

egr 2

STOWARZYSZENIE NEUROLOGÓW POLSKICH



p.105
40173

NEUROLOGIA POLSKA

~~J.P. Pisto~~

TOM X

1972

ZESZ. 4

WARSZAWA

NEUROPATHOLOGIA POLSKA

K W A R T A L N I K

Tom X

Październik–Grudzień 1972

Nr 4

KOMITET REDAKCYJNY

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

Przy współpracy

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

REDAKCJA

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

ADRES REDAKCJI

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

Wydawca

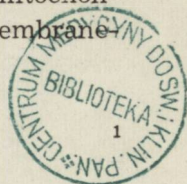
PAŃSTWOWY ZAKŁAD WYDAWNICTW LEKARSKICH

KRYSTYNA DOMAŃSKA-JANIK, DIETMAR BIESOLD

BRAIN HEXOKINASE
EFFECT OF ATP AND LOCALIZATION
IN MITOCHONDRIA

Department of Neurochemistry, Karl-Marx-University, Leipzig

In brain tissue most of the hexokinase is bound to mitochondria (Biesold, Teichgraber 1967, Wilson 1967, Craven et al. 1969). This membrane-bound hexokinase can be solubilized with salts, Triton X-100, ATP and Glucose-6-phosphate (Rose, Warms 1967, Teichgraber, Biesold 1968, Wilson 1968). These compounds remove the enzyme from the membranes to a different extent which results in an increase in activity. From these results it has been concluded that part of the hexokinase is in the latent form (Biesold, Teichgraber 1967, Wilson 1967). Experimental evidence *in vivo* obtained by Gumaa and McLean (1969) on ascites tumour cells, where hexokinase is also partly bound to mitochondria suggests that there exists an equilibrium between the particle-bound and soluble forms. These assumptions are supported by the results of Rose and Warms (1967) and Wilson (1970) who were able to demonstrate rebinding of hexokinase solubilized by G-6-P and ATP. These two metabolites influence not only the binding of hexokinase to mitochondrial membranes but also the enzyme activity. In order to support the postulated equilibrium of hexokinase between the particle bound and soluble form, the localization of this enzyme within mitochondria has to be considered. The available data in the literature are controversial. Whereas some authors localized hexokinase in the outer part of the inner mitochondrial membrane (Etingof 1969, Vallejo 1970) other workers found it in the outer membrane (Rose, Warms 1967, Kropp 1970, Craven et al. 1969). In this investigation we therefore studied the distribution of the enzyme between inner and outer mitochondrial membranes and investigated the effect of ATP on membrane-bound hexokinase.



MATERIAL AND METHODS

For each experiment 2—4 rats (BD III strain) were used. The brain was removed immediately after decapitation, washed in 0.3 M mannitol containing 0.1 mM EDTA and homogenized in a glass — teflon homogenizer of Aldridge type (clearance 0.25 mm) at 800 rpm, 3 times for 30 sec.

Preparation of the mitochondrial fraction was performed according to Ozawa (1966).

Outer (light) and inner (heavy) brain mitochondrial membrane fractions were prepared according to Sottocasa et al. (1967), after combined swelling-shrinking and sonication.

A 1 ml mitochondrial suspension (about 20 mg of protein), prepared according to Ozawa's method, was diluted with 9 ml of 10 mM Tris-phosphate buffer pH 7.5. The suspension was allowed to stand for 5 min. at 0°C and was then diluted with 3.3 ml of 1.2 M mannitol (pH 7.5), containing 2 mM ATP and 2 mM MgSO₄. After standing a further 5 min. at 0°C, 12 ml of this suspension was subjected to sonic oscillation at the indicated intensities, using a Schoeller-schall Disintegrator, (Hochfrequenz-Röhrengenerator, Typ USIG 750 LF and Ultraschall-Geber, Typ KL 600). The suspension thus prepared was centrifuged at 10 000 × g for 15 min. The pellet was resuspended in 2 ml of 0.3 M mannitol to give the heavy fraction.

The supernatant was collected and centrifuged at 100 000 × g for 1 hr, and the light fraction (resuspended in 1 ml) and the supernatant were obtained.

In some experiments the light fraction was resuspended in 0.25 ml of 0.3 M mannitol, layered on the top of a continuous sucrose gradient (0.75—1.2 M) and centrifuged for 16 hr at 100 000 × g. The linearity of the gradient was checked refractometrically. The different bands obtained from this procedure were isolated with the aid of a tube cutter, and assayed directly for enzyme activity.

The solubilization of hexokinase by ATP. The mitochondrial fraction obtained by Ozawa's method was subjected to three and five successive 15 min. incubations, respectively at 0°C in the following medium: 0.3 M mannitol; 0.1 mM EDTA; 25 mM ATP — pH 7.5 and mitochondria at concentration about 1 mg protein/ml. After each incubation step, the suspension was centrifuged at 6 000 × g for 9 min., and the activity was measured in the supernatant and pellet. The activity was also measured after the addition of Triton X-100 (final concentration 0.5% w/v).

Cytochrome-c-oxidase activity was estimated according to the method of Hess and Pope (1953). Rate of oxidation of the cytochrome-c was followed spectrophotometrically at 546 nm on an Eppendorf spectrophotometer with an automatic recorder. The measurements were carried out at 25°C with a light path of 1 cm.

Hexokinase activity was measured by the enzymatic method of Bennet et al. (1962). The rate of reduction of NADP was estimated using Eppendorf spectrophotometer at 366 nm with a light path of 1 cm, at 25°C.

Estimation of NADH (rotenone insensitive) — and NADPH-cytochrome-c-reductase. The activity was measured spectrophotometrically (Eppendorf spectrophotometer) at 25°C, by following the reduction of cytochrome-c at 546 nm, according to the method given by Sottocasa et al. (1967).

In all cases the enzyme preparation was diluted to give a linear change in extinction during the first 3 min. of estimation.

Monoamino-oxidase activity was estimated according to the method McCaman et al. (1965), with C¹⁴ serotonin as a substrate.

Estimation of protein was carried out with the use of Folin-Ciocalteu method as modified by Rieder (1959), using bovine serum albumin as a standard.

RESULTS

Brain mitochondrial fractions isolated according to the procedure given in the methods, contain 18% of the cytochrome-c-oxidase activity and 10% of the hexokinase activity present in the homogenate. The average of the specific hexokinase activity is 5.5 (3.7—9.0/μmoles glucose consumed/mg protein/hr. After centrifugation at 100 000 × g for 1 hr, 22% of the hexokinase activity of the homogenate was found in the supernatant. These results indicate that with the procedure used in this work, only a small portion of the mitochondria are present in the mitochondrial fraction. According to Ozawa et al. (1966) this method results in a rather pure mitochondrial fraction, which is supported by the electron microscopic investigations of preparations. From Fig. 1 it can be seen that the original mitochondrial fraction contains only small amounts of other particles.

In the experiments of Table 1 the effect of ATP on membrane bound hexokinase was studied. After incubation of aliquots of the mitochondrial fractions with 25 mM ATP under given conditions, 103% and 106% of the original mitochondrial fraction was present in the supernatant,

Table 1. Solubilisation of hexokinase by ATP
 Tabela 1. Uwolnienie heksokinazy z mitochondriów przez ATP

No. of extraction by ATP Liczba ekstrakcji z ATP	Hexokinase activ. in the pellet (-Triton X-100) Aktyw. heksokinazy w osadzie (-Triton X-100)	Hexokinase activ. in the pellet (+Triton X-100) Aktyw. heksokinazy w osadzie (+Triton X-100)	Hexokinase activ. of supernatant Aktyw. heksokinazy w nadsączu
M ₀ — primary mitochond. fraction M ₀ — frakcja pierwotna mitochond.	38,5	71.6	—
1	18.2	39.0	40.0
2	15.4	36.7	2.6
3	14.2	35.7	2.1
4	18.4	34.6	0.8
5	17.0	33.0	0

Mitochondrial fraction suspended in 0.3 M mannitol containing 0.1 mM EDTA (about 2.5 mg mitochondrial protein/ml) were incubated successively with ATP as given in the methods. The hexokinase activity is expressed as μ moles glucose utilized/g wt. weight/hr. Triton X-100 was added to give a final concentration of 0.5 g % w/v.

while 48% remained at the mitochondrial membranes. These results would indicate that besides exerting a solubilizing effect, ATP also influences enzyme activity. The activity increases from 38.5 and 35.0 μ moles glucose consumed/g wt weight/hr respectively in the original mitochondrial fraction to 58.2 in the supernatant + pellet. This represents an increase in activity of 50%. From the values obtained after repeated extractions with ATP it can be seen that the major part of hexokinase is solubilized during the first incubation. The increase observed after incubation with ATP does not reach the values obtained after incubation with Triton X-100 (at a final concentration of 0.5 g% (w/v). Under these conditions hexokinase activity is increased by a factor of 2.

In some experiments we investigated the effect of incubation with Triton X-100 on hexokinase activity solubilized by ATP. Under the condition used in this work, Triton X-100 had no effect on hexokinase activity. In the following series of experiments, the conditions were investigated, under which all hexokinase activity can be removed from

the mitochondrial membranes by ATP. Rose and Warms (1967) working with tumour tissue have reported an increasing ATP solubilization of hexokinase with increasing pH. We therefore studied the solubilization of hexokinase by ATP in the pH range 7.0—8.5. Values obtained at the two extremes of pH investigated were 44% and 52% respectively; intermediate values, however, showed some deviation which would indicate an average solubilization of 50% at all pH values in the above range.

The effect of hypo-osmotic shock prior to the incubation with ATP is illustrated in Table 2.

Table 2. Solubilisation of hexokinase by ATP after osmotic shock

Tabela 2. Uwolnienie heksokinazy z mitochondriów przez ATP po zastosowaniu szoku hipoosmotycznego

	Pellet Osad	Supernatant Nadsącze
Primary mitochondrial fraction Frakcja mitochondrialna pierwotna	35.2	
Extraction with 25 mM ATP Ekstrakcja z 25 mM ATP		29.4
Hypoosmotic shock Szok hipoosmotyczny		8.0
First extraction with 25 mM ATP Pierwsza ekstrakcja z 25 mM ATP		64.0
Second extraction with 25 mM ATP Druga ekstrakcja z 25 mM ATP		13.8
Third extraction with 25 mM ATP Trzecia ekstrakcja z 25 mM ATP		2.8
Mitochondrial fraction after hypoosmotic shock and three extractions with 25 mM ATP Frakcja mitochondrialna po zastosowaniu szoku hipoosmotycznego i trzech ekstrakcji z 25 mM ATP	none detectable	none detectable

Mitochondrial fraction suspended in 0.3 mannitol containing 0.1 mM EDTA was incubated with ATP as given in the methods. Hypoosmotic shock was applied to the mitochondrial suspension by dilution of the mitochondrial fraction with distilled water to a final concentration of 0.03 M mannitol. After incubation with ATP and application of hypoosmotic shock the suspensions were centrifuged at $6\,000 \times g$ for 9 minutes. Hexokinase activity is given as μ moles glucose utilized/g wet weight/hr.

Hypo-osmotic shock alone was found to remove only 23% of the hexokinase activity from the pellet. This activity derives not only from mitochondria but also from the disrupted synaptosomes.

The results show the same trend as the previous ones obtained in this laboratory, where incubation of brain homogenate in distilled water was found to produce only a slight increase in the hexokinase activity of the supernatant (Leonard, Biesold).

Hypo-osmotic shock followed by 3 successive incubation periods with ATP solubilized all hexokinase activity as compared with the activity estimated in the original mitochondrial fraction in the presence of Triton X-100 (79.3 μ mole glucose consumed/g wet weight/hr). In comparison with the activity observed in the original mitochondrial fraction hypo-osmotic shock and incubation with ATP gives an 2.3 fold increase in activity.

Table 3. Comprison of NADPH-cyt. C-reductase and RIDCR activity in rat brain mitochondria and microsomes

Tabela 3. Aktywność NADPH cytochrom C reduktazy i RIDCR w frakcji mitochondrialnej i mikrosomalnej mózgu szczura

Enzyme	Spec. activity of microsomes Aktyw. specyf. mikrosomów	Spec. activity of mitochondria Aktyw. specyf. mitochondriów
RIDCR	330	170
NADPH-cyt. C reductase	51	0

Mitochondrial fraction was isolated as given in the methods. The supernatant of the 10 000 \times g centrifugation step was recentrifuged at 100 000 \times g for 1 hr and the resulting pellet resuspended in 0.3 M mannitol containing 0.1 mM EDTA represent the microsomal fraction. Enzyme activity given as ΔE /mg protein/min. $\times 10^3$.

The isolation of heavy and light submitochondrial fractions was attempted according to the method published by Sottocasa et al. (1967) Cytochrome-c-oxidase served as a marker of the mitochondrial inner membranes. Experimental evidence concerning different enzymes as markers for mitochondrial outer membranes are conflicting. As discussed in detail by Craven et al. (1969), the localization of RIDCR and MAO have been questioned. However, they concluded from their results, that in case of brain mitochondrial preparations with low microsomal contamination, RIDCR can be used as marker for outer membranes. The procedure introduced by Ozawa et al. (1966) for the isolation of brain mitochondria minimizes the microsomal contamination by removing the fluffy layer and by isolation the mitochondrial fraction at somewhat lower values. According to the results given in Table 3 the microsomal contamination of the mitochondrial fraction is rather low as seen from

the distribution of NADPH cytochrome-c-reductase, which has been recommended as a microsomal marker (Phillips, Langton 1962). These results are in agreement with the findings of Craven et al. (1969).

In Fig. 2 the results of experiments are given in which the effect of sonication intensity on enzymes distribution was studied. Under all the conditions used, cytochrome-c-oxidase activity contaminated the light fraction. By increasing the sonication intensity more protein appears in the light fraction. However, the relative specific activity of cytochrome-c-oxidase also increases, indicating that more of this enzyme is transferred to the light fraction than protein. At 0.4 Amp for 3×15 sec. most of the cytochrome-c-oxidase activity appears in the light fraction. This result would indicate that many of the mitochondria are disrupted. In comparison to cytochrome-c-oxidase the relative specific activity of RIDCR in the light fraction is higher under all the conditions applied.

At 0.4 Amp for 15 sec. the relative specific activity of RIDCR in the light fraction is higher than in the heavy fraction. The MAO followed this distribution pattern of the RIDCR very closely. However, as indicated above, under these conditions the light fraction is contaminated with inner membrane fragments. The correlation between sonication intensity and hexokinase distribution is similar to those of RIDCR and MAO. In the following experiments we applied sonication at 0.4 Amp for 15 sec. The results of these experiments are given in Table 4.

Under these conditions, 20% of hexokinase activity becomes solubilized. The activity of RIDCR, MAO and hexokinase is higher in the light fraction. The higher specific activity of the fraction seems to indicate a localization in the particles isolated under these conditions. Cytochrome-c-oxidase activity and specific activity is higher in the heavy fraction.

These results suggested that the light fraction is contaminated with inner membrane fragments. We therefore tried to separate these different membrane components by isopycnic gradient centrifugation. The best separation was achieved in the sucrose gradient from 0.75 to 1.20 M. After centrifugation at $100\,000 \times g$ for 16 hr we observed two sharp bands at 0.94 M and 1.00 M respectively. Some material remained at the top of the gradient and a further band of lower particle concentration was visible at 1.14 M sucrose. The results of this experiment are presented in Fig. 3 A. In Fig. 3 B the distribution of cytochrome-c-oxidase and hexokinase are given. From the relative specific activities it may be concluded, that no separation of these two enzymes is achieved. However, the cytochrome-c-oxidase shows a wider distribution than hexokinase.

Table 4. Distribution of enzyme in the mitochondrial subfractions isolated after sonication at 0.4 Amp for 15 sec.
 Tabela 4. Rozkład aktywności enzymatycznych w subfrakcjach mitochondrialnych otrzymanych przez zastosowanie ultradźwięków o natężeniu 0,4 Amp przez 15 sek.

Fraction	No.	Cyt. C-oxidase		RIDCR		Hexokinase		MAO		Protein Total
		Act.	Spec. Act.	Act.	Spec. Act.	Act.	Spec. Act.	Act.	Spec. Act.	
Mitochondrial after sonication	1	400.0	24.5	4.0	0.24	187	11.4	3340	181	16.4
	2	400.0	21.6	4.5	0.24	180	9.9	—	—	18.4
Heavy	1	262.5	53.0	1.4	0.28	41	8.25	1084	178	4.95
	2	225.0	37.0	1.6	0.26	48	7.8	—	—	6.1
Light	1	137.5	27.0	2.25	0.44	87	17.2	1784	343	5.1
	2	100.0	19.0	2.80	0.54	102	19.6	—	—	5.2
Supernatant	1	—	—	0.2	0.02	37	4.6	140	16	8.1
	2	10.0	1.1	0	0	37	4.2	—	—	8.7
% recovered activity	1	100		96		88.5		90.5		110
	2	84		98		102				109

Isolation of original mitochondrial fraction and subfractions as given in the methods. Activity is given as a total activity of the particle fractions resuspended in the following volumes: mitochondrial fraction—10 ml, heavy fraction—2ml, light fractions—1 ml and supernatant—10 ml.

Cytochrome-C-oxidase : $\Delta E/\text{min}/\text{total volume}$, RIDCR : $\Delta E/\text{min}/\text{total volume}$, hexokinase : $\mu\text{moles glucose utilized hr}/\text{total volume}$, MAO : $\mu\text{mole C}^{14}$ serotonin oxidized/hr/total volume. Specific activity is given per mg protein.

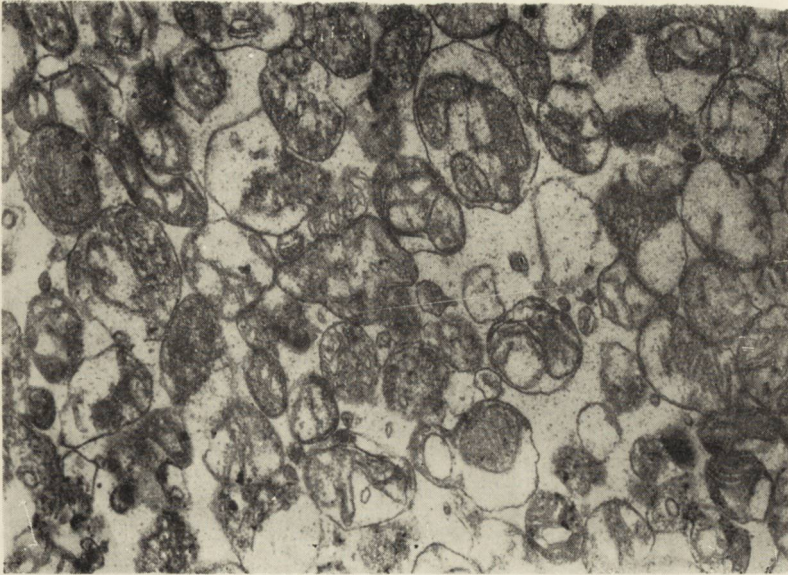


Fig. 1. Electron microscopic photograph of mitochondrial fraction. $\times 37\,500$.

Ryc. 1. Frakcja mitochondrialna. Pow. 37.500 \times .

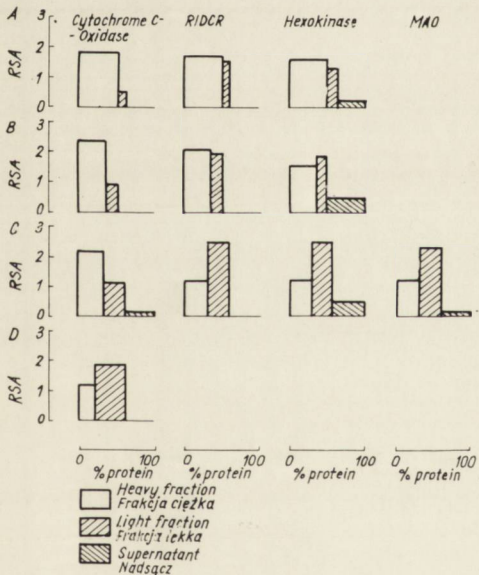


Fig. 2. Effect of sonication intensity on the enzyme activity in sub-mitochondrial fractions of rat brain. Ordinate — relative specific activity of enzymes in heavy fraction, light fraction and supernatant. Abscissa — fractions are represented by their relative protein content. The values are expressed as percentage of the sum of the recovered activities. Intensity of sonication — A : 0.3 Amp for 15 sec. B : 0.3 Amp 3 times 15 sec., C : 0.4 Amp for 15 sec., D : 0.4 Amp 3 times for 15 sec. Isolation of the original mitochondrial fraction and subfractions given in the Methods.

Ryc. 2. Wpływ ultradźwięków o stopniowanym natężeniu na aktywność enzymatyczną frakcji submitochondrialnych mózgu szczura. Rzędna — względna aktywność specyficzna enzymów w frakcji mitochondrialnej ciężkiej, lekkiej oraz w nadsączu. Odcięta — względna zawartość białek w poszczególnych frakcjach. Natężenie ultradźwięków — A : 0,3 Amp \times 15 sek., B : 0,3 Amp 3 \times 15 sek., C : 0,4 Amp \times 15 sek., D : 0,4 Amp 3 \times 15 sek. Metody otrzymywania frakcji mitochondrialnej i kolejnych subfrakcji podano w rozdziale „Materiał i Metody”

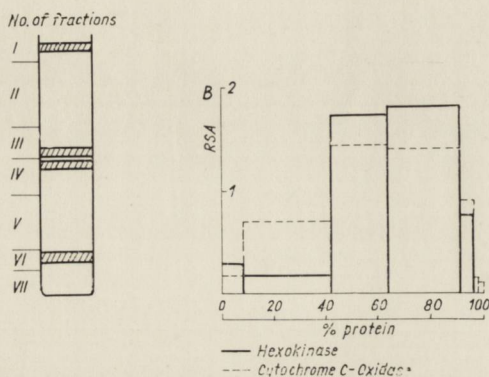


Fig. 3. Distribution of hexokinase and cytochrome-C-oxidase after isopycnic centrifugation of the light fraction on a continuous sucrose gradient. Isolation of the original mitochondrial fraction and the light fraction and the procedure used for the isopycnic density gradient centrifugation were as described in the Method. In A the positions of the particle layers after centrifugation are given. The numbers indicate the isolated fractions. The particle suspensions in these fractions were used for the determinations without further centrifugation. In B the values are given of the relative specific activities of the enzymes. They are presented along the abscissa in the order in which they were isolated after isopycnic sucrose gradient centrifugation and expressed with the relative protein content.

Ryc. 3. Rozkład aktywności heksokinazy i oksydazy cytochromu C w subfrakcjach mitochondrialnych otrzymanych w wyniku wirowania frakcji lekkiej w gradiencie ciągłym cukruzy. Metody izolacji frakcji mitochondrialnej i frakcji lekkiej podano w rozdziale „Materiał i Metody”. A — położenie warstw po rozdzieleniu frakcji lekkiej na gradiencie stężeń cukruzy. B — aktywność enzymatyczna poszczególnych warstw wg kolejności ich otrzymywania na gradiencie cukruzy, przedstawiona w zależności od względnej zawartości białka w poszczególnych frakcjach.

DISCUSSION

Brain mitochondrial preparations in comparison with those of other tissues are heterogenous in respect of subcellular particles present in these. Most of the other particles can be removed with recommended purification procedures, but this influences the functional integrity of the mitochondria. As discussed elsewhere the method for the isolation of brain mitochondria has to be chosen according to the kind of work to be done with this fraction (Biesold 1971).

In this investigation we use the method published by Ozawa et al. (1966) the application of which results in a preparation which is morphologically rather pure. Recently it was also shown that with these preparations the biological functions of brain mitochondria are rather well "preserved" (Łazarewicz, Domańska 1971).

In this work the mitochondrial fraction used contained only a small portion of mitochondria to be found in the homogenate. However, from the hexokinase activity present in the final supernatant, it can be concluded that the distribution pattern of the enzyme is similar to those published elsewhere (Teichgraber, Biesold 1968, Craven et al. 1969, Wilson 1968). According to the results of Bigl et al. (1971) different distribution patterns have to be considered for different parts of the brain. Hexokinase bound to mitochondrial membranes can be solubilized by neutral salts, Triton X-100, glucose-6-phosphate and ATP. Besides the solubilizing effects of these agents which differ from each other, an increase in activity can be observed upon their application. It should be mentioned, however, that there is no correlation between the increase in activity and extent of solubilization.

Furthermore, according to our experience the activation varies under identical condition which is difficult to explain (Biesold, Teichgraber 1968, Wilson 1968).

The idea of different hexokinase pools postulated by Wilson (1968) is not supported by the enzyme kinetics and chromatographic separations of differentially solubilized hexokinase (Bigl 1971). The available experimental data rather suggest the differences in binding to the mitochondrial membranes. Wilson (1968) observed in brain mitochondrial preparation incubated with ATP, a 20—50% activation of this enzyme. Similar results were obtained in ascites tumour cells by Rose and Warms (1967). Our results would also be in agreement with these observation. Repeated extractions with ATP did not noticeably improve the solubilizing effect of this metabolite. However, hypo-osmotic shock prior to the treatment with ATP removed all the hexokinase. Kropp and Wilson (1970) discussed in respect to the membrane-bound hexokinase an overt

and a latent form. This latent form can be activated by all treatments which alter membrane structure. In our studies we observed a solubilization and an activation by treatment with ATP, suggesting that part of the latent hexokinase is also exposed without disruption of the structure. However, if the hexokinase activity remaining bound to the membranes is subjected to Triton X-100, the same percentage of activation is observed as in the original mitochondrial preparation. This does not support the assumption that the overt and latent form of hexokinase are structurally different. The hexokinase activity removed by hypo-osmotic shock alone derives partly from disrupted synaptosomes. However, this treatment might also change the membrane structure so that ATP might remove all the enzymes. Our experimental data do not provide enough information as to what extent mitochondria of the hypo-osmotically treated synaptosomes are accessible to ATP. Nevertheless, we would prefer to conclude that the removal of all the hexokinase by ATP after hypo-osmotic shock is due to liberation of synaptosomal mitochondria.

Solubilized particle-bound hexokinase can also be rebound to membranes (Rose, Warms 1967, Wilson 1968, Kropp, Wilson 1970). The investigations of Gumaa and McLean (1969) suggest that there exists an equilibrium between particle bound and soluble hexokinase. This assumption would be substantiated if hexokinase was bound to the external surface of the mitochondria.

Insofar, none of the methods published for the isolation of inner and outer membrane fractions of liver mitochondria preparation have proved to be successfully applicable to brain mitochondria preparations. Whereas some authors found hexokinase in the outer part of the inner membrane other workers observed this enzyme in the outer membrane fraction (Craven et al. 1969, Vallejo et al. 1970, Kropp, Wilson 1970). In the isolated retinal mitochondria we applied the digitonin method of Schnaitman et al. (1967). Even by increasing the digitonin concentration we were not able to separate the two membrane fractions. From the results published elsewhere we concluded that hexokinase might be mostly bound to the inner membranes (Etingof et al. 1969). Our present results indicate that hexokinase follows the distribution of outer membrane markers. We were able to achieve a reasonable separation of hexokinase, RIDCR and MAO from cytochrome-c-oxidase. However, under all the conditions used, we observed a contamination of the outer membrane fraction with the inner membrane marker. Marks et al. (1970) applied several methods for separation of the inner and outer membranes of purified brain mitochondrial preparation. From these

results it can be seen that the contamination present in the normally used brain mitochondrial fractions is not the only factor involved in the failure to obtain pure inner and outer mitochondrial membrane preparations. As we were not able to separate these different membrane fragments by isopycnic density gradient centrifugation, this could mean either that sonication may break the different membranes into similarly sized fragments or that inner and outer membranes may be partly attached to each other.

Dr K. Domańska-Janik acknowledges a grant from National IBRO Committee of the DDR. The authors wish to express their gratitude to Drs. Teichgraber and Bigl, Mr Muller and Mr Gunther for their help and critical discussions. The help in the electron microscopic investigation of doz. dr. J. Borowicz from the Laboratory of Electron Microscopy, Experimental and Clinical Medical Research Centre is kindly acknowledged. The technical assistance of Mrs Schober is also acknowledged. We are very grateful to Miss Fletcher for help in writing this paper.

K. Domańska-Janik, D. Biesold

HEKSOKINAZA MÓZGU. WPLYW ATP I LOKALIZACJA W MITOCHONDRIACH

Streszczenie

Frację mitochondrialną mózgu szczura, otrzymaną metodą wg Ozawy i posiadającą aktywność heksokinazową, inkubowano z ATP w stężeniu 25 mM. W wyniku inkubacji otrzymano 1,5-krotną aktywację enzymu z jednoczesnym uwolnieniem 2/3 całkowitej heksokinazy do medium inkubacyjnego. Pozostała aktywność enzymu była w dalszym ciągu związana ze strukturą mitochondriów i poddawała się, podobnie jak frakcja pierwotna, 2-krotnej aktywacji pod wpływem detergentów (Triton X-100).

Uwolnienie heksokinazy z błon mitochondrialnych pod wpływem ATP było możliwe jedynie po poddaniu frakcji mitochondrialnej działaniu szoku hiposmotycznego.

W celu określenia lokalizacji heksokinazy w mitochondriach zastosowano metodę sonifikacyjną Sottocasa i wsp. (1967) rozdziału błon mitochondrialnych. Jako markerów błon zewnętrznych użyto NADH-cyt. C reduktazę niewrażliwą na rotenon (RIDCR) oraz monoaminooksydazę (MAO). Znacznikiem błon zewnętrznych była oksydaza cyt. C.

Rozkład aktywności heksokinazy pomiędzy subfrakcjami błonowymi towarzyszy aktywnościom enzymów użytych jako markery błon zewnętrznych.

Dalsze oczyszczanie frakcji błon zewnętrznych przeprowadzano stosując wirowanie w gradiencie stężeń sacharozy (0,75—1,20 M). W otrzymanych subfrakcjach nie udało się rozdzielić aktywności heksokinazy od resztkowej aktywności oksydazy cyt. C. Wyniki te wskazują, że pod wpływem ultradźwięków część błon mitochondrialnych, zarówno zewnętrznych jak i wewnętrznych ulega fragmentaryzacji na cząstki nie dające się rozdzielić przez wirowanie różnicowe.

К. Доманьска-Яник, Д. Безольд

ГЕКСОКИНАЗА МОЗГА.
ВЛИЯНИЕ АТФ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ В МИТОХОНДРИЯХ

Резюме

Полученные по методу Озавы, митохондриальные препараты мозга крыс, обладающие активностью гексокиназы, подвергались инкубации в присутствии 25 мМ АТФ. В этих условиях наблюдается 150% активация фермента, при одновременном переходе $\frac{2}{3}$ энзима с митохондриальных препаратов до инкубационной среды.

Детергенты типа Тритон X-100 вызывали двухкратную активацию оставшейся в митохондриальных препаратах гексокиназы.

Освобождающий эффект АТФ наблюдался только в митохондриях после гипосмотического шока. Разделение митохондриальных мембран проводилось при помощи сонификации по методу Соттосака и сотр. (1967). В качестве показателя наружных мембран митохондрий использовалась активность моноаминоксидазы (МАО) и (NADH₂) цитохром c-редуктазы.

Показателем внутренних мембран была активность цитохрома c-оксидазы.

Исследования показали, что активность гексокиназы есть связана с наружными митохондриальными мембранами.

REFERENCES

1. Bennett E. L., Driori J. B., Rosenzweig M. R., Abraham S.: Hexokinase Activity in Brain. *J. Biol. Chem.*, 1962, 237, 1758—1763.
2. Biesold D.: Isolation of Brain Mitochondria. In: „Methods of Neurochemistry”. Ed. by Marks N. and Rodnight R., Plenum Press, New York 1971 (in press).
3. Biesold D., Teichgraber P.: Activation and Solubilization of Particle-Bound Hexokinase in Rat Brain. *Biochem. J.*, 1967, 103, 13c — 14c.
4. Bigl V., Biesold D., Dovedova E. L., Pigarewa S. D.: Die Hexokinaseaktivität verschiedener Hirnregionen der Katze. *Acta biol. med. germ.*, 1971, 26, 27—33.
5. Bigl V., Muller L., Biesold D.: Some Properties of Soluble and Solubilized Particle-Bound Hexokinase. *J. Neurochem.*, 1971, 18, 721—727.
6. Craven P. A., Goldblatt P. J., Basford R. F.: Brain Hexokinase. The Preparation of Inner and Outer Mitochondrial Membrane. *Biochemistry*, 1969, 8, 3525—3532.
7. Etingof R. N., Biesold D., Teichgraber P., Muller L.: Mitochondrialnaja giekso-kinaza sietczatki. Rozpredielienie, aktiwowanie, elucia. *Biochimia*, 1969, 34, 1034—1042.
8. Gumaa K. A., McLean P.: A Possible Interrelationship between binding of Hexokinase and the site of ATP formation in Krebs. Ascites Cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1969, 36, 771—779.
9. Hess K. H., Pope A.: Ultraspectrophotometric determination of cytochrome oxidase for quantitative histochemistry. *J. Biol. Chem.*, 1953, 204, 295—306.
10. Kropp E. S., Wilson J. E.: Hexokinase Binding Sites on Mitochondrial Membranes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1970, 38, 74—78.

11. Leonard E. B., Biesold D.: Unpublished results.
12. Łazarewicz J., Domańska-Janik K.: Wpływ ischemii na oksydacyjną fosforylację mitochondriów kory mózgu świnki morskiej. *Postępy Astronautyki. Supl.* 1, 1971, 77—82.
13. Marks N., D'Monte B., Bellman C., Lajtha A.: Protein metabolism in cerebral mitochondria. I. Hydrolytic enzymes and amino acid incorporation into mitochondrial membranes. *Brain Res.*, 1970, 18, 309—324.
14. McCaman R. E., McCaman M. W., Hunt J. M., Smith S.: Microdetermination of monoamine oxidase and 5-hydroxytryptophan decarboxylase activities in nervous tissues. *J. Neurochem.*, 1965, 12, 15—23.
15. Ozawa K., Seto K., Takeda H., Ando K., Handa H., Araki C.: On the isolation of mitochondria with high respiratory control from rat brain. *J. Biochem.*, 1966, 59, 501—510.
16. Phillips A. H., Langdon R. G.: Hepatic Triphosphopyridine Nucleotide Cytochrome C Reductase: Isolation, characterization and kinetic studies. *J. Biol. Chem.*, 1962, 237, 2652—2660.
17. Rieder H. P.: Verbesserungen zur Methode der Eiweissbestimmung Mittels Cu(II) und Phenolreagens nach Folin-Ciocalteu. *Clin. Chim. Acta*, 1959, 4, 733—740.
18. Rose I. A., Warms J. V. B.: Mitochondrial Hexokinase. Release, Rebinding and Location. *J. Biol. Chem.*, 1967, 242, 1635—1645.
19. Sottocasa G. L., Knylenstierna Bo., Ernster L., Bergstrand A.: An electron-transport system associated with the outer membrane of liver mitochondria. *J. Cell. Biol.*, 1967, 32, 415—438.
20. Teichgraber P., Biesold D.: Properties of membrane-bound hexokinase in rat brain. *J. Neurochem.*, 1968, 15, 979—989.
21. Teichgraber P., Biesold D., Bigl V.: Eigenschaften, Lokalisation und Funktion der Hexokinase des Hirns. *Wiss. Z. KMU, Leipzig* 1968, 4, 631—641.
22. Wilson J. E.: Brain Hexokinase. A Proposed Relation between Soluble-Particulate Distribution and Activity in Vivo. *J. Biol. Chem.*, 1968, 3640—3647.
23. Vellejo C. G., Marco R., Sebastian J.: The association of brain hexokinase with mitochondrial membranes and its functional implication. *Europ. J. Biochem.*, 1970, 14, 478—485.

Address: dr. K. Domańska-Janik: Experimental and Clinical Medical Research Centre Polish Academy of Sciences, Warszawa, ul. Dworkowa 3.

