiast występowało wyraźne uszkodzenie złączy komórek nerwowych w ich odcinkach postsynaptycznych, którego z kolei nie opisywano w encefalopatii gąbczastej dorosłych.

Przedstawione powyżej odrębności obrazu elektronowo-mikroskopowego dziecięcej encefalopatii gąbczastej oparte są o obserwacje przeprowadzone na bardzo małym, jak dotąd materiale. Ogranicza to ich jednoznaczność, sugerują one jednak odmienną patomechanizm zmian w niektórych przynajmniej przypadkach encefalopatii gąbczastych u dorosłych i u dzieci. Możliwość zajęcia jednoznacznego stanowiska w tej sprawie zaistnieje jednak dopiero po zdobyciu obszerniejszego materiału zweryfikowanego w mikroskopie elektronowym.

T. Майдецки, К. Езерска

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЕТСКОЙ ГУБЧАСТОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ

Резюме

Описаны электронно-микроскопические изменения биопсионного материала мозга 4-летнего мальчика, у которого анамнез и клиническая картина указывали на семейный, по всей вероятности, дегенерационный процесс невыясненного характера. На основании ультраструктурных свойств установлена губчатая энцефалопатия. Электронно-микроскопическая картина характеризовалась повреждением астроглии и нейронов, а также постсинаптических синапсов, без локализационных зависимостей от не обнаруживающих патологических свойств кровеносных сосудов.

Овсуждаются разновидности электронно-микроскопических картин в случаях губчатой энцефалопатии у детей и у взрослых, полагая, что эти выделенные разницы имеют значение в патомеханизме обсуждаемого болезненного процесса.

T. Majdecki, K. Jezierska

ELECTRON MICROSCOPIC PICTURE OF THE SPONGIOUS ENCEPHALOPATHY

S u m m a r y

Electron-microscopic changes in bioptic material derived from the brain of a 4 years-old boy are described. In this case, both the anamnesis and the clinical picture were indicative of an undefined, probably familiar degenerative process. On the basis of the ultrastrural features, the spongiose encephalopathy was dia-

gnosed. The electron-microscopic picture was characterized by lesions of astroglia, neurons and postsynaptic parts of nerve unions. The localization of changes was independent upon the blood vessels, which exhibited no pathologic features.

Some dissimilarities in the electron-microscopic pictures of spongiose encephalopathies in adults and children are discussed, and their significance for the pathomechanism of the discussed pathologic process is suggested.

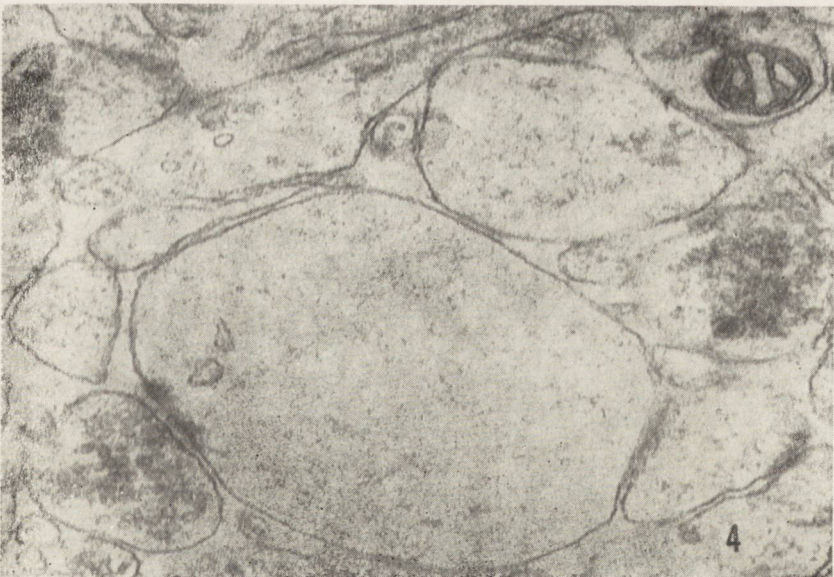
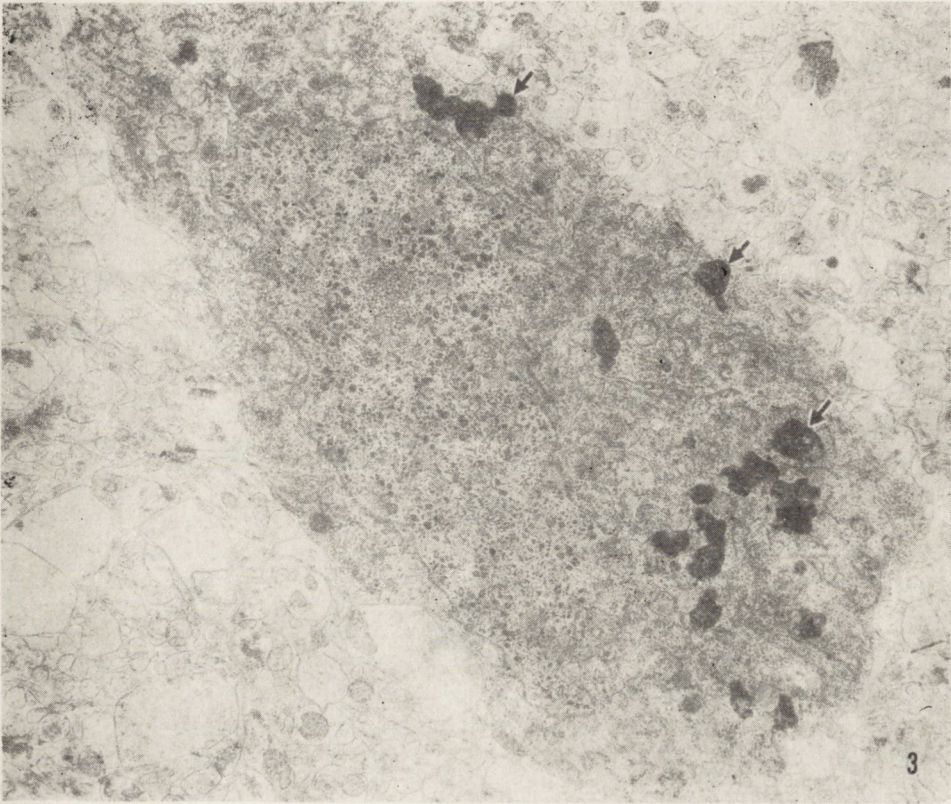
PIŚMIENICTWO

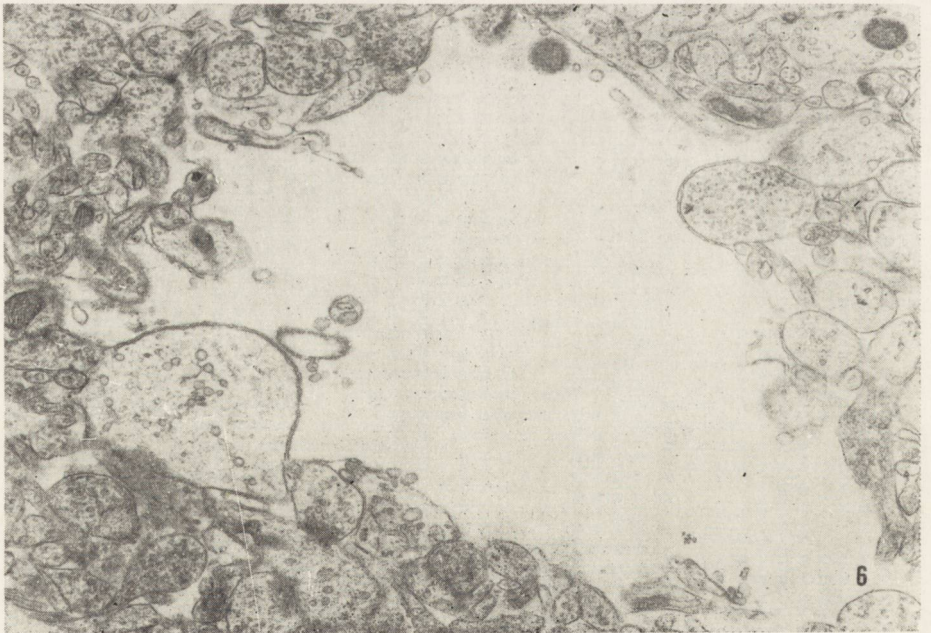
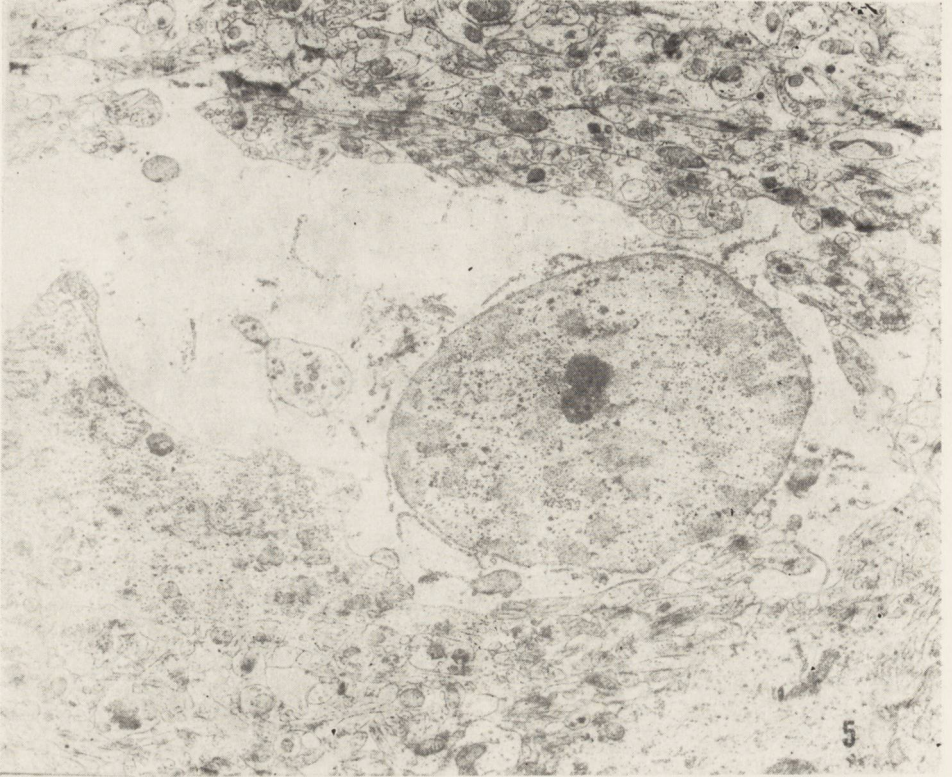
1. Diezel P., Martin K.: Die Ahornsirupkrankheit mit familiärem Befall. *Virchows Arch. path. Anat.*, 1964, 337, 426 — 445.
2. Bignami A., Palladini G., Appicciutoli L., Maccagnani F.: Etude expérimentale de la spongiose cérébrale. *Acta Neuropath.* 1967, Suppl. III, 119 — 126.
3. Foncin J.: Etude ultrastructurale de la maladie de Creutzfeldt-Jakob. *Acta Neuropath.* 1967, Suppl. III, 127 — 130.
4. Gonatas N., Terry R., Weiss M.: Electron microscopic study in two cases Jakob-Creutzfeldt disease. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1964, 24, 575 — 598.
5. Gonatas N.: Comparative study of status spongiosus in human and experimental toxic encephalopathies. VI-e Congrès Inter. de Neuropath. Masson et Cie, Ed. Paris 1970, 49 — 59.
6. Gruner J.: Spongiose athiaminique expérimentale. Structure fine. *Acta Neuropath.* 1967, Suppl. III, 131 — 138.
7. Kidd M.: Some electron microscopical observations on status spongiosus. *Acta Neuropath.* 1967, Suppl. III, 137 — 144.
8. Malamud N.: Neuropathology of phenylketonuria. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1966, 25, 254 — 268.
9. Nelson E., Auerbeck G.: Electron microscopic observations on the leukodystrophies. *Procced. V Inter. Congr. Neuropath. Zürich 1966, Excerpta Med. Found.*, 838 — 841.
10. Seitelberger F.: Degenerative disease of the nervous system. II Congr. Intern. Assoc. Scient. Study Mental Deficiency. Abstract of papers presented. PZWL, Warszawa 1970.
11. Sluga E., Seitelberger F.: Beitrag zur spongiösen Encephalopathie. *Acta Neuropath.* 1967, Suppl. III, 60 — 72.
12. Ule G.: Feinstruktur der Spongiösen Dystrophie der grauen Substanz. *Verhandl. Dtsch. Gesellsch. f. Pathologie.* 52 Tagung. Würzburg. G. Fischer Verl., Stuttgart 1968, 142 — 152.
13. Ule G., Kolkmann F., Brambring P.: Experimentellen elektronenmikroskopische Untersuchungen zur formalen Pathogenese der Wernickeschen Encephalopathie. *Klin. Wschr.*, 1967, 45, 17, 887 — 888.

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









PODPISY POD RYCINY

Ryc. 1. „Dark neuron” z wodniczkami (prawdopodobnie zmienione mitochondria). Miejscami obrzęknięte wypustki astrocytów. Pow. 13.000 X.

Fig. 1. Dark neuron with numerous vacuoles (probably changed mitochondria) Swelling of astrocytic processes is also seen. X 13 000.

Ryc. 2. „Dark neuron” z zagęszczonymi polirybosomami i siatką śródplazmatyczną, bez istotnych cech patologicznych. Obrzęk przylegającej wypustki glikowej. WG — wypustka glikowa. SS — siatka śródplazmatyczna. J — jądro. Pow. 13 000 X.

Fig. 2. Dark neuron with dense polyribosomes and normal endoplasmic reticulum. Adjacent astrocytic process reveals remarkable swelling. WG — astrocytic process. SS — endoplasmic reticulum. J — nucleus. X 13 000.

Ryc. 3. „Dark neuron” z licznymi złogami lipofuscyny (strzałki). Pow. 27.300 X.

Fig. 3. Dark neuron with abundant lipofuscins deposits (arrows). X 27 300.

Ryc. 4. Złącze nerwowe z cechami obrzęku części postsynaptycznej. Pow. 35.000 X.

Fig. 4. Synapse with remarkable swelling of postsynaptic part. X 35.000.

Ryc. 5. Astrocyt z opustoszałą cytoplazmą. Pow. 7.200 X.

Fig. 5. Astrocyte with remarkable cytoplasmic swelling. X 7 200.

Ryc. 6. Szczelina w korze mózgowej otoczona poprzerwanymi (prawdopodobnie artefaktycznie) strukturami błoniastymi. Pow. 13.500 X.

Fig. 6. Lacunar formation in the cerebral cortex, surrounded by disrupted (perhaps artificially) membranous structures. X 13 500.

EUGENIA TARNOWSKA-DZIDUSZKO, MARIA FILIPOWICZ

ZMIANY MORFOLOGICZNE W OŚRODKOWYM UKŁADZIE NERWOWYM W PRZEBIEGU CHOROBY JAKOBA-CREUTZFELDTA

Zakład Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego
w Pruszkowie

Kierownik Zakładu: doc. dr med. J. Dymecki

Oddział Neurologiczny Szpitala Czerniakowskiego

Ordynator: doc. dr med. M. Filipowicz

Choroba Jakoba-Creutzfeldta należy do bardzo rzadko występującego zespołu chorobowego. Od pierwszego opisu choroby dokonanego w roku 1920 przez Creutzfeldta, a w rok później przez Jakoba do roku 1963 opisano 72 przypadki (Siedler, Malamud 1963). Znamienna większość dotyczy sporadycznego występowania tej choroby. Tylko nieliczne doniesienia dotyczą jej rodzinnego występowania (Peters 1970). Dawison i Rabiner (1940) opisali ją u trojga rodzeństwa, Jacob i wsp. (1950) w czterech generacjach, z których pierwszą opisał Jakob (1921).

Celem pracy jest szczegółowa analiza struktury i topografii zmian morfologicznych w chorobie Jakoba-Creutzfeldta oraz uchwycenie ich kolejności i rozwoju.

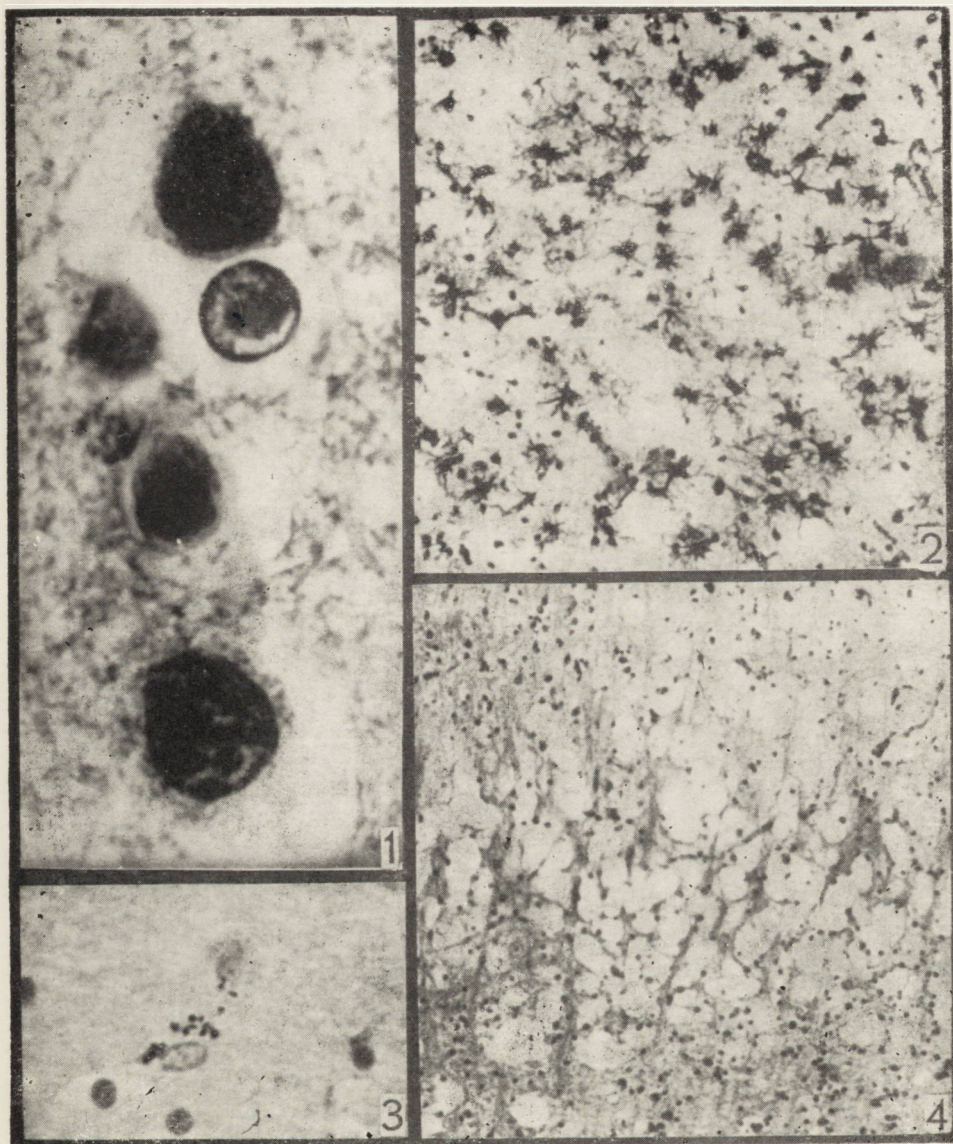
MATERIAŁ I METODA

Do pierwotnie opracowanych 4 przypadków pochodzących ze zbioru Zakładu Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego autorzy dołączyli 4 przypadki pochodzące ze zbioru Instytutu Neurologii im. Obersteinera w Wiedniu.

