

P105



W. B. CZECHOWSKI

eqz 2

STOWARZYSZENIE NEUROPATOLOGÓW POLSKICH

NEUROPATOLOGIA POLSKA

TOM XVI

1978

ZESZ. 2

WARSZAWA

<http://rcin.org.pl>

55 Arch. Mo. ~~1978~~

NEUROPATHOLOGIA POLSKA

KWARTALNIK

Tom XVI

KWIECIEŃ—CZERWIEC

Nr 2

KOMITET REDAKCYJNY

Jerzy Dymecki (Warszawa), *Janusz Groniowski* (Warszawa), *Jerzy Kulczycki* (Warszawa), *Adam Kunicki* (Warszawa), *Tadeusz Majdecki* (Warszawa), *Mirostlaw Mossakowski* (Warszawa), *Ewa Osetowska* (Mińsk Mazowiecki), *Mieczysław Smiatek* (Warszawa), *Mieczysław Wender* (Poznań), *Irmina Zelman* (Warszawa)

PRZY WSPÓŁPRACY

Ludo van Bogaert (Antwerpia), *Werner Jänisch* (Halle), *Igor Klatzo* (Bethesda), *Istvan Környey* (Pecs), *William H. McMenemey* (London), *Jochen Quandt* (Bernburg-Saale), *Franz Seitelberger* (Wiedeń), *Istvan Tariska* (Budapeszt).

REDAKCJA SCISŁA

Janusz Groniowski, *Adam Kunicki*, *Mirostlaw Mossakowski*, *Ewa Osetowska*,
Mieczysław Wender

REDAKCJA

Redaktor Naczelny: *Irmina Zelman*
Sekretarz Redakcji: *Halina Kroh*

ADRES REDAKCJI

Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej Polskiej Akademii Nauk
ul. Dworkowa 3, 00-784 Warszawa, tel. 49-54-10

Wydawca

PAŃSTWOWY ZAKŁAD WYDAWNICTW LEKARSKICH



MIECZYŚLAW WENDER, ZOFIA ADAMCZEWSKA, JADWIGA PANKRAC,
ANDRZEJ WAJGT

MYELIN LIPIDS IN CYANIDE ENCEPHALOPATHY *)

Department of Neurology, Institute of Diseases of the Nervous System
and of Sensory Organs, Medical Academy, Poznań, Poland
Head: Prof. dr M. Wender

Cyanide poisoning serves as an experimental model for studies on the effect of anoxia on myelin and indirectly for studies on general pathogenetic problems of demyelination. This type of poisoning causes cytotoxic brain edema and also almost constantly encountered damage of the corpus callosum myelin and of other commissural structures and subcortical white matter. Intensive neuronal injury and diffuse necrosis are only observed in cases of the most severe poisoning.

As it has been demonstrated in our previous studies (Wender et al., 1973), cyanide encephalopathy results in the brain white matter in a significant decline of sphingomyelin, sulphatides and free cholesterol as well as phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine content and in prominent cholesterol esterification. The cerebral grey matter demonstrated decreased sulphatide and cholesterol contents, as well as sphingomyelin and phosphatidylethanolamine concentrations though only in the early period of the illness. In both the white and the grey matter a prominent change of gangliosides was observed, which preceded the noticeable morphological changes in the neurons.

Continuing our investigations on isolated myelin fractions we intended to find out to what degree the above presented deviations in the general lipid content of the brain reflect the changes in myelin sheaths, and to what degree they reflect the damage of other than myelin cellular membranes. Elucidation of this problem would significantly contribute to the knowledge concerning the effect of cyanide poisoning on lipid metabolism of the myelin sheath.

*) This investigation was supported by NIH PL 480 Research Agreement No. 05-027-1.

MATERIAL AND METHODS

The experiments were performed on white rats of 200—250 g body weight, which were exposed to HCN inhalation, according to a technique worked out by Levine and Stypulkowski (1959). The animals were placed in a glass exsiccator fed with a gaseous mixture of air and cyanide. A glass receptacle containing a solution of 10% HCN through which air was circulated at a flow rate of 7 litres/min was placed between the exsiccator and cylinder with compressed air. Under these conditions, after about 10 min, the animals lost their motoric ability, though shallow breathing continued. The corneal reflex was preserved. The animals were kept in these conditions for 35 min. Then they were reanimated with pure oxygen. Chemical experiments were carried out on groups of 6 animals, killed 4 hours, 18 hours and 14 days after intoxication with HCN.

Histological techniques. The histological preparations were stained with H + E, with the methods of Nissl, Spielmeyer, Woelcke and Klüver-Barrera.

Biochemical techniques. Isolation of the myelin fraction was accomplished essentially according to the method described by Horrocks (1967). The cerebral white matter, ca 1.0 g, was dispersed in 10 ml of 1.0 M sucrose containing 0.003 M EDTA and homogenized in a tissue grinder equipped with a Teflon pestle. The homogenate was then centrifuged for 1 h at 40 000 g (ca 30 000 rpm) in a swinging bucket rotor of the VAC 60 centrifuge.

The floating fluffy layer was collected by means of a syringe and transferred into 5 ml of 0.8 M sucrose containing 0.003 M EDTA and recentrifuged as above. The resulting floating fluffy layer was suspended in bidistilled water and centrifuged at 100 000 g (ca 35 000 rpm) for 15 min in an angle rotor. The supernatant was discarded and the pellet resuspended in bidistilled water followed by recentrifugation in the same conditions for 25 min. The resulting supernatant was discarded and the pellet suspended in 5 ml of 0.8 M sucrose containing EDTA (0.003 M) followed by centrifugation at 40 000 g for 1 h in a swinging bucket rotor. The floating precipitate was suspended in bidistilled water and then centrifuged at 100 000 g in the angle rotor. This last washing procedure was repeated 4 times.

The purity of the finally obtained myelin fraction was checked by means of electron microscopy (Fig. 1) using the technique described by Horrocks (1968).

Quantitative lipid determinations. The lipids were extracted from the myelin fraction according to the method of Folch-Pi

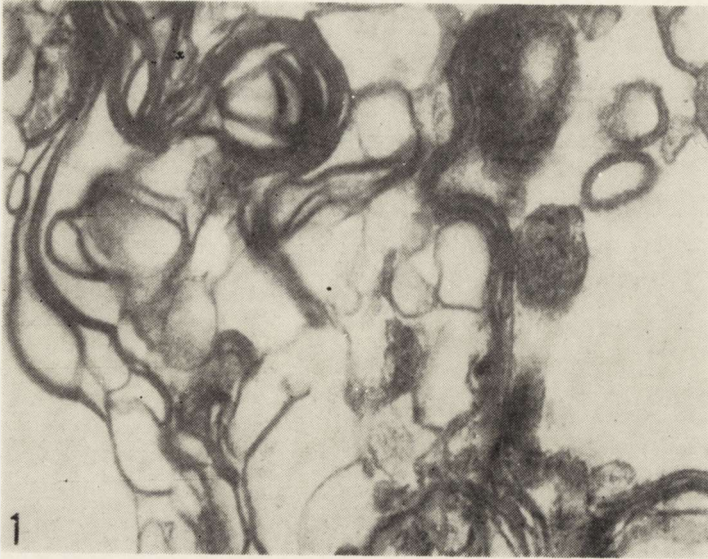


Fig. 1. Myelin fraction in the electron microscopic picture. $\times 140\,000$.

Ryc. 1. Obraz mikroskopowo elektronowy frakcji mielinowej. Pow. $140\,000 \times$.

et al. (1957). The extracted total lipids were further separated by means of combined column and thin-layer chromatography. Cerebrosides, sulphatides and cholesterol were separated and estimated using the chromatographic procedure after Svennerholm (1964). Cholesterol was quantitatively determined after elution of the silica gel scrapings using the method of Sperry and Webb (1950) and cerebrosides as well as sulphatides- by the method of Radin et al. (1955).

Phospholipids were separated by means of twodimensional chromatography according to the method described by Singh et al. (1971). The plates were coated with silica gel G (Merck) and developed in the first direction in chloroform: methanol: water (65:25:4). After drying the plates were hydrolysed with 12% hydrochloric acid in methanol. HCl and methanol were evaporated from the plate with a stream of nitrogen. Thereafter the plates were developed in the second direction in chloroform: acetone: methanol: glacial acetic acid: water (5:2:1:1:0.5).

The phosphorus content of the separated, identified and scraped off spots was determined after elution using the method of Bartlett (1959).

RESULTS

Histology. Cytological and myelin staining showed in many cases in the early periods of the experiment (4 and 18 hours after HCN poisoning) features of spongioid degeneration of moderate intensity in

the basal nuclei. In this period no prominent myelin pallor was observed in the commissural structures. Demyelination, with distinct topography was evident in the third of the studied experimental periods (14 days after HCN poisoning) within the commissural structures and in a part of the capsule fibres.

Table 1. Lipid composition of brain myelin in cyanide encephalopathy (in % of total myelin lipids)

Tabela 1. Skład lipidów mieliny mózgu w encefalopatii cyjanowej (w % ogólnej zawartości lipidów mieliny)

Lipids Lipidy	4 hrs after HCN	18 hrs after HCN	14 days after	HCN intoxication
	Normal animals Norma	intoxication 4 godz. po zatruciu HCN	intoxication 18 godz. po zatruciu HCN	14 dni po zatruciu HCN
Cholesterol	19.9 ± 0.4	<u>23.2 ± 0.2</u>	<u>24.0 ± 0.4</u>	<u>24.5 ± 0.3</u>
Cerebrosides	23.0 ± 1.2	<u>32.5 ± 0.5</u>	<u>31.3 ± 0.6</u>	<u>27.9 ± 0.5</u>
Sulphatides	9.3 ± 0.9	<u>5.5 ± 0.3</u>	<u>5.9 ± 0.2</u>	<u>4.8 ± 0.2</u>
Sphingomyelins	4.3 ± 0.5	<u>4.3 ± 0.2</u>	<u>2.9 ± 0.1</u>	<u>3.3 ± 0.2</u>
Phosphatidyl choline	15.3 ± 0.3	<u>11.2 ± 0.3</u>	<u>12.7 ± 0.2</u>	<u>13.7 ± 0.4</u>
Unidentified fraction	0	1.0 ± 0.1	1.1 ± 0.2	0.9 ± 0.1
Phosphatidyl serine				
+ phosphoinositides	5.9 ± 0.2	<u>4.7 ± 0.2</u>	<u>4.6 ± 0.1</u>	<u>5.2 ± 0.1</u>
Plasmalogen	16.1 ± 0.2	<u>13.0 ± 0.3</u>	<u>12.7 ± 0.3</u>	<u>14.2 ± 0.4</u>
Total Glycolipids				
Glikolipidy całość	32.3 ± 1.3	<u>38.0 ± 0.7</u>	<u>37.4 ± 0.7</u>	<u>32.7 ± 0.6</u>
Total Phospholipids				
Fosfolipidy całość	47.8 ± 1.0	<u>38.8 ± 0.8</u>	<u>38.6 ± 0.5</u>	<u>42.8 ± 0.5</u>

Values are expressed as the mean ± standard error

Średnia ± średni błąd średniej

Number of estimations in each group: 6

Liczba oznaczeń w każdej grupie: 6

Significant differences underlined

Istotne różnice podkreślono

Table 2. Phospholipid composition of brain myelin in cyanide encephalopathy (in % of total myelin phospholipids)

Tabela 2. Skład fosfolipidów mieliny mózgu w encefalopatii cyjanowej (w % ogólnej zawartości lipidów mieliny)

Phospholipids Fosfolipidy	Normal animals Norma	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
Sphingomyelins Sfingomieliiny	9.0 ± 0.6	11.1 ± 0.3	7.5 ± 0.3	7.8 ± 0.5
Phosphatidyl choline Fosfatydylocholina	31.6 ± 0.6	28.9 ± 0.1	33.2 ± 0.3	32.0 ± 0.6
Unidentified fraction Fracja niezidentyfikowana	0	2.5 ± 0.1	2.2 ± 0.3	2.0 ± 0.3
Phosphatidyl serine + phosphoinositides Fosfatydyloseryna + fosfoinozytol	12.4 ± 0.8	12.1 ± 0.5	12.0 ± 0.2	12.2 ± 0.3
Phosphatidyl ethanolamine Fosfatydyloetanolamina	13.1 ± 0.4	11.8 ± 0.4	12.1 ± 0.3	12.8 ± 0.4
Plasmalogen Plazmalogen	33.9 ± 0.5	33.6 ± 0.5	33.0 ± 0.3	33.2 ± 0.7

Values are expressed as the mean ± standard error

Średnia ± średni błąd średniej

Number of estimations in each group: 6

Liczba oznaczeń w każdej grupie: 6

Significant differences underlined

Istotne różnice podkreślono

Chemistry. The results of studies on the content of myelin lipids expressed in percentage of total lipid content clearly indicate that in the early period after poisoning the most prominent changes were found within the phospholipid classes. Among glycolipids only the sulphatides showed a decline.