PAŃSTWOWY ZAKŁAD WYDAWNICTW LEKARSKICH

uprzejmie zawiadamia, że
zmieniona została częstotliwość
ukazywania się niż. wym. czasopism od stycznia 1973 r.

K L I N I K A O C Z N A

z dwumiesięcznika na miesięcznik

cena pojed. egz. 30 zł
prenumerata kwartalna 90 zł
prenumerata półroczna 180 zł
prenumerata roczna 360 zł

K A R D I O L O G I A P O L S K A

z kwartalnika na dwumiesięcznik

cena pojed. egz. 25 zł
prenumerata półroczna 75 zł
prenumerata roczna 150 zł

JÓZEF TARMAS

MORPHOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL STUDIES
ON THE GIANT NEURONS OF THE RETICULAR FORMATION
OF THE SOME LABORATORY MAMMALS

Department of Normal Anatomy, Biological Morphological Institute, Medical
Academy, Białystok
Head: Prof. Dr. J. Tarmas

The giant neurons, greater than the motor neurons of the spinal cord, are of particular interest. They are located only in the reticular gigantocellular nucleus and reticular pontine oral and caudal nuclei, that is the part of the reticular formation considered by several authors to be, in physiological conditions, the more active.

Some authors consider these neurons to be similar to the motor neurons of the spinal cord (Santolaya, Rodriguez 1967), others as reticular neurons or as special nerve cells (Żukowa, Leontowicz 1964).

This paper describes detailed morphological and histochemical investigations on the giant neurons of the reticular formation of the some laboratory mammals, carried out in order to elucidate, at least partially, the significance of those neurons in the reticular formation system.

MATERIAL AND METHODS

The investigations were carried out on ten adult rabbits, ten guinea pigs and ten rats, of both sexes, kept in standard conditions of local environment and diet. The brain stems removed from decollated animals were placed in the cold ethyl alcohol 95°, Carnoy's or Backer's solutions at 4°C. From one half of the material fresh and fixed serial sagittal and transverse sections 7, 10 or 20 μ thick were cut in the freezing microtome and from the other, embedded in paraffin, similar sections were made in the rotatory microtome.

The sections were stained by means of gallocyanin-chromalum solution at pH 1.65, cresyl violet, Feulgen method, Brachet method, PAS according to the Hotchkiss method with diastase control digestion and Gomori's method for acid phosphatase.

RESULTS

The giant neurons of the reticular gigantocellular nucleus, reticular pontine oral and caudal nuclei of the investigated groups of animals are, in order of appearance, multipolar, stellate, fusiforme or oval in shape.

The multipolar nerve cells with the large, clear, centrally located nuclei and large intensely stained and centrally positioned nucleoli and with regular or almost regular diffused minute darkly stained granules or clusters of the basophilic substance in cell body predominate in the picture (Fig. 1).

The nerve cells of a stellate or an oval shape show frequently concentric distribution of the basophilic granules in the cell body and parallel to their long axis in the processes, whereas the neurons of the fusiforme shape demonstrate usually the rows of the basophilic clusters in the cytoplasm, parallel to the long axis of the cell. Some of these neurons have an enlarged darkly stained, centrally or excentrally positioned nucleoli (Fig. 2).

Apart from the above neurons, the neurons with perinuclear accumulation of the basophilic material and frequently enlarged intensely stained nucleolus could be seen.

In some nerve cells with the nucleoli located excentrically or at the nuclear membrane, aggregations of the basophilic granules or clusters in the adjacent zone of the cytoplasm are observed (Fig. 3).

The other neurons reveal considerable irregularity of the distribution of the basophilic material in the neuroplasm, i.e. the accumulation of granules of various sizes or ring and rosette-like clusters in the perinuclear zone. In those nerve cells usually the excentrically located nuclei and nucleoli are noted.

Conversely, the nerve cells with weakly stained nucleoli, with an almost clear perinuclear zone and an accumulation of the basophilic granules in the peripheral zone of the neuroplasm are also found.

A positive Feulgen reaction in the giant neurons is observed in the perinuclear region and in the granules of uneven sizes located at the inner surface of nuclear membrane. It seems that in the neurons with nucleoli positioned excentrically or near the inner surface of the nuclear membrane, larger and giving a more positive reaction for DNA, granules are observed in the vicinity of those cell organelles.

In sections satined by gallocyenin at pH 1.65 or by the Brachet method most of the neurons demonstrate a strong positive reaction on RNA in the nucleoli, particularly in their preripheral zone. This intense reaction usually appears in the centrally located nucleoli. Such phenomena are connected with an intense reaction in the cytoplasm, within the bigger

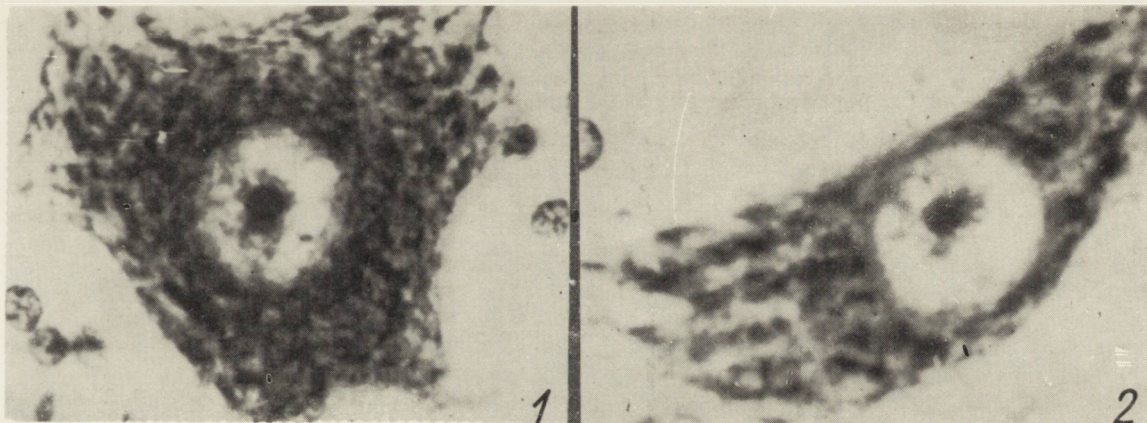


Fig. 1. Neuron from gigantocellular nucleus. Centrally located nucleus and nucleolus. Regularly diffused intracytoplasmic basophilic material. Gallocyenin stain. $\times 1600$.

Ryc. 1. Neuron z jądra siatkowatego olbrzymiokomórkowego. Jądro i jąderko położone centralnie. Regularny układ śródplazmatycznych ziarnistości zasadochłonnych. Gallocjanina. Pow. 1600 \times .

Fig. 2. Neuron of fusiforme shape from reticular pontine oral nucleus. The rows of basophilic granules parallel to long axis of cell. Gallocyenin. $\times 1600$.

Ryc. 2. Neuron o kształcie wrzecionowatym z jądra siatkowatego przedniego. Rzędowy układ ziaren zasadochłonnych, równoległy do osi dłuższej komórki. Gallocjanina. Pow. 1600 \times .

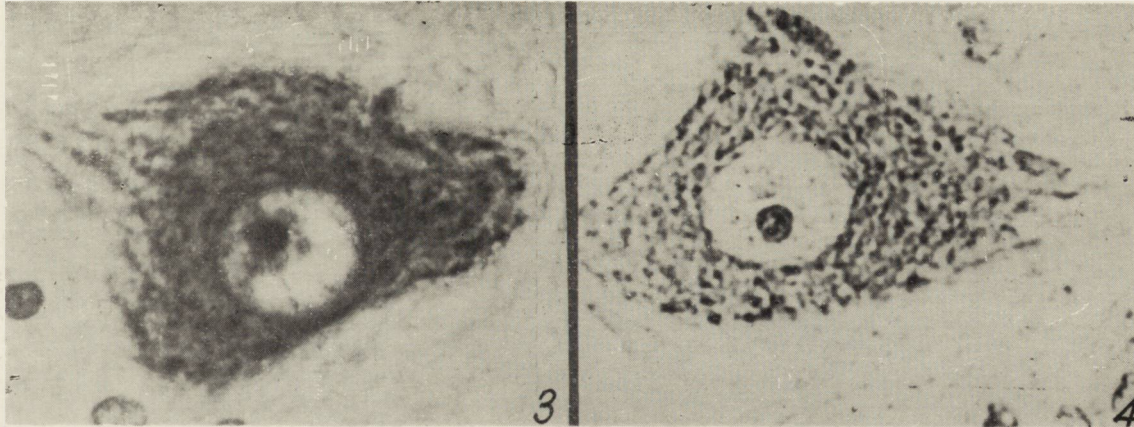


Fig. 3. Neuron from reticular pontine oral nucleus. Eccentrally positioned nucleus and nucleolus and aggregations of basophilic granules in adjacent zone of cytoplasm. Gallocyanin. $\times 1250$.

Ryc. 3. Neuron z jądra siatkowatego przedniego mostu. Jądro i jąderko połączone mimośrodkowo, zagęszczenie ziaren zasadochłonnych w przylegającej części cytoplazmy. Gallocjanina. Pow. 1250 \times .

Fig. 4. Neuron from reticular pontine caudal nucleus of guinea pig. Eccentrally located nucleolus and regularly disseminated small RNA granules in cytoplasm. Brachet stain. $\times 1250$.

Ryc. 4. Neuron z jądra siatkowatego tylnego mostu świnki morskiej. Mimośrodkowo położone jąderko oraz małe ziarna RNA rozproszone regularnie w cytoplazmie. Barw. Bracheta. Pow. 1250 \times .

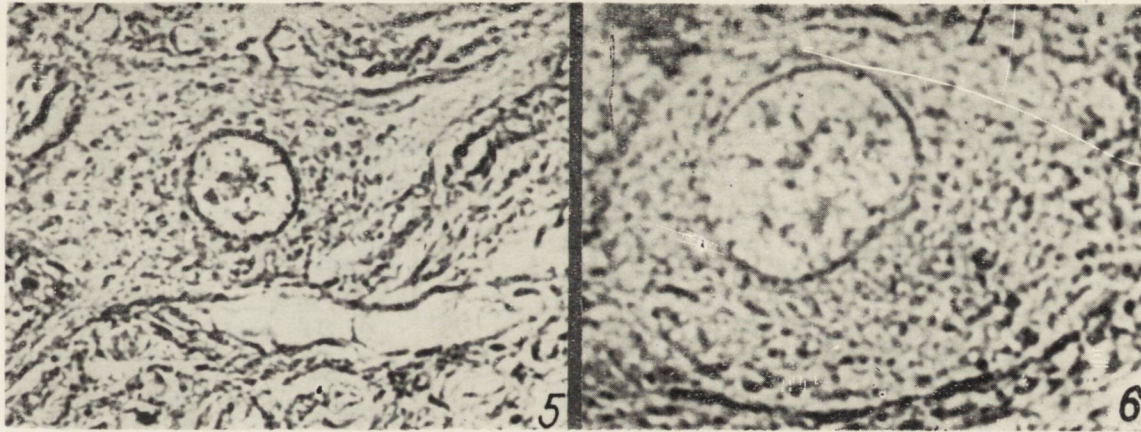


Fig. 5. Neuron from reticular gigantocellular nucleus of rabbit. PAS positive reaction in nucleus and nuclear membrane. Regular dissemination of glycogen granules in cytoplasm. Hotchkiss stain. $\times 1000$.

Ryc. 5. Neuron z jądra siatkowatego olbrzymiokomórkowego królika. Dodatnia reakcja PAS w jądrze i błonie jądrowej. Regularnie rozproszone ziarna glikogenu w cytoplazmie. Barw. Hotchkissa. Pow. 1000 \times .

Fig. 6. Neuron from the same nucleus. Peripheral distribution of glycogen in cell body. PAS reaction. $\times 1250$.

Ryc. 6. Neuron z tego samego jądra. Obwodowe rozmieszczenie glikogenu w cytoplazmie komórki. PAS. Pow. 1250 \times .

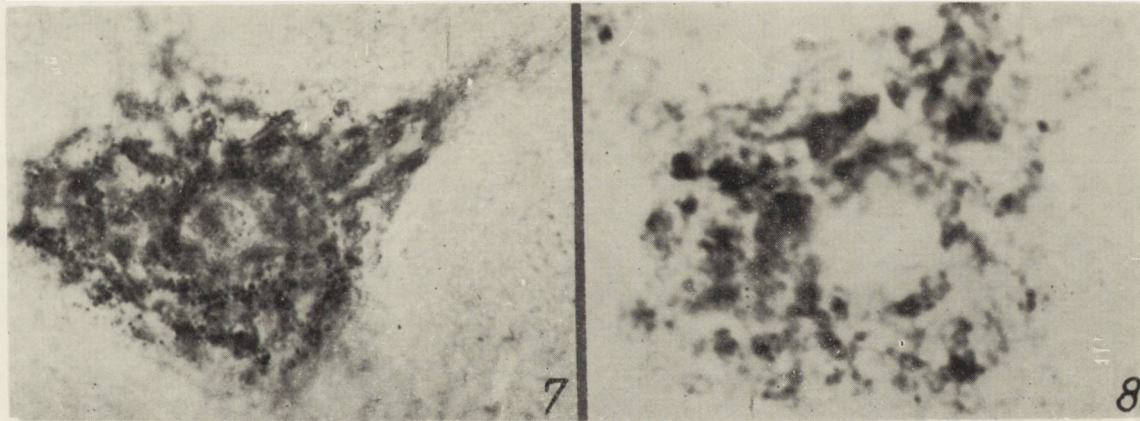


Fig. 7. Neuron from reticular pontine oral nucleus. AcPase positive intranuclear granules and almost regular distribution of positive material in cytoplasm. Gomori met. $\times 1000$.

Ryc. 7. Neuron z jądra siatkowatego przedniego mostu. Wewnątrzjądrowo położone ziarna wykazują dodatnią reakcję na kwaśną fosfatazę oraz prawie regularne rozmieszczenie dodatnich ziarnistości w cytoplazmie. Met. Gomori. Pow. $1000\times$.

Fig. 8. Neuron from the same nucleus. Completely AcPase negative nucleus and nucleolus and irregular aggregations of positive material in cytoplasm. Gomori met. $\times 1250$.

Ryc. 8. Neuron z tego samego jądra. Jądro i jąderko wykazują całkowicie ujemną reakcję na kwaśną fosfatazę, natomiast w cytoplazmie widoczne są nieregularnie rozmieszczone dodatnie ziarnistości. Met. Gomori. Pow. $1250\times$.

granules forming the aggregations and located concentrically to the outline of the nucleus. There are also neurons with small RNA granules distributed regularly throughout the whole cytoplasm (Fig. 4).

In addition to the nerve cells with a regular or almost regular distribution of RNA granules, many neurons show accumulations of the intensely stained granules in the perinuclear zone giving a general impression of a ring or rosette. There are neurons with a peripheral aggregation of RNA granules in the cytoplasm and usually a weaker reaction to RNA in the nucleoli.

The giant neurons of the investigated nuclei demonstrate a weak PAS reaction. A slightly more intense reaction, is observed in the guinea pig nerve cells.

In many of the neurons small regularly distributed, glycogen grains are visible in the whole of the cell body and its processes. In some of neurons, however, aggregations of granules in different regions of the cytoplasm are found i.e. in the perinuclear zone or at one of the poles. A diffuse PAS reaction in the cytoplasm of the giant cells occurs very rarely, however, a small number of glycogen granules in the perinuclear zone and their abundance in the peripheral regions of the cell body and its processes are repeatedly observed (Figs. 5, 6).

A positive Gomori reaction in the cell body and its processes is observed in all giant nerve cells and very many of them reveal also this reaction in the nuclei. Variations similar to those described above are observed as to the distribution of acid phosphatase.

There are numerous neurons with small, perinucleolar acid phosphatase positive granules and with larger granules close to the inner surface of the nuclear membrane and with positive grains or granules stained brown and distributed densely in a regular or almost regular arrangement throughout the whole neuroplasm and its processes (Fig. 7). Among these, several nerve cells with concentrically arranged aggregations of intensely stained acid phosphatase granules in the neuroplasm are found; other cells, however, reveal the same distribution of intracytoplasmic positive material as described above and a completely negative nuclei and nucleoli (Fig. 8).

However, a small number of other neurons demonstrate the irregularity in the distribution of acid phosphatase in the nucleus and cytoplasm. Therefore the neurons with accumulation of acid phosphatase positive granules in the perinuclear zone of the neuroplasm or vice-versa with their peripheral distribution in the cell body and its processes are seen. In the former neurons the nuclei give an intense acid phosphatase reaction whereas only a weak reaction is detectable in the latter.

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

The investigated giant neurons of the reticular gigantocellular nucleus and reticular pontine oral and caudal nuclei of the rabbit, guinea-pig and rat reveal variations in the location of the cell nuclei and nucleoli and differences in the distribution of DNA, RNA, glycogen and acid phosphatase.

Thus at first the problem arises as to whether the mutability of the location of the nuclei and nucleoli readily occurs in the nerve cells of the reticular formation of the investigated animals, which before the sudden death were in a period of rest and what is a significance of it.

The information obtained from studying the nervous tissue of the embryonic chick or newborn rat cultured *in vitro*, indicates that the active rotation of nuclei takes place in the nerve cells. This nuclear rotation in the neuron is interpreted by the authors to manifest a mobility facilitating the exchange of material between the nucleus and cytoplasm in the regenerating nerve cells (Nakai 1956, Pomerat et al. 1967).

As can be seen from the literature describing the morphological and cytochemical properties of the normal nerve cells, the most frequent central, or eccentric location of the cell nucleus depends on the individual region of the brain and spinal cord, or nucleus in which the neuron is placed, and particularly on the size of the neuron. In some brain nuclei, neurons with their cell nuclei located centrally dominate, whereas in the other brain nuclei the cellular nuclei are eccentrically positioned and, on the whole, where the neurons are of a greater size the central location of their nuclei is more frequently observed than in the smaller nerve cells (Birbeck, Mercer 1961, La Velle et al. 1954, Lewinson, Leikina 1961, Sopek 1970, Tarmas, Gałasińska-Pomykoł 1972).

From the published data and our previous investigations on the brain-stem reticular formation it may be concluded that the position of the cell nucleus in the neuron in conjunction with the size and location of the nucleolus and the distribution of the intraplasmic substances such as RNA, glycogen, enzymes are indicative of the metabolic state of the cell (Casperson et al. 1963, Causey, Stratmann 1959, Citoler et al. 1966, Einarson, Krogh 1955, Prescott 1960, Tarmas 1972, Tewari 1964, Van Totter et al. 1951).

The movement of the nucleolus in the cell nucleus has been observed for quite some time, as well as the possibility of the penetration of the nucleolar substance from the nucleolus in to the cytoplasm (Birbeck, Mercer 1961, Kirkpatrick 1968, Lewinson, Leikina 1961, Pomerat et al. 1967).

It is known that in tissue culture cells the nucleolus moves within the nucleus, sometimes coming in contact with the nuclear membrane and at other times moving away from it.

We noted that when the nucleolus lies in the centre of the centrally positioned nucleus, the regular or almost regular dispersions or disseminations of the neuroplasmic basophilic substance, RNA or acid phosphatase granules could be seen. However, at the stage when the nucleolus is clearly eccentric or close to the inner surface of the cell membrane, and particularly when also the nucleus is located eccentrically, the irregularity of the distribution and a variation of the staining intensity of the above mentioned substances in the cytoplasm occurs.

Similar phenomena are almost a rule in the small nerve cells of the normal central nerve system, but not in the greater neurone f.i. of somatic efferent nuclei of the brain-stem.

The autographic studies of nerve cell cultured in vitro demonstrate the movement of the cytoplasmic organelles such as mitochondria, lysosomes, glycogen or lipid granules and other cell particles in the cell body and migration of some of them to the processes (Gabrielescu, Bordeianu 1968, Goldstein, Plaut 1955, Miani 1960, 1962, Nakai 1956, Pomerat et al. 1967, Tabioka, Biesele 1956, Watson 1965).

The pictures obtained of the accumulations of the basophilic materials, glycogen granules or lysosomes in the peripheral zone of the cell body and its processes may be then assumed to represent a fixed state of the migration of those particles and an expression of the metabolic activity of the giant nerve cells.

In the investigations on the cytomorphological and cytochemical pictures of the nerve cells of the animals after the physical effort or stimulation, a similar pattern of the location of the cell organelles or the distribution intracytoplasmic materials was found (Gabrielescu, Bordeianu 1968).

On the base of exact interpretation of above mentioned literature data, all our observations suggest a notable metabolic activity of numerous giant neurons of the reticular gigantocellular and reticular pontine oral and caudal nuclei in a resting state of investigated animals.

These suggestions are in agreement with the results of the investigations of physiologists, that some of the neurons of this region of the brain belong to the most active of the reticular formation system, even when the animal is in a resting state.

J. Tarmas

BADANIA MORFOLOGICZNE I HISTOCHEMICZNE
OLBRZYMICZ NEURONÓW UKŁADU SIATKOWATEGO
NIEKTÓRYCH SSAKÓW LABORATORYJNYCH

Streszczenie

Przeprowadzono badania morfologiczne i cytochemiczne neuronów olbrzymich układu siatkowatego pnia mózgu u dorosłego królika, świnki morskiej i szczura. W komórkach tych stwierdzono zróżnicowanie w lokalizacji jąder i jąderek oraz w rozmieszczeniu substancji zasadochłonnych, DNA, RNA oraz ziaren glikogenu i kwaśnej fosfatazy.

W dyskusji porównano otrzymane wyniki z danymi z piśmiennictwa w celu wyjaśnienia wzajemnych zależności pomiędzy obrazem morfologicznym i cytochemicznym neuronów olbrzymich a ich aktywnością metaboliczną.

Ю. Тармас

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГИГАНТ-
СКИХ НЕЙРОНОВ РЕТИКУЛЯРНОЙ ФОРМАЦИИ НЕКОТОРЫХ
ЛАБОРАТОРНЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Резюме

Проводились морфологические и цитохимические исследования гигантских нейронов ретикулярной формации ствола мозга взрослого кролика, морской свинки и крысы. В этих клетках была обнаружена дифференцирована локализация ядер и ядрышек, а также дифференцированное распределение алкалофильного материала, ДНК, РНК, зерен гликогена и кислой фосфатазы. Полученные результаты сравнивались в обсуждении с литературными данными с целью выяснения взаимных зависимостей между морфологической и цитохимической картиной гигантских нейронов и их метаболической активностью.

REFERENCES

1. Casperson, T., Farber, S., Foley, G. E., Killander, D.: Cytochemical observations on the nucleolus — ribosome system. *Exp. Cell Res.*, 1963, 32, 529—555.
2. Causey, G., Stratmann, C. J.: Changes in the deoxyribonucleic acid content of ganglion cells during chromatolysis. *J. Anat. (London)*, 1959, 93, 341—347.
3. Birbeck, M. S. C., Mercer, E. H.: The cytology of cells which synthesise proteins. *Nature (London)*, 1961, 189, 558—560.
4. Citoler, P., Hempel, K., Schultze, B., Maurer, W.: Autoradiographische Untersuchungen mit zwölf H³ — und fünf C¹⁴ markierten Aminosäuren zur Grösse des nucleären und cytoplasmatischen Eiweissstoffwechsels bei verschiedenen Zellarten von Maus und Ratte. *Z. Zellforsch.*, 1966, 70, 419—448.
5. Einarson, L., Krogh, E.: Variations in the basophilia of nerve cells associated with increased cell activity and functional stress. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 1955, 18, 1—12.

6. Gabrielescu, E., Bordeianu, A.: Histochemical study of the implications of certain nervous tissue hydrolases in effort and exhaustion. *Acta Histochem.*, 1968, 31, 319—329.
7. Goldstein, L., Plaut, W.: Direct evidence for nuclear synthesis of cytoplasmic ribose nucleic acid. *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A.*, 1955, 41, 874—880.
8. Kirkpatrick, J. B.: Chromatolysis in the hypoglossal nucleus of the rat. An electron microscopic analysis. *J. Comp. Neurol.*, 1968, 132, 189—212.
9. La Velle, A., Liu, C. N., La Velle, F. W.: Acid phosphatase activity as related to nucleic acid sites in the nerve cells. *Anat. Rec.*, 1954, 119, 305—323.
10. Lewinson, L. B., Leikina, M. I.: A functional cytochemical study of sensitive and motor cells of the spinal cord of the rat embryo. *Citologia*, 1961, 3, 446—454.
11. Miani, N.: Proximo-distal movement along the axon of protein synthesized in the perikaryon of regenerating neurons. *Nature (London)*, 1960, 185, 541.
12. Miani N.: Evidence of a proximo-distal movement along the axon of phospholipid synthesized in the nerve- cell body. *Nature*, 1962, 193, 887—888.
13. Nakai, J.: Dissociated dorsal root ganglia in tissue culture. *Amer. J. Anat.*, 1956, 99, 81—129.
14. Pomerat, C. M., Hendelman, W. J., Raiborn, Jr., Ch. W., and Massey, J. F.: Dynamic activities of nervous tissue in vitro. In: *The Neuron*. H. Hyden, editor, Elsevier Publish. Comp., Amsterdam, 1967, Ch. 3, p. 119—178.
15. Prescott, D. M.: Nuclear function and nuclear-cytoplasmic interactions. *Ann. Rev. Physiol.*, 1960, 22, 17—44.
16. Santolaya, R. C., Rodriguez, E. M.: The reticular substance of the medulla oblongata of the albino rat. *Histochemistry and ultrastructure of nervous and blood capillaries. Zeitschr. Zellforsch.*, 1967, 79, 537—549.
17. Sopek, M.: Cytoarchitektonika i cytochemia neuronów jądra siatkowatego boczno-rzdenia przedłużonego u królika. *Folia Morphol.*, 1970, 29, 51—66.
18. Tabioka, M., Biesele, J. J.: Mitochondria in living cells: an analysis of movements. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1956, Suppl. 2, 319—324.
19. Tarmas, J.: A study on the intranuclear distribution of acid phosphatase in some nuclei of brain-stem reticular formation of the rabbit and guinea-pig. *Neuropatol Pol.*, 1972, 10, 471—477.
20. Tarmas, J., Gałasińska-Pomykoł, I.: Cytomorfologia i cytochemia neuronów jądra siatkowatego mostu głowowego królika. *Rocz. Akad. Med. Białystok*, 1972, 17, 47—66.
21. Tewari, H. B.: Histochemical studies on the distribution of mitochondria, DNA, RNA, phospholipid and other chemical substances in the cerebellum of rat. *Acta Histochem.*, 1964, 17, 314—342.
22. Van Totter, R., Rechnagel, R. O., Hulbert, R. B.: Intracellular enzyme distribution; interpretations and significance. *Feder. Proc.* 1951, 10, 646—653.
23. Watson, W. E.: An autoradiographic study of the incorporation of nucleic — acid precursors by neurons and glia during nerve regeneration. *J. Physiol. (London)*, 1965, 180, 741—753.
24. Żukowa, G. P., Leontowicz, T. A.: Osobienności neuronowej struktury i topografii retikularnej formacji u chizycznych. *Żurn. Wyższ. Nierw. Diejat.*, 1964, 14, 122—147.

Author's address: Depart. of Normal Anatomy, Biol. Morphol. Institute, Medical Academy, Białystok, ul. Kilińskiego 1.

PAŃSTWOWY ZAKŁAD WYDAWNICTW LEKARSKICH

uprzejmie zawiadamia, że

od stycznia 1973 r. została zmieniona cena ogłoszeń

cała stronica 3750 zł

$\frac{1}{2}$ stronicy 1875 zł

$\frac{1}{4}$ stronicy 940 zł

1 cm² 15 zł

ZUZANNA KRAŚNICKA, KRYSZYNA RENKAWEK

WPŁYW KRÓTKOTRWAŁEJ ANOKSJI
NA OBRAZ MORFOLOGICZNY I HISTOCHEMICZNY
TKANKI GLEJOWEJ HODOWANEJ IN VITRO *

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

W poprzedniej serii prac, poświęconych wpływowi niedotlenienia na tkankę nerwową i glejową w hodowli pozaustrojowej (Kraśnicka i wsp. 1967, Renkawek 1967, Kraśnicka, Renkawek 1969, Kraśnicka i wsp. 1971) wykazano charakterystyczne zmiany morfologiczne i histochemiczne zachodzące w poszczególnych typach komórek glejowych i nerwowych w wyniku przebywania hodowli tkankowej w warunkach niedotlenienia przez różny, zmieniający się przeciąg czasu. Charakter i natężenie stwierdzonych zmian wykazywały istotną zależność od typu komórki, stopnia jej dojrzałości i zróżnicowania, wynikającego z wieku hodowli oraz czasu trwania i stopnia niedotlenienia. Obok szeregu istotnych podobieństw obserwowanych zaburzeń do zmian stwierdzanych w mózгах zwierząt w warunkach doświadczeń nad wpływem niedotlenienia *in vivo*, materiał nasz wykazał również dość istotne różnice. Najdobitniej wyrażały się one brakiem gromadzenia się glikogenu w komórkach glejowych *in vitro*, podczas gdy w doświadczeniach na zwierzętach Mossakowski i wsp. (1968), Ibrahim i wsp. (1970), Mossakowski i Zelman (1970), Pronaszko i wsp. (1971) wykazali gromadzenie się glikogenu w astrocytach jako powtarzalne następstwo niedotlenienia niezależne od jego typu. Klatzo i wsp. (1970) uważają gromadzenie się glikogenu w astrocytach za najczulszy wskaźnik uszkodzeń poanoksyjnych. W interpretacji tego zjawiska wyżej wymienieni autorzy podkreślają rolę obniżonego w następstwie niedotlenienia użytkowania glukozy przez komórki nerwowe i jej gromadzenie się w postaci spolimeryzowanej do glikogenu w astrocytach, mających istotne znaczenie w jej transporcie w ośrodkowym układzie nerwowym (Friede 1954, Oksche 1961). Interpretacja ta mogłaby wyjaśniać brak gromadzenia się glikogenu w gleju

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

w hodowli pozaustrojowej, przy uszkodzonych warunkami doświadczalnymi zależnościach „neuron — komórka glejowa”. Jednakże nie uwzględnia to istotnego elementu różniącego między sobą dwa typy doświadczeń, poza oczywistą różnicą modelu doświadczalnego. We wspomnianych powyżej doświadczeniach na zwierzętach glikogen pojawiał się w następstwie przemijającego niedotlenienia, podczas gdy nasze poprzednie doświadczenia dotyczyły zmian morfologicznych i histoenzymatycznych zachodzących w czasie niedotlenienia.

Skloniło nas to do podjęcia serii nowych doświadczeń, których celem była ocena zmian morfologicznych i histoenzymatycznych zachodzących w gleju w okresie jego dojrzewania i różnicowania *in vitro* w następstwie krótkotrwałej, przemijającej anoksji. Chodziło nam o ustalenie, czy komórka glejowa w hodowli, pozbawiona normalnych zależności układu „neuron-glej” jest zdolna w następstwie niedotlenienia do metabolizowania i gromadzenia glikogenu, podobnie jak to ma miejsce w uformowanej tkance nerwowej.

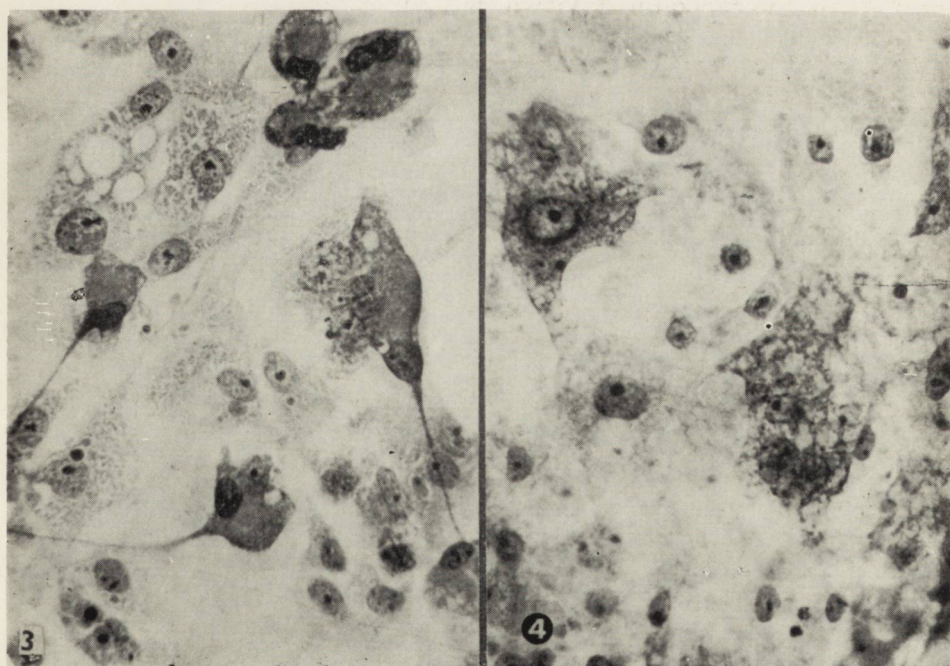
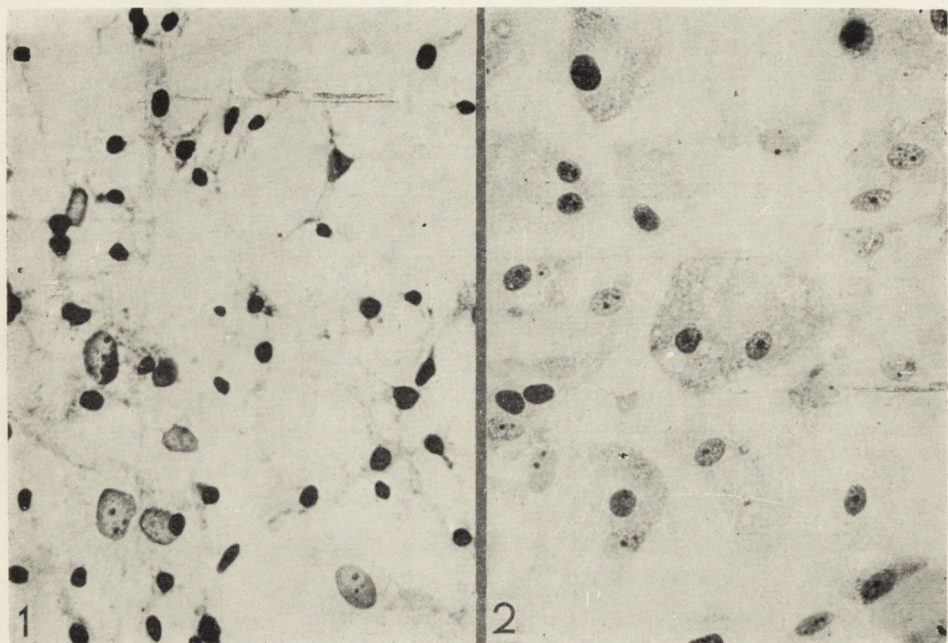
MATERIAŁ I METODA

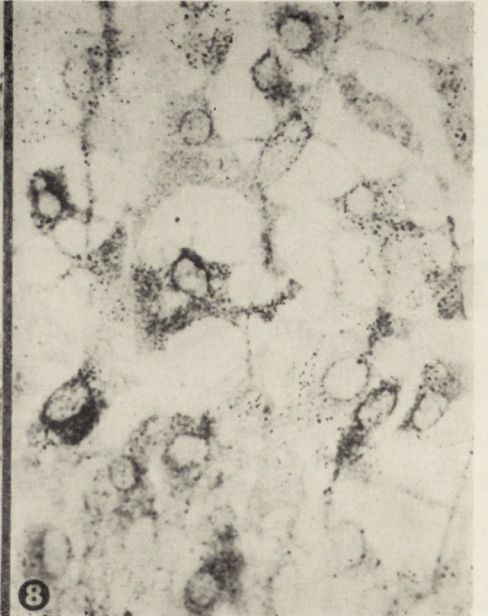
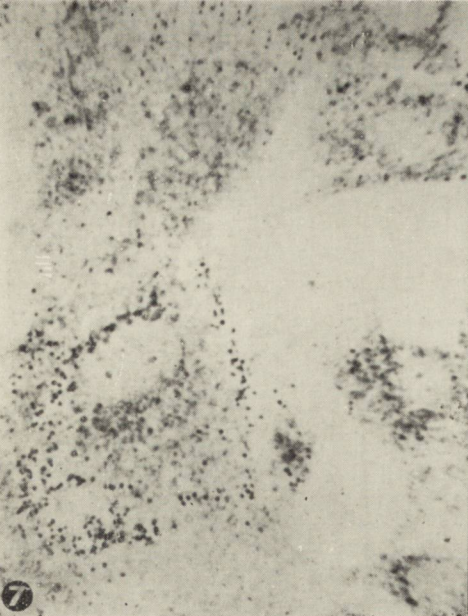
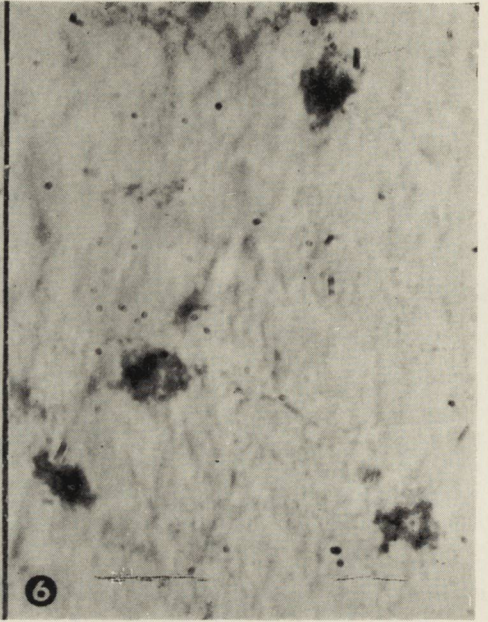
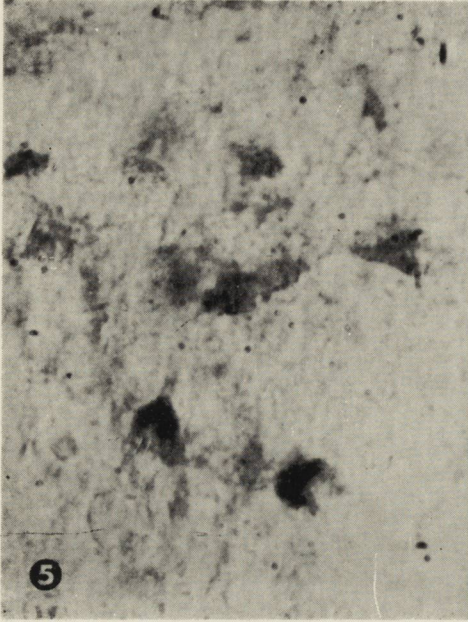
Badania prowadzono na hodowlach tkanki glejowej pochodzącej z mózdków noworodków szczurzych. Hodowle prowadzono we flaszkach Carrela w warunkach standardowych zmieniając medium odżywcze dwa razy w tygodniu. Hodowle w wybranych grupach wieku (7, 14, 21—25 dni) przenoszono do zmodyfikowanych flaszek Carrela służących do przepuszczania mieszaniny gazowej. Hodowle przetrzymywano w atmosferze czystego azotu przez okres 30 i 60 minut. Hodowle po niedotlenieniu przenoszono do typowych flaszek Carrela i przetrzymywano w warunkach standardowych przez okres 1 do 5 dni. Hodowle wszystkich grup doświadczalnych barwiono metodami przeglądowymi: błękitem toluidyny i fioletem krezyłu. Przeprowadzono również reakcje histochemiczne PAS i PAS-dimedon. Ponadto badano aktywność następujących enzymów: dehydrogenazy bursztynianowej (SDH), dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej (G-6-P DH), dedydrogenazy mleczanowej (LDH) oraz fosforylasy i UDPG-G-transferazy (Ph-aza i UDPG-aza), według metod podanych w pracy Kraśnickiej i wsp. (1971).