Materiał obejmuje więc 8 przypadków w tym 4 mężczyzn w wieku od 53 do 68 lat oraz 4 kobiety w wieku od 27 do 68 lat. Średni wiek dla całej grupy wynosi 56 lat. We wszystkich przypadkach wywiad rodzinny był negatywny. Zestawienie przypadków wg wieku, objawów subiektywnych, ubytkowych objawów neurologicznych, zaburzeń psychicznych, odchyleń w badaniach dodatkowych, czasu trwania choroby i rozpoznania klinicznego przedstawia tabela 1.

Tabela 1. Zestawienie przypadków wg płci, wieku, objawów subiektywnych, stanu neurologicznego, zaburzeń psychicznych, wyników badań dodatkowych i rozpoznania klinicznego

Nr przypadku	Płeć	Wiek	Wywiad	Odechylenia w stanie neurologicznym	Odechylenia w stanie psychicznym	Czas trwania choroby	Eeg	Płyn mózgow. rdz.	Rozpoznanie kliniczne
1	ż	26	Niepokój, osłabienie, zaburzenia równowagi, osłabienie kkd	Zespół ataktyczno-spastyczny	Lęki, urojenia, otępienie, niepokój ruchowy	8 mies.	Rozlana patologia	b.z.	<i>Sclerosis multiplex</i>
2	m	52	niepokój, niedowład lkk	niedowład połowiczny, lewostronny	depresja, zaburzenia przytomności	5 mies.	b.z.	—	<i>Encephalomalacia vasculogenes</i>
3	m	52	drażliwość, osłabienie pamięci	bez odchyżeń	zespół otępienny, niedorozwój umysłowy	3 lata	—	białko 0,43 ^{0/00}	<i>Dementia arteriosclerotica</i> <i>Oligophrenia</i>
4	m	52	ruchy mimowolne, zaburzenia w połykaniu, mowa dysartryczna, napady epi	ruchy mimowolne w kkg i kkd, zespół spastyczny, porażenie języka	otępienie	4 lata	b.z.	b.z.	Choroba Jakoba-Creutzfeldta
5	ż	53	zaburzenia równowagi, osłabienie kkd, objawy opuszkowe	zespół ataktyczno-spastyczny, objawy porażenia opuszkowego	osłabienie pamięci, depresja	3 lata	zapis płaski	białko 0,39 ^{0/00}	Choroba Jakoba-Creutzfeldta
6	ż	65	osłabienie lkk, zaburzenia równowagi	niedowład lkk, ataksja lokomocyjna	depresja, zespół otępienny	1 rok	—	—	<i>Syndroma psychoorganicum</i>
7	ż	68	zaburzenia równowagi, osłabienie pamięci	zespół ataktyczny, niedowład połowiczny pkk z afazją	otępienie, depresja, halucynacje wzrokowe, niepokój	6 tyg.	zmiany napadowe w l. skroni i zmiany rozlane	b.z.	<i>Encephalomalacia vasculogenes</i>
8	m	69	zaburzenia równowagi, osłabienie, drżenia pęczkowe.	zespół spastyczno-ataktyczny, zaniki mięśniowe, drżenia pęczkowe w m. lkk i kl. piersiowej	osłabienie pamięci, lęki, niepokój	2 mies.	—	białko 0,49 ^{0/00}	Choroba Jakoba-Creutzfeldta



Ryc. 1. Wtręty śródjądrowe w komórce zwojowej. Kora ciemieniowa. H-E. Pow. 1400 X.

Fig. 1. Intranuclear inclusion in nerve cell. Parietal cortex. H-E. X 1400.

Ryc. 2. Rozplem i przerost astrogleju w korze. Barw. met. Cajala. Pow. 110 X.

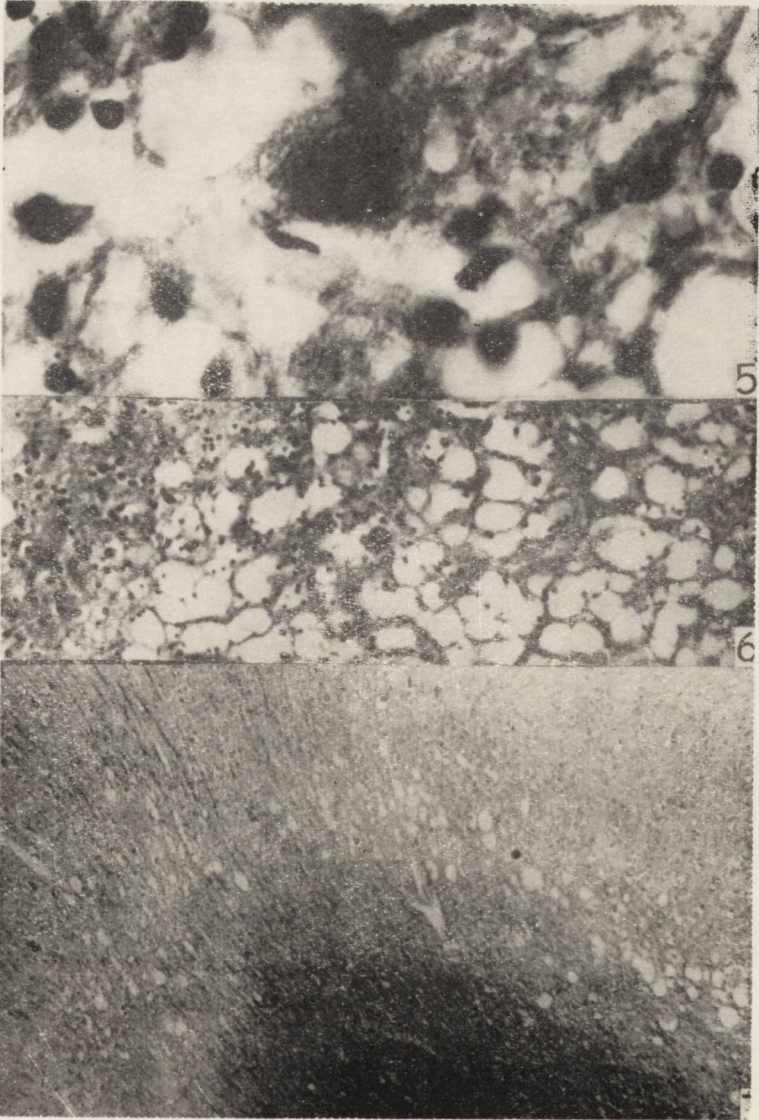
Fig. 2. Proliferation and hypertrophy of astroglia in cortex. Staining after Cajal. X 110.

Ryc. 3. Ziarnistości wokół jądra astrocytu. Fiolet krezyłu. Pow. 400 X.

Fig. 3. Granule accumulation around astrocyte nucleus. Cresyl violet. X 400.

Ryc. 4. Stan gąbczasty w III — V warstwie kory. H-E. Pow. 100 X.

Fig. 4. Spongy state in 3rd — 5th cortex layer. H-E. X 100.



Ryc. 5. Obrzękły astroglej uciskający komórkę nerwową kory. H-E. Pow. 1100 X.

Fig. 5. Swollen astroglia compresses cortical nerve cells. H-E. X 1100.

Ryc. 6. Zgąbczenie obejmujące warstwy II — VI kory. H-E. Pow. 1100 X.

Fig. 6. Spongy degeneration involving 2nd — 6th cortical layers. H-E. X 1100.

Ryc. 7. Zgąbczenie dolnych warstw kory na wypukłości zakrętu F₁. Barw. met. Klüver-Barrera. Pow. 44 X.

Fig. 7. Spongy degeneration of lower cortex layers on the convexity of the F₁ gyrus. Staining after Klüver-Barrera. X 44.

(Pełne opracowanie kliniczne przypadków będzie przedmiotem odrębnej pracy).

Do badania mikroskopowego pobrano wycinki z mózgów sekcjonowanych metodą Spielmeyera, z zastosowaniem techniki dużych skrawków. W dwóch przypadkach (nr 1 i 8) otrzymano także do badania rdzeń kręgowy. Preparaty barwiono fioletem krezyłu, hematoksyliną-eozyną, wg metody Bielschowsky'ego, Bodianą, Holzera lub Kanzler-Arendta, Weila lub Heidenhaina, Klüver-Barrera, Cajala oraz Sudanem czarnym B.

WYNIKI

Badanie makroskopowe mózgu wykazało we wszystkich przypadkach zwężenie kory z poszerzeniem rowków, bądź uogólnione, bądź też bardziej nasilone w obrębie płatów czołowych (4 przypadki). W sześciu przypadkach obecne było wodogłowie wewnętrzne miernego stopnia. Zmiany ateromatyczne III^o w naczyniach podstawy mózgu stwierdzono w trzech przypadkach.

Struktura i topografia zmian mikroskopowych: W obrazie chorobowym dominuje we wszystkich przypadkach zanik neuronów w korze, zarówno na wypukłości zakrętów jak i w obrębie dna rowków. Ubytki komórek nerwowych występują bądź we wszystkich warstwach z zaoszczędzeniem warstwy drobinowej, bądź też są wybitniejsze w warstwach środkowych i dolnych. W jednym tylko przypadku (nr 2) dominowały zaniki komórek zwojowych w warstwie II i w górnych częściach warstwy I. Ubytki komórek zwojowych są plackowate lub uogólnione i doprowadzają do zatarcia warstwowości. Największe zaniki neuronów stwierdzono w korze czołowej, centralnej i ciemieniowej. Ponadto obserwowano opustoszenia komórek nerwowych w warstwie ziarnistej kory mózdzku, w ugrupowaniach szarych podkorowych, w jądrach nerwów czaszkowych (N. XII, IX, X) i w rogach przednich rdzenia kręgowego.

Zachowane komórki nerwowe są często zmienione wstecznie. Obserwowanymi obrazami schorzenia są stłuszczenie, zmiany przewlekłe, ischemiczne.

W jednym przypadku (nr 6) widoczne są wtręty śródjądrowe w komórkach zwojowych (ryc. 1).

Dalszym elementem w strukturze procesu chorobowego jest znaczna reakcja rozplemowa i przerostowa astrogleju (ryc. 2) oraz mierna gleju Hortegi. Tę ostatnią obserwowano w przypadku nr 4 i 6. Odczyn gleju w korze jest często tak znaczny, że doprowadza do pojawienia się

pseudowarstw. Bujanie komórek astroglejowych swą intensywnością i zasięgiem często przekracza zwykle reakcje proliferacyjno-reparacyjne. Wokół jąder astrocytów (ryc. 3) obserwuje się ziarnistości, jakby wyznaczające zarys protoplazmy. Zmiany te są najwybitniejsze w jądrach podstawy.

Następnym elementem procesu chorobowego są zgąbczenia tkanki. Dotyczą one przede wszystkim neuropilu i manifestują się jako pojedyncze lub groniasto ułożone, optycznie puste przestrzenie, dwu- i trzykrotnie przekraczające swym rozmiarem wielkość komórki nerwowej; występują one także pod postacią wakuoli ułożonych perineuralnie (ryc. 4). Czasami, na brzegu takiej przestrzeni, widoczne jest jądro glejowe i wtedy obserwowana zmiana może być interpretowana jako daleko posunięty obrzęk astrogleju. Wśród pól zgąbczeń i na ich pograniczu obserwuje się rozplem gleju protoplazmatycznego o różnym nasileniu oraz przemieszczone, jakby uciśnięte przez obrzękły astroglej, komórki nerwowe (ryc. 5). Zmiany gąbczaste występują albo w obrębie całej szerokości kory (ryc. 6), z wyjątkiem warstwy I, albo też w sposób rozsiany zajmują różne warstwy. Najczęściej zlokalizowane są w III i V warstwie, lub w istocie białej podkorowej. Występują one zarówno na wypukłości zakrętów (ryc. 7), jak i w obrębie dna rowków, nie posiadają widocznego związku z unaczynieniem kory. Zgąbczenie tkanki najczęściej obserwuje się w korze czołowej, centralnej i skroniowej, ponadto stwierdzano je w strukturach szarych podkorowych oraz w szlakach nerwowych.

Dodatkowym elementem są zmiany w osłonkach mielinowych. Często obserwuje się spłowienie z deformacją i rozpadem osłonek we włóknach stycznych i promieniowych w korze, w istocie białej podkorowej oraz w drogach spoidłowych i projekcyjnych. W obrębie ciała modzlowatego stwierdza się demielinizację w trzech przypadkach.

Podoponowo i podwysciółkowo obserwuje się dyskretną glejozę włóknistą.

W korze mózgu, w jądrach podstawy oraz w pniu mózgu obecne są kłębki naczyniowe, w jednym przypadku (nr 3) stwierdzono płytki starcze.

Proces stwardnieniowy w naczyniach śródmózgowych na ogół nie był bardzo nasilony. Tylko w dwóch przypadkach (nr 3 i 4) obserwowano w jądrach podstawy zwłóknienie i zeszkliwienie tętniczek z tendencją do zwężania światła, a nieznaczne zwłóknienie tętniczek i włośniczek kory występowało w sposób rozsiany w pięciu przypadkach (nr 3, 4, 5, 6 i 7). W jądrach podstawy obecne były jamki wokół zmienionych stwardnieniowo naczyń.

OMÓWIENIE

W przedstawionym materiale dominowały następujące zmiany morfologiczne: 1) rozległe ubytki komórek nerwowych w korze, głównie w warstwie III i V, bardziej nasilone w zakrętach czołowych, w korze centralnej i ciemieniowej, w jądrach podstawy oraz w jądrach nerwów czaszkowych; 2) stłuszczenie i schorzenie przewlekłe neuronów; 3) wybitny odczyn astrogleju pod postacią hyperplazji i hypertrofii; 4) stany zgąbczenia tkanki, niezależne od układu unaczynienia i stopnia zmian stwardnieniowych w naczyniach, najwybitniejsze w III i V warstwie kory czołowej, centralnej i skroniowej; 5) obecność kłębków naczyniowych, jako wyraz zanikania tkanki nerwowej. Stwierdzone zmiany pozwalają na rozpoznanie w przebadanych przypadkach choroby Jakoba-Creutzfeldta.

Od pierwszych opisów toczą się w literaturze spory na temat etiopatogenezy tego schorzenia i kolejności rozwoju zmian morfologicznych. Autorzy wczesnych opisów uznali chorobę Jakoba-Creutzfeldta za czystą postać układowej choroby zwyrodnieniowej, uwarunkowanej genetycznie, zlokalizowanej w istocie szarej, ale podkreślali równocześnie znaczenie enterotoksyn w jej rozwoju. Podnoszono znaczenie nadużywania alkoholu (Okhuma 1930, Stender 1930), niedoboru witamin (Stadler 1939, Stengel, Wilson 1949). Doszukiwano się przyczyny choroby w zaburzonym metabolizmie lipidów w komórkach nerwowych (Scarlato, Menozzi 1967). Sugerowano, że choroba polega na pierwotnym schorzeniu gleju astrocytarnego (Zimmermann 1928, Seitelberger 1965), a zmiany w komórkach zwojowych są wtórne. Przypuszczano, że choroba wywołana jest dysfunkcją naczyniową często bez widocznych, wyraźnych zmian strukturalnych w ścianach naczyń (Heidenhain 1929, Jones, Nevin 1954, Crompton 1963). W oparciu o tę tezę Jones i Nevin (1954) i Nevin i wsp. (1960) wyodrębnili z zespołu choroby Jakoba-Creutzfeldta specjalną postać schorzenia zwyrodnieniowego i nazwali podostrą encefalopatią gąbczastą (*subacute spongiform encephalopathy*), różniącą się od choroby Jakoba-Creutzfeldta odmienną topografią zmian, występujących w korze. Większość autorów jednak (Siedler, Malamud 1963, Koch 1966, Brion 1967, Foncin 1967, Peters 1970) zalicza SSE do zespołu Jakoba-Creutzfeldta, uważając ją za przejaw tego samego schorzenia. Ostatecznie nie rozstrzygnięto sporu na temat etiogenezy schorzenia, aż do roku 1968, kiedy Gibbs i Gajdusek (1969) dokonali udanej próby przeniesienia choroby na szympansa drogą operacyjnego wszczepienia materiału biopsyjnego SSE, a w dalszym pasażu na inne szympanasy, uzyskując zmiany charakterystyczne dla choroby Jakoba-Creutzfeldta. Ustalono więc, że patomechanizm choroby Jako-

ba-Creutzfeldta może być dwójaki: infekcja typu „slow-virus” i przekazywalność na drodze genetycznej. Obserwowane, w jednym z naszych przypadków, wtręty śródjądrowe w komórkach nerwowych, mogłyby również przemawiać za etiologią „wirusową”. Tak więc można przypuszczać, że wolno postępujące zmiany zwyrodnieniowe neuronów i ubytki komórek nerwowych, obserwowane w tej chorobie, mogą być bezpośrednim następstwem uszkodzenia komórek przez „wirusy powolne”. Można by przyjąć, że obserwowany rozpłem astrogleju jest również następstwem infekcji powolnej, która przypuszczalnie w tym systemie doprowadza do rozmnożenia komórek.

Wysuwano już dawniej koncepcję naruszenia równowagi enzymatycznej w błonie astrogleju przy infekcjach wirusowych (Gajdusek 1967) w wyniku czego dochodziłoby do jego obrzęku. Badając w mikroskopie elektronowym zachowanie się astrogleju w stanach zgąbczenia w SSE Sluga i Seitelberger (1967) wykazali, że w wypustkach i wokół jąder astrogleju uboższego we włókna, pojawia się obrzęk. Pierwotnie ulegają uszkodzeniu astrocyty śródkankowe, a dopiero w daleko posuniętym stadium choroby astrocyty okołonaczyniowe. Stwierdzenie to pozwoliło również na odrzucenie roli czynnika naczyniowego w powstawaniu obrzęku astrogleju obserwowanego w polach zgąbczenia.