Among the individual phospholipid fractions a statistically significant decline in both studied early periods after poisoning is demonstrated by phosphatidylcholine, phosphatidylserine and plasmalogen. Contrary to the results concerning phospholipids and sulphatides, the cholesterol and cerebroside contents are relatively increased in the studied myelin fraction.

In the later period of the experimental disease (14 days after poisoning) when demyelination becomes morphologically discernable, only

Table 3. Glycolipid composition of brain myelin in cyanide encephalopathy (in % of total myelin glycolipids)

Tabela 3. Skład glikolipidów mielinę mózgu w encefalopatii cyjanowej (w % ogólnej zawartości lipidów mielinę)

Glycolipids Glikolipidy	Normal animals Norma	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
Cerebrosides Cerebrozydy	71.0 ± 1.0	85.6 ± 0.2	84.1 ± 0.6	85.4 ± 0.6
Sulphatides Sulfatydy	29.0 ± 1.0	14.4 ± 0.2	15.9 ± 0.6	14.6 ± 0.6

Values are expressed as the mean ± standard error

Średnie ± średni błąd średniej

Number of estimations in each group: 6

Liczba oznaczeń w każdej grupie: 6

Significant differences underlined

Istotne różnice podkreślono

the plasmalogens are declined, whereas the content of sulphatides as compared to the early periods even further decreases. All the above presented results are demonstrated in Table 1.

Since the proportions at which the particular phospholipid and glycolipid fractions, contributed to the total myelin phosphatides (Table 2) and glycolipids (Table 3) remained almost unchanged, it may be concluded that it is only the ratio between the cholesterol and polar lipids (phosphatides and glycolipids) of myelin sheath that undergoes changes in cyanide encephalopathy.

DISCUSSION

Among external factors leading to demyelination in the brain anoxia plays a significant role. Cases of this type, usually of a relapsing course were described as the result of cardiac arrest during anesthesia and surgery and also in carbon monoxide and cyanide poisoning (Meyer, 1961; Wender et al., 1964; Kolkman, 1967; Coquet et al., 1973). Pathogenetic considerations tend to fluctuate between assumptions that myelin damage is a secondary effect following changes in the oligodendroglia, attempting to explain this pathological process in terms of a direct effect of this noxious agent on the metabolism of the proteolipid structures of the myelin membrane. The cellular factor may in fact be very important in this respect, since as ensuing from the studies of Hoppe (1974) oligodendroglial cells besides neurocytes showed the grea-

test sensitivity to hypoxia caused by the exposure of tissue cultures to carbon monoxide.

On the other hand, observations which indicate that cyanide poisoning leads to stimulation of the oxido-reductive metabolism of neuroglia, especially in oligodendrocytes (Ibrahim et al., 1963; Wender et al., 1972) should also be taken into account. These data, however, are not sufficient for drawing the conclusion that the damage of myelin fibres is secondary to the changes in oligodendroglia. This opinion would be an obvious simplification in view of the fact that in cyanide encephalopathy several metabolic deviations are observed and these concern as well the protein as the lipid constituents of the nervous tissue (Wender et al., 1972, 1974; Owsianowski, 1975).

In the present study of myelin lipids in cyanide encephalopathy it was observed that the changes consist in a decrease of the content of all phospholipid fractions and among glycolipids in a significant decline of the sulphatide percentage, resulting in the relative increase of cholesterol content. These changes are responsible for an impaired ratio between polar and nonpolar components of the myelin sheath. Thus, the physicochemical properties of the myelin membrane become altered, although it has not been established that this is the decisive factor for the process of myelin disintegration.

Similar deviations, although differing in several aspects, in the content and composition of myelin lipids were observed in other diseases of the central nervous system, in both experimental and those appearing in human pathology. In experimental allergic encephalomyelitis (Wender et al., 1975) it was observed that cholesterol was the most stable component of myelin lipids in this process, while a prominent decline of glycolipids and phospholipids occurred.

In chronic triethyl tin poisoning, significant changes in the myelin lipid content were also encountered (Eto et al., 1971), consisting of a relatively increased cholesterol content, accompanied by a decline of galactolipids, mainly cerebrosides and also phospholipids among which phosphatidylethanolamine was a particularly sensitive component.

These results seem to indicate that in various experimental processes leading to myelin decomposition some common deviations of basic character are observed (the changes in the ratio of polar to nonpolar myelin lipids) as well as some compositional changes distinct for particular morbid entities. However, none of the existing data are sufficient to consider these changes as fully pathognomic for a particular noxious factor. Far advanced deviations in the myelin lipid content are observed in Schilder's disease, in lipidoses, spongy myelin degeneration, subacute sclerosing panencephalitis, or even in the apparently normal

white matter in multiple sclerosis. A more detailed review of these studies may be found in the report of Suzuki et al. (1970), and in our previous study (Wender et al., 1975).

It appeared from investigations performed on either the white or grey matter, as well as on the isolated myelin fractions, that the only change persistent throughout the whole investigated period (from 4 hrs till 14 days after intoxication) was the prominent decline of one of the glycolipid fractions, i.e. of sulphatides. This could indicate, that cyanide intoxication affects the activity of arylsulphatases — the enzymes which play a crucial role in the metabolism of acid glycolipids in the nervous tissue.

However, this supposition could not be confirmed by previous studies (Wender et al., 1974), in which only a slight decline of activity of arylsulphatase A + B and C was observed in the nervous tissue in cyanide encephalopathy.

Changes in the content of myelin lipids were observed in cyanide encephalopathy already in the early period of this experimental disease and even before the appearance of distinct morphological signs of myelin disintegration. These results, similarly to our several previous studies on protein and lipid metabolism in cyanide encephalopathy seem to indicate that demyelination in these conditions is due to widespread disturbances in the metabolism of the lipid and protein constituents of the myelin membrane. However, these deviations should be regarded as at least highly independent from the damage of oligodendroglia.

M. Wender, Z. Adamczewska, J. Pankrac, A. Wajgt

LIPIDY MIELINY W ENCEFALOPATII CYJANOWEJ

Streszczenie

Badano skład lipidów mieliny u szczurów, u których wywoływano encefalopatię przez zatrucie cyjankiem potasu metodą wziewną. Frakcję mielinową wyodrębniano drogą ultrawierowania różnicowego. Zawartość poszczególnych lipidów mieliny oznaczano po rozdziale chromatograficznym.

Przy przeliczaniu wyników badań w procentach ogólnej zawartości lipidów mieliny, stwierdzono największe zmiany we wczesnym okresie po zatruciu w zakresie frakcji fosfolipidowych. Spośród glikolipidów wyraźny spadek poziomu we wszystkich badanych okresach choroby doświadczalnej wykazują sulfatydy. Powyższe zmiany wyprzedzają uchwytne morfologicznie rozpad mieliny, występujący dopiero w drugim tygodniu po zatruciu.

Wyniki te zdają się wskazywać, że demielinizacja w encefalopatii cyjanowej jest następstwem rozległych zaburzeń przemiany błon białkowo-lipidowych tworzących osłonkę mielinową.

М. Вендер, З. Адамчевска, Я. Панкрац, А. Вайгт

ЛИПИДЫ МИЕЛИНА ПРИ ЦИАНИСТОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ

Резюме

Исследовали состав липидов миелина у крыс, у которых вызывали энцефалопатию путем отравления цианистым калием вдыхательным методом. Миелиновую фракцию выделяли дифференциальным ультрацентрифугированием. Содержание отдельных липидов миелина определяли хроматографическим разделением.

При пересчете результатов исследований на проценты общего содержания липидов миелина, самые большие изменения были обнаружены в фосфолипидной фракции в раннем периоде после отравления. Из гликолипидов отчетливое снижение уровня во всех исследуемых периодах экспериментальной болезни проявляли сульфатиды. Эти изменения опережали морфологически уловимый распад миелина, выступающий только на второй неделе после отравления. Эти результаты указывают, по-видимому, что демиелинизация при цианистой энцефалопатии является следствием обширных нарушений обмена белково-липидных мембран, образующих миелиновую оболочку.

REFERENCES

1. Bartlett G.: Phosphorus assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.* 1959, 234, 466—468.
2. Coquet M., Carde M., Vallat J., Cardinaud J., Vital C., Castaing R.: Un cas leucoencéphalopathie anoxique post-anesthésique. *Acta neuropath. (Berl.)* 1973, 25, 237—243.
3. Eto Y., Suzuki K., Suzuki K.: Lipid composition of rat brain myelin in triethyl tin—induced edema. *J. Lipid Res.* 1971, 12, 570—579.
4. Folch-Pi J., Lees M., Sloane-Stanley G.: A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 1957, 226, 497—511.
5. Hoppe B.: Образ змian strukturalnych i histochemicznych gleju hodowanego in vitro poddanego działaniu tlenku węgla. *Neuropat. Pol.* 1974, 12, 371—383.
6. Horrocks L.: Composition of myelin from peripheral and central nervous system of the squirrel monkey. *J. Lipid Res.* 1967, 8, 569—576.
7. Horrocks L.: Composition of mouse brain myelin during development. *J. Neurochem.* 1968, 15, 483—488.
8. 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. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 1963, 26, 479—486.
9. Kolkmann W.: Hirnveränderungen nach Herz- und Atemstillstand bei Narkosezwischenfällen. *Verh. dtch. Ges. Path.* 1967, 51, 367—370.
10. Levine S., Stypulkowski W.: Experimental cyanide encephalopathy. *Arch. Pathol.* 1959, 67, 306—323.
11. Meyer J.: Hirnveränderungen vom Typ der intravallären CO-Vergiftung nach Stick-oxydul-Äther-Narkose. *Arch. Psychiat. Nervenkr.* 1961, 202, 113—125.