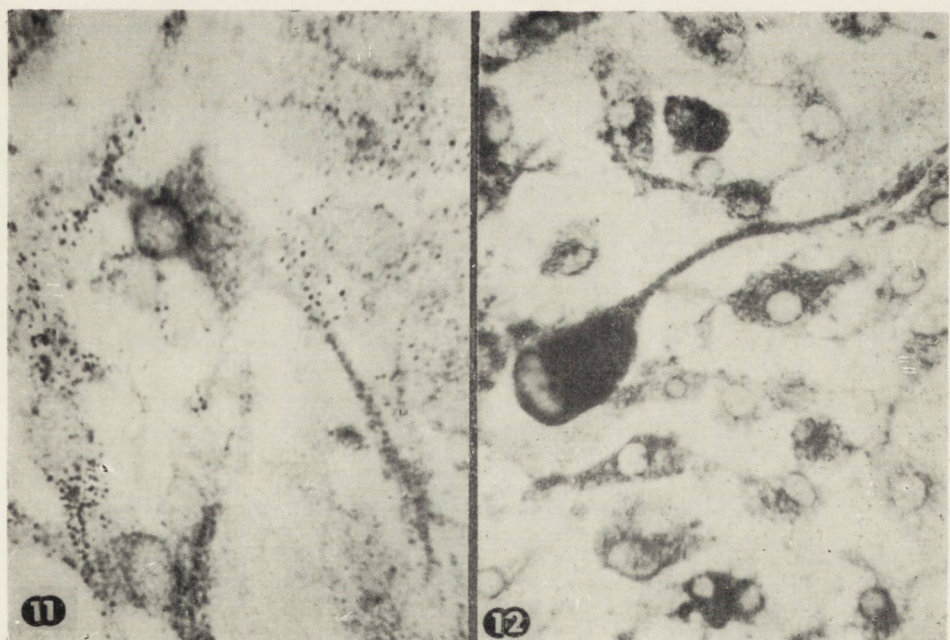
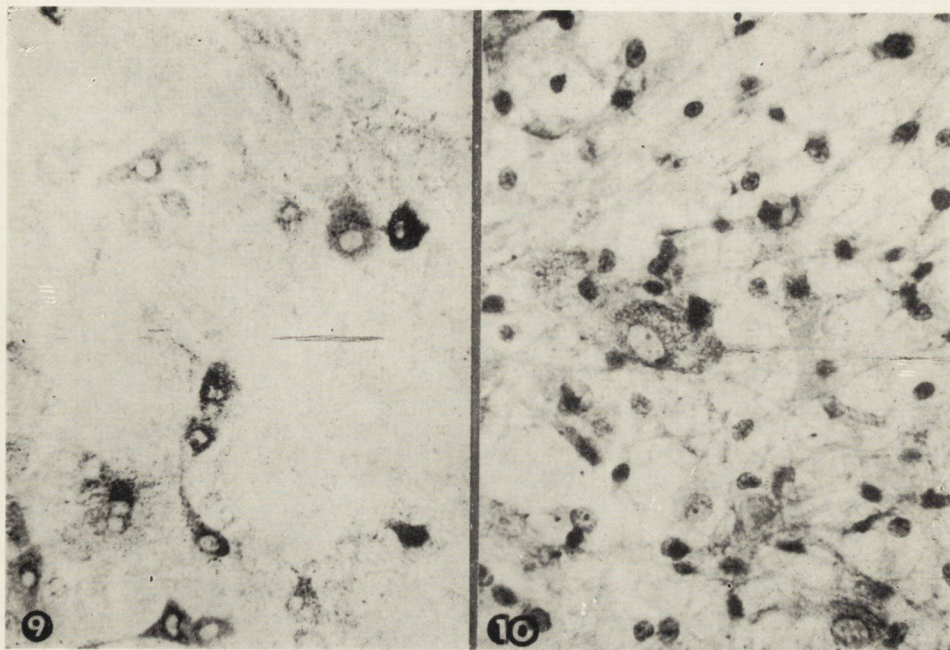
WYNIKI

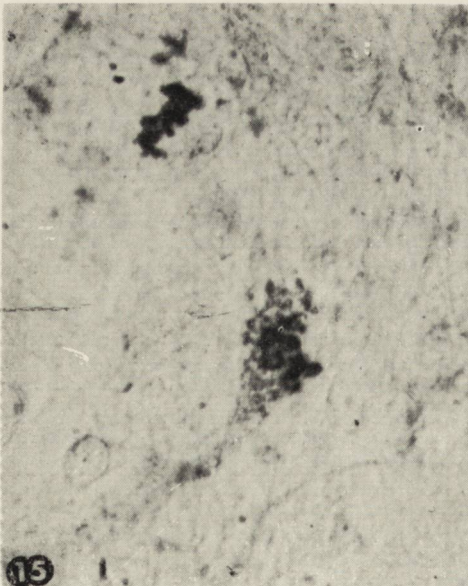
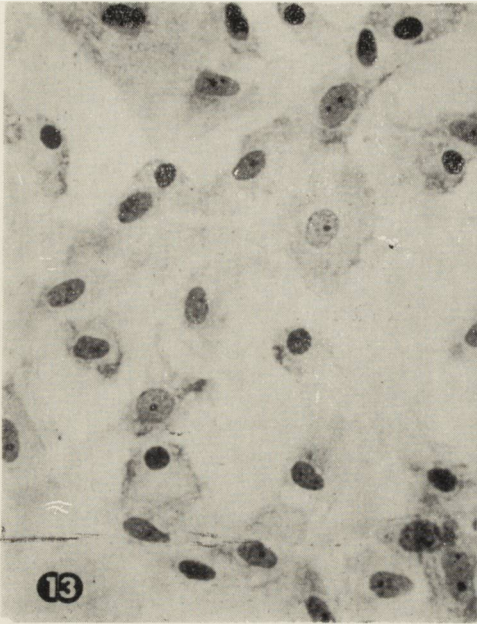
Grupa I — anoksja 30 minutowa

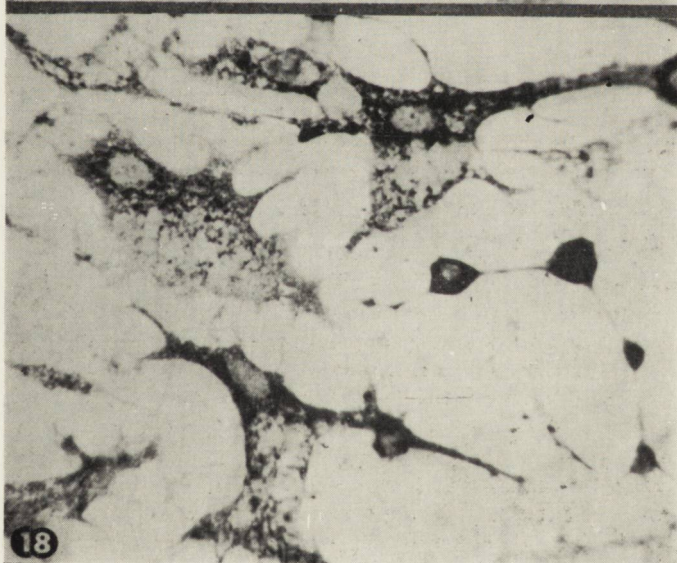
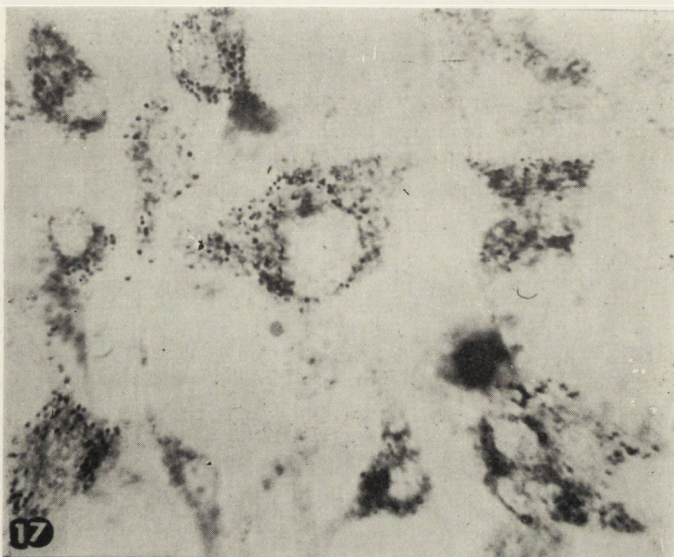
Hodowle 1-tygodniowe. Hodowle młode zawierające tylko nisko zróżnicowane komórki glejowe wykazują zmiany morfologiczne











- Ryc. 1.* Hodowla 1-tygodniowa; 4 dni po 30-min. anoksji. Obrzmiałe jądra komórek glejowych pozbawionych cytoplazmy. Błękit toluidyny. Pow. 400×.
- Fig. 1.* One week-old culture; 4 days after 30 minutes' anoxia. Swollen nuclei in the glial cells depleted of cytoplasm. Toluidine blue. ×400.
- Ryc. 2.* Hodowla 1-tygodniowa; 4 dni po 30-min. anoksji. Komórki glejowe z licznymi wodniczkami. Błękit toluidyny. Pow. 400×.
- Fig. 2.* One week-old culture; 4 days after 30 minutes' anoxia. The glial cells with numerous vacuoles. Toluidine blue. ×400.
- Ryc. 3.* Hodowla 1-tygodniowa; 2 dni po 30 min. anoksji. Komórki kometowate wypełnione ziarnistościami PAS-dodatnimi. Pow. 400×.
- Fig. 3.* One week-old culture; 2 days after minutes' anoxia. Comet-like cells filled with PAS-positive granules. ×400.
- Ryc. 4.* Hodowla 1-tygodniowa; 2 dni po 30-min. anoksji. W cytoplazmie z wodniczkami widoczne są ziarna glikogenowe. Met. PAS-dimedon. Pow. 400×.
- Fig. 4.* One week-old culture; 2 days after 30 minutes' anoxia. Glycogen grains are visible in the vacuolated cytoplasm of glial cells. PAS-dimedon met. ×400.
- Ryc. 5.* Hodowla 1-tygodniowa; 2 dni po 30-min. anoksji. Dodatnia aktywność syntetazy glikogenowej w komórkach glejowych. Pow. 200×.
- Fig. 5.* One week-old culture; 2 days after 30 minutes' anoxia. Glycogen synthetase activity in the glial cells. ×200.
- Ryc. 6.* Hodowla 1-tygodniowa; 3 dni po 30-min. anoksji. Dodatnia aktywność fosforylasy w komórkach glejowych. Pow. 200×.
- Fig. 6.* One week-old culture; 3 days after 30 minutes' anoxia. Phosphorylase activity in the glial cells. ×200.
- Ryc. 7.* Hodowla 1-tygodniowa; 3 dni po 30-min. anoksji. Słaba aktywność dehydrogenazy bursztynianowej. Pow. 600×.
- Fig. 7.* One week-old culture; 3 days after 30 minutes' anoxia. Weak succinate dehydrogenase activity. ×600.
- Ryc. 8.* Hodowla 1-tygodniowa; 4 dni po 30-min. anoksji. Osłabiona aktywność dehydrogenazy glukozo-6-fosforanowej w gleju. Pow. 400×.
- Fig. 8.* One week-old culture; 4 days after 30 minutes' anoxia. Decreased glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in glia. ×400.
- Ryc. 9.* Hodowla 1-tygodniowa; 2 dni po 30-min. anoksji. Aktywność dehydrogenazy mleczanowej. Widoczna różnica w aktywności poszczególnych komórek. Pow. 200×.
- Fig. 9.* One week-old culture; 2 days after 30 minutes' anoxia. Lactate dehydrogenase activity. Marked differences in the activity in particular cells. ×200.
- Ryc. 10.* Hodowla 2-tygodniowa; 4 dni po 30-min. anoksji. Ziarna glikogenowe w przerosłych komórkach astrogleju. Pow. 400×.
- Fig. 10.* Two-week-old culture; 4 days after 30 minutes' anoxia. Glycogen grains in hypertrophied astroglial cells. ×400.
- Ryc. 11.* Hodowla 2-tygodniowa; 3 dni po 30-min. anoksji. Słaba aktywność dehydrogenazy bursztynianowej w komórkach glejowych. Pow. 600×.
- Fig. 11.* Two-week-old culture; 3 days after 30 minutes' anoxia. Weak succinate dehydrogenase activity in the glial cells. ×600.
- Ryc. 12.* Hodowla 2-tygodniowa; 3 dni po 30-min. anoksji. Wysoka aktywność dehydrogenazy mleczanowej w komórce kometowatej. W pozostałych komórkach aktywność niska. Pow. 400×.
- Fig. 12.* Two-week-old culture; 3 days after 30 minutes' anoxia. High lactate dehydrogenase activity in a comet-like cell. Low activity in the remaining cells. ×400.

- Ryc. 13.* Hodowla 3-tygodniowa; 3 dni po 30-min. anoksji. Obrzmienie komórek glejowych. Błękit toluidyny. Pow. 400X.
- Fig. 13.* Three-week-old culture; 3 days after 30 minutes' anoxia. Swelling of the glial cells. Toluidine blue. X400.
- Ryc. 14.* Hodowla 3-tygodniowa; 4 dni po 30-min. anoksji. Liczne ziarna glikogenowe w komórkach astroglejowych. Pow. 400X.
- Fig. 14.* Three-week-old culture; 4 days after 30 minutes' anoxia. Numerous glycogen grains in the astroglial cells. X400.
- Ryc. 15.* Hodowla 3-tygodniowa; 3 dni po 30-min. anoksji. Wysoka aktywność fosforylazy w komórkach glejowych. Pow. 400X.
- Fig. 15.* Three-week-old culture; 3 days after 30 minutes' anoxia. High phosphorylase activity in the glial cells. X400.
- Ryc. 16.* Hodowla 3-tygodniowa; 3 dni po 30-min. anoksji. Wysoka aktywność syntetazy glikogenowej w komórkach glejowych. Pow. 200X.
- Fig. 16.* Three-week-old culture; 3 days after 30 minutes' anoxia. High glycogen synthetase activity in the glial cells. X200.
- Ryc. 17.* Hodowla 3-tygodniowa; 3 dni po 30-min. anoksji. Umiarkowana aktywność dehydrogenazy bursztynianowej komórek glejowych. Pow. 600X.
- Fig. 17.* Three-week-old culture; 3 days after 30 minutes' anoxia. Moderate succinate dehydrogenase activity in the glial cells. X600.
- Ryc. 18.* Hodowla 3-tygodniowa; 4 dni po 30-min. anoksji. Różnice w aktywności dehydrogenazy mleczanowej astrocytów i oligodendrocytów. Pow. 400X.
- Fig. 18.* Three-week-old culture; 4 days after 30 minutes' anoxia. Differences in the lactate dehydrogenase activity in astrocytes and oligodendrocytes. X400.

po upływie 24 godzin po działaniu anoksji. Polegają one na obrzmieniu cytoplazmy komórek i jąder. Zarysy błony komórkowej ulegają zatarciu, a wypustki komórkowe skróceniu i fragmentacji. Po 2 dniach po anoksji część populacji komórkowej wykazuje nasilenie zmian patologicznych. Pojawiają się wodniczki w cytoplazmie młodych astrocytów, a jądra przemieszczają się w obwodowe części ciała komórkowego. Niektóre komórki przypominają swym wyglądem tzw. komórki kometowate wyróżniające się silniej barwiącą się cytoplazmą i obecnością jednej tylko grubej wypustki. Jądro w tych komórkach jest położone mimośrodkowo. Od 3 do 5 dnia po działaniu półgodzinnego niedotlenienia większość komórek traci wypustki. W niektórych hodowlach zjawiają się jądra glejowe pozbawione częściowo lub całkowicie cytoplazmy (ryc. 1). W tym okresie liczne komórki glejowe zawierają wodniczki (ryc. 2). Należy podkreślić znaczne zróżnicowanie nasilenia opisanych zmian w poszczególnych hodowlach.

W barwieniu metodą PAS hodowle glejowe zawierają ziarna PAS dodatkowo w znacznie większej ilości niż w hodowlach kontrolnych. Zjawisko to utrzymuje się przez cały okres obserwacji, jedynie w 5 dniu po anoksji występuje nieznaczne osłabienie reakcji histochemicznej. Substancje PAS-dodatnie gromadzą się nie tylko w komórkach eksplantatu, lecz również w komórkach warstwy wzrostu. Znaczne ilości grubych PAS dodatnich ziaren spostrzega się w komórkach astrocytarnych z obfitą cytoplazmą, przypominających komórki tuczne i w komórkach kometowatych (ryc. 3).

W hodowlach barwionych metodą PAS-dimedon obserwuje się ziarna glikogenowe w komórkach glejowych od 2 dnia po anoksji. Największe nagromadzenie glikogenu przypada na 3—4 dzień po niedotlenieniu (ryc. 4). Ziarna te występują szczególnie obficie w cytoplazmie przerosłych komórek astrocytarnych. W grupie 1-tygodniowych hodowli komórki obciążone glikogenem przeważnie wykazują znaczne nasilenie zmian zwyrodnieniowych.

Aktywność UDPG-G-transferazy (syntetazy glikogenowej) jest obecna w okresie od 1 do 5 dnia po działaniu anoksji. Największe nasilenie aktywności tego enzymu przypada na 2 i 3 dzień po niedotlenieniu (ryc. 5). Aktywność syntetazy jest w tym okresie znacznie wyższa w grupie doświadczalnej niż w grupie kontrolnej. Aktywność fosforylazy jest także dodatnia w całym okresie poanoksyjnym, przy czym wyraźne nasilenie aktywności pojawia się w 3 dniu po niedotlenieniu (ryc. 6). Aktywność fosforylazy nie osiąga jednak poziomu aktywności syntetazy glikogenowej.

Oslabienie aktywności dehydrogenazy bursztynianowej po niedotlenieniu obserwuje się we wszystkich komórkach hodowli. Zaledwie pojedyncze, niezróżnicowane komórki wykazują aktywność nieco wyższą. Przez cały okres obserwacji po anoksji aktywność dehydrogenazy bursztynianowej jest bardzo niska; najniższa w 3 dniu doświadczenia (ryc. 7). Aktywność G-6-PDH jest podobnie niska w komórkach glejowych w całym okresie poanoksyjnym (ryc. 8). Jedynie przerosłe astrocyty z obfitą cytoplazmą i komórki kometowate wykazują wysoką aktywność dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu w przeciwieństwie do aktywności dehydrogenazy bursztynianowej, obniżonej w całej populacji komórkowej. Mikroglej nie wykazuje natomiast w ogóle spadku aktywności G-6-P DH. Oslabienie aktywności dehydrogenazy mleczanowej obserwuje się od 1 dnia po zadziałaniu anoksji. Jednakże już w 2 dniu wśród komórek glejowych o niskiej aktywności spotyka się komórki przerosłe i kometowate o znacznie żywszej aktywności LDH (ryc. 9). W 4 dniu spotyka się wzrost aktywności tego enzymu we wszystkich komórkach w strefie wzrostu. Komórki mikroglejowe wykazują znacznie wyższą aktywność enzymatyczną przez cały okres obserwacji.

Hodowle 2-tygodniowe. Obserwowane tu zmiany najwyraźniej występują w komórkach astrogleju, ich obfita cytoplazma wykazuje podobne zmiany do opisanych w hodowlach 1-tygodniowych. Obserwuje się wodniczki, zatarcie konturów komórek, obrzmienia jąder i powiększenie ogólnych wymiarów komórek. Spotyka się również komórki przerosłe i kometowate. Częstość występowania tych zmian jak i ich nasilenie są jednak wyraźnie mniejsze niż w hodowlach 1-tygodniowych. Zmiany dotyczące oligodendrogleju, jak i komórek mikroglejowych są słabiej wyrażone i trudne do interpretacji w obrazach z mikroskopu świetlnego.

W preparatach barwionych metodą PAS stwierdza się znaczne ilości ziaren PAS-dodatnich we wszystkich typach gleju w eksplantacie jak również w warstwie wzrostu podczas całego okresu poanoksyjnego.

Ziarna glikogenowe obserwuje się w hodowlach od 2 dnia po niedotlenieniu. W komórkach astrocytarnych z przerosłą cytoplazmą ziarna glikogenowe są najlepiej widoczne. W przeciwieństwie do grupy młodych hodowli komórki zawierające ziarna glikogenu w hodowlach 2-tygodniowych nie wykazują wyraźnych uszkodzeń morfologicznych. Przeważnie nie stwierdza się w nich w ogóle wodniczek (ryc. 10). Komórki oligodendrogleju i mikrogleju w hodowlach 2-tygodniowych w okresie od 2 do 5 dnia po anoksji również zawierają glikogen. Ze względu jednak na mniejsze rozmiary ich cytoplazmy zjawisko to jest mniej uchwytnie w obrazach z mikroskopu świetlnego. Ilość komórek glejo-

wych zawierających ziarna glikogenu jest równa w poszczególnych hodowlach. W hodowlach 2-tygodniowych z dłuższym przeżyciem po przejściowym niedotlenieniu zawartość glikogenu w gleju utrzymuje się na tym samym poziomie nieco dłużej, niż w hodowlach 1-tygodniowych.

Aktywność enzymów metabolizujących glikogen w 2-tygodniowych hodowlach nie wykazuje większych różnic w porównaniu z aktywnością komórek młodych. W astrocytach aktywność ich jest wyższa niż w innych postaciach gleju. Nasilenie aktywności syntetazy glikogenowej przeważa nad aktywnością fosforylasy. Aktywność obu enzymów pojawia się już po upływie 24 godzin po anoksji.

Badane enzymy oksydacyjno-redukcyjne wykazują osłabienie aktywności w komórkach glejowych. Największe zmiany w aktywności spostrzega się w komórkach z obwodowych części strefy wzrostu. Spośród badanych enzymów aktywność dehydrogenazy bursztynianowej charakteryzuje się najsłabszym odczynem. Niska aktywność tego enzymu utrzymuje się przez cały okres obserwacji (ryc. 11). Stwierdza się natomiast pewne podobieństwa w aktywności dehydrogenaz glukozo-6-fosforanu i mleczanowej. Oba enzymy wykazują zmniejszenie aktywności tylko we wczesnym okresie po anoksji; od 3 dnia aktywność ich wzrasta. Wszystkie trzy dehydrogenazy zachowują wzorzec aktywności charakterystyczny dla poszczególnych typów komórek glejowych. W astrocytach ziarna formazanowe są obecne w cytoplazmie i w wypustkach. W oligodendrocytach liczne drobne ziarna odczynu enzymatycznego skupione są przede wszystkim w jednym biegunie komórki, tworząc typową czapkę wokół jądra. W okresie poanoksyjnym nie stwierdza się aktywności enzymatycznej w wypustkach oligodendrocytów. Aktywność dehydrogenazy glukozo-6-fosforanowej i mleczanowej jest dobrze zachowana w cytoplazmie oligodendrocytów i mikrogleju. Wśród astrocytów występują znaczne różnice w nasileniu i rozkładzie aktywności obu dehydrogenaz. Pomędzy przeważającymi komórkami z niskim odczynem enzymatycznym widoczne są astrocyty kometowate z wysoką aktywnością w części centralnej cytoplazmy komórki i w pojedynczej, przerosłej wypustce (ryc. 12).

Hodowle 3-tygodniowe. W zróżnicowanych komórkach 3-tygodniowej hodowli glejowej półgodzinne działanie anoksji wywołuje znacznie mniejsze zmiany patologiczne, przy czym dotyczą one przede wszystkim komórek z obwodowych części strefy wzrostu. Obrzmienie komórek i ich jąder jest najpospolitszą cechą spotykaną w okresie od 1 do 5 dni po anoksji (ryc. 13). Znacznie rzadziej i tylko w pojedynczych hodowlach występują astrocyty z wakuolizacją cytoplazmy. Oligoden-

drocyty i mikroglej przeważnie są dobrze zachowane. Jednak we wszystkich komórkach obserwuje się zwiększoną ilość ziarnistości PAS dodatnich w ciągu całego okresu przeżycia po anoksji. W preparatach barwionych na glikogen widoczne są liczne komórki glejowe obciążone ziarnami wielocukru. Glikogen pojawia się 2 dnia po anoksji. Ilość komórek glejowych wypełnionych ziarnami glikogenu zwiększa się wraz z upływem czasu po anoksji (ryc. 14). W przeciwieństwie do grup poprzednich w hodowlach 3-tygodniowych nie stwierdza się osłabienia odczynu histochemicznego na glikogen w 5 dniu po niedotlenieniu oraz komórki z glikogenem nie wykazują cech morfologicznego uszkodzenia.

Enzymy metabolizujące glikogen, fosforylaza i syntetaza glikogenowa wykazują wyraźną aktywność we wszystkich komórkach gleju. W pojedynczych komórkach aktywność tych enzymów jest bardzo wysoka (ryc. 15 i 16).

Aktywność badanych enzymów oksydacyjno-redukcyjnych jest wyższa niż w hodowlach młodszych; jest ona jednak niższa od aktywności w hodowlach kontrolnych. Dehydrogenaza bursztynianowa wykazuje najniższą aktywność i wzrasta nieznacznie w 3 dniu po anoksji (ryc. 17). Aktywność dehydrogenazy glukozo-6-fosforanowej i mleczanowej wykazuje charakterystyczne różnice w rozkładzie ziaren formazanowych w poszczególnych rodzajach gleju (ryc. 18).

Największe odchylenia w aktywności obu enzymów wykazują astrocyty. Obok komórek z równomiernie rozłożoną umiarkowaną aktywnością enzymatyczną spotyka się astrocyty przerosłe o znacznie wzmocnionej aktywności oraz astrocyty z wodniczkami, w których ziarna formazanowe wykazują plackowate zagęszczenia i rozrzedzenia.

Grupa II — anoksja 1-godzinna

Hodowle 1, 2, 3-tygodniowe poddane działaniu 1-godzinnej anoksji wykazują bardziej nasilone zmiany patologiczne w porównaniu ze zmianami opisanymi w grupie I. Zmiany morfologiczne polegają głównie na rozrzedzeniu cytoplazmy, osłabieniu jej barwliwości i pojawianiu się licznych wodniczek. Jądra komórek glejowych są powiększone i obrzmiałe.

Hodowle glejowe wykazują obecność dużych ilości substancji PAS dodatnich w całym okresie poanoksyjnym.

Najistotniejsze różnice w II grupie doświadczalnej dotyczą wyników badań na glikogen. Nie stwierdza się bowiem obecności ziaren glikogenowych w żadnym typie komórek glejowych przez cały okres ich wzrostu w hodowli. Enzymy metabolizujące glikogen wykazują niską

aktywność. Równocześnie w odróżnieniu od I grupy aktywność fosforylazy wydaje się przewyższać aktywność syntetazy glikogenowej.

Wszystkie enzymy oksydo-redukcyjne wykazują znaczne osłabienie ich aktywności, wyraźniejsze niż w grupie poprzedniej.

OMÓWIENIE

W obecnej serii doświadczeń, podobnie jak w doświadczeniach poprzednich, stwierdziliśmy wyraźną zależność nasilenia i charakteru zmian patologicznych w gleju od wieku hodowli i od czasu trwania anoksji.

Zmiany morfologiczne polegające głównie na zaniku wypustek komórkowych, obrzmieniu cytoplazmy i jąder komórkowych, wakuolizacji cytoplazmy i tworzeniu kometowatych form komórkowych były znacznie mniej nasilone w grupie półgodzinnej anoksji niż w grupie 1-godzinnej, mimo to, że zasadniczy wzorzec uszkodzeń był jednakowy w obu grupach. Różniły się one natomiast od zmian obserwowanych w przebiegu długotrwałego niedotlenienia (Kraśnicka i wsp. 1967). Podobnie zachowywały się zmiany histoenzymatyczne, dotyczące aktywności badanych enzymów oksydacyjno-redukcyjnych, a polegające na obniżeniu ich aktywności. Zwraca jednocześnie uwagę zróżnicowanie zmian w aktywności poszczególnych dehydrogenaz. Aktywność dehydrogenazy bursztynianowej wykazywała największy spadek.

Największe nasilenie zmian morfologicznych i histoenzymatycznych obserwowano w młodych niezróżnicowanych komórkach glejowych. Znajdowało to swój wyraz przede wszystkim w znacznym uszkodzeniu hodowli najmłodszych, w których większość stanowiły komórki niezróżnicowane. W hodowlach starszych zmiany dotyczyły przede wszystkim obwodowych pól strefy wzrostu, gdzie również przeważają komórki niezróżnicowane. Zmiany morfologiczne, a w mniejszym stopniu również histoenzymatyczne były wyraźnie mniej nasilone w pozostałych częściach hodowli o przewadze dobrze zróżnicowanych elementów glejowych.

Cechą charakterystyczną dla stwierdzanych obrazów w tej serii doświadczeń była również zmienność obrazu morfologicznego i histoenzymatycznego w zależności od czasu przeżycia hodowli po anoksji, szczególnie zaznaczona w grupie 30-minutowej. Wydaje się, że na podstawie spostrzeganych przez nas obrazów morfologicznych i histoenzymatycznych można mówić o zjawiskach regeneracji hodowli po okresie jej uszkodzenia następującym bezpośrednio po niedotlenieniu. Zjawisko to wyrażało się przede wszystkim wzrostem aktywności dehydrogenaz glukozy-6-fosforanowej i mleczanowej w 4—5 dni po anoksji, w porównaniu

do jej znacznego obniżenia w 2 i 3 dniu po niedotlenieniu, mimo to, że nasilenie reakcji enzymatycznych nawet w 5 dniu doświadczenia nie osiągało poziomu hodowli kontrolnych. Odwracalność zmian histoenzymatycznych była mniej wyraźna w przypadku dehydrogenazy bursztynianowej, wykazującej jak wspomniano poprzednio największy spadek aktywności. Podobnie nie stwierdzono cofania się zmian dotyczących nagromadzenia ziarnistości PAS-dodatnich w cytoplazmie komórek glejowych, które Mossakowski i wsp. (1972) i Ostenda (1972) uważają za wykładnik zmienionej przepuszczalności błon komórkowych.

W przeciwieństwie do poprzednich doświadczeń (Kraśnicka i wsp. 1967) stwierdziliśmy, że podobnie jak w doświadczeniach prowadzonych *in vivo* (Mossakowski i wsp. 1968, Rivera i wsp. 1970, Ibrahim i wsp. 1970, Pronaszko i wsp. 1971, Mossakowski, Zelman 1971) w warunkach hodowli tkankowej glej wykazuje również zdolność gromadzenia glikogenu w następstwie niedotlenienia. Badania nasze wykazały wyraźną zależność tego zjawiska od stopnia niedotlenienia i uszkodzenia komórek. W grupie 1-godzinnej niedotlenienia w żadnym okresie przeżycia nie obserwowaliśmy gromadzenia się złogów wielocukru. Wyniki te wskazują na fakt, że zdolność metabolizowania glukozy do glikogenu wykazują jedynie komórki o pewnym stopniu uszkodzenia, po przekroczeniu którego proces ten nie występuje. Potwierdza to poglądy Klatzo i wsp. (1970) traktujących gromadzenie się glikogenu jako wykładnik subhistologicznych uszkodzeń tkanki, nie stanowiących zresztą swoistej reakcji na niedotlenienie. Gromadzenie się glikogenu w gleju w tkance nerwowej obserwowano w szeregu procesów patologicznych ośrodkowego układu nerwowego, jak również po narkozie, po podaniu pewnych leków psychotropowych i w śnie zimowym (Oksche 1961, Koizumi, Shiraishi 1971).