Wydaje się, że w chorobie Jakoba-Creutzfeldta proces chorobowy toczy się równocześnie w komórce nerwowej i glejowej. Szczególne nasilenie zmian morfologicznych w warstwie III i V kory mózgu może być uwarunkowane właściwościami glio- i architektonicznymi tej choroby. Jak wynika z pracy Schlotte'go, (1959) komórki nerwowe duże III i V warstwy otoczone są bardzo licznymi wypustkami astrogleju. Zmiany obrzękowe w tych wypustkach, stanowiących transporter między naczyniem a komórką nerwową, mogłyby nasilać proces zwyrodnieniowy, toczący się w komórkach nerwowych w tych warstwach.

Przytoczone dane z przeglądu literatury wskazują na przynależność choroby Jakoba-Creutzfeldta do grupy podostrej encefalopatii gąbczastej (SSE), aczkolwiek topograficzna akcentacja zmian strukturalnych może być różna w poszczególnych jednostkach tej grupy.

WNIOSKI

1. Struktura i topografia zmian morfologicznych obserwowana w naszych przypadkach pozwala przypuszczać, że zmiany patologiczne rozwijają się równocześnie zarówno w komórkach nerwowych, jak i w komórkach glejowych.

2. Rozmieszczenie procesu chorobowego nie wykazuje zależności, ani od topografii układu naczyniowego, ani od obecności, czy nasilenia zmian stwardnieniowych w naczyniach śródmózgowych.

3. Obecność wtęretów śródjądrowych w komórkach zwojowych w jednym z naszych przypadków może stanowić jeden z argumentów, przemawiających za słusznością zakaźnej etiologii choroby Jakoba-Creutzfeldta.

Autorzy składają podziękowanie prof. dr med. F. Seitelbergerowi i prof. dr med. K. Jellingerowi za udostępnienie materiału ze zbioru Instytutu Neurologii w Wiedniu.

E. Tarnowska-Dziduszko, M. Filipowicz

MОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ В ПРОЦЕССЕ БОЛЕЗНИ ЯКОВА-КРЕЙТЦФЕЛЬДТА

Резюме

Цель работы — исследование структуры и топографии морфологических изменений в мозгу и установление очередности развития изменений в 8 случаях болезни Якова-Крейтцфельдта. Средний возраст больных составлял 56 лет, средняя продолжительность болезни — 1,5 года.

Доминирующими морфологическими изменениями были: 1) атрофия мозга, 2) обширные дефекты нервных клеток, главным образом в III и V слоях коры, наиболее выраженные во фронтальных извилинах, в центральной коре и, кроме того, в базальных ядрах, а также в ядрах черепномозговых нервов, 3) ожирение и хроническое заболевание нервных клеток, 4) выдающаяся гиперплазия астроглии, 5) состояния пороза коры, 6) наличие сосудистых клубочков как проявление атрофии нервной паренхимы.

В одном случае наблюдалась внутриядерная инклюзия в нервных клетках височной коры.

Целостность морфологического образа позволяет полагать, что патологические изменения развиваются одновременно в нейронах и в глии. Размещение нейрональных и глиальных изменений, а также состояния пороза не обнаруживает зависимости ни от сосудистой системы, ни от выраженности склеротических изменений внутримозговых сосудов. Наличие внутриядерных инклюзий в ганглиозных клетках в одном из случаев может составлять аргумент, подтверждающий инфекционную этиологию болезни Якова-Крейтцфельдта.

E. Tarnowska-Dziduszko, M. Filipowicz

MORPHOLOGICAL CHANGES IN CENTRAL NERVOUS SYSTEM IN THE COURSE OF THE JAKOB-CREUTZFELDT DISEASE

S u m m a r y

The structure and topography of the morphological changes in the brain and their succession were investigated in eight cases of the Jakob-Creutzfeldt disease.

The average age of the patients was 56 years, and the mean duration of the disease 1.5 year.

The dominating morphological changes consisted in: 1) brain atrophy, 2) extensive loss of nerve cells, mainly in the 2nd and 5th cortex layer, most pronounced in the frontal gyri, in the central cortex and in the basal nuclei and those of the cranial nerves, 3) fatty degeneration and chronic damage of nerve cells, 4) intensive proliferation of astroglia, 5) status spongiosus of the cortex, 6) the presence of vascular glomeruli as a manifestation of nervous parenchyma atrophy.

In one case intranuclear inclusions were observed in the nerve cells of the parietal cortex.

The morphological picture as a whole suggests that the pathological changes develop simultaneously in the neurones and glia. The distribution of neuronal and glial changes and of the spongy state does not seem to be dependent either on the vascular system or on the intensity of the sclerotic changes in the intracerebral vessels.

The presence of intranuclear inclusions in the nerve cells in one of the cases examined may serve as argument indicating an infectious etiology of the Jakob-Creutzfeldt disease.

PIŚMIENICTWO

1. Brion S.: Encephalopathie spongieuse de la présénile et syndrome de Creutzfeldt-Jakob., *Acta Neuropath.*, 1967 Suppl. III, 16—21.
2. Creutzfeldt H. G.: Über eine eigenartige herdförmige Erkrankung des Zentralnervensystems. *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, 1920, 51, 1—18.
3. Crompton M. R.: A case of Subacute Spongiform Encephalopathy supporting a Vascular Pathogenesis. *Acta Neuropath.* (Berlin), 1963, 2, 291—296.
4. Davison Ch., Rabiner A. M.: Spastic pseudosclerosis. Familial and non familial incidens. *Arch. Neurol. Psychiat.* (Chic.), 1940, 44, 578—598.
5. Foncin I. F.: Electron microscopic observations in Creutzfeldt-Jakob disease., *W Brain Edema, Symp. Vienna 1965*, Springer Verlag, Wien-New York 1967, 171—178.
6. Gajdusek D. C.: Discussion on Kuru, Scrapie and the experimental Kuru — like syndrome in chimpanzees. *W Ergebn. Mikrobiol.*, 1967, 40, 59—63.
7. Gibbs C. J., Gajdusek D. C.: Infection as the etiology of spongiform encephalopathy (Creutzfeldt-Jakob disease). *Science*, 1969, 165, 1023—1025.
8. Heindenhain A.: Klinische und anatomische Untersuchungen über eine eigenartige organische Erkrankung des Zentralnervensystems im Praesentium. *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, 1929, 118, 49—114.
9. Jacob H., Pyrkosch W., Strube H.: Die erbliche Form der Creutzfeldt-Jakobschen Krankheit. *Arch. Psychiat. Nervenkr.*, 1950, 184, 653—674.
10. Jakob A.: Über eigenartige Erkrankungen des Zentralnervensystems mit bemerkenswertem anatomischen Befund. *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, 1921, 64, 147—228.
11. Jones D. O., Nevin S.: Rapidly progressive cerebral degeneration (Subacute vascular encephalopathy), *Neurol., Neurosurg. Psychiat.*, 1954, 17, 148—162.
12. Koch G.: Krankheiten mit vorwiegender Beteiligung des extrapyramidalen System. *W Humangenetik*. G. Thieme Verlag Stuttgart, 1966, W/1, 188—191.
13. Nevin S., Mc. Menemey W. A., Behrman S., Jones D. P.: Subacute spongiform encephalopathy. *Brain*, 1960, 83, 519—564.

14. Okhuma T.: Zur pathologischen Anatomie des chronischen Alkoholismus. *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, 1930, 126, 94—128.
15. Peters G.: Creutzfeldt-Jakob Krankheit. W *Klinische Neuropathologie*, Thieme Verlag, Stuttgart 1970, 245—249.
16. Scarlato G., Menozzi C.: Two Cases of Presenile Spongiform Encephalopathy. *Acta Neuropath.* 1967, Suppl. III, 24—30.
17. Schlotte W.: Zur Gliarchitektonik der menschlichen Grosshirnrinde im Nissl Bild. *Arch. Psychiat. Nervenkr.*, 1959, 199, 573—595.
18. Seitelberger F.: Problem of status spongiosus, w *Brain Edema*, Symp. Vienna 1965, Springer Verlag, Wien — New York 1967, 152—169.
19. Siedler H., Malamud N.: Creutzfeldt-Jakob disease. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1963, 22, 381—402.
20. Sluga E., Seitelberger F.: Beitrag zur spongiösen Encephalopathie, *Acta Neuropath.* 1967, Suppl. III, 60—72.
21. Stadler H.: Über Beziehungen zwischen Creutzfeldt-Jakobschen Krankheit und Pellagra. *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, 1939, 165, 326—332.
22. Stender A.: Weitere Beiträge zum Kapitel „Spastische Pseudosklerose Jakobs“. *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, 1930, 128, 528—543.
23. Stengel E., Wilson W. E.: Jakob-Creutzfeldt disease, *J. ment. Sci.* 1949, 92, 370—376.
24. Zimmerman R.: Ein weiterer Fall von Pseudosclerosis spastica, *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, 1928, 116, 1—15.

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

WALENTY NYKA

PRZYPADEK KIŁY WRODZONEJ UKŁADU NERWOWEGO O OBRAZIE MŁODZIENICZEGO PORAŻENIA POSTĘPUJĄCEGO

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

W początkach ostatniego ćwierćwiecza częstość zachorowań na kiłę układu nerwowego spadła dzięki wczesnej diagnostyce serologicznej i skutecznemu leczeniu. Uległa zmianie klinika tej choroby i jej obraz neuropatologiczny (Opalski 1953, Greenfield 1963).

W ostatnich latach obserwuje się gwałtowny wzrost zakażeń krętkiem bladym, w wielu krajach osiągnął on poziom z lat czterdziestych (Chronicle WHO 1964). Przy tym obecnie przebieg kliniczny kiły wczesnej bywa często bezobjawowy, a leczenie nie zawsze okazuje się skuteczne (King 1970). Zwiększa to możliwość pojawienia się przypadków kiły wrodzonej, w przebiegu której zajęcie układu nerwowego jest częstym zjawiskiem.

Aktualność tego zagrożenia uzasadnia przedstawienie niniejszej analizy kliniczno-morfologicznej przypadku nieleczonej kiły wrodzonej ośrodkowego układu nerwowego.

OPIS PRZYPADKU

Chory G. B. lat 19 przebywał w Klinice Neurologicznej AM w Gdańsku od 5 do 8 stycznia 1969 r. Przyjęty został z objawami zapalenia oponowo-mózgowego. Z wywiadu wiadomo, że był urodzony w zamartwicy sinej. Rozwijał się z opóźnieniem. W trzecim roku życia przeszedł ostrą chorobę gorączkową, rozpoznaną jako zapalenie opon mózgowych, po którym zaburzenia w rozwoju psychomotorycznym dziecka nasiliły się. Matka zauważyła, że w wieku lat kilkunastu jego sprawność ruchowa i kontakt z otoczeniem pogorszyły się. Na miesiąc przed skierowaniem do kliniki stał się apatyczny, senny, miewał stany podgorączkowe. Pierwszego stycznia wysoko zagorączkował, stracił przytomność. Przy przyjęciu do kliniki zwróciła uwagę duża głowa i siodełkowaty nos oraz skrzywienie boczne kręgosłupa.

Badaniem neurologicznym stwierdzono brak kontaktu chorego z otoczeniem i sztywność karku na całą dłoń. Gałki oczne ustawione były w zezie zbieżnym,

źrenice nierówne, bez reakcji na światło. Kończyny ułożone w przykurczu wykazywały wzmożone napięcie mięśniowe, wygórowane odruchy, bardziej po stronie lewej, obustronnie dodatnie objawy Meyera, Babińskiego i Rossolimo. W czasie pobytu w klinice u chorego obserwowano częste prężenia całego ciała i drżenie kończyny górnej prawej.

Badania dodatkowe: w płynie mózgowo-rdzeniowym pleocytoza 17, białko 99 mg%, krzywa złotowa 1,2,2,3,2,1,1,1,0. WR +++. We krwi leukocytoza 24400, WR +++. Rtg klatki piersiowej ujawnił jednoogniskowe zapalenie płuc. Chory zmarł po 3 dniach pobytu w klinice.

Rozpoznanie kliniczne: *Lues congenita. Tetraparesis. Bronchopneumonia.*

Wynik sekcji ogólnej: *Pneumonia lobularis purulenta partim abscondens bilateralis. Peribronchitis chronica. Myocarditis interstitialis. Hyperaemia recens hepatis.*

Badanie mózgu utrwalonego w formalinie (PAN 8/69): Makroskopowo stwierdzono zmleczenie opon i nastrzyknięcie krwią drobnych naczyń. Na przekrojach czołowych widoczne było poszerzenie całego układu komorowego i nierówna, ziarnista powierzchnia jego ścian. Kora była wąska. W okolicy głowy jądra ogoniastego w półkuli lewej stwierdzono obecność jamki z niewielkim bliznowatym zaciągnięciem jej otoczenia. W całym mózgu uderzało przekrwienie. Pień, mózdzek i rdzeń — bez zmian makroskopowych.

Do badania mikroskopowego pobrano wycinki z płata czołowego, zwojów podstawy, płata skroniowego i potylicznego, śródmózgowia, opuszki, mózdzku i rdzenia. Preparaty parafinowe barwiono hematoksyliną-eozyną, fioletem krezyłu, metodą Heidenhaina, Kanzler-Arendta, van Gieson i Gallyas'a.

W obrazie lupowym widoczne było zwężenie zakrętów płaszcza, pogłębienie rowków (ryc. 1) zwłaszcza w okolicy czołowej i zatarcie budowy warstwowej kory. We wszystkich strukturach szarych półkul mózgowych wokół naczyń stwierdzono mniejsze i większe nacieki (ryc. 2). Występowały one również obficie w korze, w zwojach podstawy i w podwzgórzu. Nacieki stwierdzano także w oponach, głównie w głębi rowków (ryc. 3). W istocie białej nacieki były nieliczne i słabo zaznaczone. W rdzeniu nie stwierdzono zmian. Ściany układu komorowego wysłane były niemal w całości wyściółkowymi ziarnistościami (ryc. 4), tworzącymi tzw. stan ziarnisto-siateczkowy wyściółki. Istota biała była zwężona, w obrazie mielinowym uwidaczniały się jej rozlane spłowienia (ryc. 1). W barwieniu metodą Kanzler-Arendta tym zmianom odpowiadała glejoza włóknista (ryc. 5), która ponadto wokół jamki przykomorowej tworzyła zbitą bliznę glejową oraz wykazywała zagęszczenie w obrębie ziarnistości wyściółkowych. Barwienie na tkankę łączną uwidaczniało znacz-

ne zwłóknienie opon oraz uogólnione pogrubienie ścian naczyń. W bruzdzie Sylwiusza wyróżniało się kilka większych pni naczyńiowych z wyraźnym przerostem błony wewnętrznej. Analiza mikroskopowa pozwalała stwierdzić, że nacieki oponowe i przynacyniowe składały się w większości z komórek limfocytarnych, a także plazmatycznych i nielicznych tucznych. Naciekiem przynacyniowym towarzyszyła glejoza w korze, głównie mikroglejowa pod postacią obfitego przerostu komórek pałeczkatych Hortegi (ryc. 6, 7). Ponadto było widać, że zatarcie rysunku kory, nierówno nasilone w poszczególnych zawojach, było przede wszystkim wynikiem znacznych ubytków komórkowych. Liczne neurony wykazywały poza tym cechy uszkodzenia (ryc. 7). W mózdzku uderzały znaczne zmiany zwyrodnieniowe, szczególnie nasilone w niektórych płacikach kory. Warstwa ziarnista i komórki Purkinjego były przerzedzone, w zachowanych obserwowano tigrolizę i rozucie dendrytów.

OMÓWIENIE

Zestawienie danych klinicznych z obrazem neuropatologicznym przedstawionego przypadku pozwala na dostrzeżenie kolejnego nakładania się w nim różnych postaci kiły wrodzonej, co jest częstym zjawiskiem w tej chorobie (Ford 1963).

Najwcześniejszym uszkodzeniem wydaje się być krwotok okołokomorowy w miejscu typowym dla płodów i ewentualnie noworodków wcześniaków, którego następstwem jest blizna w okolicy jądra ogoniasatego. Krwotoki te występują zwykle na skutek niedotlenienia różnego typu (Towbin 1969, Dąbska i wsp. 1971). W tym przypadku pozostaje jednak sprawą otwartą, jaką rolę odegrała tendencja do krwotoków w kile wrodzonej spowodowana uogólnionym uszkodzeniem naczyń (Opalski 1953a, Sträussler 1956).

Dalszym etapem choroby zasadniczej jest zapalenie opon, kiedy po okresie namnażania krętków w węzłach chłonnych i drogach limfatycznych (Sarbo 1922, Collart 1962) często obserwuje się pierwsze fazy kiły wrodzonej późnej (Anderson 1963). Późniejszy zły rozwój psychoruchowy rodzina chorego tłumaczyła sobie jako skutek zapalenia opon mózgowych, stąd przypadek pozostał nie rozpoznany i nie leczony, co przyczyniło się do pełnego rozwoju zmian odpowiadających młodzieńczej postaci porażenia postępującego. W obrazie klinicznym przedstawionego przypadku mniej typową jest jedynie tetrapareza spastyczna (Ford 1963). W jej powstaniu, być może, odegrały rolę wcześniejsze fazy choroby.

W obrazie neuropatologicznym dominuje i pokrywa starsze zmiany zespół odpowiadający młodzieńczemu porażeniu postępującemu z cha-

rakterystycznym dla tej postaci znacznym uszkodzeniem zwojów podstawy i podwzgórza (Sträussler 1956). Towarzyszą mu zmiany naczyniowe o typie wczesnej formy *endarteritis obliterans*. Proces chorobowy w swej ostatniej fazie wyraźnie się zaostrzył, prowadząc do zgonu w typowym dla tego zespołu okresie (Ford 1963). W obrazie morfologicznym odpowiada temu nasilenie i struktura zmian zapalnych.

Autor dziękuje prof. dr med. Zofii Majewskiej, Kierownikowi Kliniki Neurologii Rozwojowej AM w Gdańsku, za pozwolenie wykorzystania materiału.

В. Нька

СЛУЧАЙ ВРОЖДЕННОГО СИФИЛИСА НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ
В ОБРАЗЕ ЮНОШЕСКОГО ПРОГРЕССИРУЮЩЕГО ПАРАЛИЧА

Резюме

Предметом исследования является случай врожденного сифилиса нервной системы, в котором, после менингита, в раннем детстве развилась картина юношеского прогрессирующего паралича. Принятое семьей как следствие болезни в раннем возрасте, это заболевание не подвергалось лечению. Редкость подобных случаев, при актуально увеличенной опасности врожденного сифилиса и усиленной заболеваемости и часто нетипичного протекания инфекции, заставили автора заняться представлением этого клинико-морфологического анализа.