12. Owsianowski M.: Cholesterol metabolism in the rat brain during experimental cyanide encephalopathy. *Neuropat. Pol.* 1975, 13, 423—431.
13. Radin N., Lavin F., Brown J.: Determinations of cerebroside. *J. Biol. Chem.* 1955, 217, 789—796.
14. Singh H., Spritz M., Geyer B.: Studies of brain myelin in the „quaking mouse”. *J. Lipid Res.* 1971, 12, 473—481.
15. Sperry W., Webb M.: A revision of the Schoenheimer-Sperry method for cholesterol determination. *J. Biol. Chem.* 1950, 187, 97—106.
16. Suzuki K., Tucker S., Rorke Z., Suzuki K.: Ultrastructural and biochemical studies of Schilder's disease. II. *Biochemistry. J. Neuropath. exp. Neurol.* 1970, 29, 405—419.
17. Svennerholm L.: The distribution of lipids in the human nervous system. *J. Neurochem.* 1964, 11, 839—859.
18. Wender M., Adamczewska Z., Pankrac J., Goncerzewicz A.: Myelin lipids in experimental allergic encephalomyelitis. *Neuropat. Pol.* 1975, 13, 209—217.
19. Wender M., Adamczewska Z., Wajgt A.: Cerebral lipids in experimental cyanide encephalopathy. *Neuropat. Pol.* 1973, 11, 417—425.
20. Wender M., Jurczyk W., Stengert K.: Cerebral lipids in myelinopathy caused by cardiac arrest. *Acta neuropath. (Berl.)* 1964, 4, 238—244.
21. Wender M., Kozik M., Wajgt A.: Histochemistry of experimental cyanide encephalopathy. *Acta histochem.* 1972, 43, 361—371.
22. Wender C., Piechowski A., Wajgt A.: Soluble cerebral proteins in experimental demyelinating processes. *Exp. Path.* 1972, 7, 290—297.
23. Wender M., Piechowski A., Wajgt A.: The activity of arylsulphatases in experimental cyanide encephalopathy. *Exp. Path.* 1974, 9, 122—124.
24. Wender C., Zgorzalewicz B., Wajgt A.: Protein synthesis in vitro by the rat brain in course of experimental cyanide encephalopathy. *Exp. Path.* 1974, 9, 140—143.

Authors address: Department of Neurology, Medical Academy, 49, Przyby-
szewskiego Str., 60—355 Poznań, Poland

MIECZYŚLAW WENDER, JANINA STANISŁAWSKA,
HELENA FILIPEK-WENDER

CEREBRAL CHOLESTERYL ESTERS IN CYANIDE
ENCEPHALOPATHY *

Department of Neurology, Institute of Diseases of the Nervous System
and of Sensory Organs, Medical School, Poznań
Department of Biochemistry, Institute of Physiological Sciences,
Medical School, Poznań, Poland

The ascertainment of sudanophilic deposits in the central nervous system (CNS) afflicted by demyelinating processes has given rise to speculations on the sequence of the chemical phase of myelin decomposition. After the early assumption — that the sudanophilic nature of demyelinated areas of the CNS is due to accumulation of triglycerides — has proved unreal, histochemical and biochemical investigations have provided evidence that the main lipid responsible for the sudanophilia of demyelinated areas of the CNS is esterified cholesterol. Since then it has been commonly accepted, that the appearance of cholesteryl esters in the adult CNS can serve as one of the exponents of an active demyelinating process (Cumings, 1955; Edgar, 1959; Suzuki et al., 1970).

The simplest explanation for the undue formation of cholesteryl esters would be, that esterified cholesterol constitutes one of the end products of myelin disintegration. Cholesteryl esters were supposed to be formed as the result of esterification of the free cholesterol released from the myelin membranes by the demyelinating process with free fatty acids liberated from myelin phospholipids probably by the action of phospholipases, whereby the decisive role in this process was ascribed to the action of macrophages (Petrescu, 1969). This assumption however, could not be fully confirmed in the investigations of Werb and Cohn (1972), who were unable to demonstrate any cholesterol esterifying activity of isolated macrophages, instead these cells were able to hydrolyze cholesteryl esters.

* This investigation was supported by the Polish Academy of Sciences (No. 09.4.1.3.3.3.).

Our investigations in experimental demyelinating processes, such as triethyl tin intoxication (Wender et al., 1973b) and in experimental allergic encephalomyelitis (Wender et al., 1976) indicate, that the formation of steryl esters in the mature central nervous system is not exclusively due to the action of enzymes produced by macrophages. An increase of cholesteryl esters (CE) content in the CNS in these experimental diseases has already been observed prior to any histologically detectable signs of myelin decay, in the absence of lipomacrophages, and even if sudanophilic deposits were lacking.

Continuing our investigations we determined the content and composition of CE in the rat brain in the course of cyanide induced encephalopathy, using a combined column and thin-layer chromatographic technique, by means of which CE are separated according to the degree of unsaturation of their fatty acyl residues.

MATERIAL AND METHODS

The experiments were performed on Wistar rats of either sex, 200—250 g of body weight, which were exposed to hydrogen cyanide, using to method of Levine and Stypulkowski (1959). The experimental animals were sacrificed in groups consisting of about 40 rats after 4, 18 h and 14 days following HCN intoxication.

Histology. For histological purposes, frozen brain sections were stained with hematoxylin-eosin and using the method of Spielmeyer and those embedded in celloidine were stained according to Woelcke, Nissl and hematoxylin-eosin.

Chemical methods. Samples of grey and white matter from 3—5 brains (ca 1—1,5 g of tissue wet weight) were homogenized and extracted with 20 vol. of chloroform : methanol 2:1. Obtained lipid extracts were partitioned according to Folch-Pi et al. (1957) with 0.2 vol. of 0.05 M KCl. After separation of phases, the upper phase was discarded and the chloroform phase dried with anhydrous Na_2SO_4 and taken to dryness at 40°C in a gentle stream of oxygen-free nitrogen. The dry residue was extracted with hexane, and the hexane extracts were passed through silicic acid columns, from which the CE were eluted with 4% ethyl ether in hexane. The individual cholesteryl esters were then separated according to the degree of unsaturation of the fatty acyl residues by means of thin-layer chromatography essentially as described by Tichý (1971), except that the proportions at which the individual esters contributed to the total CE amount were derived from chemical determination of the cholesterol content in the particular

ester fractions. The areas corresponding to the individual CE fractions were scraped off the plates, eluted with chloroform followed by chloroform : methanol 1:1, and the cholesterol content in these eluates was determined essentially according to Sperry and Webb as described by Vahouny et al. (1963). Further details were reported previously (Wender et al., 1973a, b). To prevent autooxidation of the fatty acyl residues, all solvents used in the extraction or chromatographic procedures were flushed with nitrogen and contained 1 mg% of butyryl-4-hydroxy-anisol as an antioxidant.

RESULTS

The histopathological pictures of cyanide induced encephalopathy were identical with those reported in our previous publications (Wender et al., 1972). A well-defined demyelination was seen only as late as about 14 days after intoxication, showing the characteristic localization of changes, limited to the commissural system and to fibres of the radiate crown. An occurrence of necrotic fields in the white matter as well as of distinct neuronal changes was noted only exceptionally.

The results obtained from our chemical determinations are presented in Table 1 and 2. It appears, that using the adopted procedure, by means of which the polar lipids from the total lipid extract of the respective brain specimen become adsorbed on silic acid columns so that a considerable concentration of the highly nonpolar lipids, which in the case of the nervous tissue are presumably constituted mainly by CE, we were able not only to detect CE in the white and grey matter of a normal, adult rat brain, but also to determine their composition.

The obtained results have revealed, that the content of CE in the white matter does not change significantly during the period of observation following cyanide intoxication and amounts to about 50 nmoles, corresponding to about 20 μg of esterified cholesterol per one gram of tissue wet weight. In the grey matter the total amount of CE increased steadily during the experimental disease, the increase ranging from 53% at 4 h up to 85% at 18 h after intoxication, and then declined to reach a mean value still some 40% higher than in control rats. Anyhow, the absolute amount of CE was almost three times lower than in the white matter, amounting in control animals only to about 20 nmoles, i.e. 75 μg of esterified cholesterol per gram of tissue wet weight.

The pathological process evoked by hydrogen cyanide inhalation was, however, able to bring about considerable changes in the CE composition in both the white and grey matter. The CE spectrum of the white matter being even more evidently altered than that of the grey matter.

Table 1. Cholesteryl esters in the cerebral white matter of rats with cyanide encephalopathy

Tabela 1. Estry cholesterolu istoty białej mózgu szczurów z encefalopatią cyjanową

Experimental conditions Warunki doświadczalne	Total cholesteryl esters — mg/100g fresh tissue Ogólna zawar- tość estrów cho- lesterolu — mg/100g świeżej tkanki	Cholesteryl esters, % Estry cholesterolu w %				
		Fraction	Fraction	Fraction	Fraction	Fraction
		I	II	III	IV	V
		(₀ Δ) Frakcja I	(₁ Δ) Frakcja II	(₂ Δ) Frakcja III	(₃₊₄ Δ) Frakcja IV	(₅₊₆ Δ) Frakcja V
Normal animals Norma	1.6 ± 0.14	5.6 ± 0.71	10.3 ± 2.26	12.2 ± 1.88	66.4 ± 4.14	5.5 ± 1.53
4 h after HCN intoxication 4 godz. po zatruciu HCN	1.7 ± 0.15	<u>11.6 ± 1.30</u>	9.2 ± 1.52	11.1 ± 1.43	<u>48.7 ± 3.11</u>	<u>19.4 ± 2.88</u>
18 h after HCN intoxication 18 godz. po zatruciu HCN	1.8 ± 0.14	6.0 ± 1.11	9.5 ± 1.53	9.6 ± 2.02	<u>51.6 ± 3.35</u>	<u>23.3 ± 1.94</u>
14 days after HCN intoxication 14 dni po zatruciu HCN	2.4 ± 0.19	4.8 ± 1.27	7.2 ± 1.18	9.1 ± 1.56	60.1 ± 4.99	<u>18.8 ± 2.95</u>

Mean ± SE

Średnia ± średni błąd średniej

Number of estimations in each group — 6

Liczba oznaczeń w każdej grupie — 6

Significant differences underlined

Różnice istotne podkreślono

Table 2. Cholesteryl esters in the cerebral grey matter of rats with cyanide encephalopathy

Tabela 2. Estry cholesterolu istoty szarej mózgu szczurów z encefalopatią cyjanową

Experimental conditions Warunki doświadczenia	Total cholesteryl esters — mg/100 g fresh tissue Ogólna zawar- tość estrów cho- lesterolu mg/100 g świeżej tkanki	Cholesteryl esters, % Estry cholesterolu, %				
		Fraction I (₀ Δ) Frakcja I	Fraction II (₁ Δ) Frakcja II	Fraction III (₂ Δ) Frakcja III	Fraction IV (₃ + ₄) Frakcja IV	Fraction V (₅ + ₆)Δ Frakcja V
Normal animals Norma	0.7±0.13	7.3±1.51	12.2±1.24	9.9±1.50	55.1±5.07	15.5±1.77
4 h after HCN intoxication 4 godz. po zatruciu HCN	1.3±0.16	<u>14.8±1.53</u>	11.7±1.72	10.3±1.71	<u>32.2±2.40</u>	<u>30.9±2.45</u>
18 h after HCN intoxication 18 godz. po zatruciu HCN	1.2±0.31	9.8±1.14	10.8±1.40	13.4±1.72	43.8±2.90	22.2±2.58
14 days after HCN intoxication 14 dni po zatruciu HCN	1.0±0.10	<u>13.7±1.40</u>	11.9±1.51	9.7±1.69	<u>38.7±3.38</u>	26.0±3.60

Mean ± SE

Średnia ± średni błąd średniej

Number of estimations in each group — 6

Liczba oznaczeń w każdej grupie — 6

Significant differences underlined

Różnice istotne podkreślono

It appears from Tables 1 and 2 that, as far as the CE composition is concerned, animals belonging to the first experimental group, examined 4 h after intoxication displayed the most considerable alterations, in both the white and grey matter. They consisted in an elevation of the percentage of saturated and penta- and hexaenoic esters at the expense of the tri- and tetraenoic esters. Other CE fractions remained unchanged throughout the whole experiment. Eighteen hours after HCN application the changes were somewhat less pronounced, but still significant with respect to the decrease of 3—4 fold unsaturated CE and increased percentages of penta- and hexaenoic acids.