Glikogen, podobnie jak w doświadczeniach *in vivo*, gromadził się przede wszystkim w cytoplazmie i w wypustkach astrogleju, w znacznie mniejszym stopniu w oligodendrocytach i w mikrogleju. W warunkach doświadczeń prowadzonych na zwierzętach obserwowano również pojawianie się złogów glikogenowych w gleju skąpowypustkowym (Mossakowski i wsp. 1968, Pronaszko i wsp. 1971), przy czym występowały one tu znacznie rzadziej niż w astrocytach i przede wszystkim u zwierząt niedojrzałych. Fakt gromadzenia się glikogenu w gleju w warunkach hodowli tkankowej wskazuje, że to zjawisko jest związane ze zmianami metabolizmu samej komórki glejowej, niezależnie od zaburzeń w transporcie glukozy, nieużytkowanej w przemianie komórki nerwowej. Taką możliwość sugerują również doświadczenia Wolfe'a i Nicholasa (1967),

dotyczące gromadzenia się glikogenu w gleju w warunkach zwiększonej podaży glukozy.

W warunkach hodowli tkankowej, podobnie jak w doświadczeniach na zwierzętach (Mossakowski i wsp. 1967, Rivera i wsp. 1970, Pronaszko i wsp. 1971) odkładanie się glikogenu w gleju, a przede wszystkim w astrocytach jest zjawiskiem przejściowym, wykazującym charakterystyczną dynamikę w czasie. Astrocytarne złogi glikogenowe w hodowli pojawiają się w 2 dniu od niedotlenienia, a osiągają swoje największe nasilenie w 3 i 4 dobie doświadczenia. W 5 dniu po anoksji zarówno ilość komórek zawierających ziarna glikogenowe, jak i ilość złogów wielocukru, w pojedynczych komórkach zmniejsza się bardzo znacznie, wykazując istotne różnice w zależności od wieku hodowli. W doświadczeniach na zwierzętach stwierdza się również znaczne różnice w czasie pojawiania się i znikania złogów glikogenu, jak i w ilości odkładanego wielocukru w zależności od wieku i gatunku zwierzęcia oraz od rodzaju doświadczalnego niedotlenienia (Ibrahim i wsp. 1970, Mossakowski, Zelman 1971, Pronaszko i wsp. 1972), mimo że pozostaje ono zawsze zjawiskiem odwracalnym.

Przejściowe niedotlenienie hodowli glejowej prowadzi również do charakterystycznych zmian w aktywności enzymów metabolizujących glikogen, polegających na wzroście aktywności zarówno syntetazy glikogenowej jak i fosforylazy. W sposób znamieny aktywność obu enzymów pojawia się w hodowlach wcześniej niż uwidaczniają się pierwsze złogi glikogenowe. Aktywność enzymów metabolizujących glikogen była już obecna po upływie 24 godzin po anoksji, podczas gdy najwcześniejsze złogi glikogenowe obserwowano po 2 dniach. Najwyższa aktywność obu enzymów przypadła na 3, 4 dzień po niedotlenieniu, później się obniżała. Zjawisko wyprzedzania gromadzenia się glikogenu przez zmiany w aktywności enzymów metabolizujących glikogen stwierdzano również metodami biochemicznymi w doświadczeniach na zwierzętach (Goldberg, O'Toole 1969, Śmiałek i wsp. 1971).

WNIOSKI

1. Krótkotrwałe, przemijające niedotlenienie hodowli tkanki glejowej prowadzi do zmian morfologicznych i histoenzymatycznych, których nasilenie zależy od wieku hodowli (stopnia zróżnicowania komórek), czasu trwania niedotlenienia i czasu przeżycia po niedotlenieniu.

2. Zmiany morfologiczne w przypadku 30-minutowej anoksji są niewielkie i polegają na obrzmieniu komórek, wakuolizacji cytoplazmy i pojawianiu się kometowatych form komórkowych.

3. Zmiany histoenzymatyczne polegają na obniżeniu aktywności dehydrogenaz (największe zmiany dotyczą dehydrogenazy bursztynianowej) oraz pojawieniu się i wzroście aktywności enzymów metabolizujących glikogen.

4. Po zadziałaniu 30-minutowej anoksji w hodowli glejowej pojawiają się złogi glikogenowe, przede wszystkim astrocytarne osiągające najwyższe nasilenie w 3 i 4 dniu po anoksji. Zjawisko gromadzenia się glikogenu jest następstwem zaburzeń metabolicznych komórki glejowej.

5. Zmiany w aktywności enzymów metabolizujących glikogen wyprzedzają w czasie gromadzenie się glikogenu.

6. Przy ciężkim uszkodzeniu komórek glejowych w warunkach 60-minutowego niedotlenienia nie obserwuje się gromadzenia się glikogenu.

З. Красьницка, К. Ренкавек

ВЛИЯНИЕ КРАТКОСРОЧНОЙ АНОКСИИ НА МОРФОЛОГИЧЕСКУЮ И ГИСТОЭНЗИМАТИЧЕСКУЮ КАРТИНУ ГЛИАЛЬНОЙ ТКАНИ, ВЫРАЩИВАЕМОЙ IN VITRO

Резюме

Проводились гистохимические и энзиматические исследования на глиальных культурах в условиях 30 и 60-минутной аноксии. В глиальных клетках скопился гликоген исключительно после 30-минутной аноксии. Самое большое накопление гликогена наблюдалось на 3 и 4 день выживаемости тканевых культур после аноксии. Изменения активности энзимов метаболизирующих гликоген предшествовали появлению гликогена в глиальных клетках. Активность окислительно-восстановительных энзимов была снижена во всех периодах выживаемости после аноксии. Самые большие морфологические и энзиматические изменения обнаруживались в мало дифференцированных культурах.

Z. Kraśnicka, K. Renkawek

EFFECT OF TRANSITORY ANOXIA ON THE MORPHOLOGICAL AND HISTOENZYMATIC PICTURE OF THE GLIAL TISSUE IN VITRO

Summary

Histochemical and enzymatic studies on the glial cultures were performed under the conditions of 30 minutes' and 60 minutes' anoxia. In the glial cells, glycogen accumulated exclusively following the 30 minutes' anoxia, the most intensive accumulation being observed on the 3rd and 4th day of survival after anoxia. Changes in the activity of glycogen metabolizing enzymes preceded the appearance of glycogen in the glial cells.

The activity of oxido-reducing enzymes was decreased in all the examined periods of survival after anoxia. The most significant morphological and enzymatic changes occurred in ill differentiated cultures.

PIŚMIENNICTWO

1. Friede R. L.: Die Bedeutung der Glia für der zentralen Kohlenhydratstoffwechsel. *Zbl. allg. Path. Anat.*, 1954, 92, 65—74.
2. 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.
3. Ibrahim M. Z. M., Pascoe E., Alam S., Miquel I.: Glycogen and phosphorylase activity in rat brain during recovery from several forms of hypoxia. *Amer. J. Path.*, 1970, 60, 403—415.
4. Klatzo I., Farkas-Bargeton E., Guth L., Miquel J., Olson Y.: Some morphological and biochemical aspects of abnormal glycogen accumulation in the glia. VI Intern. Congr. Neuropath., Masson et Cie, Paris 1970, 351—365.
5. Koizumi J., Shiraishi H.: Ultrastructural appearance of glycogen in the hippocampus of the rabbit following administration of psychotropic drugs. *Exp. Brain Res.*, 1971, 13, 451—460.
6. Kraśnicka Z., Mossakowski M. J., Renkawek K.: Morphologie et histochemie de neurones de ganglions spinaux cultivés in vitro dans les conditions d'anoxie. *Neuropat. Pol.*, 1971, 9, 93—100.
7. Kraśnicka Z., Renkawek K., Liwnicz B. H.: Morphology of glial cultured in vitro under varied gas atmosphere. *Pol. Med. J.*, 1967, 6, 1574—1581.
8. Kraśnicka Z., Renkawek K., Mossakowski M. J.: Activity of redox enzymes in glial tissue cultured in vitro under varied gas atmosphere. *Pol. Med. J.*, 1967, 6, 1582—1591.
9. Kraśnicka Z., Renkawek K.: Morphology and histochemistry of microglia cultured in normal and pathological conditions. *Pol. Med. J.*, 1970, 9, 196—212.
10. Kraśnicka Z., Renkawek K.: Wpływ niedotlenienia na obraz morfologiczny i histoenzymatyczny tkanki nerwowej hodowanej in vitro. *Postępy Astronautyki*, 1971, Supl. 1, 111—117.
11. Mossakowski M. J., Long D. M., Mayers R. E., de Curet H. R., Klatzo I.: Early histochemical changes in perinatal asphyxia. *J. Neuropat. Exp. Neurol.*, 1968, 27, 500—516.
12. Mossakowski M. J., Renkawek K., Kraśnicka Z., Liwnicz B.: Substancje PAS-dodatne w gleju hodowanym in vitro, 1968, dane nie opublikowane.
13. Mossakowski M. J., Zelman I. B.: Zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym na skutek niedoboru tlenu w warunkach doświadczalnych. *Postępy Astronautyki*, 1971, Supl. 1, 37—50.
14. Oksche A.: Der histochemisch Nachweisbare Glycogen — Aufbau und Abbau in den Astrocyten und Ependymzellen als Beispiel einer Funktionsabhängigen Stoffwechselaktivität der Neuroglia. *Z. Zellforsch.*, 1961, 54, 307—361.
15. Ostenda M.: Badania histochemiczne komórek glejowych napromienianych in vitro dawką 5000 r promieni gamma. *Neuropat. Pol.*, 1972, X, 3, 413—420.
16. Pronaszko-Kurczyńska A., Mossakowski M. J., Ostenda M., Korthals J.: Zmiany zawartości glikogenu w mózgu w doświadczalnej ischemii. *Neuropat. Pol.*, 1971, 9, 281—296.
17. Pronaszko A., Korthals J., Mossakowski M. J.: Wpływ umiarkowanego niedokrwienia na ośrodkowy układ nerwowy w zależności od stopnia dojrzałości tkanki nerwowej. II Konferencja Neuropatologiczna SNP. Streszczenia referatów, 1972, 16—17.
18. Renkawek K.: Aktywność enzymów hydrolitycznych w tkance glejowej in vitro w atmosferze o zmiennej zawartości tlenu. *Neuropat. Pol.*, 1967, 5, 135—149.

19. Riviera A., Brann A. W., Mayers R. E.: Brain glycogen of the recovering asphyxiated monkey newborn. *Exp. Neurol.*, 1970, 26, 309—315.

20. Śmiałek M., Sikorska M., Bicz W., Mossakowski M. J.: UDPglucose: glycogen alfa-4-glucosyltransferase (E.C.2.4.1.11) and alfa-1,4-glucan: orthophosphate glucosyltransferase (E.C. 2.4.1.1) activity in rat brain in experimental ischemia. *Acta Neuropath.*, 1971, 19, 242—248.

21. Wolfe D. E., Nichols J. G.: Uptake of radioactive glucose and its conversion to glycogen by neurons and glia cells in the leech central nervous system. *J. Neurophys.*, 1967, 30, 1593—1609.

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

MIECZYSLAW WENDER, ALEKSANDER PIECHOWSKI, ANDRZEJ WAJGT

CEREBRAL PROTEINS
IN EXPERIMENTAL CYANIDE ENCEPHALOPATHY*

Department of Neurology, Medical Academy, Poznań
Head: Prof. Dr. M. Wender

Cyanide intoxication has been shown to induce acute hypoxidosis and cytotoxic cerebral oedema by affecting cellular respiration. Necrosis and demyelinating foci in the central nervous system appear as the final results of intoxication. That is why, cyanide intoxication is frequently used as a model for investigating events accompanying these pathological processes in the central nervous system.

There are suggestions (Ibrahim et al. 1963) indicating that cyanide intoxication brings about some damage in the vascular endothelium or in the oligodendroglia which is believed to induce local oedema in the white matter. This in turn should then cause demyelination, the mechanism however, by means of which this happens is obscure.

Disturbances in the protein metabolism, occurring in all types of oedema play a significant role in the pathomechanism of this event (Kaps 1954, Kiyota 1959, Cumings 1961, 1962, Lowenthal 1964, Nakazawa 1969). According to the results obtained by the above investigators, there is not only an increase of the albumin or α -globulin content, but also enhanced protein biosynthesis to be found in the nervous tissue, the latter having been concluded from the experiments based on C^{14} labeled glycine incorporation into brain slices.

That is why this work was undertaken, aiming at investigating the electrophoretic pattern of soluble cerebral proteins as influenced by prolonged acute cyanide intoxication. Application of polyacrylamide gel electrophoresis offers the possibility to separate proteins on a very small scale. This is a significant advantage in studies employing electrophoretic separation of tissue proteins.

* The work was performed on behalf of the Committee of Science and Technics (No. 09.4 1.3.2.2).

MATERIAL AND METHODS

Experiments were performed on white Wistar rats of ca 200 g body weight, which were made to inhale HCN. Air was bubbled at constant rate (7 l/min) through an aqueous 10% KCN solution, and the resultant mixture of air and hydrogen cyanide was fed into a glass beaker with the experimental animals in it. In these conditions, the animals lost all their motoric abilities except for breathing after about 10 minutes. The corneal reflex was retained. The animals were kept in that state for 35 minutes and there after reanimated with pure oxygen.

The animals were killed by heart perfusion with 60 ml of physiological saline during ether anaesthesia 4, 18 hours and 14 days after intoxication, and the brains immediately removed from the cranial vault.

For histological purposes, frozen brain sections were stained with the methods of Spielmeyer and H-E, and those embedded in celoidine according to Woelcke, Nissl and H-E.

Analytical procedures. Nervous tissue samples were processed according to the method elaborated by Karcher et al. (1959). The white and grey matter (brain cortex) samples were each homogenized for 5 min in a porcelain mortar using 0.25 M sucrose as the homogenizing medium, 1 : 1 v/w. The homogenate was then centrifuged for 30 min, at $12\,000\times g$, and the obtained supernatant collected. The resultant pellet was resuspended in 0.25 M sucrose and treated as the original homogenate. The two supernatants were pooled and subjected to ultracentrifugation for 60 min at $105\,000\times g$. All these procedures were performed at $+4^{\circ}\text{C}$.

The protein content of the supernatant was determined using the method of Exton as modified by Gernard and Hajek (1966). Electrophoresis was run on 7.5% polyacrylamide gel discs (Davis 1964). The media were purchased from Eastman-Kodak Co. Samples equivalent to 100 γ of protein were applied to the gel. Electrophoresis was run at room temperature using current intensity 2 mA/tube. The separated protein fractions were evidenced with Amido Black 10 B (Merck) and the proteinograms evaluated quantitatively by means of densitometry using the Vitatron densitometer. The so obtained peaks were quantitated gravimetrically according to the method of Jackman (1959).

RESULTS

Histology. The white matter of animals sacrificed 4 hrs after HCN poisoning showed some loosening of the structure, which in places looked distinctly oedematous.

In cytological preparations taken from brains 18 hours after intoxication — some fading of the tissue structure, mainly in the center of corpus callosum, sometimes also in the anterior commissure of the cerebrum — was frequently observed. There was distinct macro- and microglial reaction seen around these fields.

The subcortical nuclei, especially in its supero-lateral parts frequently exhibited diffuse spongy changes. The myelin sheaths, as demonstrated by staining procedures according to Woelcke or Spielmeyer — did not reveal any apparent changes in staining properties at this stage of the illness. A distinct myelin decomposition was only observed in rats 14 days after acute HCN intoxication. There was a characteristic topography of the demyelinating lesions observed. Structures such as: the posterior part of corpus callosum (Fig. 1), the anterior commissure and fibers of the internal capsula (Fig 2) were most frequently affected by demyelination. Some animals developed distinct necrotic foci within the corpus callosum, and these were surrounded by an intense glial — mesenchymal edge (Fig. 3).

Biochemical findings. Results concerning the composition of soluble proteins of the white matter in course of experimental cyanide encephalopathy as evidenced by polyacrylamide gel electrophoresis, are shown in Table 1. When compared with control animals — only minor changes in the proteinograms were found both in the early period after HCN intoxication (4 and 18 hrs after prolonged acute hypoxia) and in the later one (14 days after cyanide administration).

The prealbumin and albumin fractions remained unaltered throughout the whole period of observation, not even a tendency towards an increase of their percent contribution could be observed.

The globulin pattern was quite normal — 4 hours after cyanide application. Some minor changes in the proteinogram were observed in the next experimental groups. In rats sacrificed on the 18 hour after cyanide application a small but statistically significant decrease of the globulin fraction 7, corresponding with respect to electrophoretic mobility to the serum β -globulin fraction — was observed. In the electrophoretic pattern of soluble white matter proteins from animals demonstrating persistent anatomical signs of encephalopathy (14 days after HCN intoxication) some shifts in the relative composition of the two γ -globulin fractions (fraction 10 and 11) were evident.

The spectrum obtained from the grey matter soluble proteins was very similar. As demonstrated in table 2 there were no apparent changes in the percent composition of the prealbumin and albumin fractions between

Table 1. Electrophoretic pattern of soluble proteins of the cerebral white matter in experimental cyanide encephalopathy (in %)
 Tabela 1. Obraz elektroforetyczny rozpuszczalnych białek istoty białej mózgu w doświadczalnej encefalopatii cyjanowej (w %)

Protein fraction Frakcje białka		Control animals Zwierzęta kontrolne	4 hrs after HCN intoxication 4 godz. po zatruciu HCN	18 hrs after HCN intoxication 18 godz. po zatruciu HCN	14 days after HCN intoxication 14 dni po zatruciu HCN	
Prealbumins { Prealbuminy {		1	1.38 ± 0.16	1.42 ± 0.06	1.42 ± 0.15	
		2	3.95 ± 0.13	3.99 ± 0.14	4.53 ± 0.19	
Albumins { Albuminy {		3	8.24 ± 0.50	8.24 ± 0.54	7.02 ± 0.33	
		3a	2.78 ± 0.95	3.27 ± 1.14	3.54 ± 0.79	
	Postalbumins	4	5.17 ± 0.45	5.53 ± 0.88	5.62 ± 0.74	
	Poalbuminy	5	9.28 ± 0.32	10.56 ± 0.42	10.22 ± 0.31	
Globulins { Globuliny {		6	6.69 ± 0.41	6.84 ± 0.30	7.17 ± 0.36	
		7	17.18 ± 0.41	15.12 ± 0.43	13.32 ± 0.50	15.33 ± 0.65
		8	10.24 ± 0.35	10.24 ± 0.22	11.59 ± 0.59	9.72 ± 1.31
		9	22.02 ± 0.78	20.76 ± 0.37	21.33 ± 0.48	23.49 ± 0.70
	Globulins γ-Globuliny	10	12.20 ± 0.83	10.34 ± 1.08	9.22 ± 0.48	8.82 ± 0.32
		11	0.87 ± 0.47	3.69 ± 1.00	4.31 ± 0.80	3.12 ± 0.58

Results are given as mean ± standard error
 Number of animals in each group: 10
 Significant differences underlined

Wyniki podano jako średnia ± średni błąd średniej
 Liczba zwierząt w każdej grupie: 10
 Różnice istotne podkreślono

Table 2. Electrophoretic pattern of soluble proteins of the cerebral grey matter in experimental cyanide encephalopathy (in %)

Tabela 2. Obraz elektroforetyczny rozpuszczalnych białek istoty szarej mózgu w doświadczalnej encefalopatii cyjanowej (w %)

Protein fraction Frakcje białka		Control animals Zwierzęta kontrolne	4 hrs after HCN intoxication 4 godz. po zatruciu HCN	18 hrs after HCN intoxication 18 godz. po zatruciu HCN	14 days after HCN intoxication 14 dni po zatruciu HCN	
Prealbumins {	Prealbuminy {	1	1.23 ± 0.24	1.26 ± 0.07	2.01 ± 0.09	
		2	4.75 ± 0.10	4.93 ± 0.21	4.84 ± 0.14	
Albumins {	Albuminy {	3	7.57 ± 0.43	6.33 ± 0.33	8.21 ± 0.68	
		3a	3.43 ± 0.77	4.81 ± 0.77	3.81 ± 0.78	
Postalbumins Poalbuminy	Postalbuminy	4	5.15 ± 0.64	5.09 ± 0.58	4.72 ± 0.28	
		5	9.56 ± 0.79	10.72 ± 0.58	11.67 ± 0.39	
		6	7.30 ± 0.74	5.48 ± 0.47	5.56 ± 0.28	
		7	17.39 ± 1.00	15.88 ± 0.42	13.48 ± 0.31	13.87 ± 0.93
		8	10.09 ± 0.94	11.08 ± 0.70	10.63 ± 0.33	10.69 ± 0.80
		9	22.00 ± 0.96	19.89 ± 0.86	21.29 ± 0.23	21.95 ± 1.36
Globulins Globuliny	Globuliny	10	8.68 ± 0.30	12.03 ± 1.53	9.55 ± 0.32	
		11	2.85 ± 0.83	2.50 ± 1.02	4.23 ± 0.57	3.83 ± 0.75

Results are given as mean ± standard error
 Number of animals in each group: 10
 Significant differences underlined

Wyniki podano jako średnia ± średni błąd średniej
 Liczba zwierząt w każdej grupie: 10
 Różnice istotne podkreślono

the normal proteinogram and that obtained from animals with cyanide encephalopathy. The only change to be observed was a slight decrease of fraction 7 in the proteinograms of animals sacrificed 18 hrs after cyanide intoxication.

DISCUSSION

Acute brain hypoxidosis, occurring in the course of cyanide intoxication seems to be the result of action of several factors. The specific action of cyanides on cytochrome oxidase may be regarded as one although not only factor, inducing disturbances in oxido-reductive processes of the cell.

Some other effects of cyanides such as cyanocobalamine formation, respiratory and circulatory disturbances of cardiac origin, as well as inhibition of pirydoxal-dependent enzymes should be considered along with the specific effect of cyanide on cytochrome oxidase activity as the possible pathogenetic factors of brain hypoxidosis observed in these experimental conditions.

From the results of experiments performed by Levis and Amaducci (1968) it appears, that cyanide intoxication upsets the utilization of glucose, the basic substrate for almost all metabolic processes in the brain — by increasing the rate of glycolysis and of lactate formation.

Turský and Šajter (1962) have observed decreased γ -aminobutyrate concentrations, along with inhibition of glutamic acid decarboxylase activity — as the results of cyanide poisoning.

Hence, the important question arises, whether there is any corellation between the metabolic deviations, observed following cyanide application and the morphological signs of cyanide encephalopathy.

Ibrahim and his coworkers (1963) have pointed to some other experimental findings showing that following cyanide treatment condensation of acyl-coenzyme A with α -glycerophosphate is impaired and this in turn may lead to decreased formation of phosphatidic acid, the direct precursor of phospholipids.

However, since myelin phospholipids are known for their very low metabolic activity — rate reduction of their biosynthesis does not seem to be responsible for the relatively rapid onset of demyelination in this experimental disease.

Hence, the suggestion that oedema of the white matter, directly preceding the demyelinating phase is a relevant pathogenetic factor of demyelination seemed to be a reasonable one, especially because cyanide poisoning has previously been shown to disturb some mechanisms of active transport across membranes (Levis, Amaducci 1968).

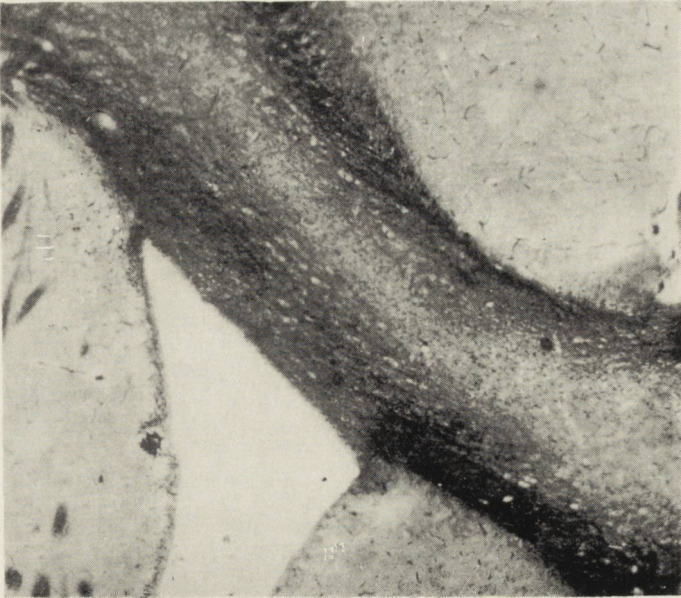


Fig. 1. Demyelination in corpus callosum of the rat brain on the 14th day after HCN poisoning. Spielmeier. $\times 50$.

Ryc. 1. Demielinizacja w spoidle wielkim mózgu szczura w 14 dniu po zatruciu HCN. Spielmeier. Pow. $50\times$.

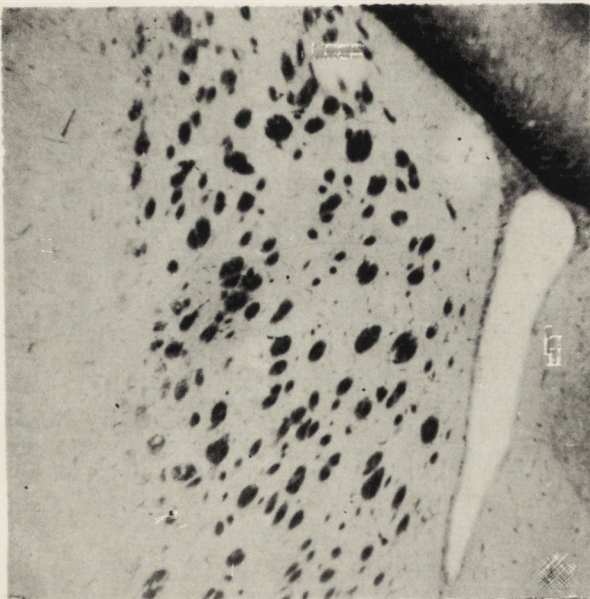


Fig. 2. Demyelination seen in a part of fibers of the internal capsule on the 14th day after HCN poisoning. Spielmeier, $\times 60$.

Ryc. 2. Demielinizacja części włókien torebki wewnętrznej szczura w 14 dniu po zatruciu HCN. Spielmeier. Pow. $60\times$.

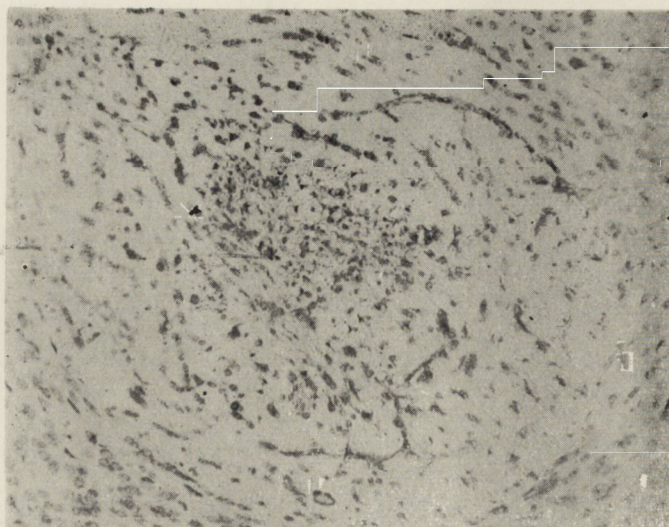


Fig. 3. Necrotic focus in the anterior commissure 18 hours after HCN intoxication.
H-E. $\times 75$.

Ryc. 3. Ognisko martwicy w obrębie spoidła mózgu przedniego szczura w 18 godz.
po zatruciu HCN. H-E. Pow. $75\times$.

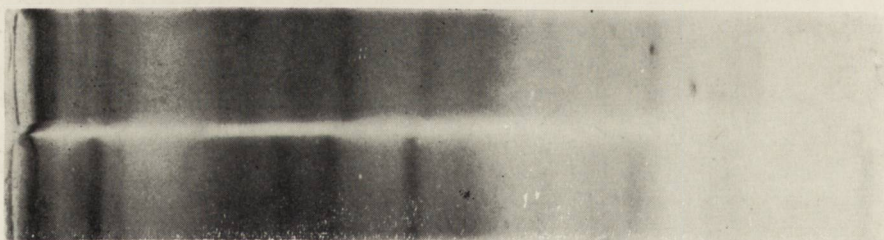


Fig. 4. Polyacrylamide gel electrophoretic pattern of soluble proteins of the white
and grey matters, 4 hrs after HCN application.

Ryc. 4. Obraz elektroforetyczny na żelu polyakrylamidowym rozpuszczalnych białek
istoty białej i szarej mózgu w 4 godz. po zatruciu cyjanowodorem.

However, the results of our investigations of soluble brain proteins, which were performed at different time intervals following prolonged acute cyanide intoxication have shown, that there is no evident leakage of serum proteins (especially of prealbumins and of albumins) into the nervous tissue, neither into the grey nor white matter.

We thus have not gained any positive evidence of the occurrence of such a damage of the blood-brain barrier which would lead to an increased permeability for macromolecular serum components, as immediately preceding demyelination. The observed minor changes in the brain protein spectrum appertaining mainly to the soluble globulin fractions seem to indicate some secondary effects of tissue damage.

A significant role in the pathogenesis of myelin decomposition in cyanide encephalopathy could possibly be ascribed to cyanide-induced inhibition of some enzymatic activities of the oligodendroglia, which are required for normal, undisturbed functioning of myelin sheaths. In our previous histoenzymatic investigations (Wender et al. 1971) we were able to demonstrate that during the early phase of cyanide induced tissue damage oxidoreductase activity in the oligodendroglia was completely lacking, as it was in the case of other structural components at the sites where demyelination or even necrosis were to appear later on.

CONCLUSIONS

1. Normal amounts of prealbumins and albumins have been found in polyacrylamide gel electropherograms of soluble brain proteins which were derived from experimental cyanide encephalopathy cases.

2. The composition of soluble brain proteins from both the grey and white matter in cyanide encephalopathy shows only minor changes within the globulin fractions, which seems to be a secondary effect of tissue damage.

3. Demyelination occurring in cyanide encephalopathy is not preceded by brain oedema conjoined with protein leakage from the blood serum into the nervous tissue.

M. Wender, A. Piechowski, A. Wajgt

ROZPUSZCZALNE BIAŁKA MÓZGU W DOŚWIADCZALNEJ ENCEFALOPATII CYJANKOWEJ

Streszczenie

Skład rozpuszczalnych białek mózgu badano u szczurów, u których wytworzono encefalopatię przez zatrucie cyjankiem potasu metodą wziewną. Zwierzęta zabijano wykonując perfuzję dosercową w różnych odstępach czasu: po 4 i 18 godzinach

oraz po upływie 14 dni od chwili zatrucia. Badania składu białek tkanki nerwowej przeprowadzono metodą elektroforezy dyskowej na żelu polyakrylamidowym.

W wyniku tych badań stwierdzono:

1. W encefalopatii cyjankowej obraz elektroforetyczny rozpuszczalnych białek mózgu przy rozkładzie na żelu polyakrylamidowym wykazuje prawidłową zawartość prealbumin i albumin.

2. Rozpuszczalne białka mózgu wykazują w istocie białej i szarej mózgu w encefalopatii cyjankowej jedynie drobne zmiany w zawartości niektórych frakcji globulinowych, co wydaje się być wtórnym, następstwem uszkodzeń tkankowych.

3. Demielinizacja w encefalopatii cyjankowej nie jest poprzedzona przez obrzęk mózgu, połączony z przenikaniem frakcji białkowych z surowicy do tkanki nerwowej.

M. Вендер А. Пеховски, А. Вайт

РАСТВОРИМЫЕ БЕЛКИ МОЗГА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЦИАНИДНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ

Резюме

Состав растворимых белков мозга исследовался у крыс, у которых вызывалась энцефалопатия посредством отравления цианистым калием ингаляционным методом. Животных умерщвляли внутрисердечной перфузией в разных временных интервалах: после 4 и 18 часов, а также спустя 14 дней от момента отравления. Исследование состава белков нервной ткани проводилось методом дискового электрофореза на полиакриламидном желе.

В результате этих исследований было обнаружено:

1. В цианидной энцефалопатии электрофоретическая картина растворимых белков мозга при разложении на полиакриламидном желе обнаруживает правильное содержание преальбуминов и альбуминов.

2. Растворимые белки мозга обнаруживают в белом и сером веществе мозга при цианидной энцефалопатии лишь незначительные изменения в содержании некоторых глобулиновых фракций, что кажется быть вторичным последствием тканевых повреждений.

3. Демиелинизация при цианидной энцефалопатии не следует за отеком мозга, сопряженным с проникновением белковых фракций из сыворотки в нервную ткань.

REFERENCES

1. Cumings J.: Soluble cerebral proteins in normal and oedematous brain. *J. Clin. Path.*, 1961, 14, 289—294.
2. Cumings J.: Water soluble proteins and enzymes in normal and in oedematous brain tissue. IV Intern. Congr. Neuropath., 1962, Thieme, Stuttgart 157—161.
3. Davis W.: Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1964, 121, 404—427.
4. Gernard K., Hajek E.: Vergleichende Untersuchungen zur quantitativen Liquor (und Harn) Eiweissbestimmung mit einem modifizierten Exton — Reagens. *Dtsch. Gesundheitswesen*, 1966.

5. Ibrahim M., Briscoe Ph. Jr., Bayliss O., Adams C.: The relationship between enzyme activity and neuroglia in the prodromal and demyelinating stages of cyanide encephalopathy in the rat. *J. Neurol. Neurosurg. Psych.*, 1963, 26, 479—486.
6. Jackman L.: Application of nuclear magnetic resonance spectroscopy in organic chemistry. Pergamon, London 1959.
7. Kaps G.: Über elektrophoretische Untersuchungen an Hirngewebe, insbesondere aus der Umgebung von Tumoren — zugleich ein Beitrag zur Pathogenese von Hirnschwellung und Hirnödemen. *Arch. Psychiat.*, 1954, 192, 115—123.
8. Karcher D., von Sande M., Lowenthal A.: Micro-electrophoresis in agar gel of proteins of the cerebrospinal fluid and central nervous system. *J. Neurochem.*, 1959, 4, 138—140.
9. Kiyota K.: Electrophoretic protein fractions and the hydrophilic property of brain tissue. I. The proteins of normal brain. II. The proteins of brain with oedema. *J. Neurochem.*, 1959, 4, 202—208 and 209—216.
10. Levis G., Amaducci L.: Effect of acute cyanide intoxication on the active transport of amino acids in brain slices. *J. Neurochem.*, 1968, 15, 459—469.
11. Lowenthal A.: Agar gel electrophoresis in neurology. Elsevier, Amsterdam 1964.
12. Nakazawa S.: RNA and protein synthesis in brain tissue during experimentally induced odema. *Brain Res.*, 1968, 7, 444—447.
13. Turský T., Šajter V.: The influence of potassium cyanide poisoning on the γ -aminobutyric acid level in rat brain. *J. Neurochem.*, 1962, 9, 519—523.
14. Wender M., Kozik M., Wajgt A.: Zmiany histoenzymatyczne neurogleju w doświadczalnym zatruciu cyjanowodorem. IX Sympoz. PTH i C. Streszczenia referatów i komunikatów, Wrocław 1971, 23—24.

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

BARBARA HOPPE, ZBIGNIEW OLEJNIK

OSTRA ENCEFALOPATIA W PRZEBIEGU WIRUSOWEGO ZAPALENIA WĄTROBY

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

Kierownik Zespołu: prof. dr M. J. Mossakowski

Klinika Chorób Zakaźnych AM w Warszawie

Kierownik Kliniki: prof. dr B. Kassur

Obraz morfologiczny zmian występujących w ośrodkowym układzie nerwowym w przebiegu przewlekłych, nieswoistych uszkodzeń wątroby, wywołanych przez różnorodne czynniki jest dobrze znany z licznych opracowań neuropatologicznych (Stadler 1936, Nikołajew 1937, Baker 1949, Adams, Foley 1953, Inose 1962, Mossakowski 1966a, 1966b, Shiraki 1967 ii.). Znacznie mniej uwagi poświęcono patologii mózgowej w przebiegu ostrych chorób wątroby (Stadler 1936, Nikołajew 1937, Noetzel, Oster 1957, Mossakowski 1966, Lahl 1967, 1969, Boughton 1968, Körtge 1969), przy czym w materiale tej grupy, dotyczącym zresztą w większości pojedynczych przypadków, podkreślano nieswoisty zazwyczaj charakter zmian mózgowych z dominującym ciężkim obrzękiem mózgu. W niektórych tylko przypadkach na obraz nieswoisty encefalopatii toksycznej nałożyły się zmiany charakterystyczne dla encefalopatii wątrobowej.