W. Nyka

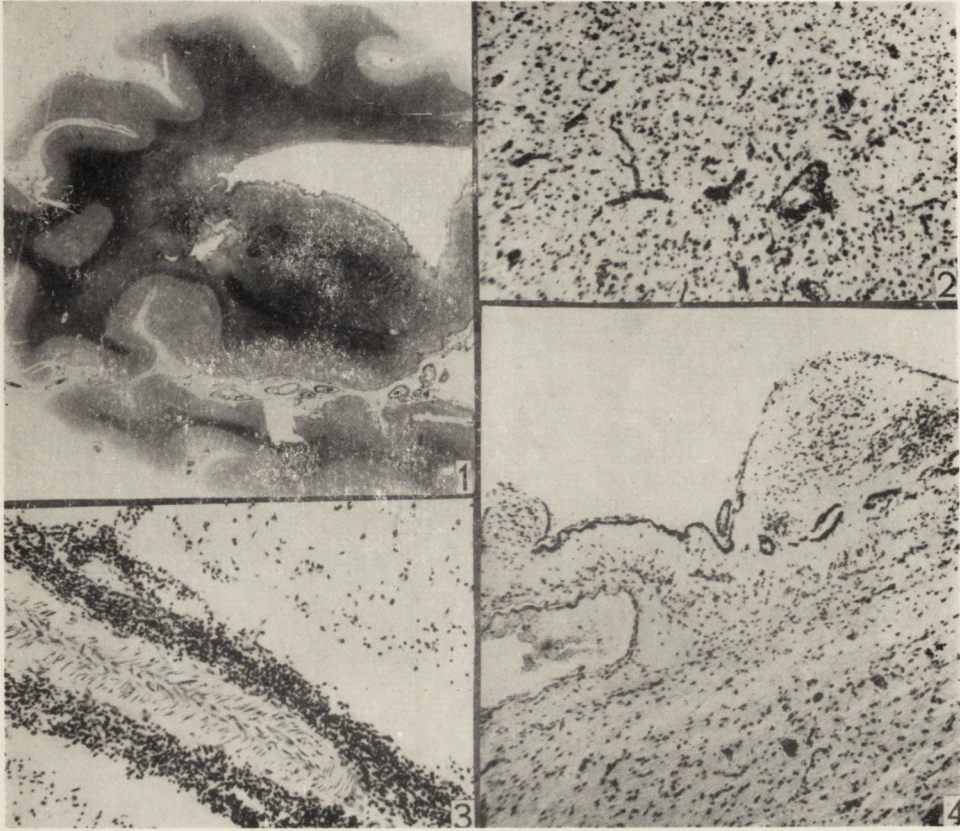
CASE OF CONGENITAL NEUROSYPHILIS WITH A PICTURE
OF JUVENILE PROGRESSIVE PARALYSIS

S u m m a r y

A case of congenital neurosyphilis is described, in which after meningitis, in early childhood a picture of juvenile progressive paralysis developed. The condition was considered by the family as a sequel of the disease suffered in early childhood and was not treated. The rare occurrence of similar cases prompted the author, in view of the increasing frequency of infection with syphilis and the often untypical course of infection, to describe this clinical-morphological analysis.

PIŚMIENNICTWO

1. Anderson W.: Syphilis in pathology. Ed. Anderson. London 1953, 270 — 278.
2. Chronicle of the World Health Organization. 1964, 18, 45.
3. Collart I., Borel L., Durel P.: La syphilis tardive experimentale. Annales de l'Institut Pasteur, 1962, 102, 596.



Ryc. 1. Zwężenie zawojów i uszkodzenie mieliny w płacie czołowym lewym. Barw. met. Heidenhaina.

Fig. 1. Narrowed gyri and injured myelin in left front lobe. Staining after Heidenhain.

Ryc. 2. Nacieki wokół drobnych naczyń kory. Fiolet krezyłu. Pow. 200 ×.

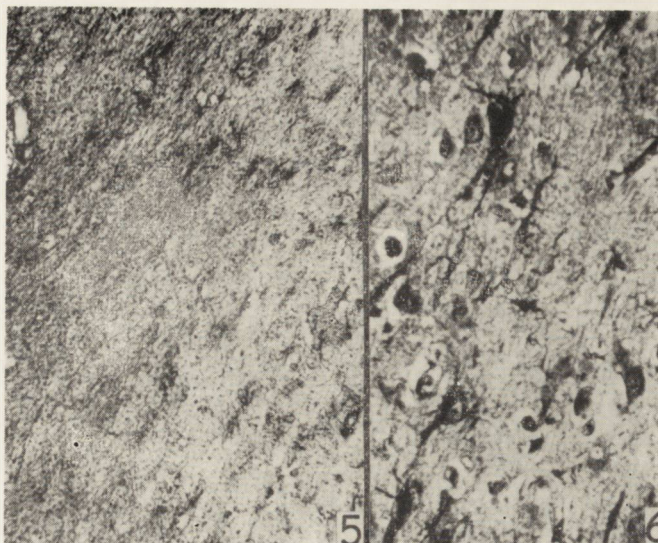
Fig. 2. Infiltrations around minute cortical vessels. Cresyl violet. × 200.

Ryc. 3. Naciek limfocytarno-plazmatyczny w oponach. Fiolet krezyłu. Pow. 240 ×.

Fig. 3. Lymphocytic-plasmatic infiltration in meninges. Cresyl violet. × 240.

Ryc. 4. Ziarnistości wyściółkowe. Fiolet krezyłu. Pow. 180 ×.

Fig. 4. Ependymal granulation. Cresyl violet. × 180.

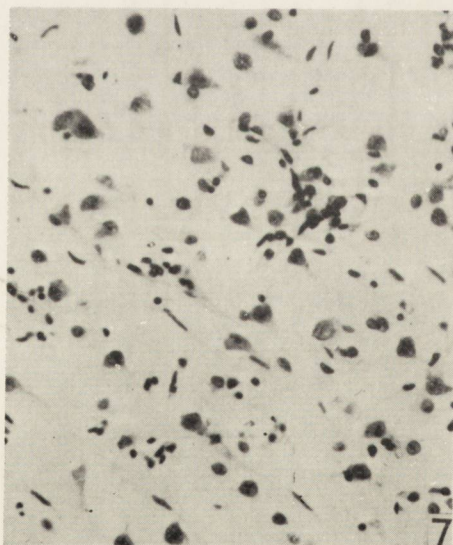


Ryc. 5. Glejoza włóknista w istocie białej półkuli. Barw. met. Kanzler-Arendta. Pow. 200 \times .

Fig. 5. Fibrous gliosis in white matter of hemisphere. Kanzler-Arendt staining. $\times 200$.

Ryc. 6. Komórki Hortegi w korze mózgu. Barw. met. Gallyas'a. Pow. 350 \times .

Fig. 6. Hortega cells in cerebral cortex. Staining after Gallyas. $\times 350$.



Ryc. 7. Glejoza pałeczkowata i uszkodzenia neuronów w korze. Fiolet krezyłu. Pow. 300 \times .

Fig. 7. Rod-like gliosis and neuronal lesions in cortex. Cresyl violet. $\times 300$.

4. Dąmbska M., Szamborski J., Troszyński M.: Krwotoki około- i dokomorowe wczesniaków. *Neuropat. Pol.*, 1971, 1, 71 — 79.
5. Greenfield J. G.: Neurosyphilis. In: *Greenfield's Neuropathology*. Ed. Arnold E., London 1963, 138 — 181.
6. Ford F.: Kiła wrodzona układu nerwowego. Choroby układu nerwowego niemowląt, dzieci i młodzieży. PZWL, Warszawa 1963.
7. King A.: Failure to control venereal disease. *British Med. J.*, 1970, 5694, 21.
8. Opalski A.: Podział i charakterystyka zapaleń mózgu występujących u dzieci. *Ped. Pol.*, 1953, XV, 373 — 384.
9. Opalski A.: Histopatologie der nervösen Frühles. *Biuletyn PAU, Kraków* 1953a.
10. Sarbo A.: Zur Biologie der Spirochaeta pallida. *Dtsch. Z. Nervenheik.*, 1922, 76, 66.
11. Sträussler E.: Die Syphilis des Zentralnervensystems und die progressive Paralyse. *Hdb. Spez. Pathol. Anat. u. Histol.*, Springer Verlag, Berlin 1956, 12/2A, 847 — 994.
12. Towbin A.: Cerebral hypoxic damage in fetus and newborn. *Arch. f. Neurol.*, 1969, 20, 35 — 43.

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

HALINA KROH, GRAŻYNA SZUMAŃSKA

AKTYWNOŚĆ ENZYMÓW ODDECHOWYCH W DOŚWIADCZALNYCH NOWOTWORACH MÓZGU MYSZY *)

Zespół Neuropatologii, Centrum Medycyny Doświadczalnej
i Klinicznej PAN

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

Badania ostatnich dziesięciu lat dostarczyły licznych spostrzeżeń histochemicznych dotyczących występowania i natężenia aktywności różnych enzymów zarówno w prawidłowej tkance nerwowej, jak i w wywodzących się z niej nowotworach. Ich analiza wykazuje znaczne różnice wyników w zależności od stosowanych metod i od badanego materiału.

Ostatnio pojawiły się prace omawiające aktywność niektórych enzymów oksydo-redukcyjnych w doświadczalnych guzach mózgu u zwierząt różnych gatunków, w tym u myszy (Ogawa, Zimmerman 1959), szczurów (Osske i wsp. 1969b, Stavrou 1970) oraz u królików (Osske i wsp. 1969 a, Stavrou, Dahme 1970).

Przedmiotem naszych dotychczasowych badań poświęconych histochemicznym właściwościom doświadczalnych guzów mózgu była aktywność enzymów hydrolitycznych. Obecna praca dotycząca aktywności wybranych enzymów oksydacyjno-redukcyjnych stanowi uzupełnienie poprzednich badań (Kroh 1969b, 1970a, 1970b).

MATERIAŁ I METODA

Badania przeprowadzono na 20 doświadczalnych nowotworach mózgu, wywołanych przez domózgową implantację metylocholantrenu u myszy szczepu C₃H, według techniki opisanej uprzednio (Kroh 1969a).

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

Badania morfologiczne guzów przeprowadzono na skrawkach parafinowych lub mrozkowych barwionych hematoksyliną — eozyną, fioletem krezyłu oraz impregnowanych sposobem Cajala i Gridleya. Badania histoenzymatyczne obejmowały aktywność dehydrogenazy mleczanowej (Hess i wsp. 1958), bursztynianowej (Novikoff 1963) i dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu (Hess i wsp. 1958). O wyborze tych właśnie enzymów decydował fakt, że reprezentują one trzy podstawowe torę metabolizmu glukozy.

WYNIKI

Obraz kliniczny doświadczalnie wywołanych nowotworów oraz zmiany makroskopowe w ośrodkowym układzie nerwowym w badanym materiale nie różniły się zasadniczo od opisanych szczegółowo w poprzednich pracach (Kroh 1969b, 1970a), i ich opis został celowo pominięty. W badanym materiale kilku śródmózgowym guzom towarzyszył obfity zewnątrzczaszkowy rozrost nowotworowy, różniący się pod względem morfologicznym i histochemicznym od części śródczaszkowej. Klasyfikacja histologiczna nowotworów została przeprowadzona głównie na podstawie budowy śródmózgowej części guzów. W materiale naszym rozpoznano 10 glejaków i 10 mięsaków.

Glejak i. Na grupę glejaków składały się 3 gwiazdziaki, 3 wyściółczaki i 4 glejaki niesklasyfikowane.

Gwiazdziaki reprezentują różne stopnie złośliwości od I/II do III/IV. We wszystkich nowotworach tej grupy stwierdza się wysoką aktywność dehydrogenazy mleczanowej (ryc. 1). Ziarniste produkty reakcji enzymatycznej gromadzą się zarówno w cytoplazmie komórek, jak i w podłożu nowotworu. Tylko w nielicznych komórkach nowotworowych odczyn ma charakter dyfuzyjny. Grupę gwiazdziaków charakteryzuje jednorodnie natężenie reakcji enzymatycznej. Jedynie w warstwie komórek położonych wokół ognisk martwicy obserwuje się obfite skupienia ciemno granatowych, gruboziarnistych złożeń formazanowych.

Polimorfizm komórkowy obserwowany w gwiazdziaku III/IV^o nie znajduje wyraźnego odbicia w nasileniu i lokalizacji odczynu enzymatycznego. W zewnątrzczaszkowych częściach tych nowotworów wykazujących strukturę glejako-mięsaków obserwuje się znacznie większe różnice w aktywności enzymu w poszczególnych komórkach, od bardzo wysokiej do śladowej. Zwraca uwagę układanie ziaren formazanu wzdłuż włókien tkanki pochodzenia mezenchymalnego.

Aktywność dehydrogenazy bursztynianowej w gwiazdziakach jest bardzo niska w porównaniu z aktywnością prawidłowej tkanki nerwo-

wej, niekiedy jedynie śladowa, a czasami nie wykazuje się jej zupełnie. Odnosi się to zarówno do śródmózgowych jak i zewnątrzmożgowych części guza we wszystkich badanych gwiaździankach, niezależnie od typu komórek, występujących w ich utkaniu. Jedynie w brzegach ognisk martwicy można zaobserwować względne podwyższenie aktywności.

Aktywność dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu w przypadkach gwiaździanki III/IV^o jest niska we wszystkich komórkach guza, niekiedy całkowicie nieobecna. W zewnątrzczaszkowej części jednego gwiaździanki obserwuje się większe nasilenie reakcji niż w innych zewnątrzczaszkowych guzach tej grupy.

Wyściółczaki reprezentują trzy guzy, wykazujące różny stopień złośliwości, od wybitnie polimorficznego *ependymoblastoma* do typowego, dobrze zróżnicowanego wyściółczaka o jednorodnej strukturze histologicznej.

Dehydrogenaza mleczanowa w wyściółczakach niezależnie od stopnia ich zróżnicowania wykazuje z reguły aktywność wyższą niż zmieniona tkanka nerwowa. Drobnie śródplazmatyczne ziarna formazanu zgrupowane są najczęściej przyjądrowo w postaci zbitej czapeczki lub półksiężycy, położonych w biegunie jądra (ryc. 2). Nasilenie aktywności enzymu w poszczególnych komórkach guza jest bardzo niejednorodne. Wydaje się jednak, że komórki o obfitej cytoplazmie wykazują wyższą aktywność. W brzegach ognisk martwicy stwierdza się również wysoką aktywność enzymatyczną.

Dehydrogenaza glukozy-6-fosforanu w dojrzałych wyściółczakach wykazuje umiarkowaną lub słabą aktywność. Produkty reakcji enzymatycznej są dość równomiernie rozłożone w cytoplazmie komórek nowotworowych. Nasilenie odpowiada aktywności tkanki nerwowej. Brzegi ognisk martwicy wykazują przeważnie nieco wyższą aktywność. W wyściółczaku złośliwym nie wykazano zupełnie aktywności tego enzymu poza pojedynczymi komórkami w części pozamózgowej guza.

Niesklasyfikowane glejaki mają bardzo wysoką aktywność dehydrogenazy mleczanowej, równomiernie rozmieszczoną w cytoplazmie komórek nowotworowych. W wielu komórkach produkty reakcji tworzą bardziej zagęszczone skupienia ziaren formazanu wokół jądra. W brzegach ognisk martwicy aktywność tego enzymu jest również wysoka.

Aktywność dehydrogenazy bursztynianowej jest bardzo niska w dwu przypadkach, a w dwu umiarkowana. W brzegach ognisk martwicy nie spostrzega się podwyższenia aktywności.

Nie stwierdza się aktywności dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu w dwu nowotworach tej grupy, w dwu pozostałych natomiast jest ona

wysoka. W cytoplazmie komórek spostrzega się drobnoziarniste, granatowe złogi formazanowe, nierównomiernie rozłożone, niekiedy w postaci czapeczki przyjądrowej (ryc. 3). Wokół ognisk martwicy w tkance brzeżnej obserwuje się umiarkowany wzrost aktywności.

M i ę s a k i. W grupie 10 mięsaków wyróżniono 4 włókniakomięsaki, 1 mięsak olbrzymiokomórkowy i 5 mięsaków nie zróżnicowanych. Wszystkie włókniako-mięsaki składają się z części śród- i zewnątrzczaszkowej i cechują się jednorodną budową histologiczną.

Aktywność dehydrogenazy mleczanowej jest jednakowa w obydwu częściach nowotworu, różna jednak w poszczególnych polach guza i poszczególnych komórkach, przeważnie bardzo wysoka (ryc. 4). Komórki o najniższej aktywności dorównują aktywnością tkance mózgowej. Cytoplazma komórek o wydłużonych biegunach wypełniona jest równomiernie produktami reakcji enzymatycznej. Komórki nowotworu w brzegach ognisk martwicy wypełnione są maksymalnie gruboziarnistymi produktami reakcji enzymatycznej. Ściany naczyń krwionośnych nie wyróżniają się aktywnością spośród utkania komórkowego nowotworu. Odczynowe astrocyty w tkance otaczającej nowotwór wykazują wysoką aktywność enzymu.

Nie stwierdzono natomiast aktywności dehydrogenazy bursztynianowej w komórkach włókniako-mięsaków. Pola pozbawione całkowicie aktywności enzymu odpowiadają zasięgiem granicom utkania nowotworu (ryc. 5). Słabą aktywność enzymu daje się jedynie uwidocznić w cytoplazmie komórek położonych w brzegach ognisk martwicy.

Aktywność dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu wykazuje umiejscowienie takie samo jak dehydrogenaza mleczanowa. Stopień aktywności enzymu jest znacznie niższy i odpowiada aktywności niezmienionej tkanki nerwowej. W brzegach ognisk martwicy odczyn nieco wzrasta. Astrocyty na obwodzie nowotworu nie wykazują aktywności enzymatycznej.

Mięsak olbrzymiokomórkowy w obydwu swoich częściach, śród- i zewnątrzczaszkowej wykazuje wysoką aktywność dehydrogenazy mleczanowej, wyższą niż aktywność niezmienionej kory mózgu. Najwyższą aktywność stwierdza się w komórkach guza położonych na pograniczu z tkanką mózgową. Również w komórkach wyścielających brzegi jamy po metylocholantrzenie występuje wysoka aktywność enzymu. Komórki guza charakteryzuje znaczne zróżnicowanie nasilenia reakcji histochemicznej; najwyższą aktywność mają pojedyncze, niekiedy dwujądrowe, komórki o obfitej cytoplazmie i komórki olbrzymie (ryc. 6). Drobne, trójkątne komórki występujące w środkowej części guza cechują się przyjądrowym nagromadzeniem ziaren formazanu. Tylko te komór-

ki wykazują umiarkowaną aktywność dehydrogenazy bursztynianowej, podczas gdy w innych nie stwierdza się aktywności tego enzymu (ryc. 7).