Fourteen days after cyanide poisoning, the CE spectrum of the white matter showed increased proportions only in the penta- and hexaenoic esters, whereas in the grey matter the alterations remained very much like those during the first hours of the experiment.

The observed compositional changes in CE spectrum of the brains were without relation to the macrophage reaction, which was seen only 12—14 days after intoxication, i.e. at the stage, when morphological signs of demyelination are detectable.

DISCUSSION

Nonesterified cholesterol is the main sterol of the normal adult nervous tissue, where it functions as an integral constituent of all membranous structures, the myelin membrane being particularly enriched with this compound. The free cholesterol is accompanied by trace amounts of its precursors, beginning from lanosterol, through several methyl sterols, till desmosterol — the immediate precursor compound (Ramsey et al., 1971; Spohn, Davison, 1972; Ramsey, Davison, 1974). Recent investigations seem to indicate that a small proportion of the total sterol pool occurs in the esterified form not only in the immature, but also in the adult brain (Eto and Suzuki, 1971, 1972a, b).

Thus, it is by no means astonishing that also in our investigation we were able not only to detect CE as a component of the adult rat brain, but also to determine their concentration and composition, the white matter containing approximately 3 times as much esterified cholesterol as the grey matter. As demonstrated by our study, the dominating fraction contained CE with tri- and tetraenoic fatty acyl residues. In this respect our results are at variance with those presented by Eto and Suzuki (1972a, b), but this discrepancy may be eventually explained by differences in the methodological approach. The polyunsaturated FA are liable to decomposition during the multistep procedure when analyzed by GLC, and this could presumably explain the higher pro-

portions of saturated and the lower ones of the tri- and tetraenoic esters reported by Eto and Suzuki (1972a, b).

In either case however, the CE spectrum of the brain differed substantially from that of the blood serum, which excludes the assumption that CE found in the mature brain are an admixture, originating from CE circulating in the vascular bed.

In the hitherto accepted estimation of the role of CE in the central nervous tissue dominates the view that accumulation of esterified cholesterol is a late secondary event following chemical degradation of myelin lipids. The water-soluble degradation products are according to this concept easily reabsorbed and removed from the site of origin. The nonpolar degradation products such as cholesterol and nonesterified fatty acids constitute a material which is reabsorbed and removed from the lesion with difficulty, and the preferred transport form certainly is the esterified one, whereby the free fatty acids are rendered inert and the sterol transportable.

Macrophages appearing in the vicinity of the demyelinating areas are believed to provide the necessary set of enzyme for cholesterol esterification and to transfer these products into the circulation.

However, an alternative view cannot be neglected. According to this, esterification of cholesterol could function as an early primary factor injuring the myelin membrane. It is conceivable to assume that even a slight degree of esterification of cholesterol may sufficiently weaken the structure and function of the myelin sheath to promote further degradation of myelin. For such an assumption seem to speak the presented results, as well as those obtained in EAE (Wender et al., 1976) and in the apparently normal white matter of the multiple sclerosis cases (Wender et al., 1973a) which demonstrate that significant changes in the CE content and composition precede by far the occurrence of morphologically detectable signs of myelin decomposition. In the cyanide encephalopathy these changes were most prominent 4 h following intoxication and did not correlate to any extent with the macrophage reaction.

The possibility of esterifying free cholesterol as well as hydrolyzing CE by the nervous tissue, independently to the action of macrophages ensues from the investigations of Clarenburg et al. (1966), Mezei (1970) and Eto and Suzuki (1973)), which indicate, that due to the presence of sterol ester hydrolases localized in the microsomal, mitochondrial and myelin fractions, the nervous tissue is capable of both esterifying cholesterol and hydrolyzing cholesteryl esters. The actual result of action of these enzymes as expressed by the concentration of reaction products depends on the net effect of the concomitantly proceeding re-

ction of CE synthesis and hydrolysis. The conditions which will determine the actual direction of this reaction are most likely the local pH and substrate concentration.

Hence, the observed significant alterations in the composition of CE in the brain occurring as early as 4 and 18 h after cyanide intoxication may point to esterification of cholesterol as an early factor weakening the structure of the myelin sheath, which however does not exclude the role of macrophages during the later process of removal of degradation products of myelin lipids.

The fact that unlike in EAE (Wender et al., 1976) in cyanide encephalopathy the polyenoic esters are the most evidently affected fractions remains so far an open question.

M. Wender, J. Stanisławska, H. Filipek-Wender

ESTRY CHOLESTEROLU MÓZGU W ENCEFALOPATII CYJANOWEJ

Streszczenie

Badano zawartość i skład estrów cholesterolu mózgu białych szczurów w różnych okresach po zatruciu cyjanowodorem (Levine, Stypulkowski 1959). Zawartość i skład estrów istoty białej oznaczono w eluatach z kolumn chromatograficznych wypełnionych kwasem krzemowym, na którym adsorbowano bardziej polarne lipidy ekstraktu lipidów całkowitych z badanych mózgów. Dalszego rozdziału uzyskanych lipidów niepolarnych dokonano za pomocą chromatografii cienkowarstwowej. Poszczególne estry rozdzielono według stopnia nienasyżenia ich komponenty acylowej stosując układ rozpuszczalników i technikę proponowaną przez Tichý (1971). Plamy estrów cholesterolu eluowano z chromatogramów i oznaczano w nich zawartość cholesterolu (Vahouny i wsp. 1963).

Badania wykazały, że stosując technikę izolacji i rozdziału estrów cholesterolu można je wykazać w istocie białej i szarej w prawidłowym, dojrzałym mózgu szczura i oznaczyć ich zawartość i skład.

Zatrucie cyjanowodorem prowadzi do zmian zawartości i składu estrów cholesterolu w mózgu zwierząt doświadczalnych. Odchylenia w składzie estrów są szczególnie wyraźne w istocie białej, w której we wszystkich badanych okresach po zatruciu HCN wzrasta odsetkowa zawartość estrów pięcio- i sześciokrotnie nienasyconych. Zmiany powyższe nie wykazują żadnej korelacji z reakcją makrofagów, która występuje dopiero w okresie zmian demielinizacyjnych, około 14 dni po zatruciu.

Ilość estryfikowanego cholesterolu w mózgu znajduje się w stanie dynamicznej równowagi z substratami, z których powstaje, tj. z pulą nieestryfikowanych kwasów tłuszczowych i „dostępnego” do estryfikacji wolnego cholesterolu. Równowaga ta zdeterminowana jest przez właściwe enzymy katalizujące hydrolizę estrów i estryfikację wolnego cholesterolu. Czynniki lub warunki wpływające na aktywność tych enzymów i modyfikujące aktualne stężenie i skład substratów mogą spowodować zmiany w zawartości i składzie estrów cholesterolu niezależnie od procesów gromadzenia czy transportu tych związków przy fagocytarnej rozbiórce składników chemicznych mieliny w późniejszych etapach procesu demielinizacji.

М. Вендер, Я. Станиславска, Х. Филипек-Вендер

ЭФИРЫ ХОЛЕСТЕРИНА МОЗГА ПРИ ЦИАНИСТОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ

Резюме

Исследовалось содержание и состав эфиров холестерина мозга крыс в разные периоды после отравления цианистым водородом вдыхательным методом. Содержание и состав эфиров белого и серого вещества определяли в элюатах хроматографических колонок, заполненных кремневой кислотой, на которой адсорбировались более полярные липиды экстракта общих липидов исследуемых мозгов. Дальнейшее разделение полученных неполярных липидов производили с помощью тонкослойной хроматографии. Отдельные эфиры разделяли по степени ненасыщенности их ацильного компонента, применяя систему растворителей и технику, предложенную Тихи (1971). Пятна эфиров холестерина элюировали и определяли в них содержание холестерина.

Полученные результаты показали, что применяя указанную технику выделения и разделения эфиров холестерина можно выявить их присутствие в белом и сером веществе нормального и зрелого мозга крысы и определить их содержание и состав.

Отравление цианистым водородом ведет к изменениям содержания и состава эфиров холестерина в мозге экспериментальных животных. Отклонения в составе этих эфиров были особенно отчетливы в белом веществе, в котором во всех исследуемых периодах после отравления НС возрастало процентное содержание эфиров пяти- и шестикратно ненасыщенных. Эти изменения не коррелируют с реакцией макрофагов, которая выступает лишь в период демиелинизационных изменений, т.е. через 14 дней после отравления.

Результаты исследований приводят к выводу, что количество эстерифицированного холестерина в мозге находится в состоянии динамического равновесия с субстратом, из которого образуется, т.е. с запасом неэстерифицированных жирных кислот и „доступного” для эстерификации свободного холестерина. Это равновесие детерминируется соответствующими ферментами катализирующими гидролиз эфиров и эстерифицирование свободного холестерина.

Факторы или условия, влияющие на активность этих ферментов и модифицирующие имеющуюся концентрацию и состав субстратов могут привести к изменениям в содержании и составе эфиров холестерина независимо от процессов накопления или транспорта этих соединений при фагоцитном разборе химических компонентов миелина на более поздних этапах процесса демиелинизации.