Wydaje się przeto celowe przedstawienie przypadku ostrej encefalopatii wątrobowej w przebiegu wirusowego zapalenia wątroby, w którym w okresie około 7-tygodniowej choroby wątroby rozwinął się w pełni wykształcony zespół zmian morfologicznych typowych dla encefalopatii wrotno-układowej (Sherlock i wsp. 1954, Mossakowski, Paluszkiewicz-Szymchel 1964).

OPIS PRZYPADKU

Obraz kliniczny

Chora S. T., lat 41 (nr hist. chor. 4643/1969) została przeniesiona do Kliniki Chorób Zakaźnych AM w Warszawie z Miejskiego Szpitala Zakaźnego we Wrocławiu dnia 3.XII.1969, z rozpoznaniem ostrej niewydolności wątroby ze śpiączką w przebiegu wirusowego zapalenia wątroby.

Do Szpitala we Wrocławiu chora została przyjęta dnia 13.XI.1969 w trzecim tygodniu od zachorowania, a w 4 dniu od wystąpienia żółtaczki. Poprzednio nigdy poważnie nie chorowała i nigdy nie miała żadnych dolegliwości ze strony jamy brzusznej. Początkowo stan ogólny chorej był dobry, poziom bilirubiny w surowicy nie przekraczał 5,8 mg%. W miarę rozwoju choroby żółtaczka nasilała się, wzrastał poziom bilirubiny w surowicy krwi, nie stwierdzono jednak zmian w wymiarach wątroby.

Po dwutygodniowym pobycie w szpitalu nagle pojawiło się krwawienie z nosa, wymioty oraz brak łaknienia. W dwa dni później wystąpiły zaburzenia świadomości i silne pobudzenie ruchowe, a w 12 godzin potem chora znajdowała się w stanie śpiączki.

W dniu przyjęcia do Kliniki Chorób Zakaźnych AM w Warszawie chora była nieprzytomna z bardzo słabą reakcją na ból i dotyk. Żrenice były wąskie z zachowaną reakcją na światło. Odruchy kolanowe i skokowe żywe, równe. W przeciągu 36 godzin intensywnego, typowego leczenia zachowawczego nie obserwowano poprawy stanu klinicznego. Chorą przeniesiono do I Kliniki Chirurgicznej AM (kierownik: — prof. dr J. Nielubowicz), gdzie wykonano pierwszą perfuzję krwi przez wątrobę heterogenną. Po perfuzji stan chorej nie uległ poprawie. Następnego dnia przystąpiono do ponownej perfuzji, której kontynuowania zaniechano ze względu na bardzo ciężki stan chorej. Chora znajdowała się w stanie głębokiej śpiączki, czynność serca była przyspieszona do 100/min., miarowa, tony serca głucho o prawidłowej akcentacji. Ciśnienie tętnicze krwi 100/50 mm Hg. Liczba oddechów 24/min. Dnia 6.XII chora zagorączkowała do 40°C, dołączyły się zaburzenia oddechu, które zmusiły do przejścia na oddech kontrolowany. Następnego dnia pojawiły się drgawki toniczno-kloniczne, początkowo pojedyncze, później występujące salwami. Obserwowano stały wzrost poziomu bilirubiny we krwi, sięgający do 49 mg%. Dnia 10.XII.1969 wśród objawów niewydolności oddechowej i krążeniowej chora zmarła.

Badania laboratoryjne: OB 20/40; w obrazie morfologicznym krwi — cechy niedokrwistości niedobarwliwej przy prawidłowym składzie białokrwinkowym; badanie ogólne moczu, próba tymolowa, poziom aminotransferaz AspAT i AlAT przedstawiały obraz charakterystyczny dla wirusowego zapalenia wątroby. Poziom białka całkowitego w surowicy krwi obniżony do 4,5 mg%, zasób zasad — 28 mEq; poziom amoniaku w surowicy krwi żyłnej i tętniczej przez cały okres obserwacji prawidłowy; poziom bilirubiny wybitnie podwyższony, od 5,8 mg% w okresie początkowym do 49 mg% w końcowej fazie choroby.

Badanie anatomo-patologiczne (dr Afek-Kamińska): poszerzenie wymiarów serca, zwłaszcza prawego, zwężenie lewego ujścia żylnego, zastój żylny w narządach wewnętrznych, płyn w jamie otrzewnej i w obu jamach opłucnowych, zanik wątroby, wybroczyny punkcikowate w błonie śluzowej jelit i pęcherza moczowego, płynna krew w jamie macicy, wybroczyny krwawe w obu nadnerczach, podostre zapalenie pęcherzyka żółciowego, stan po przecięciu tętnicy udowej prawej i tracheostomii. W badaniu mikroskopowym wątroby — ogniskowa martwica tkanki wątroby z rozpoczynającym się procesem zwłóknienia

Obraz neuropatologiczny

Badanie makroskopowe: Mózg po utrwaleniu w formalinie ważył 1400 g. Zawoje półkul były spłaszczone, rowki między nimi płytkie. Oporny na sklepiści półkul mózgu zmleczale. Naczynia podstawy prawidłowo ukształtowane, niezmienione. Na przekrojach poprzecznych półkul mózgu stwierdzało się znaczną błądź tkanki. Powierzchnia przekroju lśniąca. Poza tym rysunek półkul mózgu, pnia mózgowego i mózdzku nie wykazywał nieprawidłowości.

Do badania mikroskopowego pobrano wycinki z półkuli mózgu na wysokości płata czołowego, ciemieniowego i skroniowego oraz potylicznego, a ponadto ze śródmózgowia, opuszki i mózdzku. Skrawki parafinowe barwiono hematoksyliną-eozyną, fioletem krezyłu, wg metody Heidenhaina, Kanzler-Arendta, van Gieson, PAS i PAS-dimedon (wg Bulmera 1959). Skrawki mrożone impregnowano wg Cajala.

Badanie mikroskopowe. Kora mózgu, szczególnie w obrębie płatów czołowego i skroniowego wykazywała znaczne ubytki komórek nerwowych. Dotyczyło to przede wszystkim warstw III i V. Mniej nasilone ubytki neuronalne spotykano również w zwojach podstawy, formacji siatkowej pnia mózgu, oliwach dolnych i jądrze zębatym mózdzku. Ubytkom tym nie towarzyszył wytwórczy odczyn glejowy, którego brak zwracał uwagę przede wszystkim w warstwowym zanikach komórek kory. Liczne spośród zachowanych komórek nerwowych wykazywały cechy uszkodzenia pod postacią tigrolizy. Zmiany tego typu dotyczyły przede wszystkim komórek obu warstw piramidowych i komórek różnokształtnych kory mózgu. Rzadziej obserwowano je w neuronach jąder podstawy i wzgórza.

We wszystkich formacjach szarych i białych stwierdzono znaczne uogólnione pomnożenie ilości astrocytów. Występowały one zarówno w postaci prawidłowo ukształtowanych jąder astrocytów i licznych ko-

mórek przejściowych, jak również charakterystycznych nagich jąder Alzheimerera (ryc. 1). Komórki te charakteryzowały się dużym, pęcherzykowatym, ubogochromatynowym jądrem o ostrych, często podwójnych obrysach błony jądrowej. Niekiedy widoczne było jej pofałdowanie.

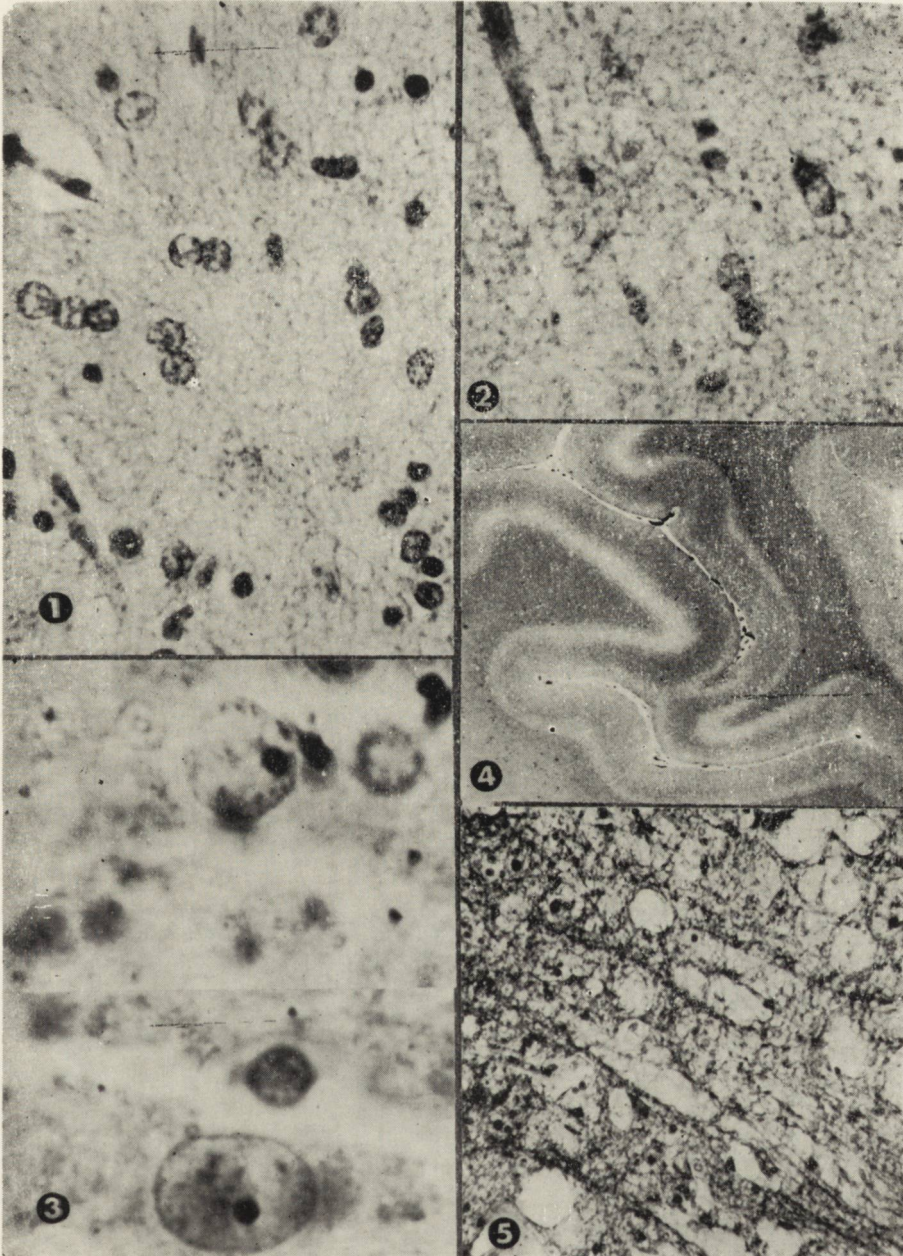
W impregnacji wg Cajala spostrzegano liczne przerosłe astrocyty włókienkowe i protoplazmatyczne. Znaczna ilość spośród nich wykazywała różnego nasilenia uszkodzenie wypustek w postaci tzw. klazmatodendrozy. W głębokich warstwach kory i w podkorowej istocie białej spotykano pojedyncze astrocyty bezwypustkowe.

Barwienie metodą PAS uwidocznilo obecność drobnych PAS-dodatnich ziarnistości skupionych dookoła nagich jąder oraz w sąsiedztwie prawidłowo wyglądających jąder astrocytów (ryc. 2). Sporadycznie spotykano ponadto PAS-dodatnie śródjądrowe wtręty w komórkach Alzheimerera typu II (ryc. 3) oraz skupienia dodatnio barwiących się ziaren w cytoplazmie komórek nerwowych. Zarówno PAS-dodatnie ziarnistości neuronalne i astrocytarne, jak i śródjądrowe wtręty w nagich jądrach zachowywały swoją barwliwość przy blokowaniu dimedonem, co wskazywało na ich glikogenowy charakter chemiczny. Nie obserwowano obecności komórek Alzheimerera typu I ani komórek Opalskiego.

W obrazie mikroskopowym przypadku dominowało natomiast występowanie ognisk gąbczastego zwyrodnienia tkanki obejmującego podkorową istotę białą i głębokie warstwy kory, przede wszystkim płatów potylicznych (ryc. 4) i czołowego. Mniej zaawansowane zgąbczenie tkanki było obecne w jądrze zębatym mózdzku, w skorupie i w gałce bladej. Wspólną cechą wszystkich ognisk stanu gąbczastego był brak komórkowego i włókienkowego odczynu glejowego w ich otoczeniu, brak bezpośredniego powiązania z układem naczyniowym oraz stosunkowo niewielkie natężenie uszkodzeń tkankowych w ich sąsiedztwie. W podkorowych ogniskach zgąbczenia, ciągnących się festonowato na długości szeregu zawojów mózgowych, osłonki mielinowe porozsuwanych przez jamki zgąbczenia włókien nerwowych zachowały prawidłowy rysunek i barwliwość (ryc. 5).

Naczynia tętnicze i żyłne we wszystkich okolicach mózgowia były wypełnione krwią. Ściany tętniczych naczyń śródmiąższowych, zwłaszcza drobnych były często nieznacznie pogrubiałe. Liczne naczynia otoczone były jedno- lub kilkurzędowymi naciekami komórek limfocytopodobnych.

W obrazie mikroskopowym przypadku zwracało ponadto uwagę poszerzenie przestrzeni okołonaczyniowych i przynaczyniowe oraz rozlane przejaśnienia mieliny w centralnej części ośrodką półowalnego.



Ryc. 1. Liczne komórki Alzheimer'a typ II w korze czołowej. H-E. Pow. 400X.

Fig. 1. Numerous Alzheimer cells type II in the frontal cortex. H-E. $\times 400$.

Ryc. 2. Ziarna PAS dodatnie wokół jąder astrocytów w podkorowej istocie białej. PAS. Pow. 400X.

Fig. 2. Accumulation of PAS positive granules around astrocyte nuclei in the subcortical white matter. PAS. $\times 400$.

Ryc. 3. Wtręty glikogenowe w nagich jądrach. PAS-dimedon. Pow. 1000×.

Fig. 3. Glycogen inclusions in naked nuclei. PAS-dimedone. ×1000.

Ryc. 4. Stan gąbczasty w okolicy pogranicza korowo-podkorowego płata potylicznego. H-E. Pow. lupowe.

Fig. 4. Spongy state in the area of cortico-subcortical junction of the occipital lobe. H-E. Magn. glass.

Ryc. 5. Stan gąbczasty w podkorowej istocie białej. Prawidłowo utrzymane osłonki mielinowe wśród ognisk zgąbczenia. Heidenhain. Pow. 400×.

Fig. 5. Spongy degeneration of the subcortical white matter. Unchanged myelin sheaths within the focus of spongiosis. Heidenhain. ×400.

OMÓWIENIE PRZYPADKU

Obraz kliniczny przypadku wykazywał zespół cech charakterystycznych dla ostrej encefalopatii wątrobowej (Dastur i wsp. 1963, Kortge 1969, Lahl 1969, Ritt i wsp. 1969). Były to przede wszystkim zaburzenia świadomości, które narastając stopniowo, w przeciągu 12 godzin przeszły w stan głębokiej śpiączki oraz drgawki toniczno-kloniczne. Zespół neurologiczny stanowił powikłanie wirusowego zapalenia wątroby, prowadzącego do ogniskowej martwicy tkanki wątrobowej.

W charakterystycznym zespole zaburzeń biochemicznych, w naszym przypadku, na uwagę zasługuje prawidłowy poziom amoniaku w krwi tętniczej i żylniej, utrzymujący się przez cały okres trwania choroby, zarówno przed jak i po perfuzji. Podobne wyniki w przypadkach wirusowego zapalenia wątroby, powikłanego śpiączką opisywali poprzednio Davis i wsp. (1966) oraz Kassur i Olejnik (1971). Drugim elementem godnym podkreślenia był w naszym przypadku wysoki poziom bilirubiny w surowicy krwi, na której udział w patogenezie śpiączki wątrobowej w przypadkach z jej znacznym podwyższeniem zwracali uwagę Davis i wsp. (1966), Boughton (1968) i Ritt i wsp. (1969). Poziom bilirubiny u naszej chorej narastał początkowo stopniowo od 5,8 mg% w momencie wystąpienia żółtaczk, a następnie uległ gwałtownemu podwyższeniu do 29 mg% w okresie bezpośrednio przedśpiączkowym, a do 49 mg% po perfuzji przez wątrobę heterogenną.

W obrazie morfologicznym przypadku stwierdziliśmy w pełni wykształcony zespół uszkodzeń tkankowych charakterystycznych dla encefalopatii wątrobowej typu Inose (Inose 1962, Shiraki 1967), lub encefalopatii wrotno-układowej (Sherlock i wsp. 1954, Mossakowski, Szymchel-Paluszkiwicz 1964), który występuje zazwyczaj w następstwie długotrwałych, przewlekłych uszkodzeń wątroby, lub po okresie kilkuletniego istnienia naturalnie lub chirurgicznie wytworzonych przepływów krwi z układu wrotnego do żył próżnych dolnych z pominięciem filtra wątrobowego. W naszym przypadku natomiast charakterystyczny zespół uszkodzeń morfologicznych ukształtował się w okresie około 7 tygodni trwającej choroby, wliczając blisko 3-tygodniowy okres niedomagań poprzedzających wystąpienie żółtaczk. Czas trwania choroby od wystąpienia żółtaczk wynosił zaledwie 1 miesiąc. Charakter zmian patologicznych stwierdzonych w wątrobie stanowił również wykładnik krótkotrwałości procesu chorobowego.

Na obraz morfologiczny przypadku składał się bogaty zespół zmian astrogleju oraz charakterystyczne ogniska zwyrodnienia gąbczastego tkanki. Ponadto były obecne cechy obrzęku mózgu i nieswoiste uszkodzenia komórek nerwowych. W dotychczasowych opisach zmian mózgo-

wych, w przebiegu ostrych uszkodzeń wątroby podkreślano nieswoisty najczęściej charakter uszkodzeń, na które nakładały się pojedyncze morfologiczne wykładniki encefalopatii wątrobowej, zazwyczaj w postaci rozplemu astrocytów protoplazmatycznych i komórek Alzheimera typu II (Stadler 1936, Nikolajew 1937, Mossakowski 1966, Lahl 1967). Mossakowski i Kraśnicka (1972) w przeglądzie ponad 20 przypadków śpiączki wątrobowej w przebiegu ostrych uszkodzeń wątroby, stwierdzili przewagę zmian o cechach nieswoistej encefalopatii toksycznej, przy znacznie mniej licznych nieprawidłowościach tkankowych typowych dla encefalopatii wątrobowej. Wśród nich zwyrodnienie gąbczaste tkanki, o nasileniu i rozległości znacznie mniejszej niż w naszym przypadku stanowiło zjawisko najrzadsze. W znanych z piśmiennictwa opisach dotyczących ostrej encefalopatii wątrobowej, jedynie w 5 przypadkach z serii Noetzla i Oстера (1957), występowały podobne do naszego obrazu zwyrodnienia gąbczaste. Autorzy nie wspominają jednak wcale o obecności wtrętów glikogenowych w nagich jądrach.

Dominujące w obrazie neuropatologicznym zmiany glejowe, polegające na współlistnieniu rozplemu i przerostu astrogleju z oznakami jego zwyrodnienia w postaci klazmatodendrozy, nagich jąder, glikogenowych wtrętów śródjądrowych oraz współtowarzyszące cechy jego czynnościowej niewydolności wyrażającej się między innymi brakiem włókienkowego odczynu wytwórczego w obszarach ubytków neuronalnych i zgąbceń tkankowych, wskazują, że w ostrej encefalopatii wątrobowej, podobnie jak w przewlekłej uszkodzenia tkankowe mają charakter pierwotnej gliopatii. Mossakowski i wsp. (1970) otrzymali identyczne zmiany glejowe w hodowli tkankowej przetrzymywanej w surowicy chorych ze śpiączką wątrobową różnego pochodzenia.

Patomechanizm zwyrodnień gąbczastych tkanki wydaje się jednak bardziej złożony, a ich rozkładu topograficznego nie można wytłumaczyć samym, ciężkim nawet uszkodzeniem astrogleju i jego niewydolnością czynnościową. Wydaje się, że należy uwzględnić dodatkowy udział czynnika naczyniowego, związanego z właściwościami anatomicznymi unaczynienia pogranicza korowo-podkorowego, jak to sugeruje Mossakowski (1966), na podstawie prac Lazorthesa i wsp. (1960) i van den Bergsa (1961).

Nie wyjaśniony pozostaje w naszym przypadku mechanizm patogenetyczny samych uszkodzeń glejowych. Rola amoniaku jako czynnika bezpośrednio odpowiedzialnego za uszkodzenie gleju astrocytarnego wydaje się być wątpliwa, wobec jego prawidłowego poziomu przez cały okres trwania choroby, mimo pewnych danych zarówno z patologii ludzkiej (Bruton i wsp. 1970) jak i doświadczalnej (Mossakowski i wsp. 1970), wskazujących na jego udział w kształtowaniu gliopatii pochodzenia wą-

trobowego. Mossakowski i wsp. (1972) zwracają jednak uwagę, że nie tyle sam amoniak, ile każde upośledzenie jego detoksykacji w układzie nerwowym może prowadzić do powstania zmian glejowych, przy czym poziom amoniaku w surowicy krwi może być zarówno podwyższony, jak i prawidłowy.

W rozważaniach dotyczących czynników uszkadzających tkankę glejową, w naszym przypadku należy zapewne brać również w rachubę wpływ bliżej nieokreślonych produktów toksycznych, uwalnianych z tkanki wątrobowej w czasie jej rozpadu, na co już w latach trzydziestych zwracał uwagę Nikolajew (1937), lub związków azotowych pochodzących z jelit, a dostających się do krwiobiegu w następstwie wypadnięcia odtruwającej czynności uszkodzonej wątroby (Sherlock i wsp. 1956). W świetle prac doświadczalnych Schutty (1967), Silberberga i Schutty (1967) oraz Hai-Chen i wsp. (1969) prowadzonych zarówno *in vivo* jak i *in vitro*, wskazujących na udział bilirubiny w kształtowaniu morfologicznych wykładników encefalopatii wątrobowej nie można w naszym przypadku wyłączyć również patogenicznej roli bilirubiny, osiągającej wysokie wartości.

В. Гоппе, З. Олейник

ОСТРАЯ ЭНЦЕФАЛОПАТИЯ ПРИ ВИРУСНОМ ГЕПАТИТЕ

Резюме

Описанный случай касается 42-летней женщины, у которой во время вирусного гепатита внезапно появились признаки недостаточности печени. Болезнь продолжалась 7 недель. Несмотря на короткое время болезни морфологические изменения представляют вполне оформленную картину гепатогенной энцефалопатии.

В обсуждении патомеханизма морфологических изменений рассматривается роль токсического и сосудистых факторов в возникновении острой гепатогенной энцефалопатии.

В. Ноппе, З. Олейник

ACUTE ENCEFALOPATHY IN THE COURSE OF VIRAL HEPATITIS

The case of a 41-year-old woman is described in which in the course of viral hepatitis suddenly symptoms of acute liver insufficiency appeared. The illness lasted seven weeks. In spite of the short duration of the disease the morphological changes have a full picture of hepatic encephalopathy.

The pathomechanism of the morphological changes and the role of the toxic and vascular factors in the development of acute hepatic encephalopathy are discussed.

PIŚMIENICTWO

1. Adams H. D., Foley J. M.: The neurological disorders associated with liver disease. *Res. Publ. Assoc. Nerv. Ment. Dis.*, 1953, 32, 198—237.
2. Baker A. B.: The central nervous system in hepatic disease. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1949, 8, 283—294.
3. Bergh van den R.: La vascularisation arterielle intracerebral. *Acta Neurol. Belg.*, 1961, 11, 1013—1023.
4. Bruton C. J., Corselis J. A. N., Russel A.: Hereditary hyperamonemia. *Brain*, 1970, 93, 423—435.
5. Boughton C. R.: Viral hepatitis in Sydney: A review of fatal illnesses in a hospital series. *Med. J. Aust.* 1968, 2, 143—350.
6. Bulmer D.: Dimedon as an aldehyde blocking reagent to facilitate the histochemical demonstration of glycogen. *Stain. Tech.*, 1959, 34, 95—101.
7. Dastur D. K., Seshadri R., Talgeri V. R.: Liver-brain relationship in hepatic coma. *Arch. Inter. Med.*, 1963, 112, 899—916.
8. Davis M. A., Peters R. L., Redeker A. G., Reynolds T. B.: Appraisal of the mortality in acute fulminant viral hepatitis. *New Eng. J. Med.*, 1968, 278, 1248—1253.
9. Hai-Chen, Ding-joe Tsai, Chin-hua Wang, Yin-chen Chen: An electron microscopic and radioautographic Study on experimental Kernicterus. I Bilirubin transport via astroglia. 1969. *Amer. J. Path.*, 1969, 56, 31—59.
10. Inose T.: Neuropathologie der hepatozerebralen Erkrankungen nebst einigen histochemischen Bemerkungen. *Proc. of the Intern. Congr. of Neuropathology*. G. Thieme. Stuttgart 1962, VI, 170—173.
11. Kassur B., Olejnik Z.: Leczenie pozaustrojową perfuzją wątroby zwierzęcej chorych ze śpiączką wikłającą wirusowe zapalenie wątroby. *Pol. Tyg. Lek.*, 1971.
12. Kortge P.: Coma hepaticum. *Internist* 1969, 10, 411—419.
13. Lahl P.: Zur Häufigkeit astrocytärer Gliaveränderungen (Leberglia) bei hepatogenen Erkrankungen, insbesondere Leberzirrhosen und ihre Abhängigkeit vom Funktionszustand des Organs. *Zbl. allg. Path.*, 1967, 110, 518—545.
14. Lahl R.: Ein Beitrag zur neurologischen Symptomatik hepato cerebral Krankheitsbilder. *Fortschr. Neurol. Psychiat.*, 1969, 37, 77—91.
15. Lazorthes G., Poulhes J., Bastide G., Rouleau J., Amaral-Gomes F.: Les grands courants arteriels du cerveau. Recherche anatomique et deductions sur la pathogenie et la topographie des hemorrhagies cérébrales. *Presse Med.*, 1960, 68, 137—140.
16. Mossakowski M. J., Szymchel-Paluszkiwicz J.: Encephalopatia porto-systemica. *Neuropat. Pol.*, 1964, 2, 179—192.
17. Mossakowski M. J.: Some aspects of the morphology and histochemistry of the cerebral changes in hepatic coma. *Proc. of the V Intern. Congr. of Neuropathology*. Zürich 1969, pp. 981—986, Exc. Med. Found. 1966a.
18. Mossakowski M. J.: Patomorfologia i histochemia spontanicznych i doświadczalnych encefalopatii pochodzenia wątrobowego. *Neuropat. Pol.*, 1966b, 4, 231—304.
19. Mossakowski M. J., Kraśnicka Z.: Pathomorphology of cerebral changes in acute liver diseases. *Berichte II. Intern. Symp. f. Neuropathologie*, Wien 1972.
20. Mossakowski M. J., Renkawek K., Kraśnicka Z., Śmiałek M., Pronaszko A.: Morphology and histochemistry of Wilsonian and hepatogenic gliopathy in tissue culture. *Acta Neuropath. (Berl.)*, 1970, 16, 1—16.

21. Mossakowski M. J., Kraśnicka Z., Renkawek K.: Contribution des études des cellules d'Opalski à la connaissance de la pathogenese de lesions du système nerveux central dans les maladies hepatocerebrales. *Neuropat. Pol.*, 1972, 3, 385—394.
22. Nikolajew V.: Zur Frage der Beziehungen zwischen Leber und Gehirn. *Virchows Arch.*, 1937, 299—309—315.
23. Noetzel H., Oster C.: Über Gehirnveränderungen bei Lebererkrankungen. *Beitr. Path. Anat.*, 1957, 118, 325—339.
24. Ritt D. J., Whelan G., Werner D. J., Eigenbrodt E., Schenker S., Combes B.: Acute hepatic necrosis with stupor or coma. *Medicine*, 1969, 48, 151—172.
25. Schutta H. S.: Bilirubin encephalopathy in the Gunn rat. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1967, 26, 377—396.
26. Sherlock S., Summerskill W. H. J., Dawson A. M.: The treatment and prognosis of hepatic coma. *Lancet*, 1956, 11, 689—694.
27. Sherlock S., Summerskill W. H. J., White L. P., Phear A. E.: Portal-systemic encephalopathy: neurological complication of liver disease. *Lancet*, 1954, II, 454—462.
28. Shiraki H.: The comparative study of various types of hepatocerebral diseases in the Japanese. In: *The Central Nervous System*. Ed. Orville T. Bailey, 1968, 252—272.
29. Silberberg D. H., Schutta H. S.: The effects of unconjugated bilirubin and related pigments on cultures of rat cerebellum. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1967, 26, 572—583.
30. Stadler H.: Histopathologische Untersuchungen zur Frage der Beziehungen zwischen Leber und Gehirnveränderungen. *Z. Neurol.*, 1936, 154, 626—657.

Adres autorów: Zespół Neuropatologii CMD i K PAN, Warszawa, ul. Dwor-kowa 3.

ANDRZEJ BRZECKI, ANDRZEJ GRUSZKA, ANDRZEJ ZABIEGA, CZESŁAWA
MYŚLICKA

ZMIANY W MÓZGU W PRZEBIEGU WYSPIAKA TRZUSTKI

Klinika Neurologiczna AM we Wrocławiu
Kierownik: prof. dr St. Falkiewiczowa

Objawy neurologiczne w przebiegu wyspiaków trzustki spotyka się stosunkowo często (Schleussing 1924, Opalski 1938, Rothfeld, Stein 1938, Lawrance i wsp. 1942, Wechsler 1947, Walshe 1949, Bidziński 1959, Gruk i wsp. 1970). Pozostaje to w wyraźnej dysproporcji do skąpej ilości weryfikacji morfologicznych przypadków, w których powtarzające się stany ciężkiego niedocukrzenia dominowały w klinicznym zespole chorobowym. W piśmiennictwie polskim z ostatnich 25 lat nie spotkaliśmy opisu zmian mikroskopowych mózgu w przebiegu hipoglikemii. Zespół morfologiczny encefalopatii hipoglikemicznej jest mało charakterystyczny. Poszczególne obserwacje różnią się topografią i nasileniem uszkodzeń. Zmiany patologiczne występują z reguły w formacjach szarych, przede wszystkim w korze, znacznie rzadziej opisywano uszkodzenia istoty białej. Obraz morfologiczny jest wypadkową działania podstawowego czynnika patogenetycznego i szeregu dodatkowych czynników zarówno mózgowych jak i ogólnoustrojowych.

OPIS PRZYPADKU

H. M. — 37-letni robotnik, przebywał w Klinice Neurologicznej AM we Wrocławiu od 9.XI.69 r. do 15.XI.69 r. (nr hist. chor. 1004/69). Wiele tygodni przed przyjęciem odczuwał nadmierną senność w godzinach porannych (na czczo). Wielokrotnie występowały napadowe stany zwężenia świadomości. Po 4 miesiącach choroby został przyjęty do Kliniki Neurologicznej bez ustalonego rozpoznania. Obserwowano napady zamroczenia o zmiennym nasileniu z pobudzeniem ruchowym, występujące w pierwszych dniach pobytu w Klinice rano i po południu i znikające po spożyciu posiłku lub dożylnym podaniu glukozy. Poziom cukru we

krwi w okresie zamroczenia obniżał się do 19 mg%, a w płynie m.-rdz. do 21 mg%. W okresie międzynaпадowym wzrastał do normy i powyżej normy. Od dnia przyjęcia utrzymywały się objawy niedowładu połowicznego o miernym nasileniu. Wobec powtarzających się, mimo ciągłego podawania glukozy, stanów napadowego niedocukrzenia, chorego skierowano do I Kliniki Chirurgicznej we Wrocławiu (kierownik: prof. dr K. Czyżewski), gdzie usunięto guz głowy trzustki o utkaniu wyspiaka*.

W końcowym okresie choroby pojawiły się napady sztywności odmóżdzeniowej i głęboka śpiączka. Zejście śmiertelne nastąpiło w dwa tygodnie po zabiegu, a w 6 miesiącu choroby.

Sekcja ogólna (Zakład Anatomii Patolog. AM we Wrocławiu, kierownik: prof. dr Z. Albert, nr protokołu: 962/69) wykazała odoskrzelowe zapalenie płuc oraz grubościenną torbiel głowy trzustki wypełnioną śmietanowatą, gęstą treścią. Zmiana ta odpowiadała niszy po usuniętym operacyjnie guzie.

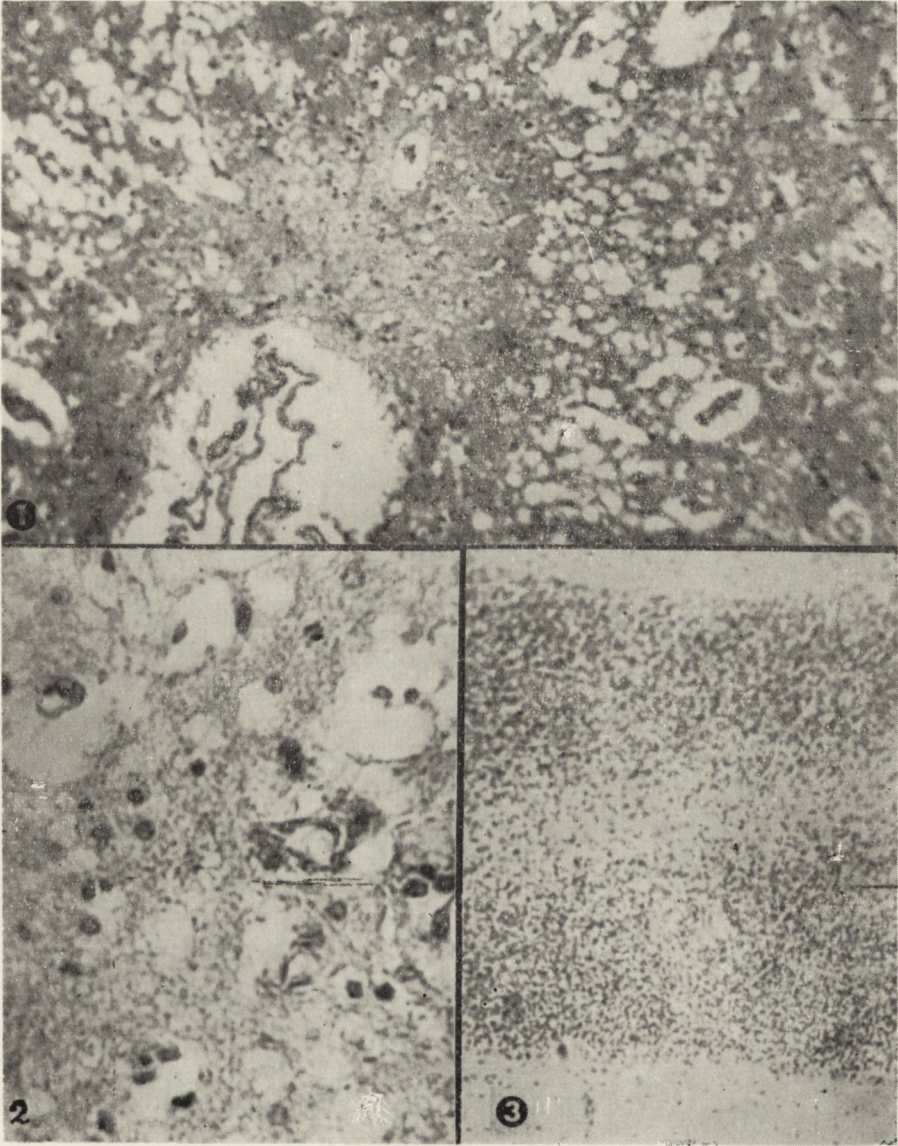
Sekcja makroskopowa mózgu wykazała miernie nasilony obrzęk półkul oraz drobne ogniska rozmiękania w płacie skroniowym i ciemieniowym prawym.