Aktywność dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu jest jedynie śladowa. W większości komórek nowotworów tej grupy jest ona nieco wyższa tylko w brzegach ognisk martwicy.

Odczynowe astrocyty wokół nowotworu wykazują bardzo wysoką aktywność dehydrogenazy mleczanowej (ryc. 8) i umiarkowaną dehydrogenazy bursztynianowej (ryc. 9). Aktywności dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu w tych komórkach nie stwierdza się.

Wszystkie 5 nowotworów zaliczanych do niezróżnicowanych mięsaków cechuje się wysoką aktywnością dehydrogenazy mleczanowej bardzo zróżnicowanej w swoim nasileniu w poszczególnych komórkach. Wybitnie wysoka aktywność występuje w brzegach ognisk martwicy, a także w odczynowych astrocytach w tkance mózgu wokół nowotworu.

W dwóch nowotworach tej grupy nie stwierdzano aktywności dehydrogenazy bursztynianowej, poza komórkami w otoczeniu ognisk martwicy i odczynowymi astrocytami wokół nowotworu. W dwu innych przypadkach aktywność dehydrogenazy bursztynianowej nie różni się prawie natężeniem, ani umiejscowieniem od aktywności dehydrogenazy mleczanowej. W jednym z tych dwu przypadków nie wykazuje się aktywności dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu, podczas gdy w trzech pozostałych guzach tej grupy stwierdzano aktywność umiarkowaną, znacznie niższą niż dehydrogenazy mleczanowej, wykazującą jednak takie samo umiejscowienie. W żadnym przypadku aktywność dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu nie występowała w astrocytach odczynowych.

OMÓWIENIE

Wszystkie guzy w naszym materiale, niezależnie od ich rodzaju, typu, stopnia zróżnicowania oraz indywidualnych różnic w budowie histologicznej wykazywały wspólny, podstawowy wzorzec reakcji histoenzymatycznej, wyrażający się wysoką aktywnością dehydrogenazy mleczanowej, umiarkowaną dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu i niską, lub wręcz śladową aktywnością dehydrogenazy bursztynianowej. W części materiału nie stwierdzano w ogóle aktywności tej ostatniej.

Dehydrogenaza mleczanowa wykazywała najwyższą aktywność we wszystkich typach nowotworów. Jej natężenie, umiejscowienie i śródkomórkowy rozkład produktów końcowych reakcji enzymatycznej w

gwiazdziakach i wyściółczakach nie odbiegały od obrazów opisanych w pracach innych autorów, dotyczących doświadczalnych guzów tego typu (Osske i wsp. 1969a, Stavrou 1970) i analogicznych nowotworów występujących u ludzi (Nasu, Viale 1962, Gulotta, Kreutzberg 1963, Chason i wsp. 1963, Nasu, Müller 1964, Perria i wsp. 1964, Hanefeld 1965, Kreutzberg i wsp. 1966).

Zróznicowanie aktywności enzymatycznej między poszczególnymi polami i komórkami guzów, podkreślane w materiale doświadczalnym przez Stavrou (1970) i w ludzkim przez O'Connor i Lawsa (1963) oraz Hanefeld (1965) spostrzegaliśmy również w badanych przez nas nowotworach. Jednakże różnice te wyraźnie występowały jedynie w wyściółczakach, nie uwidoczniły się natomiast w glejakach niesklasyfikowanych i w gwiazdziakach. W tych ostatnich zwracał uwagę fakt, że nawet wyraźny poliformizm morfologiczny gwiazdziaka IV^o nie znajdował swojego odbicia w zróznicowaniu aktywności enzymatycznej. Występowało ono natomiast bardzo wyraźnie w zewnątrzczaszkowych częściach gwiazdziaków wykazujących utkanie mieszanych guzów — glejako-mięsaków. Cechą charakterystyczną wszystkich mięsaków, niezależnie od ich typu histologicznego i śródmózgowego, czy zewnątrzczaszkowego umiejscowienia było zróznicowanie aktywności enzymatycznej pomiędzy poszczególnymi, sąsiadującymi nawet ze sobą polami nowotworu i poszczególnymi komórkami. Nie udało się wykazać uwarunkowania zróznicowania aktywności enzymatycznej stopniem złośliwości guza. Poza gwiazdziakami wyraźnie wyższą aktywność wykazywały z reguły komórki o obfitszej cytoplazmie. Jedynie w przypadku mięsaka olbrzymiokomórkowego najwyższą aktywność dehydrogenazy mleczanowej stwierdzano w obszarach guza na pograniczu naciekanej tkanki nerwowej.

W naszym materiale nie obserwowaliśmy wyróżniającej się aktywności ścian naczyń w złośliwych gwiazdziakach, którą podkreślali w przypadku glejaków wielopostaciowych Nasu i Viale (1962) oraz Nasu i Müller (1964).

W badanych przez nas guzach nie stwierdzaliśmy aktywności dehydrogenazy bursztynianowej w komórkach gwiazdziaków i wyściółczaków, a bardzo niską lub śladową we włókniako-mięsakach, niektórych niesklasyfikowanych glejakach i mięsaku olbrzymiokomórkowym. Tylko w dwóch przypadkach niezróznicowanych mięsaków natężenie aktywności dehydrogenazy bursztynianowej było znacznie wyższe i nie ustępowało aktywności tego enzymu w niezmienionej korze mózgu. Większość autorów zajmujących się histochemią glejaków doświadczalnych (Ogawa, Zimmerman 1959, Osske i wsp. 1969a, Stavrou 1970)

i ludzkich (Nasu, Viale 1962, Udvarhelyi i wsp. 1962, Smith 1963, Viale i wsp. 1963, O'Connor, Laws 1963, Hanefeld 1965) podkreślało również niską aktywność tego enzymu lub jej całkowity brak. Tylko nieliczni (Mossakowski 1962, Chasson i wsp. 1963, Gulotta, Kreutzberg 1963, Stavrou, Dahme 1969) obserwowali wysoką lub umiarkowaną jego aktywność w guzach glejowych. Podobnie niską aktywność dehydrogenazy bursztynianowej w guzach pochodzenia mezodermalnego u ludzi opisali Udvarhelyi i wsp. (1962), a Okamoto i wsp. (1963) w doświadczalnych podskórnych mięsach u myszy.

Aktywność dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej była niska w komórkach gwiazdziaków, niezależnie od stopnia ich zróżnicowania, niska lub umiarkowana w komórkach wyściółczaków i większości mięsaków. Tylko w dwóch niezróżnicowanych glejakiach aktywność enzymu była wysoka. Osske i wsp. (1969a) nie wykazali w ogóle aktywności dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej w doświadczalnych glejakiach wielopostaciowych u królików, a O'Connor i Laws (1963) oraz Mori i wsp. (1968) podkreślają, że w nowotworach mózgu aktywność tego enzymu jest na ogół wyższa niż dehydrogenazy bursztynianowej, a niższa niż mleczanowej. Zjawisko to znajduje swoje pokrycie i w naszych obserwacjach.

Zarówno aktywność dehydrogenazy bursztynianowej, jak i dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej wykazują mniejsze zróżnicowanie natężenia odczynu histochemicznego między poszczególnymi komórkami niż aktywność dehydrogenazy mleczanowej. Niemniej jednak zróżnicowanie to udało się wykazać w całym szeregu nowotworów, w których ujawniono aktywność dehydrogenazy bursztynianowej, a aktywność dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej wykazywała umiarkowane nasilenie.

W przypadku wszystkich badanych dehydrogenaz stwierdzono wyraźne podwyższenie aktywności enzymatycznej w otoczeniu ognisk martwicy. Obszary te były niekiedy jedynymi, w których stwierdzano aktywność enzymu, w przypadkach gdy pozostałe utkanie nowotworu jej nie wykazywało. Analogiczne obserwacje w odniesieniu do dehydrogenazy mleczanowej w nowotworach doświadczalnych poczynili Osske i wsp. (1969a) i Stavrou (1970), a w przypadku nowotworów ludzkich Hanefeld (1965). Podobne zmiany w aktywności dehydrogenazy bursztynianowej w doświadczalnych nowotworach mózgu opisał Stavrou (1970), a w aktywności dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej u ludzi Smith (1963).

Należy podkreślić fakt, że konfrontacja obrazów morfologicznych i histochemicznych pozwala odnieść wzmożenie aktywności enzyma-

tycznej w brzegach martwicy do samych komórek nowotworowych, a nie komórek żernych.

Zmiany te wykazują daleko idące analogie do zmian aktywności enzymatycznej w komórkach otaczających ogniska nekrobiozy w mózgach u ludzi, opisanych w materiale Mossakowskiego (1963) oraz Chasona i wsp. (1963). Podobne wzmożenie aktywności enzymatycznej stwierdzono w komórkach nowotworowych otaczających złogi karcinogenu.

Odczynowo zmieniony glej w otoczeniu ognisk nowotworowych wykazywał wyraźnie wzmożoną aktywność dehydrogenazy mleczanowej i nieco podwyższoną aktywność dehydrogenazy bursztynianowej (uchwytną w przypadku mięsaków). Zmiany te miały identyczny charakter ze stwierdzonym w odczynowym gleju dookoła ognisk nowotworowych i w przypadkach innego typu procesów patologicznych w ośrodkowym układzie nerwowym (Friede 1962, Rubinstein i wsp. 1962, Mossakowski 1962, 1963, Schiffer, Vesco 1962, 1963, Chason i wsp. 1963a, 1963b, Viale i wsp. 1963, Smith 1963, Gulotta, Kreutzberg 1963, Hanefeld 1965, Bingas 1967). Nie stwierdziliśmy natomiast aktywności dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu w odczynowych astrocytach okołonowotworowych, mimo to, że zarówno Schiffer i Vesco (1962), jak i Mori i wsp. (1968) podkreślali wzmożenie aktywności tego enzymu w astrocytach otaczających ogniska nowotworu, a Domańska (1970) uważa wzrost jego aktywności za najwcześniejszy wyraz glejowego procesu odczynowego.

Zasadniczy wzorzec aktywności enzymatycznej badanych dehydrogenaz nie ulega zmianie w warunkach hodowli pozaustrojowej tych samych nowotworów (Renkawek, Kroh 1971, Renkawek i wsp. 1971), z tym tylko, że aktywność dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu w skrawkach tkankowych jest wyraźnie niższa niż w hodowli *in vitro*. Doświadczalne nowotwory zachowują się więc i pod tym względem identycznie jak guzy ośrodkowego układu nerwowego u ludzi.

WNIOSKI

1. Komórki doświadczalnych nowotworów mózgu u myszy, wywołanych przy użyciu metylocholantrenu, niezależnie od rodzaju i typu nowotworu charakteryzują się wysoką aktywnością dehydrogenazy mleczanowej, podczas gdy aktywność dehydrogenazy bursztynianowej w komórkach większości doświadczalnych glejaków nie występuje w ogóle, lub jest bardzo niska. Aktywność dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu w większości badanych nowotworów jest umiarkowana.
2. Nie stwierdzono zależności natężenia odczynu histochemicznego, ani jego zróżnicowania w obrębie populacji komórek poszczególnych

nowotworów od stopnia złośliwości guzów. W większości nowotworów zróżnicowanie to uwarunkowane jest poliformizmem komórkowym.

3. Komórki nowotworowe w otoczeniu ognisk martwicy wykazują z zasady wyższą aktywność badanych enzymów niż pozostałe części guza.

4. Glej odczynowy w otoczeniu ognisk nowotworowych wykazuje wzmoczenie aktywności dehydrogenazy mleczanowej i bursztynianowej, przy równoczesnym braku aktywności dehydrogenazy glukozo-6-fosforanu.

5. Aktywność badanych dehydrogenaz w doświadczalnych guzach mózgu u myszy wykazuje daleko idące podobieństwo do analogicznego materiału nowotworowego u ludzi i doświadczalnego u innych zwierząt.

G. Kroh, G. Szumańska

АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ЭНЗИМОВ
В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОПУХОЛЯХ МОЗГА МЫШЕЙ

Резюме

Исследование активности лактатной и сукцинатной дегидрогеназы, а также глюкозо-6-фосфата проводилось в 20 экспериментальных опухолях мозга мышей, вызванных метилхолантrenom, введенным непосредственно в мозг.

Во всех случаях глиом, то есть астроцитомах, эпендиомах и неклассифицированных глиомах и саркомах (фибро-саркомах, гигантоклеточной саркоме и недифференцированных саркомах), наблюдали в опухолевых клетках высокую активность лактатной дегидрогеназы и умеренную активность дегидрогеназы глюкозо-6-фосфата. Сукцинатная дегидрогеназа или не обнаруживала активности в этих опухолях, или обнаруживала следовую активность.

В реактивной глиии вокруг опухолей обнаруживается высокая активность лактатной дегидрогеназы и умеренная активность сукцинатной дегидрогеназы. Реактивные астроциты не обнаруживают активности дегидрогеназы глюкозо-6-фосфата.

H. Kroh, G. Szumańska

ACTIVITY OF CERTAIN RESPIRATORY ENZYMES
IN EXPERIMENTAL BRAIN TUMOURS IN MICE

S u m m a r y

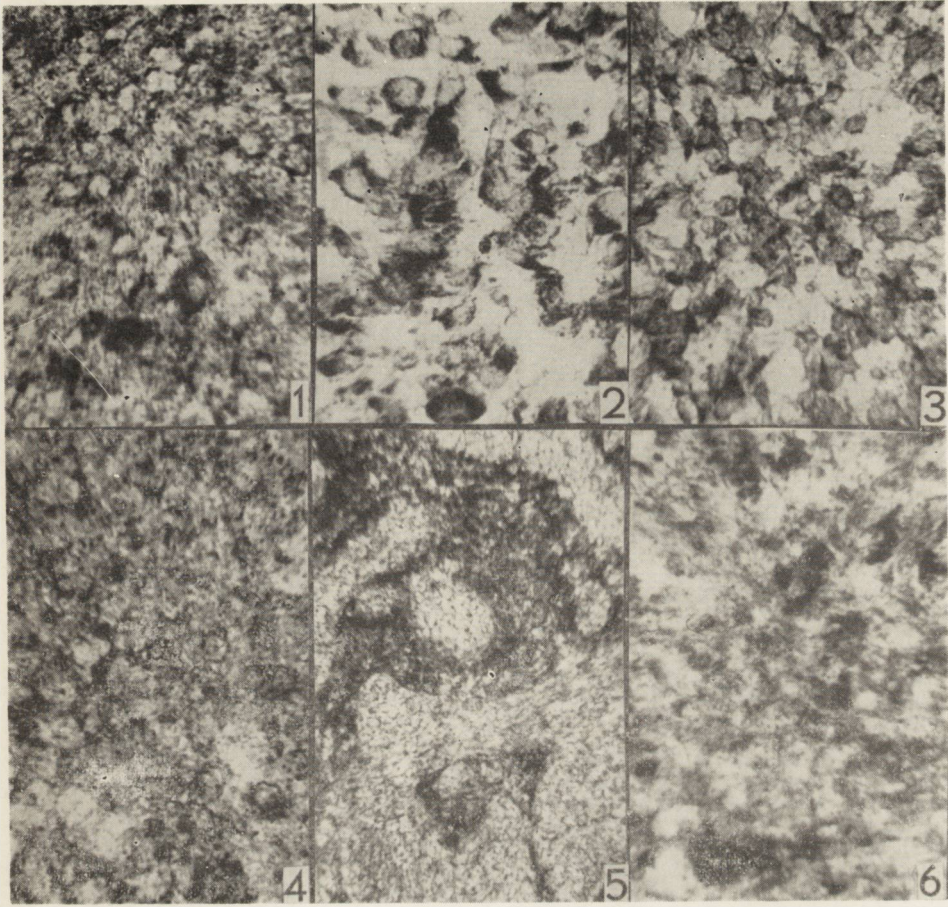
Lactate, succinate and glucose-6-phosphate dehydrogenase activity was investigated in 20 experimental mouse brain tumours induced by intracerebral methylcholantrene implantation.

In all cases of gliomas, i.e. astrocytomas, ependymomas and nonclassified gliomas and sarcomas (fibro-sarcomas, monstrocellular sarcomas and nondifferentiated sarcomas), a high lactate and moderate glucose-6-phosphate dehydrogenase activity was observed. In these tumours succinate dehydrogenase activity was very low or entirely absent.

In the reactive glia around the tumours a high lactate dehydrogenase activity is noted and moderate succinate dehydrogenase activity. Reactive astrocytes do not show glucose-6-phosphate dehydrogenase activity.

PIŚMIENNICTWO

1. Bingas B.: Beitrag zur Fermentuntersuchung intrakranieller Tumoren. *Acta Neurochir.*, (Wien) 1967, 16, 315 — 316.
2. Chanson J., Landers J., Gonzales J., Brueckner G.: Respiratory enzyme activity of human gliomas. A slide histochemical study. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1963, XXII, 471 — 478.
3. Domańska-Janik K.: Doświadczalne niedoilenienie, a niektóre zagadnienia tlenowego metabolizmu glukozy w ośrodkowym układzie nerwowym. Praca doktorska (maszynopis), Warszawa 1970.
4. Friede R.: The cytochemistry of normal and reactive astrocytes. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1962, XXI, 471 — 478.
5. Gulotta F., Kreutzberg G.: Comparative studies on oxydoreductases in gliomas and their tissue culture. *Folia Histochem. Cytochem.* 1963, Suppl. I, 198.
6. Hanefeld F.: Histochemische Untersuchungen zum Verteilungsmuster oxydativer Fermente in Gliomen. *Deutsch. Z. Nervenheilk.*, 1965, 187, 244 — 255.
7. Hess R., Scarpelli D., Pearse A.: The cytochemical localization of oxidative enzymes. II Piridine nucleotide-linked dehydrogenase *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1958, 4, 753 — 760.
8. Kreutzberg G., Minauf M., Gulotta F.: Enzyme histochemistry in human brain tumors and their tissue culture with special reference to the oxidoreductases in the glioblastoma multiforme. *Histochemie*, 1966, 6, 8 — 16.
9. Kroh H.: Preneoplastic changes in the central nervous system of mice induced by methylcholantrene. *Neuropat. Pol.*, 1969a, 7, 55 — 72.
10. Kroh H.: Some observations on morphology and histochemistry of experimental brain sarcomas in mice. *Folia Histochem. Cytochem.*, 1969b, 7, 47 — 58.
11. Kroh H.: Morphological and histoenzymatic features of mice brain gliomas induced by methylcholantrene. *Folia Histochem. Cytochem.*, 1970a, 8, 329 — 352.
12. Kroh H.: Doświadczalne nowotwory mózgu myszy o utkaniu glejakomięsaków. *Neuropat. Pol.*, 1970b, 8, 429 — 438.
13. Matakas F.: Einfluss der Kultivation in vitro auf das Enzymmuster intrakranieller Tumoren. *Deutsch. Z. Nervenheilk.*, 1969, 196, 287 — 299.
14. Mori M., Matsuura H., Morishita M.: Histochemical observation of NADP-dependent isocitrate and glucose-6-phosphate dehydrogenases in the human neoplasms. *Acta Histochem. Cytochem.*, 1968, 3, 154 — 185.
15. Mossakowski M.: The activity of succinic dehydrogenase in glial tumors. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1962, 21, 137 — 146.
16. Mossakowski M.: The activity of succinic dehydrogenase in the reactive glia. *Acta Neuropath.*, 1963, 2, 282 — 290.