REFERENCES

1. Clarenburg R., Steinberg A., Asling J., Chaikoff I.: Development of hydrolytic cholesterol esterase activity in rat brain. *Biochemistry*, 1966, 5, 2433—2440.
2. Cumings J.: Lipid chemistry of the brain in demyelinating diseases. *Brain*, 1955, 78, 554—563.
3. Edgar G.: Myelin lipids in multiple sclerosis. *Acta neurol. belg.*, 1959, 59, 756—763.
4. Eto Y., Suzuki K.: Cholesterol ester metabolism in the brain; properties and subcellular distribution of cholesterol — esterifying enzymes and cholesterol

- ester hydrolases in adult rat brain. *Biochim. Biophys. Acta*, 1971, 239, 293—311.
5. Eto Y., Suzuki K.: Cholesterol esters in developing rat brain: concentration and fatty acid composition. *J. Neurochem.*, 1972a, 19, 109—115.
 6. Eto Y., Suzuki K.: Cholesterol esters in developing rat brain: enzymes of cholesterol ester metabolism. *J. Neurochem.*, 1972b, 19, 117—121.
 7. Eto Y., Suzuki K.: Developmental changes of cholesterol ester hydrolases localized in myelin and microsomes of rat brain. *J. Neurochem.*, 1973, 20, 1475—1477.
 8. Folch-Pi J., Lees M., Sloane-Stanley G.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. biol. Chem.*, 1957, 226, 497—511.
 9. Levine S., Stypulkovski W.: Experimental cyanide encephalopathy. *Acta Pathol.*, 1959, 67, 306—323.
 10. Mezei C.: Cholesterol esters and hydrolytic cholesterol esterase during Wallerian degeneration. *J. Neurochem.*, 1970, 17, 1163—1170.
 11. Petrescu A.: Histochemistry of lipids in multiple sclerosis. *Wien. Z. Nervenheilk.*, 1969, Suppl. II, 38—52.
 12. Ramsey R., Aexel R., Nicholas H.: Formation of methyl sterols in brain cholesterol biosynthesis. *J. Biol. Chem.*, 1971, 246, 6393—6400.
 13. Ramsey R., Davison A.: Steryl esters and their relationship to normal and diseased human central nervous system. *J. Lipid. Res.*, 1974, 15, 249—255.
 14. Spohn M., Davison A.: Cholesterol metabolism in myelin and other subcellular fractions of rat brain. *J. Lipid. Res.*, 1972, 13, 563—570.
 15. Suzuki Y., Tucker S., Rorke L., Suzuki K.: Ultrastructural and biochemical studies of Schilder's disease. II. *Biochemistry. J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1970, 29, 405—419.
 16. Tichý J.: Cholesterol esters in foetal brains. *Neurobiology*, 1971, 1, 162—170.
 17. Vahouny G., Borja C., Weersing S.: Radioactive and analytical determination of free and esterified cholesterol following microthin-layer silicic acid chromatography. *Analyt. Biochem.*, 1963, 6, 555—559.
 18. Wender M., Filipek-Wender H., Stanisławska B.: Cholesteryl esters in apparently normal white matter in multiple sclerosis. *Europ. Neurol.*, 1973a, 10, 340—348.
 19. Wender M., Filipek-Wender H., Stanisławska J., Goncerzewicz A.: Cerebral cholesteryl ester composition in experimental allergic encephalomyelitis. *Neuropat. Pol.*, 1976, 14, 57—66.
 20. Wender M., Kozik M., Wajgt A.: Histoenzymology of experimental cyanide encephalopathy. *Acta histochem.*, 1972, 43, 361—371.
 21. Wender M., Piechowski A., Adamczewska Z.: Biochemical investigations of the brain in triethyl tin intoxication. *Neuropat. Pol.*, 1973b, 11, 223—234.
 22. Werb Z., Cohn Z.: Cholesterol metabolism in the macrophage. III. Ingestion and intracellular fate of cholesterol and cholesterol esters. *J. exp. Med.*, 1972, 135, 21—44.

Authors' address: Department of Neurology, Institute of Nervous and Sensory Organs Diseases, Medical Academy, 49 Przybyszewskiego Str., 60—355 Poznań, Poland

HANNA SZYDŁOWSKA, MIECZYSLAW ŚMIAŁEK,
MARIANNA SIKORSKA

WPŁYW KWASU TIOKTANOWEGO I PIROFOSFORANU TIAMINY
NA ZAWARTOŚĆ GLIKOGENU I AKTYWNOŚĆ
 α -4-GLUKOZYLOTRANSFERAZY UDPGLUKOZA:GLIKOGEN
W MÓZGU SZCZURA PO ZATRUCIU TLENKIEM WĘGLA

Pracownia Neuropatologii Instytutu Farmakologii PAN

Dyrektor: prof. dr J. Hano

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

Kierownik Zespołu: prof. dr M. J. Mossakowski

W przeprowadzonych poprzednio badaniach biochemicznych stwierdzono, że po zatruciu tlenkiem węgla występuje przejściowy wzrost zawartości glikogenu w ośrodkowym układzie nerwowym u szczurów (Śmiałek i wsp. 1973). Wykazano również, że najwyższy przyrost glikogenu przypadający na 4 godzinę po zatruciu, poprzedzony jest zwiększeniem aktywności glikozylotransferazy LDPglukoza-glikogen, którego maksimum występuje w 2 godzinie po ekspozycji zwierząt na działanie CO.

Histochemiczne obserwacje Szumańskiej (1973), wskazujące na obniżenie aktywności dehydrogenazy bursztynianowej, przy równoczesnym wzroście aktywności dehydrogenazy mleczanowej, w warunkach tego samego modelu doświadczalnego, mogą przemawiać za wystąpieniem zaburzeń metabolizmu tkankowego na poziomie cyklu kwasów trójkarboksylowych. Sekwencje czasowe powyższych nieprawidłowości metabolicznych sugerowały ich wzajemne zależności.

Kwas tioktanowy podobnie jak pirofosforan tiaminy, działający na koenzym oksydacyjnej dekarboksylacji pirogronianu, jest niezbędnym czynnikiem warunkującym prawidłowość przemian w łańcuchu glikolitycznym i cyklu Krebsa. Wydawało się przeto celowe prześledzenie wpływu zarówno pirofosforanu tiaminy jak i kwasu tioktanowego na zawartość glikogenu i aktywność glikozylotransferazy UDPglukoza-glikogen w mózgu szczurów, poddanych uprzednio działaniu tlenku węgla. Było to dodatkowo uzasadnione faktem, iż samo podanie kwasu tioktanowego prowadzi do wzrostu zawartości glikogenu w mózgu szczurów

i to zarówno u zwierząt nie poddanych uprzednio żadnym zabiegom doświadczalnym, jak i u tych, które przeżyły ostre zatrucie tlenkiem węgla (Supniewski, 1966; Dąbski, 1969).

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na białych szczurach rasy Wistar, obu płci, w wieku 6 tygodni, o średnim ciężarze ciała około 150—180 g. Zwierzęta poddawano działaniu tlenku węgla wg sposobu opisanego w pracy Korthalsa i wsp. (1973). Szczury umieszczano w komorze o pojemności 60 l, przez którą z szybkością 1 l/min przepuszczano powietrze zawierające 1% tlenku węgla przez okres 60 min. Następnie na okres dalszych 30 min odcinano dopływ CO, zachowując dotychczasowy dopływ powietrza. Łączny czas przebywania zwierząt w komorze doświadczalnej wynosił 90 min. Poziom karboksyhemoglobiny we krwi zwierząt doświadczalnych, oznaczanej metodą Whiteheada i Worthingtona (1961) wynosił w 60 min zatrucia około 75%, a w 90 min — około 50%. Po upływie 90 min przebywania w komorze zwierzęta przenoszono do atmosfery czystego powietrza oraz podawano im leki — kwas tioktanowy w dawce 2 mg/100 g wagi ciała i pirofosforan tiaminy w ilości 2,5 mg/100 g ciężaru ciała. Te same dawki leku podawano zwierzętom nie zatrutowym. Układ zastosowanych grup doświadczalnych przedstawia tabela I.

Tabela 1. Model doświadczenia

Table 1. Experimental model

Grupa doświadczalna Experimental group		Bez działania CO Without CO exposure	Działanie CO (90 min) CO exposure (90 min)
Leki Drugs	K	Kontrola (norma) Control (norm)	Kontrola (CO) Control (CO)
	Coc.	Cocarboksylaza „Polfa” 2,5 mg/100 g	Cocarboksylaza „Polfa” 2,5 mg/100 g
	Th.	Thioctacid „Homburg” 2 mg/100 g	Thioctacid „Homburg” 2 mg/100 g
	Coc.+Th.	Cocarboksylaza „Polfa” 2,5 mg/100 g + Thioctacid „Homburg” 2 mg/100 g	Cocarboksylaza „Polfa” 2,5 mg/100 g + Thioctacid „Homburg” 2 mg/100 g

- Coc. — pirofosforan tiaminy
— thiamine pyrophosphate
Th. — kwas tioktanowy
— thioctic acid

Po upływie 4 godzin od podskórnego podania leku zwierzęta dekapitowano. Pobierane bezpośrednio po dekapitacji mózgi przygotowywano w sposób właściwy dla przeprowadzenia oznaczeń zawartości glikogenu i aktywności glukozylotransferazy UDPglukoza-glikogen. Glikogen oznaczano metodą Nelsona wg Wolfe'a i wsp. (1962) i wyrażano w mg glukozy/100 g świeżej tkanki. Aktywność glukozylotransferazy UDPglukoza-glikogen oznaczano metodą Leloir'a i Goldemberga (1962) w μ molach UDP/mg białka/ml enzymu/min. Białko określano wg metody Lowry i wsp. (1951). Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej wg testu Studenta oraz oznaczano współczynnik korelacji i regresji między zawartością glikogenu i aktywnością enzymu.

WYNIKI

Ilościowe dane, dotyczące zawartości glikogenu i swoistej aktywności glukozylotransferazy UDPglukoza-glikogen w mózgu szczurów w poszczególnych grupach doświadczalnych przedstawia tabela 2.

Glikogen. W mózgu szczurów nie poddanych żadnym zabiegom doświadczalnym średnia zawartość glikogenu wynosiła $52,06 \pm 0,79$ mg glukozy/100 g tkanki. Po podaniu pirofosforanu tiaminy średnia jego zawartość wzrastała o około 11% ($p \leq 0,05$), a po podaniu kwasu tioktanowego o około 80,5%, wykazując znamienność statystyczną przyrostu. Łączne podanie obu leków powodowało przyrost średniej zawartości glikogenu o około 36%. Przyrost ten również był statystycznie znamienny.

Po zatruciu tlenkiem węgla, średnia zawartość glikogenu w mózgu była o około 89% wyższa niż u zwierząt nie poddanych żadnym zabiegom doświadczalnym ($p \leq 0,05$). Podanie pirofosforanu tiaminy, po uprzednim zatruciu tlenkiem węgla powodowało przyrost zawartości glikogenu o około 125,5% ($p \leq 0,05$) w stosunku do normy i około 103% ($p \leq 0,05$) w stosunku do grupy zwierząt, którym podano lek bez uprzedniego zatrucia CO. W grupie zwierząt zatrutych CO, którym następnie podano kwas tioktanowy przyrost zawartości glikogenu w mózgu wynosił około 103% w stosunku do normy i był statystycznie znamienny. W stosunku do grupy zwierząt, którym podano lek bez uprzedniego zatrucia przyrost ten wynosił około 12% i nie wykazywał cech znamienności statystycznej.

Równoczesne podanie obu leków po zatruciu tlenkiem węgla prowadziło do wzrostu zawartości glikogenu o około 153% w stosunku do normy ($p \leq 0,05$) i około 87% w stosunku do grupy zwierząt, u których podanie leku nie było poprzedzone zatruciem.