Zmiany mikroskopowe dotyczyły głównie formacji szarych ze szczególnym nasileniem uszkodzeń w korze. W obu półkulach mózgu, zwłaszcza w płatach czołowych, ciemieniowych i skroniowych stwierdzono rozległe ubytki neuronów, aż do całkowitego braku komórek nerwowych. Ubytki te prowadziły do powstania stanów gąbczastych, miejscami warstwowych lub pseudowarstwowych, przeważnie jednak obejmujących całą szerokość kory i kończących się ostro na granicy istoty białej (ryc. 1). Zmianom gąbczastym w korze towarzyszył wyraźny odczyn gleju, przede wszystkim w postaci przerostu i pomnożenia astrocytów, ponadto rozplem drobnych naczyń (ryc. 2). W rogu Amona stwierdzono ubytek komórek sektora Sommera z reparacyjnym odczynem gleju i obecnością tucznych postaci astrocytów. W prążkowiu i gałce bladej nie stwierdzono wyraźnych ubytków komórkowych, natomiast w pniu mózgowym dominowało uszkodzenie neuronów, przede wszystkim w postaci przewlekłego schorzenia komórkowego. W mózdzku występowały rozległe ubytki komórek Purkinjego i nieznaczne tylko przerzedzenie warstwy ziarnistej (ryc. 3).

OMÓWIENIE

W przedstawionym przypadku obraz morfologiczny odpowiada encefalopatii hipoglikemicznej, a charakter i nasilenie uszkodzeń znajdują

* Badanie biopsyjne nr 19061/69 — Zakład Anatomii Patolog. AM we Wrocławiu; kierownik: prof. dr Z. Albert.



Ryc. 1. Kora czołowa. Stan gąbczasty, przebiegający równoległe do powierzchni kory. H-E. Pow. 96 \times .

Fig. 1. Frontal cortex. Spongy degeneration situated parallel to the cortex surface. H-E. $\times 96$.

Ryc. 2. Kora cieniowa. Rozplem astrogleju i liczne naczynia włosowate. H-E. Pow. 474 \times .

Fig. 2. Parietal cortex. Astroglial proliferation and numerous capillary vessels. H-E. $\times 474$.

Ryc. 3. Kora mózdzku. Ubytki komórek Purkinjego. Nissl. Pow. 96 \times .

Fig. 3. Cerebellar cortex. Complet loss of Purkinje cells. Nissl. $\times 96$.

swoje uzasadnienie w kilkumiesięcznym przebiegu choroby z wielokrotnie powtarzającymi się stanami ostrego niedocukrzenia.

Encefalopatia typu hipoglikemicznego należy do grupy anoksyjnych uszkodzeń mózgu, podobnie jak zmiany w zatruciu tlenkiem węgla i cyjankami oraz w ostrej niedomodze krążenia, dekompresji atmosfery i w innych procesach chorobowych, w przebiegu których występuje ograniczenie dopływu tlenu do ośrodkowego układu nerwowego lub niemożność jego zużytkowania przez komórkę nerwową. Glukoza jest substratem stanowiącym jedno z głównych źródeł energii dla procesów oksydacyjnych w mózgu i obniżenie jej poziomu powoduje spadek zużycia tlenu przez tkankę nerwową (Lawrance i wsp. 1942). Rezerwy glukozy wystarczają tkance mózgowej zaledwie na 10—15-minutowe przeżycie (doświadczenia na kotach — Geiger 1958).

Wielu autorów podkreśla, że zmiany morfologiczne w encefalopatii hipoglikemicznej występują przede wszystkim w korze mózgu, przy czym topografia i charakter uszkodzeń są podobne do zmian występujących w wyniku nagłego zatrzymania czynności serca i oddechu, a więc będących następstwem pierwotnej anemizacji (Grunthal cyt. wg Pentschewa 1958, Lawrance i wsp. 1942, Courville 1957). Wyrazem anemizacji pierwotnej jest przede wszystkim martwica neuronów kory mózgowej, najsilniej wyrażona w obrębie rogu Amona; mniej wrażliwe są komórki prążkowania, warstwy ziarnistej mózdzku oraz wzgórza (Courville 1957, Scholz 1958, Pentschew 1959, Osetowska 1962). We wtórnym niedotlenieniu zmiany występują typowo: w gałce bladej, ciele podwzgórzowym, prążkowniu, istocie czarnej i jądrze zębatym (Scholz 1958). Wyjątek stanowi kora Amona, która podobnie jak w poprzedniej grupie ulega znacznemu uszkodzeniu (Scholz 1958, Pentschew 1958, Osetowska 1962).

Topografia zmian w przedstawionym przypadku z dominującym uszkodzeniem kory odpowiada w zasadzie obrazowi pierwotnego niedotlenienia. Należy przyjąć, że powtarzające się spadki poziomu glukozy w stopniu prowadzącym do ostrej anoksji tkanki spowodowały uszkodzenie i martwicę neuronów, przede wszystkim w obszarach szczególnie wrażliwych na niedotlenienie.

Stwierdzone w naszym przypadku rozmieszczenie zmian strukturalnych nie występuje jednak we wszystkich przypadkach encefalopatii hipoglikemicznej. Odrębności przypisać zapewne należy różnicom w dynamice procesu niedotlenienia, warunkującym nasilenie i topografię uszkodzeń w mózgu. Lindenberga (1955) zwraca uwagę, że nie jest sprawą obojętną, czy niedotlenienie występuje ostro i trwa krótko, czy też rozwija się mniej ostro, ale utrzymuje się przez dłuższy przeciąg czasu. W drugim przypadku komórka nerwowa może łatwiej utrzymać się przy życiu, jednak staje się bardziej podatna na uszkodzenie przy ponownej

anoksji. Neurony kory mózgowej są prawdopodobnie bardziej wrażliwe na jednorazowe i gwałtowne niedotlenienie, natomiast przy przedłużonym braku tlenu łatwiej ulegają uszkodzeniu komórki nerwowe struktur podkorowych.

Poza nasileniem i dynamiką niedotlenienia istotny wpływ na rozmieszczenie uszkodzeń mają miejscowe warunki krążenia (ukrwienie mózgu). Obszary leżące na pograniczu unaczynienia dużych pni tętniczych są bardziej wrażliwe na niedotlenienie, ponieważ są gorzej ukrwione (Schneider 1963). Może to powodować większe nasilenie zmian w tych okolicach (Lindenberg 1955), jak to miało również miejsce w przedstawionym przez nas przypadku.

Nie bez wpływu na topografię uszkodzeń są różnice w zapotrzebowaniu metabolicznym poszczególnych struktur, a także skurcze naczyń, których występowanie w warunkach choroby pod wpływem różnych czynników w tym również mechanicznych sugeruje Schneider (1963). Różnice nasilenia i lokalizacji zmian występujące w tej samej postaci niedotlenienia wskazują na złożony mechanizm powstawania anoksyjnych uszkodzeń tkanki mózgowej. W przedstawionym przypadku warto również zwrócić uwagę na możliwość nasilenia się zmian na skutek narkozy i przebytego zabiegu operacyjnego.

A. Бжецки, А. Грушка, А. Забега, Ч. Мысльница

МОЗГОВЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЛУЧАЕ ИНСУЛОМЫ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Резюме

Дается описание клинических симптомов у 37-летнего мужчины с инсуломой поджелудочной железы. Больной умер на 6 месяц болезни. Микроскопическое исследование головного мозга обнаружило обширные изменения в коре и мозжечке при относительно нетронутых базальных ядрах. Топография изменений соответствовала картине первичной гипоксии острой формы.

A. Brzecki, A. Gruszka, A. Zabiega, C. Myślicka

CEREBRAL CHANGES IN A CASE OF PANCREATIC INSULOMA

Summary

Clinical symptoms in 37-year-old man with pancreas insuloma are described. The patient died in the 6th month of the disease. Microscopic examination of the brain revealed diffuse changes in cortex and cerebellum with relatively well preserved basal nuclei. Thus the topography of changes corresponded to the picture of primary acute hypoxia.

PIŚMIENICTWO

1. Bidziński J.: Objawy neurologiczne spowodowane hipoglikemią. *Neurol. Neurochir. Psych. Pol.*, 1959, 3, 327—339.
2. Courville C. B.: Late cerebral changes incident to severe hypoglycemia. (Insulin shock). *Arch. Neurol. Psych.*, 1957, 78, 1—14.
3. Gruk M., Mikołajczyk A., Rączkiewicz A.: Przypadek leczonego operacyjnie insulinoma malignum, dającego objawy padaczki. *Pol. Tyg. Lek.*, 1970, 26, 978—979.
4. Geiger A.: Correlaton of brain metabolism and function by use of a brain perfusion method in situ. *Physiol. Rev.*, 1958, 1, 1—20.
5. Lawrance E. B., Meyer A., Nevin S.: The pathological changes in the brain in fatal hypoglycaemia. *Quart. J. Med.*, 1942, 11, 181—201.
6. Lindenberg B.: Compression of brain arteries as pathogenic factor for tissue necrosis and their areas of predilection. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1955, 14, 223—243.
7. Opalski A.: Objawy neurologiczne w przebiegu niedocukrzenia insulinowego u chorych psychicznie. *Rocznik Psychiat.*, 1938, 31, 112—156.
8. Osetowska E.: Próba systematyzacji zmian w mózgu w przebiegu chorób serca i płuc. *Pol. Tyg. Lek.*, 1962, 10, 367—372.
9. Pentschew A.: Endogene (hormonale) Vergiftungen. *Insulin. Hdb. spez. path. Anat. u. Hist.* Lubarsch., Henke, Rössle. Springer-Verlag, Berlin 1958, XIII/2, B 2373—2398.
10. Rothfeld J., Stein W.: Sprawozdanie z posiedzenia Oddz. Tow. Neurol. Neurologia Pol., 1938, 11, 408.
11. Schneider M.: Critical blood pressure in the cerebral circulation (selective vulnerability of the brain in hypoxaemia). Oxford 1963.
12. Schleussing S.: cyt. wg poz. 9 (Pentschew 1958).
13. Scholz W.: Topisticher Ausdruck und Vulnerabilitätsordnung der Gewebeschäden bei Hypoxämie und cerebraler Oligämie. *Hdb. spez. path. Anat. u. Hist.* Lubarsch, Henke, Rössle. Springer-Verlag, Berlin 1958, XIII/1 B, 1330—1285.
14. Wechsler I. S.: *Textbook of clinical neurology.* London 1947.
15. Walshe F.: *Diseases of the nervous system.* Livingstone, Edinburgh 1949.

Adres autorów: Klinika Neurologiczna AM we Wrocławiu, ul. Traugutta 118.

MARIA DĄMBSKA, JAN KORTHALS, MIROSLAW J. MOSSAKOWSKI

POSTĘPUJĄCA WIELOOGNISKOWA LEUKOENCEFALOPATIA

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

W roku 1958 Åstrom i wsp. opisali po raz pierwszy postępującą wieloogniskową leukoencefalopatię, jako odrębną pod względem klinicznym i morfologicznym postać chorób demielinizacyjnych, występującą w wieku dojrzałym, a stanowiącą schorzenie towarzyszące chorobom wyniszczającym typu ziarnicy złośliwej lub białaczki limfatycznej.

Od tego czasu pojawiły się liczne, dalsze opisy tego zespołu chorobowego, potwierdzające w zasadzie pierwotne przypuszczenia Åstroma i wsp. (1958), Cavanagha i wsp. (1959) oraz Richardsona (1961) o związku zmian w ośrodkowym układzie nerwowym ze wspomnianymi powyżej chorobami układu siateczkowo-śródbłonkowego (Weinstein i wsp. 1963, Bethlem i wsp. 1964, Woolsey, Nelson 1965, Jellinger, Seitelberger 1965, Müller, Watanabe 1967, Dolmant i wsp. 1967, Woodhouse i wsp. 1967, Totsuka i wsp. 1969 i in.). Jednakże w szeregu przypadkach ciężki zespół neurologiczny i charakterystyczne uszkodzenia morfologiczne towarzyszyły również innym procesom chorobowym, takim jak nowotwory dotyczące innych układów, poza układem siateczkowo-śródbłonkowym, gruźlica, sarkoidoza, kolagenozy, długoletnia dychawica oskrzelowa i in. (Løken i wsp. 1962, D'Agostino i wsp. 1963, Deep i wsp. 1964, ZuRhein, Chou 1965, Stoff 1966, Cervós-Navarro i wsp. 1969 i in.). Wśród ponad 50 znanych dotychczas przypadków choroby, opisano co najmniej kilka, w których zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym miały charakter pierwotny, nie towarzysząc żadnej z wymienionych chorób wyniszczających (Silverman, Rubinstein 1965, Jellinger, Minauf 1969, Fermaglich i wsp. 1969, Bolton, Rozdilsky 1971).

Przedstawiany przypadek reprezentuje również tę rzadką grupę pierwotnych postępujących wieloogniskowych leukoencefalopatii. Do jego przedstawienia skłoniły nas pewne odrębności kliniczne i morfologiczne, jak i fakt, że w piśmiennictwie polskim nie spotkaliśmy ani jednego opisu postępującej wieloogniskowej leukoencefalopatii.

OPIS PRZYPADKU

Obraz kliniczny

Chora J. P., lat 67, dwukrotnie przebywała w oddziale neurologicznym Szpitala Grochowskiego (Ordynator — doc. dr med. H. Nielubowiczowa). W czasie pierwszego pobytu w szpitalu stwierdzono dyskretny niedowład lewostronny, który przypisywano ogniskowym zaburzeniom krążenia w mózgu u osoby z miażdżycą i wieloletnim nadciśnieniem. Po dwóch latach pojawiły się objawy niedowładu prawostronnego, narastającego stopniowo w okresie 5 miesięcy. Nagle wystąpiły zaburzenia mowy i ogniskowe napady drgawkowe, obejmujące prawą połowę twarzy. Przy drugim przyjęciu do szpitala stwierdzono stan zamroczenia, niedowład prawostronny z osłabieniem napięcia mięśniowego, oraz wzmoczenie napięcia mięśniowego i wygórowanie odruchów po stronie lewej i sztywność karku na 2 pp. Ciśnienie krwi 170/110 mm Hg.

Badania dodatkowe poza nieznaczną pleocytozą w płynie mózgowo-rdzeniowym i obecnością białka w moczu, nie wykazywały odchyłeń od stanu prawidłowego. OB 60/80.

Stan chorej pogarszał się, powtórzyły się kilkakrotnie drgawki w zakresie prawej połowy twarzy, ze zwrotem gałek ocznych w prawo.

Chora zmarła po dwu tygodniach pobytu w szpitalu, a w ponad 2 i pół roku od wystąpienia pierwszych objawów neurologicznych.

Rozpoznanie kliniczne: *Processus organicus cerebri. Hemiplegia dextra lente progrediens. Epilepsia Jacksoni sub finem vitae. Nephrocardiosclerosis in stadio insufficientiae circulatoriae.*

Na sekcji ogólnej stwierdzono przerost odśrodkowy serca, znacznego stopnia uogólnioną miażdżycę naczyń oraz włóknistą gruźlicę szczytu płuca lewego, a ponadto zanik tłuszczowy nerek i rozedmę oraz przekrwienie żylne płuc.

Obraz neuropatologiczny

Mózg utrwalony w formalinie wykazywał średniego stopnia zmiany miażdżycowe w naczyniach podstawy oraz cechy miernie wyrażonego zaniku. Na przekrojach półkul mózgu stwierdzono rozległe źle ograniczone ogniska obniżonej spoistości i odbarwienia tkanki położone w istocie białej obu okolic ciemieniowo-potylicznych.

Do badania mikroskopowego pobrano wycinki z obu półkul mózgu na poziomie płatów czołowych, ciemieniowych i potylicznych oraz z mózdzku i pnia mózgu. Materiał zatapiano w parafinie. Skrawki mikroskopowe barwiono hematoksyliną eozyną i fioletem krezyłu, a ponadto metodami

Heidenhaina, Kanzler-Arendta, van Gieson oraz PAS. Dodatkowe skrawki mrozkowe barwiono na ciała tłuszczowe.

W obrazie lupowym w istocie białej obu półkul widoczne były liczne rozsiane ogniska demielinizacji, różniące się od siebie rozmiarami i charakterem odgraniczenia od tkanki otaczającej. W płacie czołowym rozlane pole demielinizacji obejmowało część centralną istoty białej (ryc. 1). W innych okolicach występowały drobne, ostro ograniczone ogniska rozpadu mieliny (ryc. 2), położone na tle jej rozlanych zblednięć, które dominowały w innych jeszcze obszarach półkul mózgu (ryc. 3). W obu okolicach ciemieniowo-potylicznych występowały rozległe ogniska demielinizacji obejmujące znaczne obszary podkorowej istoty białej, niekiedy z charakterystycznym zajęciem włókien łukowatych (ryc. 4). Mózg i pień mózgu nie wykazywały zmian.

Badanie mikroskopowe wykazało, że ogniska te znajdowały się w różnych fazach procesu patologicznego.

W ogniskach najwcześniejszych stwierdzano jedynie rozlane zblednięcie osłonek mielinowych i rozrzedzenie utkania. Ogniska świeże charakteryzowały się bogatym odczynem komórkowym, przede wszystkim ze strony przerosłych astrocytów, mniej zaś mikrogleju (ryc. 5). Zwracał uwagę prawie całkowity brak komórek skąpowypustkowych. Występowały tu natomiast okołonaczyniowe skupienia komórek żernych lub drobne przynaczyniowe nacieki, składające się z nielicznych limfocytów, histiocytów i pobudzonego mikrogleju (ryc. 6).

W polach z zaawansowanym rozpadem mieliny struktura tkanki była bardziej rozrzedzona. Towarzyszył jej znaczny rozplem mikrogleju i astrocytów. Występowały tu liczne przerosłe, niekiedy olbrzymie astrocyty, często wielojądrzaste lub z olbrzymimi, nieprawidłowo ukształtowanymi, blastomatycznymi jądrami (ryc. 7).

Olbrzymie jądra astrocytarne charakteryzowały się nieregularnym kształtem, hyperchromazją i nieprawidłowym bogactwem i rozmieszczeniem chromatyny (ryc. 7). Nacieki okołonaczyniowe były mniej liczne w ogniskach starszych, choć zdarzały się niekiedy i tu kilkurzędowe układy limfocytów dokoła naczyń.

Ogniska najstarsze cechowało największe rozrzedzenie utkania i zubożenie komórkowe. Jednakże i w nich występowały pojedyncze, przerosłe dziwaczne astrocyty. W brzegach ognisk demielinizacyjnych występowały liczne przerosnięte, ciemne, bazofilne jądra glejowe, trudne niekiedy do jednoznacznego zakwalifikowania do oligo- lub astrogleju na podstawie barwień przeglądowych. W wielu z nich występowały kwasochłonne ciała wtrętowe.

W głębokich warstwach kory mózgu sąsiadujących bezpośrednio z ogniskami demielinizacji było widoczne stosunkowo znaczne pomnożenie mi-

krogleju i niewielkie okołonaczyniowe nacieki limfocytarne. Poza tym występowały tu, podobnie jak w innych formacjach szarych, zwyrodnienia i ubytki neuronalne, miernego na ogół nasilenia.

W całym układzie nerwowym były widoczne zaawansowane zmiany w ścianach naczyń, polegające na ich pogrubieniu zależnym przede wszystkim od pomnożenia włókien kolagenowych i przerostu przydanki (ryc. 8). Zwracało uwagę znaczne zaawansowanie zmian w istocie białej półkul mózgu. W gałce bladej niektóre naczynia impregnowały się solami pseudo-wapnia, ponadto jego złogi leżały tam luźno w tkance. Przynaczyniowo tworzył się stan zatokowaty.

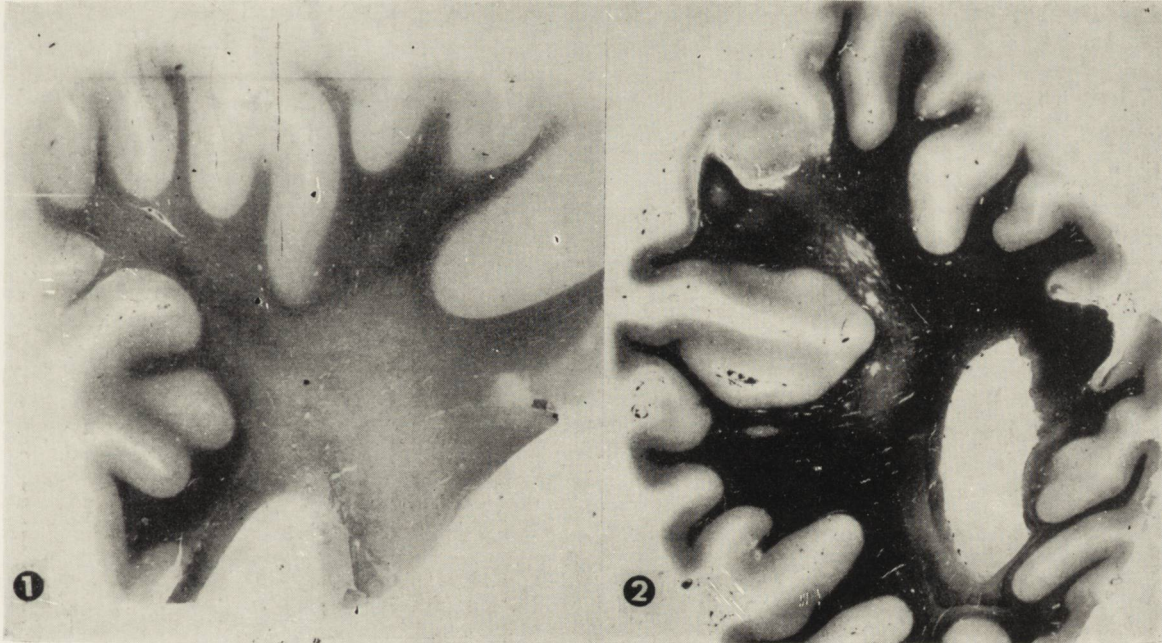
Stwierdzenie obecności wtretów w jądrach glejowych skłoniło nas do wykonania uzupełniającego badania mikroskopowo-elektronowego. Wycinki tkanki o wymiarach $2 \times 2 \times 0,5$ mm pobrano z materiału zatopionego w parafinie z brzegów większych pól demielinizacyjnych, lub z małych świeżych ognisk. Po odparafinowaniu wycinki nawadniano w roztworach etanolu o zmniejszających się stężeniach, utrwalano dodatkowo w osmowo-chromowym roztworze Daltona przez 90 min., po czym odwadniano i zatapiano w Epon 812. Skrawki o grubości $0,5 \mu$ barwiono błękitem toluidyny i przeglądano w mikroskopie świetlnym w celu identyfikacji jąder komórkowych z obecnością wtretów. Ultracienkie skrawki barwione octanem uranylu i cytrynianu ołowiu oglądano w mikroskopie elektronowym JEM-7A.

W półcienkich skrawkach z eponu, oglądanych w mikroskopie świetlnym stwierdzało się obecność dużych jąder glejowych o jednorodnej strukturze i nieregularnych obrysach (ryc. 9). Niekiedy na tle jednorodnej zawartości jądra były widoczne pojedyncze, ciemniej wybarwione ziarna chromatyny. W badaniu mikroskopowo-elektronowym w pojedynczych jądrach komórek glejowych stwierdzało się obecność cząstek wirusopodobnych występujących najczęściej w postaci okrągłych, nieregularnie rozmieszczonych drobnych ciałek (ryc. 10), rzadziej w postaci włóknistej (ryc. 11). Liczba cząstek w poszczególnych jądrach była różna. Niektóre z nich były ściśle wypełnione cząstkami wirusopodobnymi, a resztki chromatyny jądrowej znajdowały się jedynie na obwodzie, pod błoną jądrową.

OMÓWIENIE PRZYPADKU

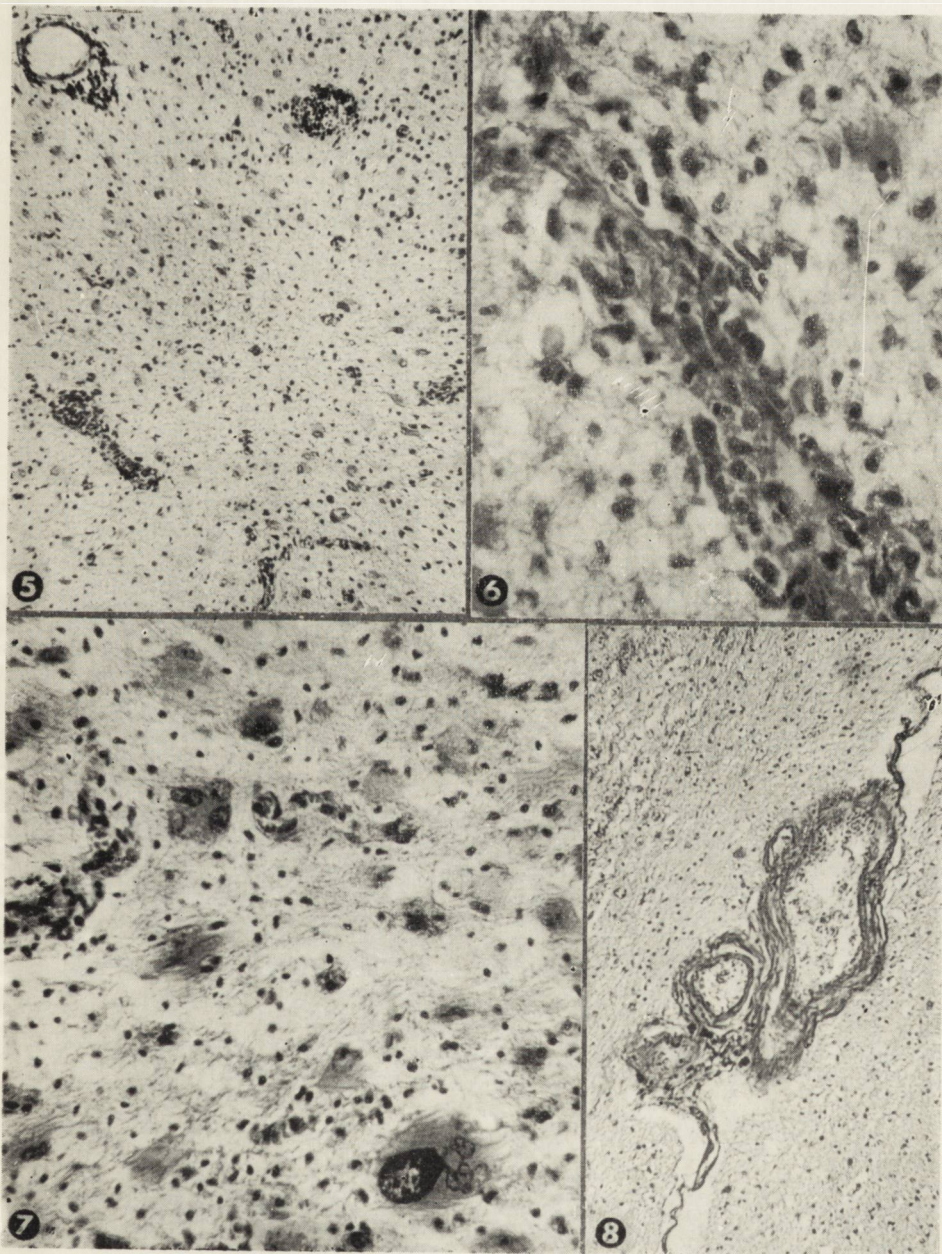
Przedstawiony przypadek jest pod względem klinicznym i neuropatologicznym zbliżony do większości znanych z piśmiennictwa przypadków postępującej wielogniskowej leukoencefalopatii.

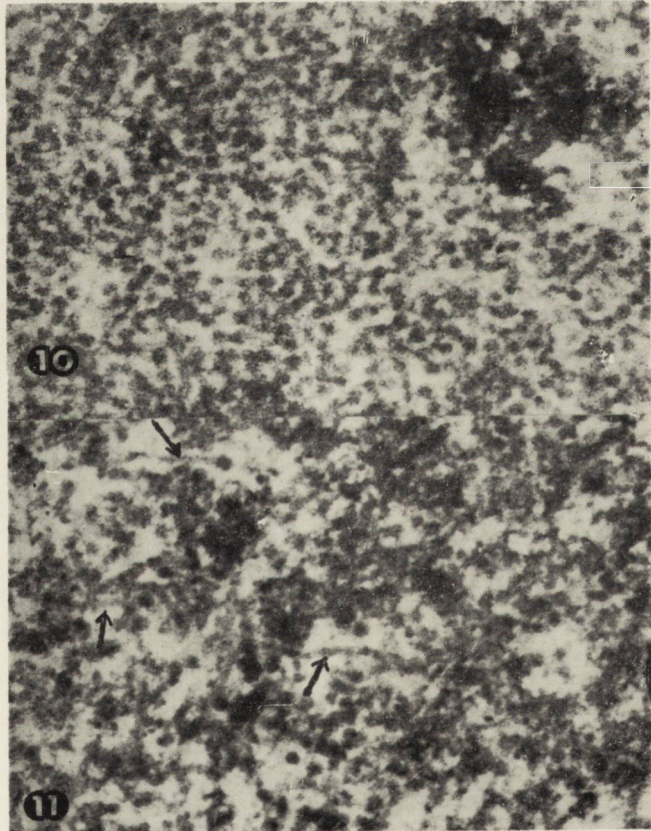
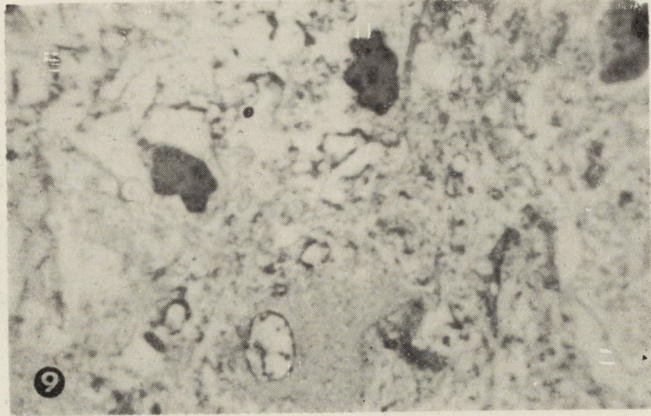
U chorej obserwowano stopniowo narastający zespół neurologiczny, w którym na plan pierwszy wysuwał się początkowo lewo- a następnie

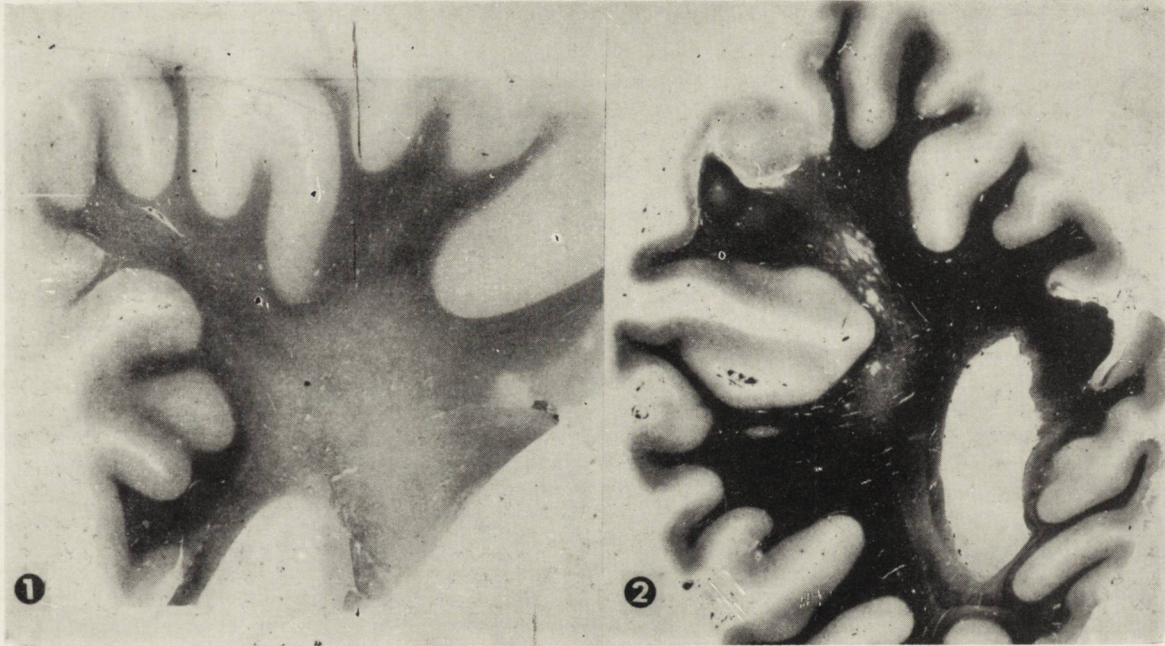


Uwaga! Podpisy pod ryciny 1—11 znajdują się w tekście, na stronach 553 i 554.