Ryc. 1. Gwiaździak II°. Dehydrogenaza mleczanowa. Przyjądrowe skupienia ziaren formazanu. Pow. 400 X.

Fig. 1. Astrocytoma II°. Lactate dehydrogenase. Perinuclear aggregations of formazan grains. X 400.

Ryc. 2. Wyściółczak. Dehydrogenaza mleczanowa. Wysoka aktywność enzymatyczna w przyjądrowych częściach cytoplazmy. Pow. 400 X.

Fig. 2. Ependymoma. Lactate dehydrogenase. High enzymatic activity in perinuclear parts of cytoplasm. X 400.

Ryc. 3. Glejak niesklasyfikowany. Dehydrogenaza glukozy-6-fosforanu. Umiarkowana aktywność enzymatyczna w cytoplazmie. Pow. 400 X.

Fig. 3. Unclassified glioma. Glucose-6-phosphate dehydrogenase. Moderate enzymatic activity in cytoplasm. X 400.

Ryc. 4. Włókniako-mięsak. Dehydrogenaza mleczanowa. Wysoka aktywność enzymatyczna komórek nowotworowych. Pow. 200 X.

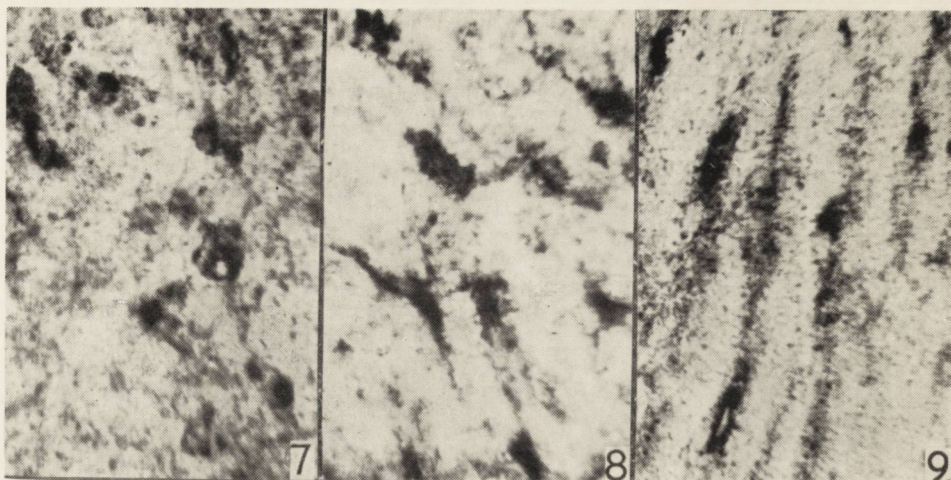
Fig. 4. Fibro-sarcoma. Lactate dehydrogenase. High enzymatic activity of tumour cells. X 200.

Ryc. 5. Włókniako-mięsak. Dehydrogenaza bursztynianowa. Obwodowe części nowotworu nie wykazujące aktywności enzymatycznej naciekają tkankę mózgu. Pow. 200 X.

Fig. 5. Fibro-sarcoma. Succinate dehydrogenase. The peripheral parts of the tumour not showing enzymatic activity infiltrate the brain tissue. X 200.

Ryc. 6. Mięsak olbrzymiokomórkowy. Dehydrogenaza mleczanowa. Wysoka aktywność enzymatyczna w komórkach olbrzymich, nierównomierne rozłożenie aktywności w pozostałych komórkach. Pow. 400 X.

Fig. 6. Monstrocellular sarcoma. Lactate dehydrogenase. High enzymatic activity in giant cells, in remaining cells activity nonuniformly distributed. X 400.



Ryc. 7. Mięsak olbrzymiokomórkowy. Dehydrogenaza bursztynianowa. Umiarkowana aktywność enzymatyczna w komórkach olbrzymich, aktywność śladowa, nierównomierna w pozostałych komórkach. Pow. 400 X.

Fig. 7. Monstrocellular sarcoma. Succinate dehydrogenase. Moderate enzymatic activity in giant cells, trace activity nonuniformly distributed in other cells. X 400.

Ryc. 8. Mięsak olbrzymiokomórkowy. Dehydrogenaza mleczanowa. Wysoka aktywność enzymatyczna w cytoplazmie i wypustkach astrocytów odczynowych wokół nowotworu. Pow. 400 X.

Fig. 8. Monstrocellular sarcoma. Lactate dehydrogenase. High enzymatic activity in cytoplasm and processes of reactive astrocytes around tumour. X 400.

Ryc. 9. Mięsak olbrzymiokomórkowy. Dehydrogenaza bursztynianowa. Umiarkowana aktywność w cytoplazmie astrocytów odczynowych wokół nowotworu. Pow. 400 X.

Fig. 9. Monstrocellular sarcoma. Succinate dehydrogenase. Moderate activity in reactive astrocyte cytoplasm around tumour. X 400.

17. Nasu H., Muller W.: Enzymhистоchemische Untersuchungen an Gliomen. *Deutsch. Z. Nervenheilk.*, 1964, 186, 67 — 86.
18. Nasu H., Viale G.: Recherches d'histochimie enzymatique avec les sels de tetrazolium sur les gliomes. IV. *Inter. Kongr. f. Neuropath.* Thieme, Stuttgart, 1962, 1, 115 — 118.
19. Novikoff A.: Electron transport enzymes biochemical and tetrazolium studies. I. *Inter. Congr. Histochem. Cytochem.* Pergamon Press, Oxford, 1963, 465 — 481.
20. O'Connor J., Laws E.: Histochemical survey of brain tumor enzymes. *Arch. Neurol.*, 1963, 9, 641 — 651.
21. Ogawa K., Zimmerman H.: The activity of succinic dehydrogenase in the experimental ependymoma of C₃H mice. *J. Histochem. Cytochem.*, 1959, 1, 342 — 349.
22. Okamoto Y., Murata J., Miyaji T., Kawashima H.: Histochemical observation on experimental tumors induced by subcutaneous administration of carcinogenic hydrocarbons. *Gann*, 1963, 54, 39—46.
23. Osske G., Schreiber D., Schneider J., Janisch W.: Enzymhistochemische Untersuchungen an experimentellen Glioblastomen des Kaninchens. *Europ. J. Cancer.*, 1969a, 5, 525—531.
24. Osske G., Warzok R., Janisch W.: Enzymhistochemische Untersuchungen an experimentellen Hirntumoren der Ratte. *Exp. Path.*, 1969b, 3, 280 — 288.
25. Perria L., Viale G., Ibba F., Andreussi L., Viale E.: Istochimica dei tumori endocranici. Relazione ufficiale al XVI Congresso della Società Italiana di Neurochirurgia, Genova 28—29, Novembre 1964. Ed.: Administratione Provinciale di Genova.
26. Renkawek K., Kroh H.: The morphological and histoenzymatic properties of experimental brain sarcomas cultured in vitro. *Ztschr. f. Krebsforsch.*, 1971, 75, 123 — 132.
27. Renkawek K., Kroh H., Kraśnicka Z.: Morphological and histochemical properties of experimental gliomas cultured in vitro. *Z. Krebsforsch.*, 1971, in press.
28. Rubinstein L., Klatzo I., Miquel J.: Histochemical observations on oxidative enzyme activity of glial cells in a local brain injury. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1962, 21, 116 — 136.
29. Schiffer D., Vesco C.: Contribution to the histochemical demonstration of some dehydrogenase activities in the human nervous tissue. *Acta Neuropath.*, 1962, 2, 103 — 112.
30. Schiffer D., Vesco C.: Histochemical observation about the pattern of tetrazolium reduction with different substrates in glia cells of normal and pathological nervous tissue. *J. Histochem. Cytochem.*, 1963, 11, 335 — 342.
31. Smith B.: Dehydrogenase activity in reactive and neoplastic astrocytes. *Brain*, 1963, 86, 89 — 94.
32. Stavrou D.: Beitrag zur Morphologie und Enzymhistochemie experimenteller Tumoren der Zentralnervensystem der Ratte. II. Enzymhistochemische Befunde. *Acta Neuropath.* (Berlin) 1970, 15, 231 — 239.
33. Stavrou D., Dahme E.: Beitrag zur Enzymhistochemie experimentell induzierter Hirntumoren beim Kaninchen. *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie*, Fischer Verlag, Stuttgart 1969, 548 — 553.

34. Udvarhelyi G., O'Connor J., Walker A., Laws E., Kranin S.: A histochemical study of tumors of the central nervous system. Proc. IV. Congr. Neuropath. Vol. I. Thieme Verl. Stuttgart 1961, 95 — 102.
35. Viale G., Ibba F., Andreussi L., Ibba G., Viale E.: Studies of enzymatic histochemistry on some stages of cell differentiation in tumors of the nervous system. Folia Histochem. Cytochem. 1963, Suppl. I, 191 — 192.

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

HENRYK ARASZKIEWICZ, EDWARD SPYCHALSKI

MORFOLOGIA KOMÓREK OLBRZYMICH W MIĘSAKACH OLBRZYMIOKOMÓRKOWYCH MÓZGU

Klinika Neurochirurgii WAM

Kierownik Kliniki: prof. dr med. J. Bromowicz

Mięsaki olbrzymiokomórkowe mózgu były przedmiotem wielu opracowań (Bingas 1964, Bromowicz i wsp. 1970, Brucher 1962, Głowacki Selbsse 1965, Głuszczyk 1969, Gruszkiewicz i wsp. 1965, Peison, Voris 1965, Spychalski, Araszkievicz, w druku, Wisławski, Mossakowski 1964). Zarówno zagadnienia diagnostyczne jak i histogeneza nowotworów tego typu zajmuje nadal wielu badaczy (Arendt 1964, Bartelheimer, Mauer 1962, Brucher 1964, Feigin, Gross 1955, Głuszczyk 1970, Simon 1965, 1970, Wisławski 1970, Zülch, Christensen 1956). W ocenie morfologicznej mięsaków olbrzymiokomórkowych mózgu, obok innych typowych cech wymienia się występowanie komórek olbrzymich i monstrialnych.

Celem pracy jest analiza cech morfologicznych komórki olbrzymiej pierwotnego mięsaka olbrzymiokomórkowego mózgu z punktu widzenia praktycznego wykorzystania uzyskanych wyników w diagnostyce śródoperacyjnej, opartej o barwienia podstawowe.

MATERIAŁ I METODY

Analizę morfologiczną komórek olbrzymich przeprowadzono na materiale 4 przypadków pierwotnych mięsaków olbrzymiokomórkowych, uzyskanych w czasie zabiegów operacyjnych i z materiału sekcyjnego mózgu. Rozpoznanie histologiczne guzów ustalono w oparciu o podstawowe barwienia hematoksyliną-eozyną oraz impregnację włókien retikuliny i kolagenowych metodą Perdrau'a i komórek gleju podporowego metodą Cajala.

Z każdego przypadku pobierano losowo 10 dowolnych preparatów barwionych hematoksyliną eozyną. W każdym preparacie za pomocą siatki punktowej o 121 polach, stosując powiększenia 40×16 (1 po-

działka siatki wynosi 12,5), obliczano w dowolnych polach widzenia średnie ilości znajdujących komórek olbrzymich, uwzględniając ich ilościowy stosunek. W preparacie z każdego przypadku wykonano w 10 dowolnych polach pomiary wielkości (w 1 płaszczyźnie) komórek olbrzymich, uwzględniając największy i najmniejszy wymiar komórki. Analizowano również strukturę komórek olbrzymich uwzględniając cytoplazmę (kwasochłonność, zwyrodnienie wodniczkowe, procesy fagocytarne) i jądra (ilość, mitozy, zwyrodnienie wodniczkowe).

WYNIKI

Średnia ilość komórek olbrzymich w 1 polu widzenia wynosiła w przypadku 1 — 1,61 (ogólna ilość komórek 161), w przypadku 2 — 0,81 (81), w przypadku 3 — 1,23 (123), w przypadku 4 — 1,33 (133).

Ogółem w całym materiale (4 przypadki) średnia ilość komórek olbrzymich w 1 polu widzenia wynosiła — 1,29.

Wielkość komórek olbrzymich (mierzona w 1 płaszczyźnie z uwzględnieniem wymiaru najdłuższego i najkrótszego) dla poszczególnych przypadków wynosiła średnio: przypadek 1 — $41,25 \mu \times 33,75 \mu$ (największe komórki — $118,45 \mu \times 62,50 \mu$ i $106,25 \mu \times 62,50 \mu$, najmniejsza — $31,25 \mu \times 34,25 \mu$); przypadek 2 — $61,25 \mu \times 47,50 \mu$ (największe komórki — $100,0 \mu \times 75,0 \mu$ i $87,50 \mu \times 75,0 \mu$, najmniejsza $36,5 \mu \times 31,25 \mu$); przypadek 3 — $48,75 \mu \times 36,25 \mu$ (największe komórki — $100,0 \mu \times 75,0 \mu$ i $100,0 \mu \times 87,5 \mu$, najmniejsza — $25,0 \mu \times 25,0 \mu$); przypadek 4 — $46,25 \mu \times 36,25 \mu$ (największe komórki — $100,0 \mu \times 62,5 \mu$ i $87,5 \mu \times 75,0 \mu$, najmniejsza — $31,25 \mu \times 31,25 \mu$). Średnia wielkość komórki olbrzymiej dla 4 przypadków wynosiła $46,25 \mu \times 36,25 \mu$. Wymiary największych spotykanych

Tabela 1. Cytoplazma komórek olbrzymich

Table 1. Analysis of giant cells cytoplasm

Przypadki Cases	Kwasochłonność Acidophilia	Zwyrodnienie wodniczkowe Vacuolar degeneration	Fagocytoza Fagocytosis
1	126 (78,27%)	73 (45,34%)	103 (63,40%)
2	79 (97,53%)	28 (34,57%)	66 (81,49%)
3	99 (80,49%)	49 (39,83%)	70 (56,9%)
4	82 (61,65%)	23 (17,29%)	51 (38,34%)
Razem Total	386 (64,01%)	173 (34,73%)	290 (58,23%)

Tabela 2. Jądra komórek olbrzymich
Table 2. Analysis of giant cells nuclei

Przypadki Cases	Liczba jąder Number of nuclei				Mitozy Mitoses	Zwyrodnienie wodniczkowe Vacuolar degeneration
	1	do 5 to 5	do 10 to 10	do 15 to 15		
1	22	173	20	—	67	141
2	43	22	15	10	41	27
3	28	60	32	3	28	61
4	22	58	48	—	21	51

komórek olbrzymich wynosiły $118,45 \mu \times 62,5 \mu$, $100,0 \mu \times 87, \mu$ i $100,0 \mu \times 75,0 \mu$.

Wyniki badania cytoplazmy — w odniesieniu do ilości analizowanych komórek olbrzymich w pojedynczym przypadku i w całym materiale (ilość i %) zestawiono w tabeli 1.

Strukturę jąder komórek olbrzymich w poszczególnych przypadkach przedstawia tabela 2.

OMÓWIENIE I WNIOSKI

Analiza cech morfologicznych komórki olbrzymiej pierwotnych mięsaków olbrzymiokomórkowych mózgu, rozpoznanych na podstawie preparatów barwionych wyżej podanymi metodami wykazuje:

— Średnia ilość komórek olbrzymich w odniesieniu do 1 pola widzenia wynosi 1,29 przy uwzględnianych powiększeniach. Wyjątkowo spotykano pola, w których wśród utkania nowotworu nie było komórek olbrzymich. Równie rzadko stwierdzano pola, w których ilość komórek olbrzymich przekraczała 2 a nawet 3 komórki. Komórki olbrzymie występują równomiernie w całym utkaniu nowotworu (ryc. 1), nie spostrzegano żadnych charakterystycznych związków pomiędzy komórkami olbrzymimi i innymi elementami utkania guza.

— Średnia wielkość komórki olbrzymiej dla analizowanych 4 przypadków wynosi $46,25 \mu \times 36,25 \mu$. Największe spotkane komórki miały wymiary $118,45 \mu \times 62,5 \mu$, $100,0 \mu \times 87,5 \mu$, $100,0 \mu \times 75,0 \mu$ (ryc. 2 i 3), najmniejsze elementy uznawane za komórki olbrzymie miały wymiary $31,25 \mu \times 31,25 \mu$ i $25,0 \mu \times 25,0 \mu$ (ryc. 4 i 5). Ze względu na charakterystyczną wielkość komórki olbrzymie stanowią znamienne grupę komórek utkania mięsaków mózgu. Ponieważ nie ustalono kryterium, które pozwoliłoby na wyodrębnienie komórki olbrzymiej i mon-strualnej, używamy wspólnego określenia — komórki olbrzymie.

Analizując cytoplazmę komórek olbrzymich stwierdzono, że kwasochłonność występuje w 64,01% badanych komórek (ryc. 2, 3, 6 i 7), zwyrodnienie wodniczkowe spotkano w 34,73% (ryc. 2 i 8), fagocytoza występowała w 58,23% komórek (ryc. 9, 10, 11, 15 i 16). Wodniczki stwierdzane w cytoplazmie komórek olbrzymich zwykle układały się brzeźnie (ryc. 2 i 8). Zdolność do fagocytozy komórek olbrzymich ujawniała się nie tylko w stosunku do komórek drobnych, limfocytopodobnych (ryc. 9, 10, 15), ale dotyczyła również komórek wrzecionowatych (ryc. 11 i 16), a nawet wielokształtnych (ryc. 11 i 17). Zdolność do fagocytozy wykazują w równym stopniu komórki największe (ryc. 9 i 11) i najmniejsze (ryc. 15 i 17).