Tabela 2. Zawartość glikogenu i swoista aktywność α -4-glikozylotransferazy UDPglukoza-glikogen w mózgu szczura po zatruciu CO i po podaniu pirofosforanu tiaminy oraz kwasu tioktanowego

Table 2. Glycogen content and UDPglucose-glycogen α -4-glucosyltransferase specific activity in rat brain following CO intoxication and thiamine pyrophosphate and thioctic acid administration

Zastosowane leki Administered drugs	Glikogen (mg glukozy/ 100 g św. tk.) Glycogen (mg glucose/ 100g w.t.)		Glikozylotransferaza UDPglukoza-glikogen μ mole UDP (mg białka/ml enzymu/min) UDPglucose-glycogen glucosyltransferase μ moles UDP (mg protein/ml enzyme/min)	
	Bez zatrucia Without intoxic.	Po zatruciu CO After CO intoxic.	Bez zatrucia Without intoxic.	Po zatruciu CO After CO intoxic.
K — kontrola K — control	52,06 ± 0,79 (8)	<u>98,46 ± 1,56</u> (7)	0,0344 ± 0,0008 (8)	<u>0,0576 ± 0,0024</u> (7)
Coc.	57,81 ± 0,85 (11)	<u>117,25 ± 1,89</u> (6)	0,0350 ± 0,0015 (11)	<u>0,0607 ± 0,0019</u> (7)
Th.	<u>93,95 ± 0,47</u> (10)	<u>109,45 ± 1,15</u> (5)	0,0354 ± 0,0011 (10)	0,0364 ± 0,0009 (10)
Coc. + Th.	<u>70,81 ± 1,29</u> (9)	<u>131,77 ± 1,60</u> (10)	0,0335 ± 0,0008 (9)	0,0346 ± 0,0014 (9)

Coc — pirofosforan tiaminy

Th — kwas tioktanowy

Wyniki podano jako średnie ± średni błąd średniej

Wyniki statystycznie znamienne podkreślono

W nawiasach podano liczbę zwierząt

Coc — thiamine pyrophosphate

Th — thioctic acid

Results are expressed as arithmetic mean ± standard error of the mean

Results statistically significant underlined

In parentheses number of animals

Glukozylotransferaza UDPglukoza-glikogen. Średnia swoistej aktywności enzymu w mózgu zwierząt nie poddanych żadnym zabiegom doświadczalnym wynosiła 0,0344 μ moła UDP/mg białka/min/ml enzymu. Podanie leków zarówno oddzielnie, jak i łącznie nie prowadziło do istotnych zmian w swoistej aktywności enzymu.

Zatrucie CO powodowało przyrost aktywności enzymu średnio o około 67% w porównaniu z grupą zwierząt nie zatrutowanych, wykazujący cechy znamienności statystycznej. W grupie zwierząt poddanych zatruciu CO, którym następnie podano pirofosforan tiaminy średnia arytmetyczna aktywności enzymu wzrastała o około 76% w stosunku do normy. Wartość tego przyrostu była istotna statystycznie zarówno w stosunku do normy jak i do grupy zwierząt, którym zaaplikowano lek, nie podając ich uprzedniemu zatruciu. W przypadku podania kwasu tioktanowego i obu leków łącznie zwierzętom zatrutym CO, uzyskano wyniki zbliżone do normy i do aktywności obserwowanej u zwierząt nie zatrutowanych po ich zastosowaniu.

OMÓWIENIE

Regulacja poziomu glikogenu w mózgu jest procesem złożonym. Mechanizm ten jest nie tylko zależny od aktywności enzymów cyklu Le-loira, takich jak α -4-glukozylotransferaza UDPglukoza-glikogen, fosforylazy i inne, ale również od stanu i aktywności tlenowych i beztlenowych szlaków metabolizmu komórkowego.

Badania prowadzone na neuronach izolowanych z ośrodkowego układu nerwowego szczurów zatrutowanych tlenkiem węgla, wykazały ścisły związek między odkładaniem się glikogenu w poszczególnych typach neuronów, a zdolnością wyrównywania aktywności oddechowej, zaburzonej w wyniku działania CO (Śmiałek, 1974). Obniżenie aktywności oddechowej neurocytów w 4 godzinie po zatruciu CO, towarzyszyło wystąpieniu ujemnego współczynnika korelacji aktywności glukozylotransferazy UDPglukoza-glikogen i poziomu glikogenu (wysokiemu przyrostowi zawartości glikogenu nie odpowiadała równie wysoka swoista aktywność enzymu). Fakt ten sugeruje, że synteza i regulacja poziomu glikogenu w mózgu, w zmienionych warunkach oddychania komórkowego może w dużym stopniu zależeć od innych czynników, niż aktywność jednego z enzymów zaangażowanych w syntezę glikogenu, jakim jest glukozylotransferaza UDPglukoza-glikogen. Przyrost poziomu glikogenu w następstwie zatrucia tlenkiem węgla zależeć może między innymi od zwiększonej puli glukozy-6-fosforanu. Przyrost puli G-6-P jest

zjawiskiem powszechnym w różnego rodzaju uszkodzeniach ośrodkowego układu nerwowego (Watanabe, Passonneau, 1974). Glukoza-6-fosforan jako regulator poziomu glikogenu może być odpowiedzialny za przejściowe gromadzenie się glikogenu w mózgu po zatruciu tlenkiem węgla, zarówno poprzez wzmożoną syntezę glikogenu przy udziale glukozylotransferazy UDPglukoza-glikogen, jak i przez zmianę aktywności innych układów regulacyjnych, między innymi fosforylaz.

Po podaniu samych leków zwierzętom nie zatrutowanym obserwowano we wszystkich grupach doświadczalnych przyrost zawartości glikogenu w mózgu (po iniekcji pirofosforanu tiaminy stosunkowo niewielki i statystycznie nieznamienny), przy niezmienionej w stosunku do normy aktywności glukozylotransferazy UDPglukoza-glikogen. W wyniku zatrucia CO, przy równoczesnym podaniu kwasu tioktanowego i pirofosforanu tiaminy następował powrót do normy aktywności enzymu podwyższonej w następstwie samego zatrucia. Mechanizm tych zjawisk wydaje się jeszcze bardziej złożony i trudny do wyjaśnienia. Można jedynie przypuszczać, że w tym przypadku dochodzi do nakładania się na działanie CO, regulacyjnego wpływu lipotiamidu, zarówno na łańcuch glikolityczny jak również na cykl kwasów trójkarboksylowych i zmienionych tą drogą warunków oddychania komórkowego. Doświadczenia przeprowadzone na skrawkach mózgu świnki morskiej wykazały, że sam kwas tioktanowy wzmaga glikolizę i procesy oksydacyjne w tkance nerwowej (Aizawa, Gotoh, 1968). Być może naruszenie procesów oddechowych i aktywności enzymów regulujących poziom glikogenu zależy może w tym przypadku od zmiany stosunku grup S—S i SH, w wyniku podania kwasu tioktanowego. Wobec możliwości naruszenia całego szeregu szlaków metabolicznych tkanki nerwowej w procesie przejściowego przyrostu poziomu glikogenu, należy brać pod uwagę zaburzenia aktywności fosforylasy mózgowej.

Reasumując należy stwierdzić, że mimo podobnego efektu końcowego, wyrażającego się w postaci przyrostu glikogenu w mózgu, zarówno w następstwie zatrucia tlenkiem węgla, jak i zastosowania pirofosforanu i/lub kwasu tioktanowego, mechanizm zwiększania jego poziomu w tkance nerwowej jest odmienny w przypadku każdego czynnika. Równoczesne podanie obu leków nie wykazuje wpływu na syntezę glikogenu przy udziale glukozylotransferazy UDPglukoza-glikogen. Należy przeto brać pod uwagę udział innych czynników regulujących poziom glikogenu.

Autorzy wyrażają podziękowanie pani Teresie Pańkowskiej za pomoc techniczną w przeprowadzeniu doświadczeń i opracowanie materiału.

X. Шыдловска, М. Смялек, М. Сикорска

ВЛИЯНИЕ ТИОКТАНОВОЙ КИСЛОТЫ И ПИРОФОСФАТА ТИАМИНА
НА УРОВЕНЬ ГЛИКОГЕНА И АКТИВНОСТЬ ГЛИКОЗИЛТРАНСФЕРАЗЫ
УДФГЛЮКОЗА : ГЛИКОГЕН В МОЗГУ КРЫС ПОСЛЕ ОТРАВЛЕНИЯ ОКИСЬЮ
УГЛЕРОДА

Резюме

Исследования проводили на 6-недельных крысах, подвергнутых отравлению окисью углерода в течение 90 мин. Непосредственно после отравления CO животным вводили под кожу пирофосфат тиамин (2,5 мг/100 г веса тела) и тиоктановую кислоту (2 мг/100 г веса тела). Уровень гликогена и активность гликозилтрансферазы УДФглюкоза : гликоген в мозгах крыс исследовали через 4 часа после отравления, то есть в период, в котором Смялек и сотр. (1973) установили наибольший прирост уровня гликогена в мозгу в аналогичных экспериментальных условиях. Во всех экспериментальных группах установлено возрастание уровня гликогена, причем максимальный прирост наблюдали в мозгах крыс, которым непосредственно после отравления CO вводили названные лекарства. Активность гликозилтрансферазы в мозгах этой группы животных не отличалась от нормы. На основании этих результатов можно предполагать, что процессы, регулирующие уровень гликогена в мозгах крыс после отравления CO и введения названных лекарств зависят не только от изменений активности гликозилтрансферазы УДФглюкоза : гликоген.

H. Szydłowska, M. Śmiałek, M. Sikorska

THE EFFECT OF THIOCTIC ACID AND THIAMINE PYROPHOSPHATE
ON GLYCOGEN LEVEL AND UDPGLUCOSE : GLYCOGEN
GLUCOSYLTRANSFERASE ACTIVITY IN RAT BRAINS FOLLOWING
CARBON MONOXIDE INTOXICATION

Summary

The study was performed on 6 weeks old rats exposed to a single CO intoxication for 90 min. Immediately after exposure to CO the animals were injected subcutaneously with thiamine pyrophosphate (2.5 mg/100 g of body weight) and with the thioctic acid (2.0 mg/100 g of body weight). Glycogen level and the activity of glucosyltransferase UDPglucose : glycogen in the rat brain was determined in 4 h after intoxication; i.e. in the period in which the highest rise of glycogen level was demonstrated in the same experimental conditions (Śmiałek et al. 1973).

In all experimental animal groups there was an increase of glycogen level, the highest in the brains of rats injected immediately after CO intoxication with above mentioned drugs. The activity of glucosyltransferase in the brains of rats belonging to injected groups did not differ from the control animals.

The results suggest that the processes regulating the glycogen level in rat brain after CO intoxication and drugs injection depend not only on the changes of glucosyltransferase UDPglucose : glycogen activity.

PIŚMIENNICTWO

1. Aizawa T., Gotoh F.: Fundamental clinical experiments with thioctic acid. *Jap. med. J.*, 1968, 1809—1811.
2. Dąbski H.: Kliniczne zastosowanie kwasu tioktanowego. *Pol. Tyg. Lek.*, 1969, 24, 1502—1504.
3. Korthals J., Mossakowski M. J., Śmiałek M.: Obraz histologiczny i ultrastrukturalny ostrej doświadczalnej encefalopatii tlenkowęglowej. *Neuropat. Pol.*, 1973, 11, 279—298.
4. Leloir L. F., Goldemberg S. M.: Glycogen synthetase from rat liver. W: *Methods in enzymology*. Ed.: S. P. Colowick, N. O. Kaplan. Acad. Press, 1962, 5, 145—147.
5. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J.: Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. biol. Chem.*, 1951, 193, 265—270.
6. Supniewski J.: *Farmakologia*, PZWL, Warszawa, 1966.
7. Szumańska G.: Obraz histologiczny mózgu szczura w następstwie zatrucia tlenkiem węgla. *Neuropat. Pol.*, 1973, 11, 301—314.
8. Śmiałek M.: Cytochrome oxidase activity in isolated giant cell of the reticular formation from the rat brain stem following carbon monoxide intoxication (Cartesian micro-diver technique). *Neuropat. Pol.*, 1974, 12, 397—402.
9. Śmiałek M., Sikorska M., Korthals J., Bicz W., Mossakowski M. J.: The glycogen content and its topography and UDPglucose : glycogen α -4-glycosyltransferase activity in rat brain after experimental carbon monoxide intoxication. *Acta neuropath.*, (Berl.) 1973, 24, 222—231.
10. Watanabe S., Passonneau J. V.: The effect of trauma on cerebral glycogen and related metabolites and enzymes. *Brain Res.*, 1974, 66, 147—159.
11. Whitehead T. P., Worthington N.: The determination of carboxyhemoglobin. *Clin. chim. Acta*, 1961, 6, 356—358.
12. Wolfe L. S., Klatzo I., Miquel L., Tobias C., Haymaker W.: Effect of a particle irradiation on brain glycogen in rat brain. *J. Neurochem.*, 1962, 8, 213—218.