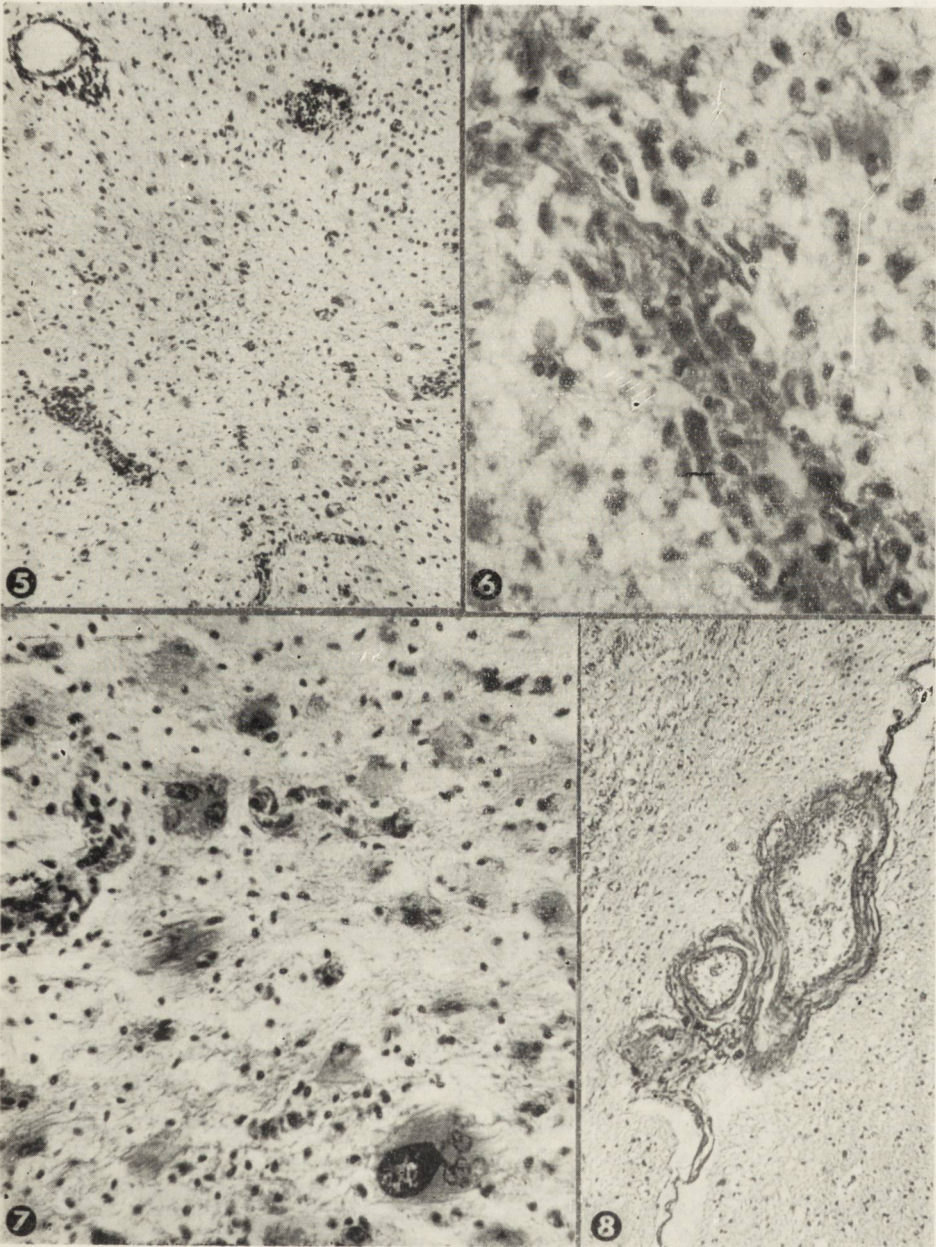


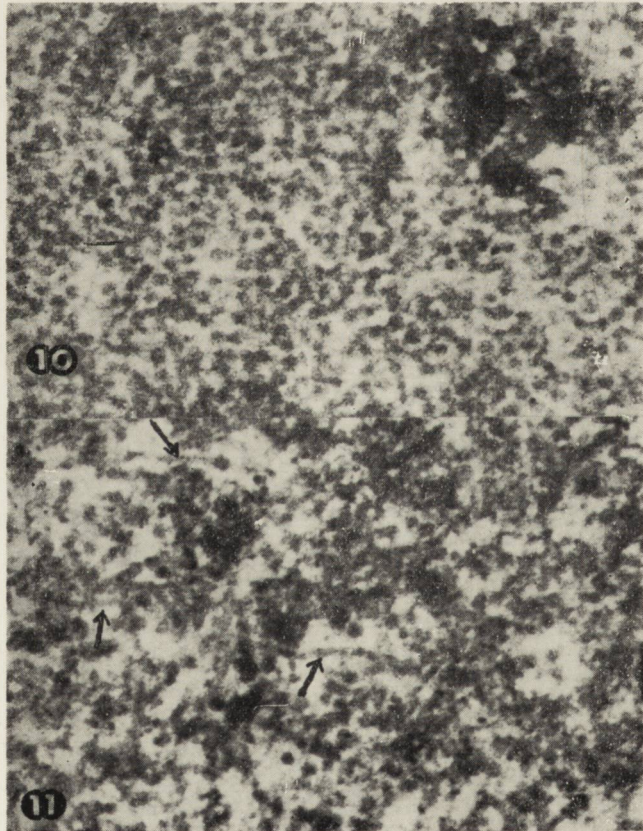
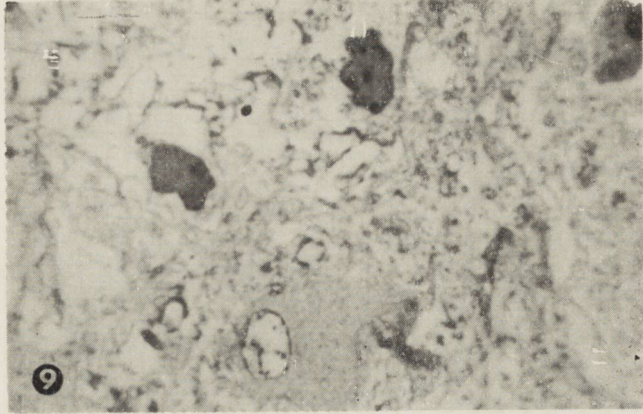




Uwaga! Podpisy pod ryciny 1—11 znajdują się w tekście, na stronach 553 i 554.







prawostronny niedowład połowiczny z afazją i drgawkami o typie Jacksonowskim.

W obrazie morfologicznym stwierdzono obecność rozsianych, różnoczasowych ognisk demielinizacji, z charakterystycznym odczynem glejowym w postaci przerosłych, „dziwaczych”, blastomatycznych astrocytów, ubytku oligodendrocytów, obecności zmienionych jąder oligodendrogleju, często z kwasochłonnymi wtrętami. W badaniu mikroskopowo-elektronowym wykazano śródjądrowe cząstki wirusopodobne, które na podstawie ich cech morfologicznych, identycznych jak w przypadkach opisanych przez ZuRhein i Chou (1965), Silvermana i Rubinsteina (1965), Moreckiego i Porro (1970) oraz Boltona i Rozdilskyego (1971) rozpoznano jako wiriony wirusa z grupy PAPOVA.

W przeciwieństwie do przypadku opisanego przez Castaigne i wsp. (1965), w którym charakterystycznym zmianom demielinizacyjnym towarzyszyły cechy uogólnionego zespołu zapalnego, w naszym przypadku okołonaczyniowe nacieki limfocytarne, umiarkowanego zresztą nasilenia, ograniczone były wyłącznie do ognisk demielinizacji i ich bezpośredniego sąsiedztwa.

Pod względem klinicznym przypadek nasz wyróżnia się spośród innych czasem trwania choroby. Postępująca wielogniskowa leukoencefalopatia stanowi chorobę o przebiegu podoстрыm. Czas trwania procesu chorobowego zamyka się średnio w granicach od 1 miesiąca do 1 roku, najczęściej od 2 do 6 miesięcy (Vanderhaeghen, Perier 1965). W naszym przypadku choroba trwała prawie trzy lata, a więc dłużej niż w przypadku Jellingera i Minauf (1969), przy zachowaniu wszystkich charakterystycznych cech morfologicznych procesu, podczas gdy wspomniani powyżej autorzy istotne odrębności neuropatologiczne swojego przypadku odnosili do niezwyklej długotrwałości choroby. Jedynymi w piśmiennictwie przypadkami o dłuższym od naszego przebiegu były przypadki opisane przez Hedby'Whyte'a i wsp. (1966) — 5 lat i Stama (1966) — 19 lat, przy czym rozpoznanie tego ostatniego budzi liczne wątpliwości.

Drugim czynnikiem wyróżniającym nasz przypadek spośród znanych z piśmiennictwa jest pierwotność choroby neurologicznej. Po przypadkach opisanych przez Silvermana i Rubinsteina (1965), Fermaglicha i wsp. (1969), Jellingera i Minauf (1969), Boltona i Rozdilskyego (1971) byłby on piątym przypadkiem postępującej wielogniskowej leukodystrofii, która nie towarzyszyła przewlekłej chorobie wyniszczającej, prowadzącej do obniżenia immunologicznej odczynowości ustroju, mającego sprzyjać ujawnianiu się ewentualnej patogenności wirusów z grupy PAPOVA, uważanych mimo negatywnych dotychczas wyników badań biologicznych (Dolmant i wsp. 1967) za przypuszczalny czynnik etiologiczny.

ny schorzenia. Wydaje się bowiem, że w naszym przypadku, trudno byłoby uznać ciężki, dominujący zespół neurologiczny za zjawisko towarzyszące starym, nieczynnym i klinicznie całkowicie niemym zmianom gruźliczym w płucach stwierdzonym na stole sekcyjnym.

W obrazie neuropatologicznym przypadek nasz wyróżnia się obecnością zaawansowanych zmian naczyniowych, wybiórczo nasilonych w istocie białej mózgu, a stanowiących element ogólnej miażdżycy naczyń.

Oczywiście jest rzeczą niemożliwą przesądzić jaką rolę mogły odgrywać zmiany naczyniowe w istocie białej w stosunku do procesu postępującej wielogniskowej leukoencefalopatii. Można by jedynie przypuszczać, że zmiany naczyniowe, wybiórczo nasilone w istocie białej półkul mózgu mogłyby prowadzić do zmniejszenia wartościowości tkanki mózgowej. Mogłoby więc jedynie wchodzić w rachubę miejscowe obniżenie reaktywności tkanki, w przeciwieństwie do postulowanej przez wielu autorów a wykazanej przez Ellisona (1969) hyporeaktywności immunologicznej ogólnoustrojowej, stanowiącej ważne ogniwo w patogenezie uszkodzeń tkanki nerwowej w postępującej wielogniskowej leukoencefalopatii. Możliwość taka pozostaje jednakże w sferze przypuszczeń i spekulacji.

M. Домбска, Я. Кортхальс, М. Е. Моссаковски

МНОГООЧАГОВАЯ ПРОГРЕССИРУЮЩАЯ ЛЕЙКОЭНЦЕФАЛОПАТИЯ

Резюме

Авторами описан первый случай встреченный в Польше многоочаговой прогрессирующей лейкоэнцефалопатии. У 67-летней больной наблюдалось постепенное развитие неврологических симптомов, в которых преобладал синдром. сначала лево- а потом правостороннего гемипареза. После 3 лет болезнь кончилась смертью больной.

Гистологическим исследованием были выявлены изменения, характерные для многоочаговой прогрессирующей лейкоэнцефалопатии. В обоих полушариях мозга были обнаружены очаги демиелинизации, относящиеся к разным стадиям развития болезни. Находились в них гигантские астроциты с бизарными ядрами. В некоторых олигодендрокитах, за очагом демиелинизации, были обнаружены внутриядерные включения. Электронномикроскопическое исследование позволило определить эти включения как вирусоподобные частицы, принадлежащие к группе RAPOVA-virus.

Кроме процессов демиелинизации были выявлены также выраженные дегенеративные изменения в стенках сосудов головного мозга. В исследованном случае не обнаружено ни первичной неоплазматической, ни другой иной источника болезни. Представленный нами случай является пятым из до сих пор

известных, в котором многоочаговая прогрессирующая лейкоэнцефалопатия проявилась как первичная болезнь.

Можно предполагать, что выраженные атеросклерозные изменения сосудов головного мозга являются существенным фактором, изменяющим биологические свойства нервной ткани и следовательно — содействуют развитию болезни.

M. Dąmbska, J. Korthals, M. J. Mossakowski

PROGRESSIVE MULTIFOCAL LEUKOENCEPHALOPATHY

Summary

The authors present the first case in Poland of progressive multifocal leukoencephalopathy. The case concerned a 67-year-old woman with many year's moderate hypertension. In a patient a gradually increasing neurological syndrom developed, characterized by an initially left-sided and later right-sided hemiparesis. The patient died after 3 years of disease.

The neuropathological examination revealed a characteristic picture of progressive multifocal leukoencephalopathy. In both hemispheres numerous demyelination foci originating from various times were noticed, with the presence of hypertrophied astrocytes with numerous bizarre blastomatic nuclei. Numerous oligodendrocytes situated at the peripheries of demyelination foci were characterized by large basophilic nuclei some of which contained acidophilic inclusion bodies. Electron microscopic examination revealed the presence in numerous oligodendroglial nuclei of typical virions of PAPOVA group.

Beside the demyelinating changes intensive generalized arteriosclerotic changes in brain vessels were observed, in particular in the white matter.

There was no primary neoplasm found and neither were any features of an ematiating disease. The presented case is thus the 5th described in the literature where the progressive multifocal leukoencephalopathy had a character of a primary disease.

Attention was payed to the intensity of sclerotic changes in the brain white matter vessels as a possible factor changing the biological properties of the nervous tissue and facilitating the development of the disease process.

PIŚMIENNICTWO

1. Åstrom K. E., Mancall E. L., Richardson E. P. Jr.: Progressive multifocal leukoencephalopathy. *Brain*, 1958, 81, 93—111.
2. Bethlem J., Gool van J., Hartog Den Jager W. A.: Progressive multifocal leukoencephalopathy associated with multiple myeloma. *Acta Neuropath. (Berl.)*, 1964, 3, 525—528.
3. Bolton C. F., Rozdilsky B.: Primary progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neurology*, 1971, 21, 72—77.
4. Castaigne P., Berger B., Buge A., Escourolle R.: Leukoencephalopathie multifocal progressive avec lésions corticales associées a un sarcome Hodgkinien. *Rev. Neurol.*, 1965, 112, 143—146.

5. Cavanagh J. B., Greenbaum D., Marshal A. H. E., Rubinstein L. J.: Cerebral demyelination associated with disorders of reticuloendothelial system. *Lancet*, 1959, II, 524—529.
6. Cervós-Navarro J., Genth J., Gullotta F.: Leucoencephalopathia multifocale progressiva. *Acta Neurol. (Neap.)*, 1969, 24, 572—577.
7. D'Agostino A. N., Pearse G. L., Kernohan F. W.: Cerebral demyelination associated with polycythemia vera. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1963, 22, 138—147.
8. Deep W. D., Fraumeni J. F., Tashima C. K., McDivitt R.: Leukoencephalopathy and dermatomyositis in Hodgkin disease. *Arch. Int. Med.*, 1964, 113, 635—640.
9. Dolmant C. L., Furesz J., Mackay B.: Progressive multifocal leucoencephalopathy. Two cases with electron microscopic and viral studies. *Can. Med. Assoc. J.*, 1967, 97, 8—12.
10. Ellison G. W.: Progressive multifocal leucoencephalopathy. I. Investigation of the immunological status of a patient with lymphosarcome and PML. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1969, 28, 501—505.
11. Fermaglich J., Hardman J. M., Earle K. M.: Progressive multifocal leucoencephalopathy. *Neurology*, 1969, 17, 287.
12. Hedby Whyte E. T., Smith B. P., Tyler H. R., Peterson P.: Multifocal leucoencephalopathy with remission and 5 year survival. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1966, 25, 107—116.
13. Jellinger K., Seitelberger F.: Beitrag zur progressiven multifokalen Leukoencephalopathie. *Deutsch. Ztsch. Nervenheilk.*, 1965, 187, 749—769.
14. Jellinger K., Minauf M.: Eigenartige Entmarkungskrankheit im Erwachsenenalter. Spätstadium „progressiver multifokalen Leukoencephalopathie? *Arch. Psychiat. Nervenkrankheit.*, 1969, 212, 371—381.
15. Løken A. C., Refsum S., Jacobson W.: Progressive multifocal leucoencephalopathy in a case of sarcoidosis. *Livre yubil. Dr. L. van Bogaert. Acta Med. Belg. Bruxelles*, 1962, 494—500.
16. Morecki R., Porro H. S.: Progressive multifocal leucoencephalopathy, identification of virions in paraffine embedded tissue. *Arch. Neurol.*, 1970, 22, 253—258.
17. Muller J., Watanabe L.: Progressive multifocal leucoencephalopathy. *Am. J. Clin. Path.*, 1967, 47, 114—123.
18. Richardson E. P. Jr.: Progressive multifocal leucoencephalopathy. *New England J. Med.*, 1961, 265, 815—823.
19. Silverman L., Rubinstein L. J.: Electron microscopic observation on a case of progressive multifocal leucoencephalopathy. *Acta Neuropath. (Berl.)*, 1965, 5, 215—224.
20. Stoff J. L.: Two cases of progressive multifocal leucoencephalopathy with unusual aspects. *Psychiat. Neurol. Neurochir.*, 1966, 69, 461—474.
21. Stam F. C.: Multifocal leucoencephalopathy with slow progression and very long survival. *Psychiat. Neurol. Neurochir.*, 1966, 69, 453—459.
22. Totsuka S., Horie T., Maki V.: Problems of progressive multifocal leucoencephalopathy. *J. Chiba Med. Soc.*, 1969, 45, 324—329.
23. Vanderhaeghen J. J., Perier O.: Leuco-encephalite multifocal progressive. *Acta Neurol. Belg.*, 1965, 65, 816—837.

24. Weinstein V. F., Woolf A. L., Meynell M. J.: Progressive multifocal leukoencephalopathy and primary hypersplenismus. *J. Clin. Path.*, 1963, 16, 405—418.

25. Woodhouse M. A., Dayan A. D., Burston J., Caldwell J., Adams J. H., Melcher, D., Urich H.: Progressive multifocal leukoencephalopathy. Electron microscope study of 4 cases. *Brain*, 1967, 90, 863—870.

26. Woolsey R. M., Nelson J. S.: Progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neurology*, 1965, 15, 662—666.

27. ZuRhein G. M., Chou S. M.: Particles resembling PAPOVA viruses in human demyelinating disease. *Science*, 1965, 148, 3675.

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

Podpisy pod rycin

Ryc. 1. Rozlana demielinizacja centralnej części istoty białej płata czołowego. W dolnej części preparatu widoczne drobne, ostro ograniczone ognisko demielinizacji. Heidenhain. Pow. lupowe.

Fig. 1. Diffuse demyelination of the central part of the frontal lobe white matter. A sharply restricted demyelination focus visible in the bottom part of the preparation. Magn. glass.

Ryc. 2. Rozsiane drobne ogniska demielinizacji, położone na tle bardziej rozlanego zblednięcia mieliny w istocie białej płata ciemieniowego. Zwraca uwagę ostro ograniczone ognisko demielinizacji obejmujące wybiórczo włókna lukowate. Heidenhain. Pow. lupowe.

Fig. 2. Small disseminated demyelination foci, situated against a background of a more diffuse palor of myelin in the parietal lobe white matter. A sharply restricted demyelination focus, selectively comprising arcuate fibres. Heidenhain. Magn. glass.

Ryc. 3. Nieostro ograniczone ogniska znacznego zblednięcia mieliny w istocie białej ośrodka półowalnego. Heidenhain. Pow. lupowe.

Fig. 3. A non-sharply restricted foci of a marked palor of myelin within the white matter of the semioval centre. Heidenhain. Magn. glass.

Ryc. 4. Rozległe ognisko demielinizacji w istocie białej płata potylicznego, otoczone drobnymi ogniskami demielinizacji. H-E. Pow. lupowe.

Fig. 4. Large demyelination focus in the occipital lobe white matter, surrounded by small demyelination foci. H-E. Magn. glass.

Ryc. 5. Świeże ognisko rozpadu mieliny. Zwraca uwagę rozlany odczyn astrocytarny i okołonaczyniowe nacieki limfocytarne. H-E. Pow. 200X.

Fig. 5. Fresh myelin degradation focus. Diffuse astrocytic reaction and perivascular lymphocytic infiltrations. H-E. X200.

Ryc. 6. Histiocyarno-limfocytarne nacieki okołonaczyniowe w świeżym ognisku rozpadu mieliny. H-E. Pow. 420X.

Fig. 6. Histiocytic-lymphocytic perivascular infiltration in a fresh myelin degradation focus. H-E. X420.

Ryc. 7. Przerosłe astrocyty w ognisku zaawansowanej demielinizacji. Część gemistocytów z licznymi jądrami. Astrocyt w dolnym prawym rogu ryciny zawiera wielkie hyperchromatyczne jądro o wyglądzie blastomatycznym. Wokół naczyńiowe skupienia makrofagów. H-E. Pow. 420×.

Fig. 7. Hypertrophied astrocytes in advanced demyelination focus. A part of gemistocytes with numerous nuclei. Astrocyte in the right bottom corner of the figure contains a big, hyperchromatic nucleus of blastomatous appearance. Perivascular agglomerations of macrophages. H-E. ×420.

Ryc. 8. Grupa naczyń istoty białej, ze znacznym włóknistym przerostem ścian. Van Gieson. Pow. 120×.

Fig. 8. A group of white matter vessels, with a marked fibrous hypertrophy of walls. Van Gieson. ×120.

Ryc. 9. Skrawek eponowy półcienki. Ciemne jądra oligodendrogleju o pofałdowanej błonie jądrowej. W jądrach tych w obrazie mikroskopowo-elektronowym stwierdzono struktury wirusopodobne. Niezmienione jądro przerośniętego astrocyta. Pow. 1000×.

Fig. 9. Semithin epon section. Dark oligodendroglial nuclei with wrinkled nuclear membranes. Virus-like structures were observed in these nuclei in the electron-microscopic picture. Unaltered nucleus of a hypertrophied astrocyte. ×1000.

Ryc. 10. Wycinek jądra komórki glejowej wypełnionego okrągłymi cząstkami wirusopodobnymi. W prawy górnym rogu ryciny widoczne resztki chromatyny jądrowej. Pow. 48.000×.

Fig. 10. Segment of a glial cell nucleus filled with spherical virus-like particles. Nuclear chromatin fragments in the right top corner of the figure. ×48.000.

Ryc. 11. Wycinek jądra komórki glejowej, zawierający włókniste formy cząstek wirusopodobnych. Pow. 47.000×.

Fig. 11. Segment of a glial cell nucleus with fibrous virus-like particles. ×47.000.

JAN GŁOWACKI, ALINA STEFANICKA-WIECHOWA, ZOFIA ZDYBEK-DEMEL

MNOGI NACZYJNIAK JAMISTY MÓZGU

Klinika Neurotraumatologii Instytutu Neurologii AM w Krakowie

Kierownik Kliniki: doc. dr J. Głowacki

Pracownia Neuropatologii Instytutu Neurologii AM

Kierownik Pracowni: doc. dr S. Stefanko

W porównaniu z częstym umiejscowieniem w innych narządach naczylniak jamisty mózgu jest schorzeniem rzadkim. Występuje on jako twór pojedynczy lub mnogi, przy czym samotne naczylniaki są około pięć razy częstsze (Russel 1959). Naczylniaki współistnieją niekiedy z innymi nowotworami pochodzenia łączno-tkankowego. Ohlmacher (1899) opisał przypadek mnogich naczylniaków współistniejących z oponiakami i kostniakami (cyt. wg Ferensa 1951). Foester i Gagel (1932) opisali przypadek mnogich naczylniaków w przebiegu choroby Recklinghausena, towarzyszących czterem innym różnym nowotworom mózgu. Prawdopodobnie do tej grupy można zaliczyć również przypadek Hosoi (1930). Ferens (1951) wspominał o przypadku współistnienia naczylniaka lejka i nerwiaka osłonkowego nerwu słuchowego. Mnogie naczylniaki jamiste opisali Hübschmann (1921), Malamud (1925), Kufs (1928), Russel (1939) oraz cyt. wg Zülcha (1956): Michael i Lewin (1936), Zeldenrust (1938), Manuelidis (1950) i Bodin i Heller (1950); w polskim piśmiennictwie Ferens (1951).

Ilość ognisk naczylniaka waha się od dwóch do kilkudziesięciu. Hübschmann (1921) opisał przypadek z 30 rozsianymi ogniskami, Russel (1959) spostrzegła 42 ogniska naczylniaka jamistego w jednym mózgu.

Naczylniaki jamiste najczęściej umiejscawiają się w istocie białej półkul mózgowych, tuż pod korą. Rzadziej występują w moście, w jądrach podstawy i ścianach III komory. Rdzeń kręgowy jest rzadkim siedliskiem naczylniaka, a w mózdzku obserwowano go tylko dwukrotnie (Russel 1959).

Opisane w piśmiennictwie przypadki naczylniaków jamistych mózgu występują najczęściej między trzecią a szóstą dekadą życia pacjenta, były one jednak spostrzegane również u dzieci (Dandy 1928, Russel 1959).

Rozmiary tych guzów wahają się od wielkości główki szpilki do średnicy kilku centymetrów.

Obraz makroskopowy naczyniaka jamistego mózgu nie różni się od obrazu naczyniaka tego typu w innych narządach. Jest to guz o budowie gąbczastej, składający się z naczyń wypełnionych najczęściej brunatno-wiśniowymi skrzepami krwi, czasem z ogniskami zwapnień. Mikroskopowo naczyniak zbudowany jest z przylegających do siebie, jamistych przestrzeni naczyniowych, nie posiada torebki, a obwodowe naczynia wnikają w miąższ otaczającej tkanki. Często występują zmiany zakrzepowe, szkliste oraz zwapnienia. Wyczerpujące opracowanie tematu oraz piśmiennictwa z tego zakresu zawierają prace Dandy'ego (1928) oraz Bergstranda (1936).

OPIS PRZYPADKU

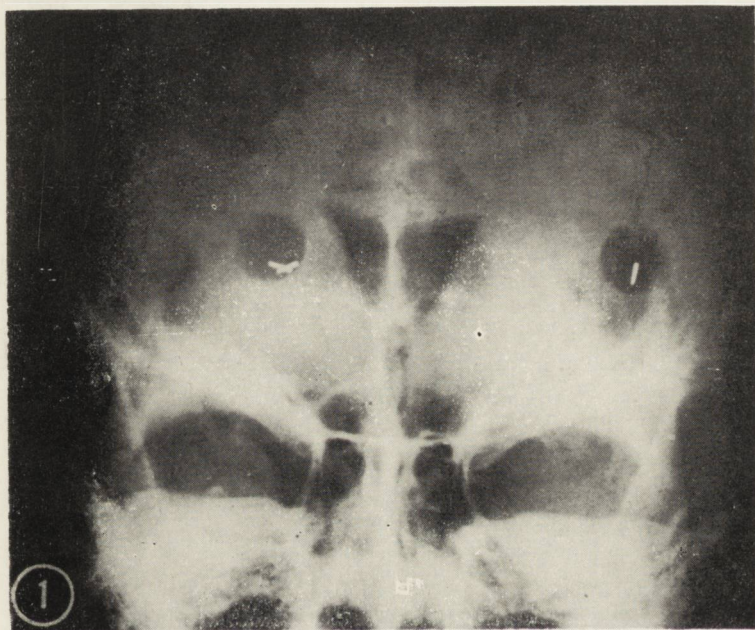
Chora D. M., lat 43 (nr hist. chor. 539/59) została przywieziona do Kliniki Neurochirurgicznej AM w Krakowie * 1.X.1959 r. w stanie głębokiej śpiączki. Po 90 minutach chora zmarła wśród objawów porażenia oddechowego. Poprzedniego dnia wystąpiła u niej kilkugodzinna utrata przytomności, po której chora pozostała senna. Pierwszym objawem choroby był napad padaczkowy, który wystąpił w 25 roku życia pacjentki. W dalszym 17-letnim przebiegu procesu występowały okresowo napady padaczkowe i nawracające zaburzenia psychiczne.

W 1953 r. chora przebywała w Klinice Neurochirurgii AM w Krakowie. Przyjęta była wówczas do oddziału w stanie padaczkowym, w trakcie którego ujawnił się przemijający niedowład lewych kończyn. Wykonane w tym czasie EEG wykazało zapis prawidłowy. Odma komorowa mózgu nie wykazała przemieszczeń ani zniekształceń układu komorowego (ryc. 1).

W 1957 r. w kontrolnym badaniu EEG stwierdzono mierne cechy patologiczne w odprowadzeniach czołowych i centralnych obustronnie, z przewagą strony lewej. Zdjęcia rtg czaszki wykazywały ograniczone rozrzedzenia tkanki w obrębie kości ciemieniowej. W otoczeniu oraz na tle opisanego rozrzedzenia widoczne były okrągławe wysepki zagęszczonej tkanki kostnej różnej wielkości. Orzeczenie rtg: przy zgodnych objawach klinicznych obraz radiologiczny mógłby odpowiadać rozrzedzeniu kości ciemieniowej o charakterze naczyniaka.

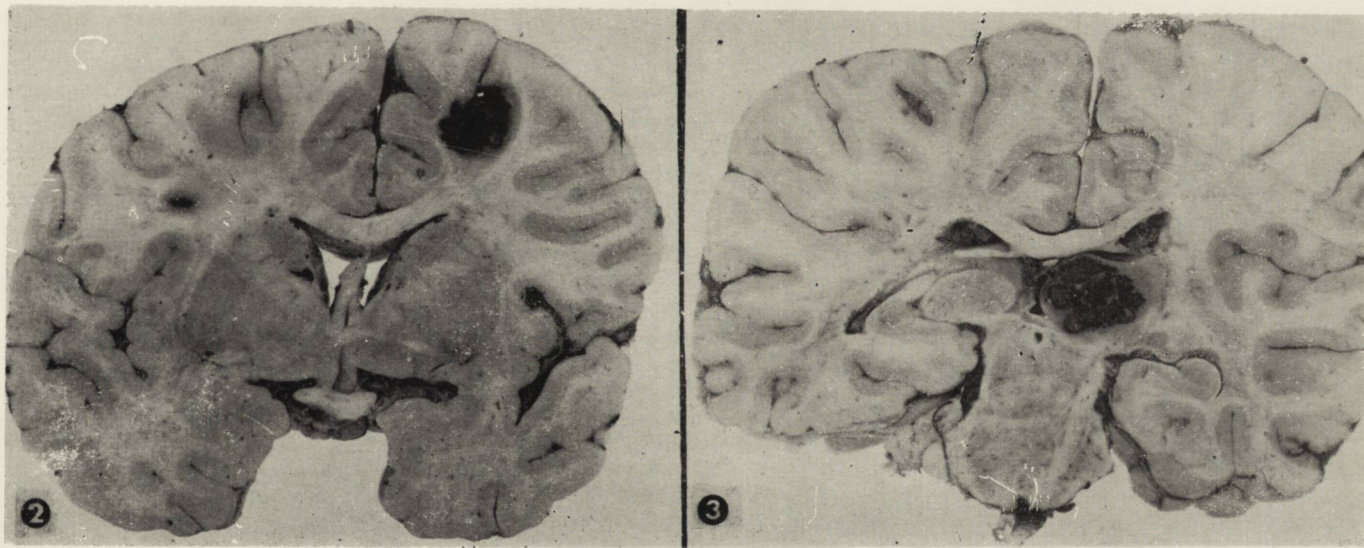
Wynik badania sekcyjnego, wykonanego w Zakładzie Medycyny Sądowej AM w Krakowie (dr Kusiak): *Bronchopneumonia dispersa lobi superioris dextri. Degeneratio parenchymatosa myocardii, renum. Stenosis dispersa hepatis. Dilataatio cordis dextri. Endometritis purulenta. Gastritis acuta. Suspectio quoad intoxicationem barbiturato (luminale?). Pachymeningitis adhaesiva externa.*

*) W tym czasie kierownikiem kliniki był prof. dr Adam Kunicki



Ryc. 1. Wentrykulogram wykazujący prawidłowy obraz układu komorowego.

Fig. 1. Ventriculogram showing normal picture of ventricular system.

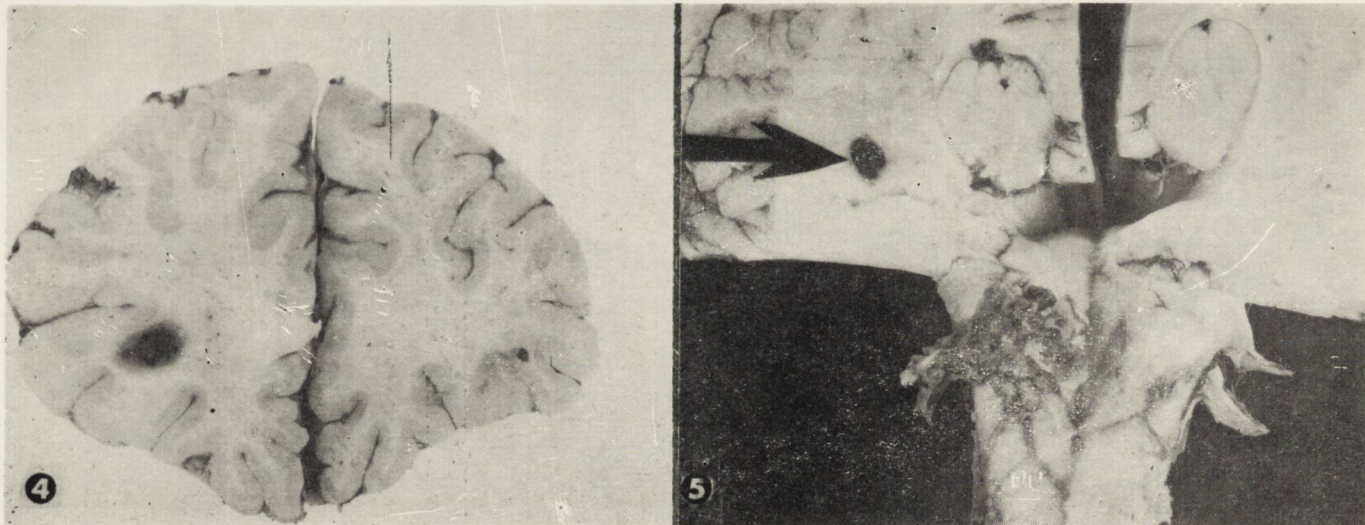


Ryc. 2. Ognisko naczylniaka w okolicy prawego zawoju przedśrodkowego.

Fig. 2. Focus of cavernous hemangioma in the area of the right precentral gyrus.

Ryc. 3. Ognisko nowotworowe w poduszce prawego wzgórza.

Fig. 3. Neoplastic focus involving pulvinar of the right thalamus.



Ryc. 4. Ognisko naczyniaka jamistego położone w istocie białej lewego zwoju czołowego dolnego.
Fig. 4. Focus of cavernous hemangioma located in the white matter of the left inferior frontal gyrus.

Ryc. 5. Ognisko nowotworowe w okolicy prawego jądra zębatego mózdzku (strzałka).
Fig. 5. Neoplastic focus in the area of the left dentate nucleus (arrow).



Ryc. 6. Ognisko naczyńniaka jamistego w impregnacji metodą Perdraua. Pow. lupowe.
Fig. 6. Focus of cavernous hemangioma impregnated according to Perdrau's method. Magn. glass.

Badanie neuropatologiczne przeprowadzono w Pracowni Patologii Neurochirurgicznej PAN po utrwaleniu mózgu w formalinie. Makroskopowo stwierdzono: mózg dobrze zachowany, zawoje mózgowe (szczególnie I i II) obu płatów czołowych, na podstawie i biegunach płatów skroniowych oraz lewy zawój przedśrodkowy przedni — znacznie zwężone. Rowki pomiędzy zawojami poszerzone. Pajęczynówka sklepiści półkul okolicy czołowo-ciemieniowej zgrubiała, zmlecziała, a przystrzałkowo w pobliżu ziarnistości Pachioniego pokryta nieregularnymi białawymi plamami. W przestrzeni podpajęczynówkowej prawej okolicy czołowo-ciemieniowej wzdłuż rowków widoczne podbiegnięcia krwawe. Tętnice na podstawie ziejące.

Na przekrojach czołowych stwierdzało się w korze oraz w istocie białej zawoju środkowego przedniego prawego twardej, okrągławy guz barwy brunatno-wiśniowej, o lekko gąbczastej strukturze, podobnej do sieci delikatnych, szarawych oczek wypełnionych twardymi, brunatno-wiśniowymi skrzepami krwi (ryc. 2). Ognisko to o wymiarach 15×12 mm, było otoczone warstwą rdzawo podbarwionej istoty białej.

Podobne ognisko o wymiarach 22×18 mm, nieregularnych brzegach i takiej samej budowie było widoczne w poduszce prawego wzgórza (ryc. 3). Ognisko to przypominało jeszcze bardziej skupienie poszerzonych naczyń żylnych wypełnionych skrzepłą krwią.

Guz nie był otorbiony, a poszczególne naczynia z obwodu guza wnikały w głąb istoty mózgowia. Dwa inne guzki o tym samym charakterze i wyglądzie makroskopowym (18×15 mm) były umiejscowione w dolnym lewym zawoju czołowym (ryc. 4) oraz w korze prawego płata potylicznego. Składały się one zaledwie z kilku poszerzonych przestrzeni naczyń żylnych różnej wielkości wypełnionych również skrzepami krwi.

Drobną wybroczynę stwierdzono w ośrodku półowalnym lewej półkuli oraz w pobliżu przedniego bieguna lewego jądra zębatego mózdzku (ryc. 5). Poza opisanymi rozsianymi guzkami stwierdzono zakrzepy w żyłę wzgórzowo-prążkową lewej (*vena thalamostriata*) oraz w prawej żyłę przegrody przeźroczystej.

Rozpoznanie: mnogie naczyniaki jamiste mózgu: lewego dolnego zawoju czołowego, prawego zawoju przedśrodkowego, prawej poduszki (*pulvinar*), kory prawego płata potylicznego; wybroczyny przestrzeni podpajęczynówkowej prawej okolicy czołowo-ciemieniowej; zwłóknienie pajęczynówki okolicy czołowo-ciemieniowej; zanik kory zawojów czołowych, skroniowych oraz ciemieniowych lewych; zakrzep lewej żyły wzgórzowo-prążkowej i prawej żyły przegrody przeźroczystej.