Analiza jąder komórek olbrzymich wykazuje, że dominują komórki wielojądrzaste (ryc. 8, 12, 13, 14), choć spotyka się komórki olbrzymie jedno- i dwujądrzaste (ryc. 3, 15 i 17). Nie dostrzeżono związku między wielkością komórek a ilością jąder. Jądra ułożone są centralnie (ryc. 6 i 7), bądź brzeźnie w postaci wianuszka (ryc. 1, 2, 8, 12, 13 i 14). Zwyrodnienie wodniczkowe jąder spotykano w komórkach olbrzymich jednojądrzastych (ryc. 3) oraz w komórkach wielojądrzastych (ryc. 12, 13, 15, 16 i 17). Mitozy spotykano w około 1/3 jąder komórek olbrzymich (ryc. 14 i 16).

Diagnostyka śródoperacyjna wymaga szybkiego wykonania preparatów oraz ich właściwej oceny. Wydaje się, że analiza cech komórek olbrzymich, łatwych do stwierdzenia i oceny, w oparciu o podstawowe barwienia histologiczne, może być fraktowana, przy uwzględnieniu innych cech utkania guza, jako jeden z elementów pomagających rozpoznać pierwotne mięsaki olbrzymiokomórkowe mózgu.

Г. Арашкевич, Е. Спыхальски

МОРФОЛОГИЯ ГИГАНТНЫХ КЛЕТОК В ГИГАНТОКЛЕТОЧНЫХ САРКОМАХ МОЗГА

Резюме

Авторы подвергают анализу морфологические свойства гигантной клетки первичной саркомы гигантоклеточной мозга с точки зрения их практического использования в операционной диагностике, основанной на основных окрашиваниях. Среднее количество гигантных клеток по отношению к 1 полю зрения при увеличениях 40×16 составляет 1,29. Средняя величина гигантной клетки (измеренная в одной плоскости с учетом самого длинного и самого короткого измерения) для 4 анализируемых случаев составляет $46,25 \text{ мк} \times 36,25 \text{ мк}$. Самая большая встреченная гигантная клетка имела размер $118,45 \text{ мк} \times 62,5 \text{ мк}$. Ацидофильность цитоплазмы была обнаружена в 64,01% исследованных клеток. Вакуольная дегенерация наблюдалась в 34,73%. Фагоцитоз наблюдается в 58,23%

клеток. Преобладают многоядерные, хотя встречаются и одно- и двухядерные клетки. В ядрах встречались вакуольные дегенерации и митозы; это касается около $\frac{1}{3}$ ядер гигантских клеток.

H. Araszkiwicz, E. Spsychalski

MORPHOLOGY OF GIANT CELLS IN BRAIN
SARCOMA MONSTROCELLULARE

S u m m a r y

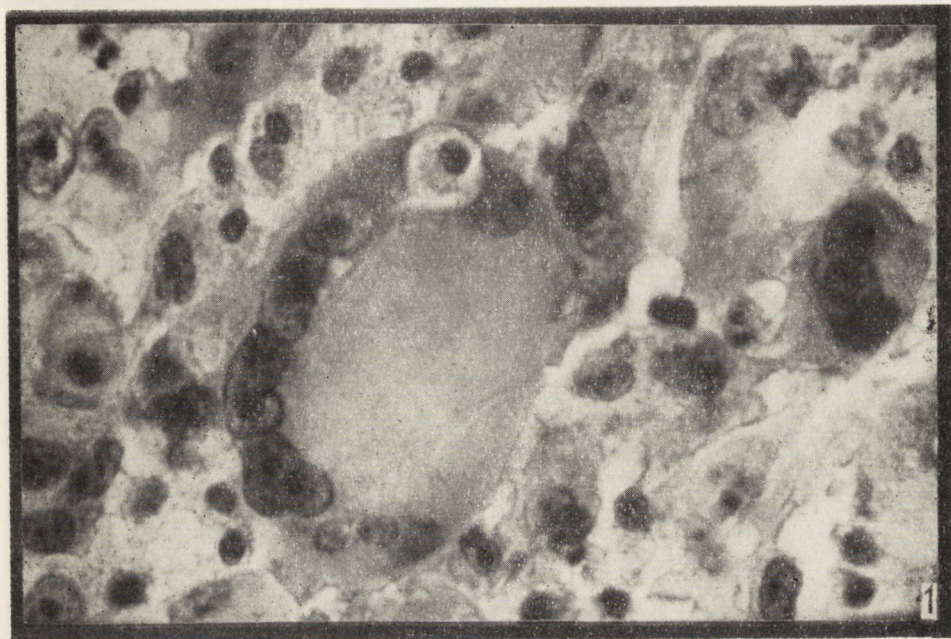
The authors analyse the morphological characteristics of the giant cells of brain sarcoma monstrocellulare. The mean number of giant cells in one field of vision at a 40×16 enlargement is 1.29. The mean size of the giant cell (measured on one plane taking into account the longest and shortest dimension) was in the four cases analysed $46.25 \mu \times 36.25 \mu$. The size of the largest giant cell found was $118.45 \mu \times 62.5 \mu$. The cytoplasm of these cells was eosinophilic in 64.01 per cent of cases. Vacuolar degeneration was noted 34.73 per cent of cells and phagocytosis in 58.23 per cent. Multinuclear cells predominate, although mono- and dinucleate ones may also be found. Vacuolar degeneration occurs in the nuclei as well as mitoses occur in $\frac{1}{3}$ of the giant cell nuclei.

PIŚMIENICTWO

1. Arendt A.: Histologisch diagnostischer Atlas der Geschwülste des Zentralnervensystem und seiner Anhangsgebilde. Veb Gustav Fischer Verlag, Jena 1964.
2. Bartelheimer H., Mauer H. J.: Diagnostik der Geschwulstkrankheiten. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1962, 695—696.
3. Bingas B.: Das monstrocelluläre Sarcome das Gehirns. Arch. für Psych. und Neurolog., 1964, 205, 223—236.
4. Bromowicz J., Kinderman B., Araszkiwicz H.: Mięsaki olbrzymiokomórkowe mózgu. Biul. WAM, 1970, 13, 1, 125—132.
5. Brucher J. M.: Giant cell sarcoma of the brain — Le sarcome monstrocellulaire du cerveau. Acta Neurol. Psychiatr. Belg., 1962, 62, 193—200.
6. Brucher J. M.: The classification and diagnosis of intracranial Sarcomas. Acta Neurochir. Suppl. X, 190, Vienna, Springer, 1964, 190—200.
7. Feigin J. H.; Gross S. W.: Sarcoma arising in glioblastoma of the brain. Am. J. of Pathol., 1955, 31, 633—654.
8. Głowacki J., Selbsse P.: Sur les sarcomes intracebraux a cellules monstrueses. Neurochirurgie, Suppl. 1965, 8, 2, 45—49.
9. Głuszc A.: Morphogenesis and evolution of intracerebral monstrocellular tumors. Neuropat. Pol., 1970 VIII, 1, 5—22.
10. Głuszc A.: Trudności diagnostyczne w morfologicznej ocenie olbrzymiokomórkowych glejaków i mięsaków mózgu. I Konf. Neuropat. Warszawa, marzec 1969.
11. Gruszkiewicz J., Daron Y., Griffel B., Peyser E.: Monstrocellular, sarcoma in a child. Zentralbl. für Neuroch., 1965, 26, 1, 17—22.

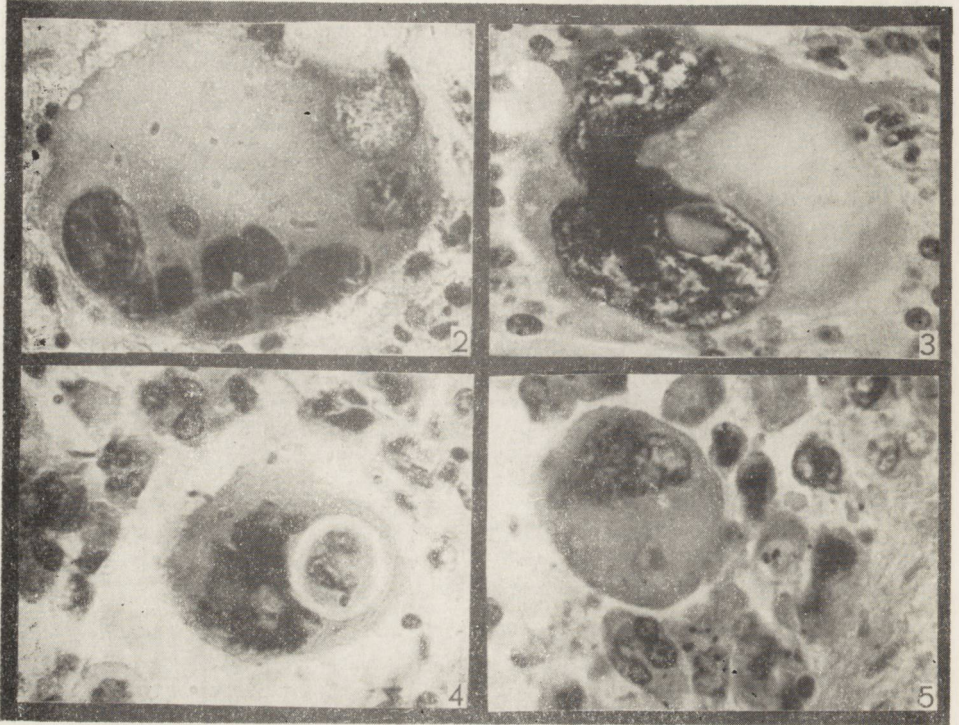
12. Peison B., Voris D.: Primary Sarcoma of the reticuloendothelial system of the brain. *J. of Neurosurg.*, 1965, XXIII, 6, 631—634.
13. Simon E.: Glejakomięsaki. *Neuropat. Pol.*, 1970, VIII, 1, 29—36.
14. Simon E.: Pierwotny mięsak mózgu. *Prace Komisji Med. Dośw. Pozn. Tow. Przyj. Nauk*, 1965, 31, 123—159.
15. Spychalski E., Araszkievicz H.: Przypadek mięsaka olbrzymiokomórkowego mózgu. *Pat. Pol.* (w druku).
16. Wisławski J., Mossakowski M. J.: Pierwotne mięsaki śródmózgowe. *Neuropat. Pol.*, 1964 (II), T II, 87—114.
17. Wisławski J.: Guzy o budowie glejaka wielopostaciowego i mięsaka występujące w jednym obszarze nowotworowym. *Neuropat. Pol.*, 1970, VIII, 1, 23—28.
18. Zühl K. J., Christensen E.: Pathologische Anatomie der Raumbegrenzenden intrakraniellen Prozesse. *Handb. der Neurochir.* Springer Verlag, Berlin 1956, B III, 468—493.

Adres autorów: Klinika Neurochirurgiczna WAM, Łódź, ul. Żeromskiego 113.



Ryc. 1. Utkanie pierwotnego mięsaka olbrzymiokomórkowego mózgu z dominującą w obrazie komórką olbrzymią (wielojądrzastą z wianuszkowatym ułożeniem jąder). H-E. Pow. 450 \times .

Fig. 1. Texture of primary brain monstrocellular sarcoma with giant cell dominating in the picture (multinuclear with wreath-like arrangement of nuclei). H-E. \times 450.



Ryc. 2. Komórka olbrzymia z kwasochłonną cytoplazmą i zwyrodnieniem wodniczkowym oraz brzeżnie ułożonymi jądrami. H-E. Pow. 450 X.

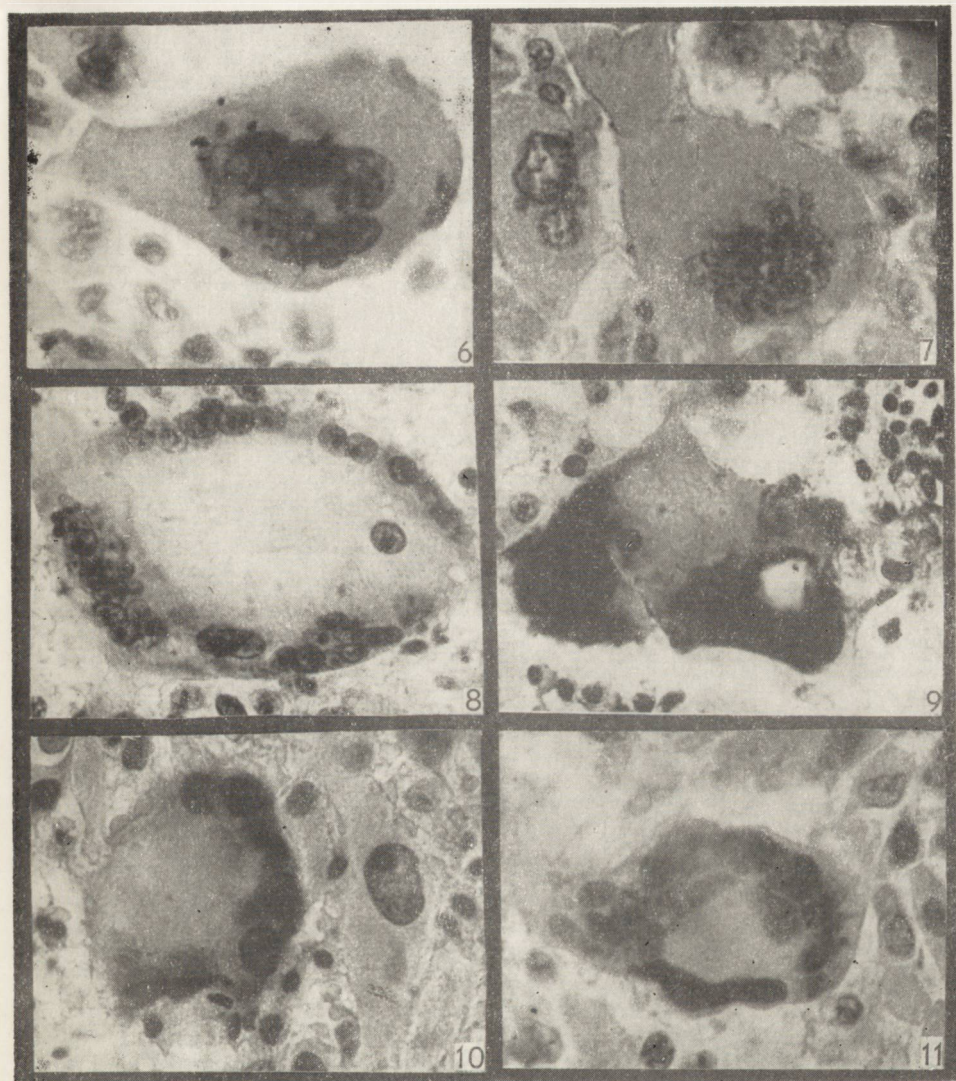
Fig. 2. Giant cell with eosinophilic cytoplasm and vacuolar degeneration and nuclei at the border. H-E. X 450.

Ryc. 3. Komórka olbrzymia z kwasochłonną cytoplazmą, z jednym płatowatym jądrem, w którym występuje zwyrodnienie wodniczkowe. H-E, Pow. 450 X.

Fig. 3. Giant cell with eosinophilic cytoplasm and one lobar nucleus in which vacuolar degeneration is seen. H-E. X 450.

Ryc. 4, 5. Najmniejsze spotykane komórki olbrzymie. H-E. Pow. 450 X.

Fig. 4, 5. The smallest occurring giant cells. H-E. X 450.



Ryc. 6, 7. Komórki olbrzymie z kwasochłonną cytoplazmą i centralnie ułożonym jądrem. H-E. Pow. 450 X.

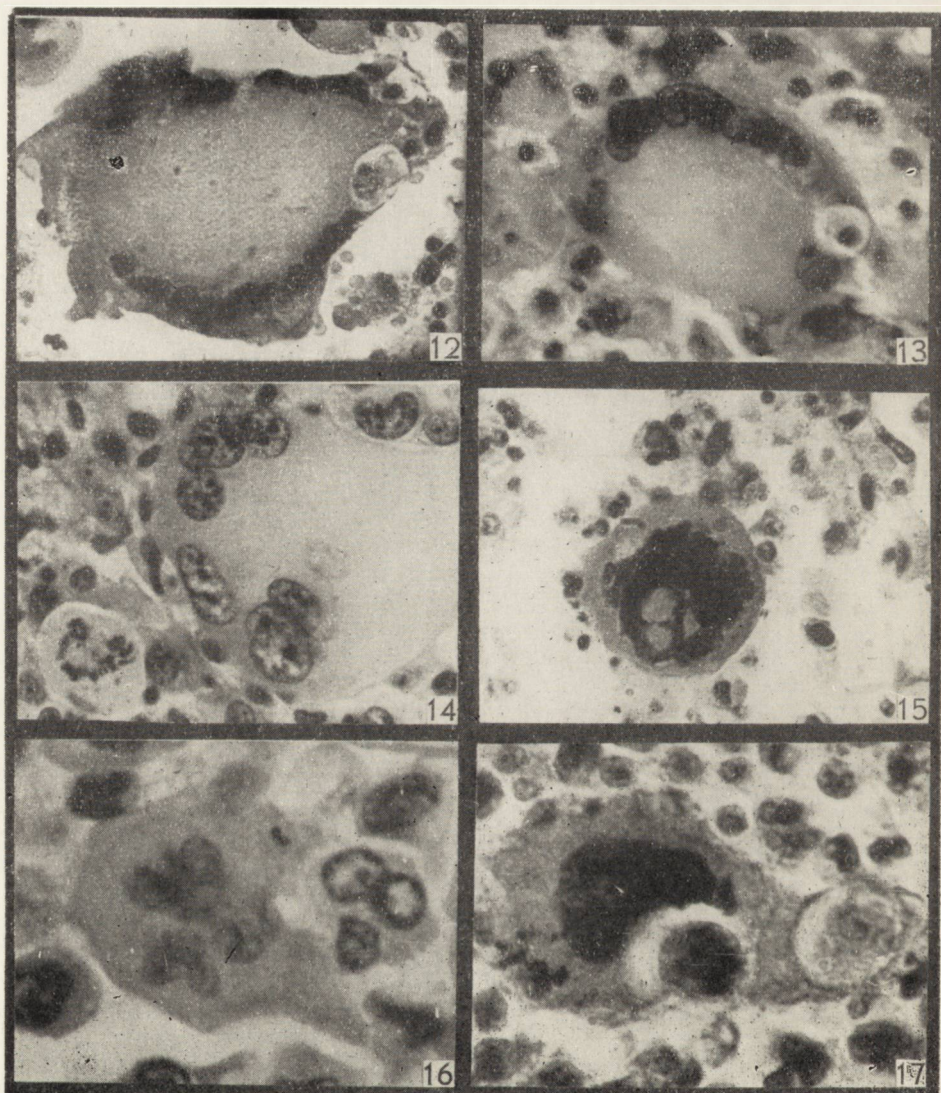
Fig. 6, 7. Giant cells with eosinophilic cytoplasm and centrally situated nucleus. H-E. X 450.