Adres autorów: Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, 00-784 Warszawa, ul. Dworkowa 3

AGNIESZKA JĘDRZEJEWSKA-IWANOWSKA, MARIA B. GABRYELEWICZ

MORFOLOGICZNY OBRAZ MÓZGU W ZAWAŁACH MIĘŚNIA SERCA

Zakład Anatomii Patologicznej Szpitala Bielańskiego, Warszawa
Zakład Diagnostyki Patomorfologicznej
Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego, Warszawa
Kierownik: prof. dr med. M. Kobuszewska-Faryna

Występowanie objawów neurologicznych w przebiegu zawału mięśnia serca jest znane (Dalli, Chiaverini 1966; Englund 1968), w piśmiennictwie spotyka się jednak znaczne rozbieżności odnośnie częstości ich występowania (od 5 do 48%). Z przeglądu literatury wynika, że zagadnienie to jest przede wszystkim przedmiotem zainteresowania klinicystów (Paunesco-Podeanu i wsp. 1967), natomiast w opracowaniach kliniczno-morfologicznych uwaga autorów zwrócona jest głównie na patologię naczyń mózgowych, towarzyszącą miażdżycy tętnic wieńcowych (Bull 1963; Popp i wsp. 1967; Tucker 1968; Trautwein 1970, Ueda i wsp. 1970). Przy znacznej liczbie badań doświadczalnych, poświęconych skutkom niedokrwienia mózgu i szerokim opracowaniu neuropatologicznym zagadnienia cardiac arrest (Jellinger 1965) dane dotyczące zmian strukturalnych w mózgu w przypadkach z zawałami mięśnia serca są raczej fragmentaryczne. W związku z tym wydawało się uzasadnione podjęcie badań mających na celu ustalenie charakteru, topografii i częstości występowania zmian w mózgu w przypadkach z zawałami mięśnia serca oraz zestawienie stwierdzonych uszkodzeń z wynikami badania patomorfologicznego serca.

Materiał obejmuje 19 przypadków, w których stwierdzono badaniem sekcyjnym świeży lub przebyty zawał mięśnia serca, przy czym do pracy włączono tylko te przypadki, w których zawał serca był jedynym zasadniczym schorzeniem.

Sekcję mózgu wykonywano po utrwaleniu tego narządu w 10% roztworze formaliny. Do badania mikroskopowego pobierano wycinki przez obie półkule z okolic czołowych, okolicy kory ruchowej, okolic ciemniowo-potylicznych, potylicznych, ponadto mózdzek oraz całe międzymózgowie i pień mózgu. Wycinki zatapiano w parafinie. Międzymózgo-

wie i pień mózgu skrawano seryjnie pobierając do badania 10 kolejnych skrawków grubości 7 μm , co 5 mm. Zastosowane metody barwienia: hematoksylina-eozyna, wg van Gieson, Weigerta, Heidenhaina, Kanzler-Arendta, Bielschowskiego i Gomoriego. Wycinki z mięśnia serca zatapiało w parafinie i barwiono hematoksylina-eozyną, med. Azan wg Heidenhaina i met. Nielsena-Selye'go.

WYNIKI

Serce. Badaniem morfologicznym w 8 przypadkach stwierdzono świeży zawał serca (od najwcześniejszych zmian martwiczych do początku bliznowacenia), w 4 przypadkach — blizny pozawałowe, w 7 przypadkach bliznom pozawałowym towarzyszył świeży zawał (ryc. 1 i 2).

Badaniem neuropatologicznym tylko w 1 przypadku (zawał serca z pęknięciem ściany lewej komory) nie stwierdzono zmian w mózgu. Zmiany neuropatologiczne, stwierdzone w pozostałych 18 przypadkach można podzielić na 4 zasadnicze grupy: 1) ostry rozlany obrzęk mózgu ze schorzeniem ischemicznym neuronów *neocortex*; 2) ogniskowe jednoczasowe uszkodzenie mózgu o typie świeżej martwicy ukrwotocznio-nej, wczesnej martwicy obrzękowej (ryc. 3 i 4), martwicy we wczesnym okresie odczynu naczyniowego lub początkowym okresie uprząta-
nia; 3) ogniskowe uszkodzenia mózgu o typie martwicy w okresie bardziej zaawansowanej organizacji (ogniska w końcowym okresie uprząta-
nia, jamy porozmięknieniowe (ryc. 5 i 6), blizny glejowe; 4) wieloogniskowe i wieloetapowe uszkodzenia mózgu. Oprócz ognisk zgąbczenia tkanki (ryc. 7) z odczynem gleju komórkowego i włóknistego spotykano ogniska martwicy z odczynem leukocytarnym lub z odczynem makrofago-
wym (ryc. 8 i 9), blizny glejowe z grudkami barwika krwi (ryc. 10) czy

Ryc. 1. Blizna pozawałowa i świeży zawał mięśnia serca. H.E. Pow. 180 \times .

Fig. 1. Postinfarct scar and fresh infarct of heart muscle. H.E. \times 180.

Ryc. 2. Świeży zawał mięśnia serca z odczynem leukocytarnym. H.E. Pow. 350 \times .

Fig. 2. Fresh infarct of heart muscle. Leukocytic infiltration is seen. H.E. \times 350.

Ryc. 3. Świeża martwica obrzękowa. Jądro siatkowate wzgórza. H.E. Pow. 100 \times .

Fig. 3. Fresh edematous necrosis in *nucleus reticularis thalami*. H.E. \times 100.

Ryc. 4. Świeża martwica obrzękowa w *centrum medianum thalami*. H.E. Pow. 100 \times .

Fig. 4. Fresh edematous necrosis in *centrum medianum thalami*. H.E. \times 100.

Ryc. 5. Jama porozmięknieniowa we wzgórzu wzrokowym. H.E. Pow. lupowe.

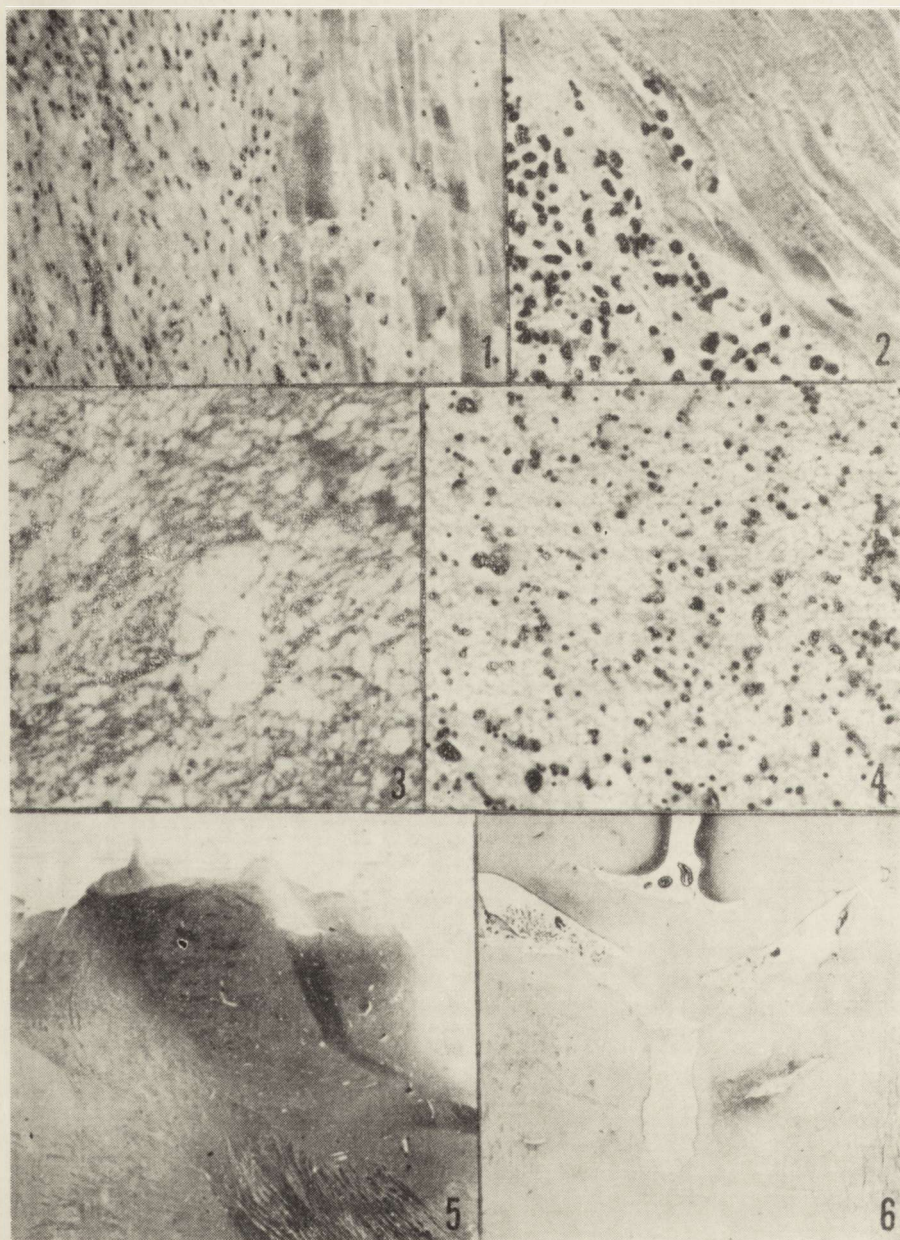
Fig. 5. Postnecrotic cavity in *thalamus opticus*. H.E. Magn. glass.

Ryc. 6. Jama porozmięknieniowa w *centrum medianum thalami*. Kanzler-Arendt. Pow. lupowe.

Fig. 6. Postnecrotic cavity in *centrum medianum thalami*. Kanzler-Arendt. Magn. glass.

też jamy porozmięknieniowe. Obraz uzupełniał ostry obrzęk mózgu i wybitna glejoza brzeźna.

W 5 przypadkach stwierdzono zakrzepicę żylną w rejonie obu wzgórz wzrokowych, przy czym oprócz świeżych skrzeplin widoczne były skrzepliny zorganizowane i zrekanalizowane. W naczyniach podstawy



mózgu w 6 przypadkach stwierdzono minimalne zmiany miażdżycowe, w 2 przypadkach rozpoznano miażdżycę II^o.