Do badania mikroskopowego pobrano wycinki z poszczególnych naczynek. Preparaty parafinowe zabarwiono hematoksyliną-eozyną, metodą

van Gieson, Holzera, Nissla, rezorcyno-fuksyną na włókna sprężyste, błękitem Nilu oraz impregnowano metodą Perdraua i Cajala.

We wszystkich guzkach stwierdzono podobne utkanie, którego cechą znamioną było nagromadzenie dużej ilości cienkościennych naczyń o szerokich, workowatych lub jamistych światłach. Ilość przestrzeni naczyniowych w dwóch mniejszych guzkach — w lewym płacie czołowym i prawym potylicznym dochodziła do kilkudziesięciu. W dwóch większych ogniskach ilość naczyń była bardzo wielka, a niektóre z nich osiągały średnicę kilku milimetrów.

Środkowe części guza były utworzone z przestrzeni naczyniowych, ściśle przylegających do siebie, natomiast na obwodzie pojedyncze naczynia wnikały w głąb istoty mózgowia i były przedzielane tkanką glejową. Ściany licznych przestrzeni naczyniowych guza wykazywały zmiany szkliste oraz metachromazję w barwieniu eozyną i pikrofuksyną. Impregnacja metodą Perdraua wykazała bogatą sieć włókien retikuliny (ryc. 6). Przestrzenie naczyniowe były wypełnione krwinkami czerwonymi lub zakrzepami przyściennymi w różnym okresie organizacji łącznotkankowej, miejscami całkowicie zamykające światło. Część zakrzepów wykazywała duże zmiany szkliste. Barwienie rezorcyno-fuksyną nie wykazało obecności włókien sprężystych w ścianie przegród naczyniaka. W najbliższym otoczeniu naczyniaka stwierdzono znaczny rozrost gleju włóknikowego, zarówno w barwieniu metodą Holzera, jak i przy impregnacji wg Cajala.

Wokół naczyniaka — w istocie mózgowej, stwierdzono obecność gleju ameboidalnego i mikrogleju, liczne komórki obciążone brunatno-złocistym barwikiem oraz skupienia wolno leżącej złocisto-żółtej hematoidyny, a także makrofagi zawierające w zarodki liczne krople tłuszczu. W przyległej do naczyniaka korze mózgowej znaleziono ogniska glejozy, neurony w korze i jądrach wzgórza wykazywały cechy niespecyficznego zwyrodnienia. Rozpoznanie mikroskopowe: naczyniak jamisty (*haemangioma cavernosum*).

OMÓWIENIE

Osobliwością opisanego przypadku jest mnogość odkrytych ognisk naczyniaka oraz dość ubogi — jak na rozmiary i umiejscowienie guzów — obraz kliniczny.

W czasie 17 lat trwania choroby dominującym objawem były napady padaczkowe, które ustąpiły w kilku ostatnich latach, oraz nawracające okresowo zaburzenia psychiczne.

Badanie neurologiczne — poza przejściowo stwierdzanym niedowładem po napadzie padaczkowym — nie wykazywało odchyień od stanu prawi-

dłowego. Trzeba jednak przyjąć, że napady padaczkowe były spowodowane istniejącym od początku choroby ogniskiem nowotworowym. Ponieważ wstępnym objawem choroby był napad padaczkowy z utratą przytomności, należy sądzić, że wywołał go guz umiejscowiony w okolicy czołowo-przedruczowej prawej.

Po przyjęciu chorej do Kliniki Neurochirurgicznej AM w Krakowie, w roku 1953, rozważano możliwość guza mózgu półkuli prawej. Za tym umiejscowieniem przemawiały napady padaczkowe oraz przemijający po napadach niedowład lewostronny. Dla rozstrzygnięcia sprawy wykonano odmę dokomorową, która nie tylko nie ujawniła guza, ale w zestawieniu z brakiem klinicznych objawów ciasnoty wewnątrzczaszkowej oraz ujemnym wynikiem badania neurologicznego i badania eeg, przypuszczenia te obaliła. W tym okresie nie wykonywano jeszcze w Klinice angiografii mózgowej umożliwiającej przyżyciowe rozpoznanie naczyniaka.

Z klinicznego punktu widzenia, godnym podkreślenia jest fakt występowania przez 17 lat padaczki, jako jedyne (poza zaburzeniami psychicznymi) objawu rozwijającego się guza mózgu.

Я. Гловацки, А. Стефаницка-Вехова, З. Демель-Здыбек

МНОЖЕСТВЕННАЯ КАВЕРНОЗНАЯ ГЕАНГИОМА МОЗГА

Резюме

Авторы представили случай 43-летней женщины, у которой в течение 17 лет болезни имелись эпилептические приступы и временные психические нарушения. Исследование после смерти обнаружило кавернозные гемангиомы, сининго-ангиомы мозга (*hemangioma cavernosum*), локализованные во фронтальной нижней левой извилине, правой прецентральной извилине, правой подушке таламуса, а также в коре затылочной доли. В обсуждаемом случае следует подчеркнуть множественность очагов гемангиомы и весьма скудную, по отношению к размерам и локализации опухолей, клиническая картина.

J. Głowacki, A. Stefanicka-Wiechowa, Z. Demel-Zdybek

MULTIPLE CAVERNOUS HEMANGIOMA OF THE BRAIN

Summary

The authors presented the case of a 43 year-old women, in which during 17 years-lasting illness epileptic seizures and transitory psychic disturbances occurred. The post-mortem study revealed multiple foci of cavernous hemangioma in

the brain. These were localized in the left frontal lobe, right precentral gyrus, right pulvinar thalami and in the cortex of the right occipital lobe. In the present case it is to emphasize a multiplicity of the foci and a rather poor clinical picture in relation to the size and localization of the tumours.

PISMIENICTWO

1. Bergstrand H., Olivecrona H., Tönnis W.: Gefäßmissbildungen und Gefäßgeschwülste des Gehirns. G. Thieme, Leipzig 1936.
2. Bodin i Heller: cyt. wg Zülch, 1956.
3. Dandy W.: Arteriovenous aneurism of the brain. Arch. Surg., 1928, 17, 190.
4. Ferens E.: Klasyfikacja naczynek układu nerwowego centralnego. Wrocł. Tow. Nauk., Wrocław 1951.
5. Förster O., Gagel O.: Ein Fall von Recklinghausenscher Krankheit mit fünf nebeneinander bestehenden verschiedenartigen Tumorbildungen. Z. ges. Neur. Psych., 1932, 138, 339—360.
6. Hübschmann: Über einige seltene Hirntumoren. D. Zeit. Nervenheilk., 1921, 72, 205—224.
7. Hosoi K.: Multiple intracranial angiomas. Am. J. Path., 1930, 6, 235—260.
8. Kufs H.: Über die heredofamiliäre Angiomatose des Gehirns und der Retina, ihre Beziehungen zueinander und zur Angiomatose der Haut. Z. ges. Neur. Psych., 1928, 113, 651—686.
9. Malamud W.: Über einem Fall von multiplen Hämangiomen des Zentralnervensystems mit bemerkenswerten klinischen Verlauf. Zeit. ges. Neur. Psych., 1925, 97, 651—671.
10. Manuelidis: cyt. wg Zülch, 1956.
11. Michael i Lewin: cyt. wg Zülch, 1956.
12. Ohlmacher: cyt. wg Ferensa, 1951.
13. Russel D. S., Rubinstein L. J.: The pathology of tumours of the nervous system. E. Arnold, London 1959.
14. Zeldenrust: cyt. wg Zülch, 1956.
15. Zülch K. J.: Pathologische Anatomie der Raumbeengenden intrakraniellen Prozesse. W: Handbuch der Neurochirurgie. Olivecrona-Tönnis, T. III. Springer, Berlin 1956.

Adres autorów: Instytut Neurologii AM, Klinika Neurotraumatologiczna, Kraków, ul. Botaniczna 3.

JAN KORTHALS, KRYSZYNA RENKAWEK

ZMIANY NACZYNIOPPOCHODNE W RDZENIU KRĘGOWYM W PRZYPADKU POLYGANGLIORADICULONEURITIS

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

W piśmiennictwie poświęconym *polyganglioradiculoneuritis* znane są sporadyczne przypadki, w których stwierdzano obecność niewielkich zazwyczaj zmian naczyniopochodnych w rdzeniu kręgowym towarzyszących podstawowemu procesowi patologicznemu w korzonkach i zwojach międzykręgowych. Zmiany te miały z reguły charakter przekrwienia lub obrzęku (van Bogaert 1958, Martin 1960, Ravn 1967). Wyjątkowo opisywano ogniska rozmiękania i ogniska krwotoczne, nie zajmujące na ogół większych obszarów rdzenia kręgowego (Hoff i wsp. 1954, Szapiro, Stępień 1955).

Przypadek nasz przedstawiamy, ze względu na bardzo nasilone i dominujące w obrazie neuropatologicznym zmiany naczyniopochodne w rdzeniu, które rozwinęły się w przebiegu *polyganglioradiculoneuritis*. Przypadek zasługuje ponadto na uwagę ze względu na specjalnie zaakcentowaną zależność uszkodzeń naczyniopochodnych od ukształtowania angioarchitektoniki podłoża.

OPIS PRZYPADKU

Chory J. P. lat 49, rolnik, został przyjęty do Oddziału Neurologicznego Szpitala Grochowskiego w Warszawie (ordynator: doc. dr H. Kistelska-Nielubowicz) dnia 12.VIII.64 r. W czerwcu 1964 r. u chorego wystąpił niedowład kończyn górnych, zwłaszcza zaakceptowany w częściach odśiebnych, który stopniowo narastał. Następnie pojawił się narastający niedowład kończyn dolnych. Wystąpiły również trudności w oddawaniu moczu, aż do jego całkowitego zatrzymania.

Przy przyjęciu do szpitala badaniem fizykalnym stwierdzono pojedyncze rżenia drobnobańkowe nad obu polami płucnymi oraz głuche i ciche tony serca. Badania neurologiczne wykazało następujące odchylenia

od stanu prawidłowego: nieznaczny niedowład ośrodkowy n. twarzowego po stronie lewej, w kończynach górnych upośledzenie ruchów czynnych w częściach odsiebnych, osłabienie siły mięśniowej w nadgarstkach i dłoniach, wiotkie napięcie mięśniowe oraz zaburzenia czucia powierzchniowego i głębokiego. Odruchy ścięgniste były dość żywe, okostnowe bardzo słabe. Na tułowiu stwierdzono obniżenie czucia od poziomu III żebra po stronie lewej i IV żebra po stronie prawej. Odruchy brzuszne były zniesione. W kończynach dolnych stwierdzono wiotkie porażenie z bardzo znacznym obniżeniem czucia powierzchniowego i głębokiego. Odruchy kolanowe zniesione, skokowe obecne, bardzo słabe.

Badania dodatkowe: obraz morfologiczny krwi prawidłowy, mocza poza obecnością 0,66% białka bez odchyień od normy, płyn mózgowo-rdzeniowy: pleocytoza 2, białko 33 mg%, próby białkowe słabo dodatnie, krzywa złotowa w normie, chlorki 888 mg%, cukier 73 mg%.

W czasie pobytu w szpitalu u chorego wystąpiły stany podgorączkowe, nasilały się objawy zastoju w płucach, gwałtownie narastały odleżyny w okolicy krzyżowej i na plecach. W nocy poprzedzającej zgon nastąpiła duszność. Chory zmarł w 10 dniu pobytu w szpitalu, nagle, wśród objawów niewydolności oddechowej i krążenia.

Rozpoznanie kliniczne: *Polyneuritis subacuta. Bronchopneumonia sub finem vitae.*

Na sekcji ogólnej stwierdzono umiarkowanego stopnia przerost ośrodkowy prawej komory serca, rozedmę i obrzęk płuc oraz śluzowe zapalenie oskrzeli i krtani. W rozgałęzieniach tętnicy płucnej obecne były zmiany zatorowo-zakrzepowe. Ponadto stwierdzono wybroczyny krwawe podopłucnowe, umiarkowaną miażdżycę naczyń centralną i obwodową, zapalenie wrzodziejąco-włóknikowe pęcherza moczowego oraz rozległe odleżyny w okolicy kości krzyżowej i pośladków.

Badaniem makroskopowym (PAN 147/64) stwierdzono obrzęk oraz znaczne przekrwienie opon miękkich mózgu i rdzenia. W płatach ciemieniowych i potylicznych oraz w odcinku piersiowym rdzenia kręgowego obecne były drobne wybroczyny podpajęczynówkowe, a w okolicy lędźwiowej był widoczny rozległy wylew podoponowy. Na przekrojach czołowych mózgu stwierdzono przekrwienie i obrzęk. Na przekroju poprzecznym rdzenia w odcinku piersiowym Th 7—8 spoistość istoty białej była znacznie obniżona. W całym odcinku piersiowym rdzenia stwierdzono zmiany krwotoczne obejmujące wyłącznie istotę szarą (ryc. 1).

Do badań mikroskopowych pobrano wycinki z poszczególnych okolic półkul mózgu, pnia mózgowego, z mózdzku oraz z szyjnego, piersiowego, lędźwiowego i krzyżowego odcinka rdzenia kręgowego, a ponadto korzonki rdzeniowe, zwoje międzykręgowe i fragmenty nerwów rdzenio-

wych z okolic szyjnej, piersiowej i lędźwiowej. Preparaty parafinowe barwiono hematoksyliną-eozyną, fioletem krezyłu oraz wg metody Heidenhaina, van Gieson i Bielschowskyego.

Badanie mikroskopowe preparatów z półkul mózgu, pnia mózgowego i mózdzku nie wykazało zmian patologicznych poza morfologicznymi wykładnikami obrzęku. Podobnie mikroskopowe cechy obrzęku obecne były w korzonkach nerwowych. Odcinkowo stwierdzano w nich znaczne spłowienie osłonek mielinowych. Aksony były nierównej grubości, miejscami kolbowato rozdęte. W zwojach międzykręgowych stwierdzono znaczne ubytki komórek nerwowych, zmiany homogenizacyjne i stłuszczenie zachowanych komórek, a ponadto znaczny rozplem amficytów i przerost tkanki łącznej. W pogrubiałych osłonkach łącznotkankowych korzonków nerwowych i zwojów międzykręgowych obserwowano obfite krwinkotoki z licznymi leukocytami i pojedynczymi makrofagami. Widoczne były również rozsiane nacieki limfocytarne, częściowo przenikające między komórki zwojowe i włókna korzonków nerwowych (ryc. 2).

W rdzeniu piersiowym stwierdzono świeży krwotok ograniczony ściśle do istoty szarej, oszczędzający jedynie przednią część rogu przedniego po stronie lewej oraz wąski pas komórek na obwodzie rogu przedniego i bocznego po stronie prawej (ryc. 1). W odcinku Th 9 ognisko krwotoczne obejmowało swoim zasięgiem również kanał centralny. W rogach tylnych obserwowano liczne ziarenka hemosyderyny. Obustronnie u podstawy rogów tylnych stwierdzono koliste ognisko rozmiękania znajdujące się w fazie rozbiórki ruchomej, szczelinowato przesuwające się w kierunku rogów tylnych (ryc. 3). Komórki nerwowe rdzenia piersiowego położone poza obszarem ogniska krwotocznego były stosunkowo dobrze zachowane. Znaczne zmiany homogenizacyjne widoczne były natomiast w komórkach nerwowych rdzenia lędźwiowego i krzyżowego. W naczyniach rdzenia kręgowego obserwowano średnio zaawansowane zmiany szkliste. W pojedynczych naczyniach żylnych i tętnicznych stwierdzono świeże lub częściowo zorganizowane zakrzepy. Struktura istoty białej była w całości rozluźniona. Na poziomie rdzenia piersiowego, zwłaszcza na jego obwodzie, była widoczna bezodczynowa, obrzękowa martwica istoty białej.

OMÓWIENIE PRZYPADKU

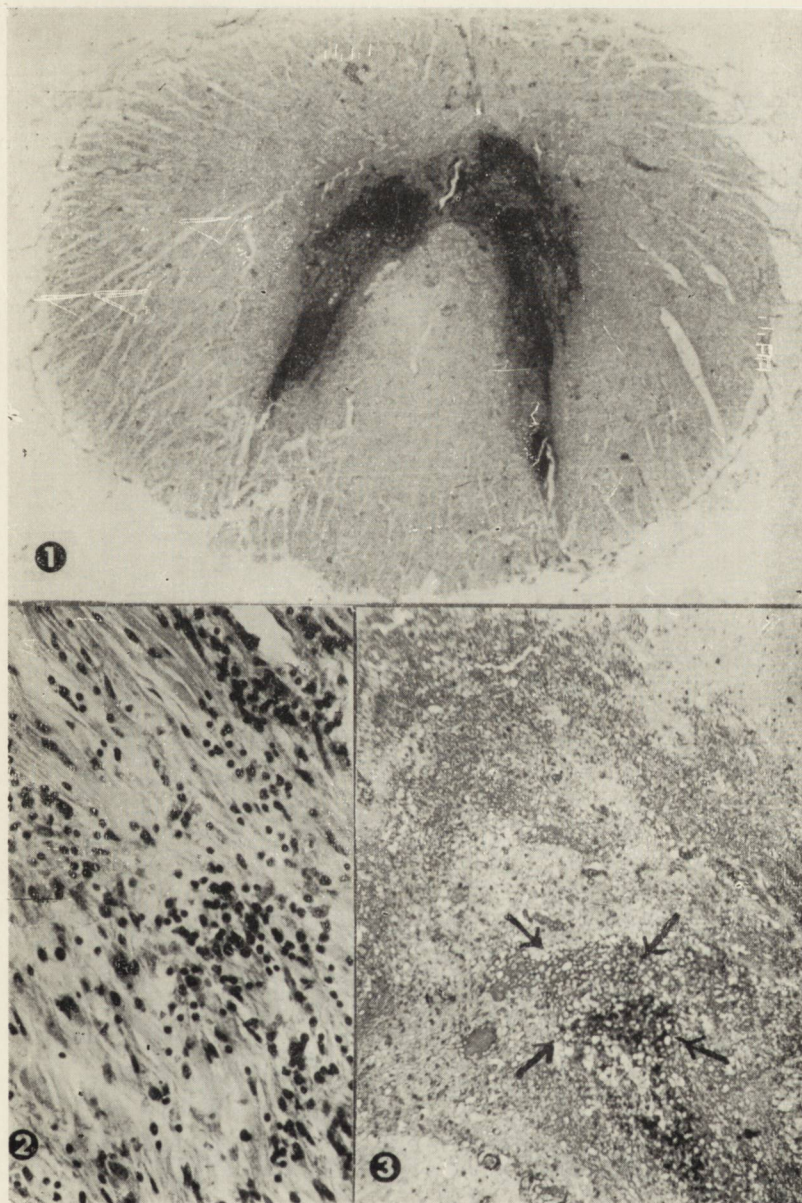
Stwierdzone w naszym przypadku zmiany morfologiczne w korzonkach nerwowych i zwojach międzykręgowych odpowiadają charakterystycznemu obrazowi *polyganglioradiculoneuritis* (van Bogaert 1956, Mar-

tin 1960, Dąmbska 1964). W obrazie patomorfologicznym układu nerwowego dominują jednak uszkodzenia naczyniopochodne, w postaci ognisk martwicy i krwotoku obejmujących rozległy odcinek rdzenia kręgowego. Stan zaawansowania zmian tkankowych pozwala wyłączyć ich terminalny (przedzgonny) charakter. Zmiany naczyniopochodne w naszym przypadku różnią się w sposób istotny od obrazów charakterystycznych dla *myelodystrophia serosa*, stanowiącej wyodrębnioną przez Hoffa i wsp. (1954) odmianę zespołu Guillain-Barré, dla której znamienne są zmiany naczyniopochodne w rdzeniu, rozwijające się na tle wzmożonej przepuszczalności naczyń. Zmianom tym towarzyszy zazwyczaj obfita limfocytoza w płynie mózgowo-rdzeniowym, nie stwierdzona w naszym przypadku.

Pochodzenie uszkodzeń naczyniopochodnych w rdzeniu kręgowym w przedstawionym przypadku jest niejasne i niewątpliwie złożone. Na ich powstanie złożyć się mógł cały zespół czynników, do których zaliczyć należy przede wszystkim niedokrwienie tkanki (czynnik ischemiczny), związane z obecnością zakrzepów, częściowo świeżych, częściowo zorganizowanych obecnych w naczyniach żylnych i w niektórych tętnicach piersiowego odcinka rdzenia oraz ogólnoustrojowe niedotlenienie (czynnik hipoksyjny), stanowiące następstwo zastoju żylnego w płucach, rozedmy płuc i zmian zatorowo-zakrzepowych w rozgałęzieniach tętnicy płucnej. W rachubę należy brać również możliwość działania toksycznego (czynnik toksyczny) zarówno na układ naczyniowy jak i bezpośrednio na tkankę nerwową (Keschner, Davison 1933, Jaffe, Freeman 1943). Trudno ocenić w jakim stopniu czynniki te należy wiązać z podstawowym procesem chorobowym tj. z *polyganglioradiculoneuritis*, a w jakim ze współistniejącym schorzeniem górnych dróg oddechowych, którego rolę w naczyniopochodnej patologii rdzenia podkreślają Jaffe i Freeman (1943).

Jako przyczynę krwotoków do rdzenia wymienia się przede wszystkim urazy, a poza tym „słabość naczyń” i skłonność do krwawień np. w płamicy krwotocznej, gnilcu, hemofilii, czy czerwienicy (Opalski 1951). Masywny krwotok do rdzenia w naszym przypadku może być uwarunkowany zarówno poprzedzającym rozmiękaniem stwierdzonym u podstawy rogów tylnych jak i ogólnie zwiększoną przepuszczalnością naczyń, na którą wskazują krwotok podoponowy w rdzeniu, wybroczyny krwawe w korzonkach nerwowych i w zwojach międzykręgowych, drobne podpajęczynówkowe wylewy krwawe w mózgu i pod opłucną, spowodowane działaniem czynnika ischemicznego, hipoksyjnego względnie też toksycznego na układ naczyniowy.

W omawianym przypadku na podkreślenie zasługuje bardzo ściśle ograniczenie krwotoku do istoty szarej rdzenia. Skłonność do tej loka-



Ryc. 1. Przekrój rdzenia na poziomie Th 7. Krwotok do istoty szarej rdzenia kręgowego z zaoszczędzeniem przedniej części rogu przedniego. Rozluźnienie struktury istoty białej na obwodzie rdzenia. Parafina. H-E. Pow. 12X.

Fig. 1. Spinal cord section on the Th 7 level. Hemorrhage to the spinal cord grey matter. The anterior part of the anterior horn is spared. Rarefaction of the white matter structure on the spinal cord periphery. Paraffin. H-E. X12.

- Ryc. 2.* Naciek limfocytarny w korzonku tylnym rdzenia. Parafina. H-E. Pow. 240X.
Fig. 2. Lymphocytic infiltration in the posterior spinal root. Paraffin. H-E. $\times 240$.
- Ryc. 3.* Przekrój rdzenia na poziomie Th 7. Ognisko rozmiękania u podstawy rogu tylnego rdzenia (ograniczone strzałkami). Parafina. H-E. Pow. 72X.
Fig. 3. Spinal cord section on the Th 7 level. Focus of malacia at the basis of the posterior horn of the spinal cord. Paraffin. H-E. $\times 72$.

lizacji krwotoków rdzeniowych tłumaczy się obfitym unaczynieniem i luźną strukturą podłoża istoty szarej (Wilson 1955).

Ogólne zaburzenia w ukrwieniu i utlenieniu tkanki nerwowej powodują powstanie zmian ogniskowych zlokalizowanych głównie w przygranicznych strefach unaczynienia noszących nazwę tzw. obszarów „ostatnich łąk”. W rdzeniu do tych obszarów Zülch (1954) zalicza przede wszystkim odcinek Th 4 i w mniejszym stopniu pogranicze rdzenia piersiowego i lędźwiowego. W odniesieniu do przekroju poprzecznego rdzenia za szczególnie podatną na zaburzenia hemodynamiczne uważa się centralną część rdzenia, a poza tym (co jest charakterystyczne dla przedstawionego przypadku) okolice podstawy rogu tylnego, w miejscu gdzie kończą się tętniczki odchodzące z jednej strony od tętnicy rdzeniowej przedniej, a z drugiej od splotu tętniczego tylnego (Zülch 1962).

Częstsze i bardziej rozległe zaburzenia naczyniopochodne w rdzeniu piersiowym niż w pozostałych jego odcinkach tłumaczy się również nieco odmiennymi warunkami unaczynienia. Gałązka tętnicy rdzeniowej przedniej, tętnica rowkowo-przegrodowa unaczynia w części piersiowej znacznie dłuższe odcinki rdzenia (ok. 2 cm długości) niż w części lędźwiowej, gdzie zaopatruje ona odcinki o długości ok. 2 mm (Opalski 1951). Według Gillilana (1958) tętnica rdzeniowa przednia jest zaopatrywana w górnych odcinkach rdzenia piersiowego przez 2 względnie 3 tętnice korzonkowe przednie. Niżej stwierdza się czasami tylko jedną drobną tętnicę korzonkową między Th 5—7. Tętnica rdzeniowa przednia ulega gwałtownemu zwężeniu, tak że w miejscu jej zetknięcia się z wielką tętnicą korzonkową przednią z trudem odróżnia się ją od pozostałych tętniczek leżących na przedniej powierzchni rdzenia. Według Lindenberga (1957) najwęższy jest pień tętnicy rdzeniowej przedniej w okolicy Th 7—8 i tym tłumaczy on większą skłonność do występowania uszkodzeń naczyniopochodnych w tym odcinku rdzenia. W przedstawionym przypadku właśnie w okolicy Th 7—8, oprócz zmian w istocie szarej, stwierdzono dodatkowe rozmiękanie istoty białej.

Tętnica korzonkowa wielka z reguły jest umiejscowiona po stronie lewej rowka przedniego, a w całym odcinku piersiowym zwykle więcej tętnic korzonkowych dochodzi do tętnicy rdzeniowej przedniej od strony lewej (Gillilan 1958). Może to tłumaczyć mniejsze nasilenie i rozległość zmian w lewym rogu przednim w naszym przypadku. Częstsze zaoszczędzenie partii obwodowych rogów przednich rdzenia, w warunkach jego niedokrwienia wiąże się z tym, że komórki leżące na obwodzie znajdują się bliżej lepiej utlenionego tętniczego końca kapilarów, natomiast komórki środkowe położone są bliżej końca żylnego, a więc szybciej ulegają niedotlenieniu przy zwolnionym przepływie krwi (Krogh 1954, 1950).

Uszkodzenia rdzenia kręgowego pochodzenia miażdżycowego należą do rzadkości (Keschner i Davison 1933, Jellinger 1966), prawdopodobnie jednak miażdżyca naczyń może wpływać w sposób istotny na pogłębienie zaburzeń w ukrwieniu tkanki. Wydaje się, że w naszym przypadku byłoby trudno przypisywać minimalnym zmianom stwardnieniowym naczyń jakąkolwiek rolę w mechanizmie patogenetycznym stwierdzanych uszkodzeń rdzenia.

Autorzy dziękują Ordynatorowi Oddziału Neurologicznego Szpitala Grochowskiego Pani doc. dr H. Kistelskiej-Nielubowiczowej za umożliwienie im opracowania przypadku.

Я. Кортальс, К. Ренкавек

ВАЗОГЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СПИННОМ МОЗГУ В СЛУЧАЕ
POLYGANGLIO-RADICULONEURITIS

Резюме

В работе представлено редко наблюдающееся сосуществование воспалительных и ангиогенных изменений в *polyganglio-radiculoneuritis*.

В нейрпатологической картине кроме воспалительных и дегенеративных изменений спинномозговых корешков и межпозвоночных узлов, обнаруживались значительно выраженные и преобладающие ангиогенные изменения в спинном мозгу, такие как: гиперемия сосудов, венозные тромбозы, размягчение и кровоотечение. Обращает внимание ограничение кровотока изменений только в пределах серого вещества спинного мозга и размягчения до района основания заднего рога

Патомеханизм ангиогенных изменений обсуждается в свете новейших исследований.

J. Korthals, K. Renkawek

VASCULOGENIC CHANGES IN THE SPINAL CORD IN A CASE
OF *POLYGANGLIORADICULONEURITIS*

Summary

A rare case of coexistence of inflammatory and vasculogenic changes in *polyganglioradiculoneuritis* is described.

In the neuropathological picture, beside inflammatory and degenerative changes in the spinal roots and intravertebral ganglia, there occurred pronounced and dominating vascular hyperaemia, venous thrombi, softening and haemorrhage. Noteworthy is the strict limitation of the haemorrhagic changes to the grey matter of the spinal cord and softening to the region of the base of the posterior horn.

The pathomechanism of the vascular changes is discussed in the light of the results of latest investigations.

PIŚMIENNICTWO

1. Bogaert van L.: La poly-ganglio-radiculo-névrite. Handbuch Spez. Path. Anat. u. Hist., Berlin 1958, 13/2A, 298—309.
2. Dąbska M.: Polyganglioradiculoneuritis jako jednostka anatomo-kliniczna. Neuropat. Pol., 1964, 1, 220—226.
3. Gillilan L.: The arterial blood supply of the human spinal cord. J. comp. Neurol., 1958, 110, 75—103.
4. Hoff H., Zeithofer J., Wanko Th.: Eine eigenartige Form von Neuroradikulo-myelopathie (Anatomische und klinische Untersuchungen). Wien Z. Nervenheilk., 1954, 9, 203—227.
5. Jaffe D., Freeman W.: Spinal necrosis and softening of obscure origin: necrotic myelitis versus myelomalacia. Arch. Neurol. Psychiatr., 1943, 49, 683—707.
6. Jellinger K.: Zur Orthologie und Pathologie der Rückenmarksdurchblutung. Springer-Verlag, Wien 1966, 212.
7. Keschner M., Davison C.: Myelitic and myelopathic lesions I. Toxic myelopathy. Arch. Neurol. Psychiatr., Chicago 1933, 29, 600—614.
8. Krogh E.: Effect of acute anoxia on the large motor cells in the spinal cord. Acta Jutland. Suppl., 1945, 17, 1—37.
9. Krogh E.: The effect of acute hypoxia on the motor cells of the spinal cord. Acta physiol. Scand., 1950, 20, 263—292.
10. Lindenberg R.: Das Gefäßsystem des Rückenmarks. In: Hdb. spez. path. Anat. Hist., Bd. XIII/1B, 1154—1164. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1957.
11. Martin J. J.: Polyradiculonevritis aigues et subaigues. Acta Neur. Psych. Belg., 1960, 60, 1087—1135.
12. Opalski A.: Choroby ośrodkowego układu nerwowego pochodzenia naczyniowego i choroby starcze. PZWL, Warszawa 1951, 147.
13. Ravn H.: The Landry-Guillain-Barre syndrome. A survey and a clinical report of 127 cases. Acta Neurol. Scand., 1967, 43, 1—64; Suppl. 30, Munksgaard, Copenhagen 1967.
14. Szapiro M., Stepień A.: Z zagadnień zespołu Guillain-Barre. Neurol. Neurochir. Psych. Pol., 1955, 5, 57—68.
15. Zülch K. J.: Mangeldurchblutung an den Grenzzonen zweier Gefäßgebiete als Ursache bisher ungeklärter Rückenmarksschädigungen. Dtsch. Z. Nervenheilk., 1954, 172, 81—101.
16. Zülch K. J.: Réflexions sur la pathophysiologie des troubles vasculaires médullaires. Rev. neurol., Paris 1962, 106, 632—645.

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

T R E Ś C

K. Domańska-Janik, D. Biesold: Brain hexokinase. Effect of ATP and localization in mitochondria	485
J. Tarmas: Morphological and histochemical studies on the giant neurons of the reticular formation of the some laboratory Mammals	499
Z. Kraśnicka, K. Renkawek: Wpływ krótkotrwałej anoksji na obraz morfologiczny i histochemiczny tkanki glejowej hodowanej in vitro	507
✓ M. Wender, A. Piechowski, A. Wajgt: Cerebral proteins in experimental cyanide encephalopathy	519
B. Hoppe, Z. Olejnik: Ostra encefalopatia w przebiegu wirusowego zapalenia wątroby	529
A. Brzecki, A. Gruszka, A. Zabiega, C. Myślicka: Zmiany w mózgu w przebiegu wyspiaka trzustki	539
M. Dąmbska, J. Korthals, M. J. Mossakowski: Postępująca wieloogniskowa leukoencefalopatia	545
J. Głowacki, A. Stefanicka-Wiechowa, Z. Zdybek-Demel: Mnogi naczynek jamisty mózgu	555
J. Korthals, K. Renkawek: Zmiany naczyniopochodne w rdzeniu kręgowym w przypadku polyganglioradiculoneuritis	561

СО Д Е Р Ж А Н И Е

K. Доманьска-Яник, Д. Безольд: Гексокиназа мозга. Влияние АТФ и локализация в митохондриях	485
Ю. Тармас: Морфологические и гистохимические исследования гигантских нейронов ретикулярной формации некоторых лабораторных млекопитающих	499
З. Красьницка, К. Ренкавек: Влияние краткосрочной аноксии на морфологическую и гистохимическую картину глиальной ткани, выращиваемой in vitro	507
М. Вендер, А. Пеховски, А. Вайт: Растворимые белки мозга при экспериментальной цианидной энцефалопатии	519
Б. Гоппе, З. Олейник: Острая энцефалопатия при вирусном гепатите	529
А. Бжецки, А. Грушка, А. Забега, Ч. Мысльницка: Мозговые изменения в случае инсульта поджелудочной железы	539
М. Домбска, Я. Кортхальс, М. Е. Моссаковский: Многоочаговая прогрессирующая лейкоэнцефалопатия	545
Я. Гловацки, А. Стефаницка-Вехова, З. Демель-Здыбек: Множественная кавернозная гемангиома мозга	555
Я. Кортхальс, К. Ренкавек: Вазогенные изменения в спинном мозгу в случае polyganglioradiculoneuritis	561

C O N T E N T S

K. Domańska-Janik, D. Biesold: Brain hexokinase. Effect of ATP and localization in mitochondria	485
J. Tarmas: Morphological and histochemical studies on the giant neurons of the reticular formation of the some laboratory Mammals	499
Z. Kraśnicka, K. Renkawek: Effect of transitory anoxia on the morphological and histochemical picture of the glial tissue in vitro	507
M. Wender, A. Piechowski, A. Wajgt: Cerebral proteins in experimental cyanide encephalopathy	519
B. Hoppe, Z. Olejnik: Acute encephalopathy in the course of viral hepatitis	529
A. Brzecki, A. Gruszka, A. Zabiega, C. Myślicka: Cerebral changes in a case of pancreatic insuloma	539
M. Dąmbska, J. Korthals, M. J. Mossakowski: Progressive multifocal leukoencephalopathy	545
J. Głowacki, A. Stefanicka-Wiechowa, Z. Zdybek-Demel: Multiple cavernous hemangioma of the brain	555
J. Korthals, K. Renkawek: Vasculogenic changes in the spinal cord in a case of polyganglioradiculoneuritis	561

WARUNKI PRENUMERATY

Cena prenumeraty krajowej:

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

Institucje 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.

*

Quarterly "Neuropatologia Polska" appearing since 1963, as an official Journal of Polish Association of Neuropathologists publishes papers in the field of: Clinical and Experimental Neuropathology, Neurooncology, Neurochemistry and Neuroanatomy.

Yearly subscription US \$ 12.— (prices in other currencies are the effective exchange rates in relation to the currency quoted above). Subscriptions from abroad should be paid to Ars Polona-Ruch account No 1595-006-71000 through the Bank Handlowy S.A. Warsaw, Poland.

Indeks 36910

Zakł. Graf. „Tamka”. Z. 2. Zam. 449. Pap. ilustr. kl. III. 80 g. B1.
Nakład 432 + 23 egz. Ark. druk. 5,25 + 1,875. A-89.