Ryc. 8. Komórka olbrzymia ze zwyrodnieniem wodniczkowym cytoplazmy i wianuszkowato ułożonymi jądrami. H-E. Pow. 450 X.

Fig. 8. Giant cell with vacuolar degeneration of cytoplasm and wreath-like arranged nuclei. H-E. X 450.

Ryc. 9, 10, 11. Komórki olbrzymie z fagocytozą komórek limfoidalnych, wrzecionowatych i wielokształtnych. H-E. Pow. 450 X.

Fig. 9, 10, 11. Giant cells with phagocytosis of lymphoid, spindle and multiform cells. H-E. X 450.



Ryc. 12, 13. Komórki olbrzymie wielojądrzaste z wianuszkowato ułożonymi jądrami i zwyrodnieniem wodniczkowym jąder. H-E. Pow. 450 X.

Fig. 12, 13. Multinuclear giant cells with wreath-like arranged nuclei and vacuolar degeneration of nuclei. H-E. X 450.

Ryc. 14. Komórki olbrzymie wielojądrzaste z mitozami. H-E. Pow. 450 X.

Fig. 14. Multinuclear giant cells with mitoses. H-E. X 450.

Ryc. 15. Komórka olbrzymia jednojądrzasta z fagocytozą, zwyrodnieniem wodniczkowym oraz mitozą w jądrze. H-E. Pow. 450 X.

Fig. 15. Mononuclear giant cell with phagocytosis, vacuolar degeneration and mitosis in nucleus. H-E. X 450.

Ryc. 16. Komórka olbrzymia fagocytująca komórki wrzecionowate, z wyraźną mitozą jądra. H-E. Pow. 450 X.

Fig. 16. Giant cell phagocytosing spindle cells with distinct mitosis in nucleus. H-E. X 450.

Ryc. 17. Komórka olbrzymia fagocytująca komórki wielokształtne. H-E. Pow. 450 X.

Fig. 17. Giant cell phagocytosing multiform cells. H-E. X 450.

HANNA SZYDŁOWSKA, ELŻBIETA JUNIKIEWICZ

MODYFIKACJE NIEKTÓRYCH SPOSOBÓW BARWIENIA
SKŁADNIKÓW MORFOTYCZNYCH PŁYNU
MÓZGOWO-RDZENIOWEGO

Pracownia Neuropatologii Instytutu Neurologii AM, w Krakowie
Kierownik Pracowni: doc. dr med. S. Stefanko

Najpospoliej stosowaną metodą barwienia składników morfotycznych płynu mózgowo rdzeniowego jest obecnie metoda Pappenheima, używana dla różnicowania elementów morfotycznych krwi (Wieczorek 1968) lub jej modyfikacja (Schönenberg wg Sayka 1960).

W miarę rozwoju badań rutynowych metoda ta okazała się niewystarczająca, w związku z czym wprowadziliśmy do codziennej pracy następujące dodatkowe metody:

A) Metodę Pappenheima-Kardosa (Romeis 1948) w celu lepszego różnicowania komórek i ziarnistości zawartych w ich cytoplazmie.

B) Zmodyfikowaną metodę Papanicolaou w celu lepszej obserwacji zjawiska erytrofagii i hyperchromazji jąder.

C) Zmodyfikowaną metodę dla wykrywania hemosydersyny na zasadzie tworzenia się błękitu berlińskiego.

A) METODA PAPPENHEIMA-KARDOSA

1. Na wysuszony osad (po około 3 min. suszeniu na powietrzu) nalać barwnik May-Grünwalda na 2 min.
2. Barwnik rozcieńczyć do połowy wodą i pozostawić na 1 min.
3. Zlać barwnik May-Grünwalda (nie płukać preparatu!) i na preparat na 15 min. nalać roztwór barwnika Giemsa wraz z mieszaniną roztworu oranżu G i zieleni metylowej.
4. Spłukać preparat wodą dest.
5. Wysuszyć i zamknąć w balsamie kanadyjskim, rozpuszczonym w chloroformie lub, lepiej, w żywicy Damara, dobrze startej w moździerzu i rozpuszczonej w chloroformie w stosunku 1:1. (Trwałość zabarwienia preparatów zamkniętych w żywicy Damara jest większa.).

Przygotowanie mieszaniny oranżu G i zieleni metylowej

1. Przygotować 2% roztwór wodny oranżu G i nasycony wodny roztwór zieleni metylowej.
2. Po 24 godz. zmieszać przesączony roztwór oranżu G z taką samą ilością przesączonego roztworu zieleni metylowej. Prawie natychmiast zaczyna wytrącać się ciemny osad. Mieszaninę pozostawić przez 24 godz. aż do całkowitego wytrącenia się osadu.
3. Osad zebrać na sączku, na lejku Büchnera, używając pompy wodnej i wysuszyć w temp. 50° — 60°C.
4. Wysuszony osad rozpuścić w alkoholu metylowym (0,25 g w 100 ml alkoholu).

Przygotowanie roztworu barwiącego

Do 15 ml wody destylowanej dodać 10 kropli barwnika Giemsy i 5 kropli mieszaniny oranżu G z zielenią metylową.

Cytoplazma niektórych komórek nowotworowych barwi się tą metodą niebiesko-zielono. Ziarnistości wewnątrzcytoplazmatyczne, zwłaszcza w makrofagach, barwiące się w metodzie Pappenheima ciemno-niebiesko, w tej metodzie barwią się niebiesko, fioletowo, zielono lub pomarańczowo, zależnie od swego pochodzenia. Melanina (np. w przypadku melanoma) barwi się jaskrawo zielono.

B) METODA PAPANICOLAOU

Jest to metoda rzadko stosowana w barwieniach składników płynu mózgowo-rdzeniowego. Sayk (1960) uważa, że metoda ta nie różnicuje komórek, nawet w jego własnej modyfikacji. Dlatego uznał ją za metodę nie nadającą się do badań osadu płynu mózgowo-rdzeniowego. Przeprowadzone przez nas próby wykazały, że metodą Papanicolaou można uzyskać wystarczająco kontrastowe zróżnicowanie składników morfotycznych płynu mózgowo-rdzeniowego, jeśli użyje się odpowiedniego utrwalacza i przedłuży się czas barwienia zarówno oranżem G, jak i EA₃₆.

1. Wysuszony osad z płynu mózgowo-rdzeniowego utrwaląc przez 10 min. w mieszaninie alkoholu metylowego z alkoholem etylowym absolutnym w stosunku 4:1. Jest to utrwalacz z wyboru, ponieważ mieszanina alkoholu z eterem stosowana w cytologii eksfoliatywnej powoduje, jak się okazało, obkurczenie się komórek. Ponadto tak utrwalone składniki morfotyczne płynu mózgowo-rdzeniowego barwią się wyłącznie oranżem i eozyną. Natomiast po utrwaleniu osadu płynu móz-

gowo-rdzeniowego tylko w alkoholu metylowym, zalecanym jako utrwalacz elementów morfotycznych krwi, otrzymywaliśmy wyłącznie zielone zabarwienie wszystkich składników morfotycznych płynu.

Składniki i proporcje utrwalacza ustaliliśmy doświadczalnie.

2. Po utrwaleniu jeszcze wilgotne preparaty przenieść kolejno do alkoholi: 96%, 80%, 70%, 50%, przetrzymując je w każdym po 1 minucie, zgodnie ze wskazaniami Sayka (2).

3. Z alkoholu 50% preparaty przenieść do wody dest., a następnie na 1—3 min. (dla większości preparatów optimum 2 min.) do hematoksyliny Harrisa (wg Sayka — 5 min.).

4. Opłukać w wodzie dest. i różnicować 1 min. w mieszaninie: 96 ml 70% alkoholu i 3 ml stęż. amoniaku, zgodnie ze wskazówkami Sayka. Różnicowanie w HCl używane w cytologii eksfoliatywnej nie nadaje się do elementów morfotycznych płynu mózgowo-rdzeniowego. Składniki płynu barwią się bowiem wówczas blade i w kolorze zielonym.

5. Krótko opłukać w wodzie dest. i przenieść preparaty na 1 min. do wody dest., do której na 100 ml dodano 3 krople nasyconego wodnego roztworu węglanu litu (jak w oryginalnej metodzie Papanicolaou).

6. Po krótkim opłukaniu w wodzie dest. pozostawić preparaty na 10 min. w wodzie zwykłej.

7. Przeprowadzić preparaty przez alkohole 50%, 70%, 80% i 96% (po 1 min. w każdym) do roztworu oranżu G, w którym pozostają 10 minut.

8. Po krótkim opłukaniu w 2 zmianach alkoholu 96% preparaty przenieść do EA₃₆ na 30 min. Czas barwienia zarówno w oranżu G jak i w EA₃₆ powinno się znacznie wydłużyć, przede wszystkim ze względu na mogące znajdować się w płynie komórki nowotworów glejopochodnych, których cytoplazma barwi się bardzo opornie (Szydłowska 1965a, 1965b).

9. Po krótkim opłukaniu w 2 zmianach alkoholu 96% (po 1 min. każda), a następnie w 2 zmianach alkoholu absolutnego (po 1 min. każda) prześwietlić preparaty w 2 zmianach ksylenu i zamknąć je w balsamie kanadyjskim.

W wyniku takiego postępowania krwinki czerwone barwią się w większości przypadków silnie pomarańczowo, co szczególnie ułatwia obserwowanie zjawiska erytrofagii. Cytoplazma makrofagów zawierających krwinki jest zielona. W niektórych przypadkach jednakże oprócz zielonych makrofagów występują również makrofagi zabarwione szaro-różowo lub różowo, podobnie jak limfocyty i monocyty, które w tym

samym przypadku mogą być barwy zielonej, szaro-różowej lub ciemno-różowej. Granulocyty obojętnochłonne barwią się natomiast zawsze zielono. Ziarnistości granulocytów kwasochłonnych są zawsze pomarańczowe.

Trudno wyjaśnić nam w chwili obecnej dlaczego niektóre elementy morfotyczne płynu barwią się odmiennie w różnych przypadkach chorobowych.

C) WYKRYWANIE HEMOSYDERYNY

W przypadku starych krwotoków mózgowych szczególnie przydatna jest metoda wykrywająca hemosyderynę, oparta na zasadzie tworzenia się błękitu berlińskiego.

1. Wyszuszony osad utrwalić tak, jak w metodzie Papanicolaou, w mieszaninie 4 części alkoholu metylowego i 1 części alkoholu etylowego absolutnego przez 10 min.

2. Wilgotne preparaty przeprowadzić przez alkohole 96%, 80%, 70% i 50% do wody (po 1 min. w każdym), po czym przenieść je z wody do świeżo sporządzonej mieszaniny równych części 2% roztworu wodnego żelazocjanku potasu i 1% HCl na 30 min. w temp. pokojowej.

3. Płukać preparaty w wodzie dest. i przenieść je na 1 min. do wody dest, do której na 100 ml dodano 3 krople nasyconego wodnego roztworu węglanu litu.

4. Płukać preparaty w wodzie bieżącej przez 10 min. i przenieść je do wodnego roztworu karminu alunowego (sporządzonego wg Mayera) na 20 min. (Romeis 1948).

5. Opłukać preparaty w wodzie bieżącej i po dokładnym wysuszeniu zamknąć je w balsamie kanadyjskim, rozpuszczonym w chloroformie.

Podbarwianie preparatów eozyną, zalecane przez Sayka daje mało wyraźny obraz komórek. Karmin alunowy, sporządzony wg Mayera barwi zarówno jądra jak i cytoplazmę komórek, co pozwala na umiejscowienie złogów hemosyderyny. Jednakże warunkiem takiego zabarwienia jest zobojętnienie preparatów, przebywających dość długo w silnie kwaśnym roztworze żelazocjanku potasu. Dlatego też wprowadziliśmy przed barwieniem karminem alunowym traktowanie preparatów rozcieńczonym węglanem litu, podobnie jak w metodzie Papanicolaou.

Opisane metody okazały się w diagnostyce cytologicznej pomocne w różnicowaniu elementów morfotycznych płynu i w ocenie krwotoku, szczególnie zaś w różnicowaniu między artefaktem a krwotokiem przyżyciowym.

Г. Шидловска, Е. Юникевич

МОДИФИКАЦИЯ НЕКОТОРЫХ СПОСОБОВ ОКРАШИВАНИЯ
МОРФОТИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ

Резюме

В работе представлены методы Палленгейма, Папаниколау и метод обнаружения гемосидерина, приспособленные для окрашивания морфотических элементов спинномозговой жидкости. Изменения введенные в эти методы позволяют лучше дифференцировать клетки и зернистости, содержащиеся в их цитоплазме, облегчают наблюдение эритрофагии и гиперхромазии ядер, а также имеют особенное значение в дифференцировке прижизненных кровотечений и артефактов.

H. Szydłowska, E. Junikiewicz

MODIFICATION OF SOME HISTOLOGICAL TECHNIQUES USED FOR
STAINING OF CELLULAR ELEMENTS OF CEREBRO-SPINAL FLUID

S u m m a r y

The authors describe Pappenheim, Papanicolaou methods and that for demonstration of haemossiderine in their own modification for staining cellular elements of cerebro-spinal fluid.

The changes introduced by authors modifying original methods permit better differentiation of cells and granules, occurring in their cytoplasm and easier observation of erythrophagia and hyperchromasia of cellular nuclei. They are of a special use in differentiation of supravital haemorrhages and artefacts.

PIŚMIENICTWO

1. Romeis B.: Mikroskopische Technik. R. Oldenbourg, München 1948.
2. Sayk J.: Cytologie der Cerebrospinalflüssigkeit. G. Fischer Verl., Jena 1960.
3. Schonenberg H., Sayk J.: cyt. wg Sayka 1960.
4. Szydłowska H.: Zastosowanie metody Papanicolaou w barwieniu niektórych guzów ośrodkowego układu nerwowego. Neuropat. Pol., 1965, III, 125 — 130.
5. Szydłowska H.: Znaczenie polichromów w niektórych badaniach neuropatologicznych. Neuropat. Pol., 1965, III, 381 — 390.
6. Wiczorek V.: Liquorzelluntersuchungen zur Phagozytose im Liquorraum. aus: Zirkumventrikuläre Organe und Liquor. Symp. in Schloss Reinhardsbrunn 13 — 16 Mai, 1968. G. Fischer Verl.

Adres autorek: Pracownia Neuropatologii Instytutu Neurologii AM, Kraków, ul. Botaniczna 3.

T R E Ś Ć:

A. Pronaszko-Kurczyńska, M. J. Mossakowski, M. Ostęda, J. Korthals: Zmiany zawartości glikogenu w mózgu w doświadczalnej ischemii . . .	281
M. Dąbska, M. Liebhardt, Z. Ferens, M. Marciniak: Uszkodzenie układu nerwowego a zakażenie płodu i zmiany w płucach noworodków . . .	297
H. Weinrauder: Właściwości antygenowe dojrzewającego mózgu szczura . . .	307
M. Wender, Z. Adamczewska, J. Dymecki, B. Schmidt-Sidor: A juvenile case of GM ₁ gangliosidosis	323
T. Majdecki, K. Jezierska: Obraz mikroskopowo-elektronowy dziecięcej encefalopatii gąbczastej	333
E. Tarnowska-Dziduszko, M. Filipowicz: Zmiany morfologiczne w ośrodkowym układzie nerwowym w przebiegu choroby Jakoba-Creutzfeldta . . .	343
W. Nyka: Przypadek kiły wrodzonej układu nerwowego o obrazie młodzieńczego porażenia postępującego	353
H. Kroh, G. Szumańska: Aktywność enzymów oddechowych w doświadczalnych nowotworach mózgu myszy	359
H. Araszkiewicz, E. Spsychalski: Morfologia komórek olbrzymich w mięsach olbrzymiokomórkowych mózgu	371
H. Szydłowska, E. Junikiewicz: Modyfikacja niektórych sposobów barwienia składników morfotycznych płynu mózgowo-rdzeniowego	377

СО Д Е Р Ж А Н И Я

А. Пронашко-Курчиньска, М. Я. Моссаковски, М. Остенда, Я. Кортхальс: Изменения содержания гликогена в мозгу в экспериментальной ишемии	281
М. Домбска, М. Либхардт, З. Ференс, М. Марциняк: Повреждение нервной системы и инфекция послета и изменения в легких новорожденных	297
Г. Вейнраудер: Антигеновые свойства созревающего мозга крысы	307
М. Вендер, З. Адамчевска, Я. Дымецки, Б. Шмидт-Сидор: Юношеский случай ганглиозидоза типа GM ₁	323
Т. Майдецки, К. Езерска: Электронно-микроскопические исследования детской губчатой энцефалопатии	333
Е. Тарновска-Дзидушко, М. Филипович: Морфологические изменения в центральной нервной системе в процессе болезни Якоба-Крейтцфельда	343
В. Нька: Случай врожденного сифилиса нервной системы в образе юношеского прогрессирующего паралича	353
Г. Крох, Г. Шуманьска: Активность некоторых дыхательных энзимов в экспериментальных опухолях мозга мышей	359
Г. Арашкевич, Е. Спыхальски: Морфология гигантных клеток в гиганто-клеточных саркомах мозга	371
Г. Шидловска, Е. Юникевич: Модификация некоторых способов окрашивания морфотических элементов спинномозговой жидкости	377

C O N T E N T S

A. Pronaszko-Kurczyńska, M.J. Mossakowski, M. Ostenda, J. Korthals: Changes in brain glycogen content in experimental ischemia	281
M. Dąmbska, M. Liebhardt, Z. Ferens, M. Marciniak: Lesions of nervous system and after-birth infection and changes in the lungs of newborn infants	297
H. Weinrauder: Antigenic properties of the developing rat brain	307
M. Wender, Z. Adamczewska, J. Dymecki, B. Schmidt-Sidor: A juvenile case of GM ₁ gangliosidosis	323
T. Majdecki, K. Jezierska: Electron microscopic picture of the spongy encephalopathy	333
E. Tarnowska-Dziduszko, M. Filipowicz: Morphological changes in central nervous system in the course of the Jakob-Creutzfeldt disease	343
W. Nyka: Case of congenital neurosyphilis with a picture of juvenile progressive paralysis	353
H. Kroh, G. Szumańska: Activity of certain respiratory enzymes in experimental brain tumours in mice	359
H. Araszkiwicz, E. Spsychalski: Morphology of giant cells in brain sarcoma monstrocellulare	371
H. Szydłowska, E. Junikiewicz: Modification of some histological technics used for staining of cellular elements of cerebro-spinal fluid	377

WARUNKI PRENUMERATY

Cena prenumeraty krajowej:

rocznie — 100.—

półrocznie — 50.—

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

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

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

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

Indeks 36910