Topografia ogniskowych zmian (Tabela 1). Najczęściej i najciężej dotkniętą strukturą był twór siatkowaty międzymózgowia: *nucleus anterior ventralis* (ryc. 11), *nucleus reticularis*, *centrum media-*

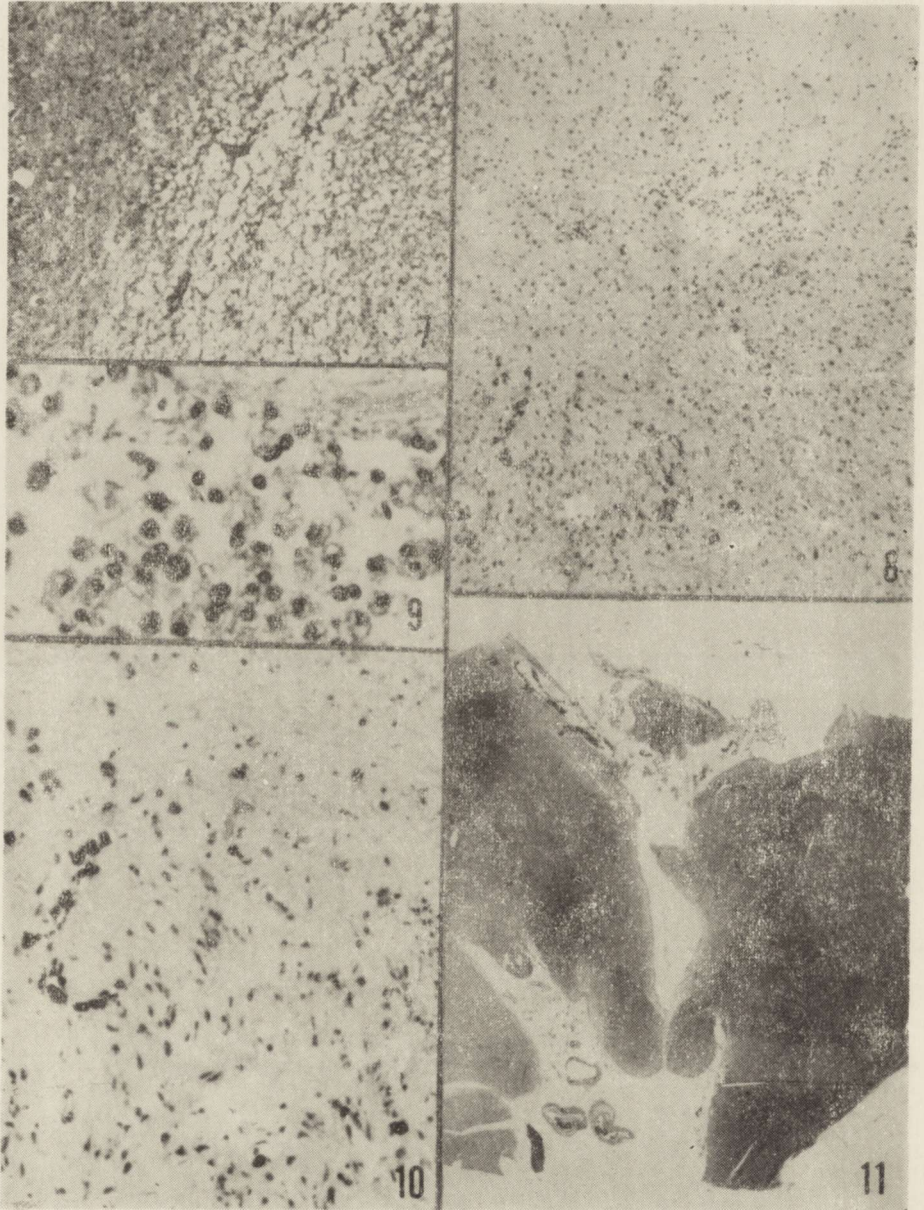


Tabela 1. Umieszczenie ogniskowych uszkodzeń mózgu w badanych przypadkach z zawałem mięśnia serca

Table 1. Topography of focal brain lesions in investigated cases with heart infarct

Struktura mózgu Brain structure	Lokalizacja Localization	Liczba przypadków Number of cases
<i>Polus frontalis</i>	<i>sin</i>	1
<i>Area frontalis medialis</i>	<i>dex</i>	1
<i>Motor cortex</i>	<i>sin</i>	1
<i>Area parieto-occipitalis</i>	<i>sin</i>	4
<i>Polus occipitalis</i>	<i>sin</i>	4
<i>Caput n. caudati et pars superior capsulae int.</i>	<i>sin</i>	4
	<i>bil</i>	6
<i>Thalamus opticus (formatio reticularis)</i>	<i>sin</i>	3
	<i>dex</i>	1
	<i>bil</i>	6
<i>Formatio reticularis trunci</i>	<i>med</i>	4
<i>Basis pontis</i>	<i>sin</i>	1
	<i>dex</i>	1
<i>Cerebellum</i>	<i>sin</i>	1
	<i>dex</i>	1

num (ryc. 6) i niekiedy *nucleus dorsalis medialis thalami*. Równie często spotykano uszkodzenie górno-bocznej części jądra ogoniastego, górnej części torebki wewnętrznej i górnego bieguna skorupy. W 4 spośród 15 przypadków z ogniskowym uszkodzeniem mózgu, martwica była zlokalizowana w strukturach należących do projekcyjnej części tworzącego siatkowatego pnia mózgu, równie często ulegała martwicy istota biała okolicy ciemieniowo-potylicznej i biegun potyliczny. Zwracała uwagę tendencja do występowania uszkodzeń w lewej półkuli mózgu.

Ryc. 7. Ognisko świeżej martwicy obrzękowej w *centrum medianum thalami*. H.F. Pow. 60 X.

Fig. 7. Focus of fresh edematous necrosis. *Centrum medianum thalami*. H.E. X 60.

Ryc. 8. Dwa ogniska w różnym okresie organizacji we wzgórzu wzrokowym. H.F. Pow. 60 X.

Fig. 8. Two foci in various stage of organization. *Thalamus opticus*. H.E. X 60.

Ryc. 9. Ognisko z poprzedniej ryciny w okresie rozbiórki makrofagowej. H.E. Pow. 350 X.

Fig. 9. Focus presented in Fig. 8. with macrophage reaction. H.E. X 350.

Ryc. 10. Drugie ognisko we wzgórzu z ryc. 8. Blizna glejowa. H.E. Pow. 350 X.

Fig. 10. Other focus presented in Fig. 8. Glial scar. H.E. X 350.

Ryc. 11. Ognisko martwicy w obrębie jądra przedniego brzuszno-wzgórz. H.E. Pow. lupowe.

Fig. 11. Necrotic focus in area of *nucleus anterior ventralis thalami*. H. E. Magn. glass.

Zestawiając zmiany neuropatologiczne ze zmianami w mięśniu serca stwierdzono następujące zależności: 1. W przypadkach świeżego zawału serca stwierdzano w mózgu ostre rozlane zmiany obrzękowo-nie-

Tabela 2. Charakter zmian w mózgu w przypadkach ze świeżym zawałem mięśnia serca
Table 2. Pattern of brain changes in cases with fresh myocardial infarct

No	Wiek pacjenta Patients age (years)	Płeć Sex	Zmiany w mózgu Brain changes	Lokalizacja zawału Localization of infarct
1	76 lat	F	Ogniskowa martwica z makrofagami Focal necrosis with macrophages	przednia ściana i koniuszek anterior wall and apex
2	66 lat	M	Rozlane zmiany obrzękowo-ischemiczne Diffuse edematous and ischemic changes	tylna ściana posterior wall
3	66 lat	F	Bez zmian No changes	przednia i tylna ściana (pęknięcie serca) anterior and posterior wall (heart rupture)
4	46 lat	M	Wielogniskowe wczesne zmiany, gł. twór siatkowaty, obrzęk Multifocal recent lesions predominantly in reticular formation, edema	przegroda, przednia i tylna ściana septum, anterior and posterior wall
5	75 lat	F	Wielogniskowe wczesne zmiany, obrzęk Multifocal recent lesions edema	przegroda, tylna ściana septum, posterior wall
6	73 lata	F	Wielogniskowe wczesne zmiany, również w obrębie tworu siatkowatego, obrzęk Multifocal lesions also in reticular formation, edema	przegroda, przednia ściana, koniuszek septum, anterior wall, apex
7	66 lat	M	Rozlane zmiany obrzękowo-ischemiczne Diffuse edematous and ischemic changes	przegroda, tylna ściana septum and posterior wall
8	41 lat	M	Rozlane zmiany obrzękowo-ischemiczne Diffuse edematous and ischemic changes	przegroda, tylna ściana septum and posterior wall

dokrwienne, lub ogniska świeżej martwicy (tabela 2); 2. W przypadkach blizn pozawałowych w mięśniu serca stwierdzano wieloogniskowe uszkodzenie mózgu o typie martwicy w okresie zaawansowanej organizacji (tabela 3); 3. W przypadkach wielofazowego zawału serca stwierdzono

Tabela 3. Charakter zmian w mózgu w przypadkach z blizną pozawałową w mięśniu serca

Table 3. Type of cerebral changes in cases with postinfarct scar

No	Wiek (lata) Age (years)	Płeć Sex	Zmiany w mózgu Brain changes	Lokalizacja blizny poza- wałowej Lokalization of myocardial scar
1	84	F	Lakuna w obrębie głowy jądra ogoniastego Lacuna in the head of caudate nucleus	przednia ściana anterior wall
2	75	F	Wieloogniskowe stare zmiany Multifocal old lesions	liczne blizny w całym m. serca numerous scars in heart muscle
3	63	M	Wieloogniskowe stare zmiany Multifocal old lesions	przegroda, przednia i tylna ściana septum, anterior and posterior wall
4	69	M	Wieloogniskowe stare zmiany Multifocal old lesions	przednia ściana anterior wall

w 5 przypadkach wieloogniskowe, różnoczasowe ogniska martwicy w mózgu, w 2 przypadkach występowały jedynie ogniska wczesnej martwicy (tabela 4).

OMÓWIENIE

Powtarzalność zmian, ich obrzękowo-niedokrwienne charakter oraz lokalizacja uszkodzeń, pokrywająca się zasadniczo z rejonami „ostatnich łąk” Zülcha (1961), związek morfologicznego „wieku” zmian neuropatologicznych z „wiekiem” zawału serca oraz brak zależności stwierdzonych uszkodzeń mózgu od wieku pacjenta i nasilenia zmian miażdżycowych wskazują na związek zmian w mózgu z zawałem mięśnia serca. Obraz morfologiczny uszkodzeń mózgu wiąże się w pewnym stopniu z „wiekiem” zawału serca. W przypadkach świeżego zawału mięśnia sercowego stwierdzano ostre rozlane lub wczesne ogniskowe zmiany obrzękowo-niedokrwienne mózgu. Bliznom pozawałowym z towarzyszącym świeżym zawałem serca towarzyszyło bądź wieloognisko-

Tabela 4. Zmiany w mózgu w przypadkach z blizną pozawałową i świeżym zawałem mięśnia serca

Table 4. Cerebral changes in cases with postinfarct scars and fresh heart infarct

No	Wiek (lata) Age (years)	Płeć Sex	Zmiany w mózgu Brain changes	Lokalizacja zawału Localization of infarct
1	88	F	Liczne ogniska świeżej martwicy w obrębie tworów siatkowatego Numerous recent necrotic foci in reticular formation	przednia ściana anterior wall
2	75	M	Ognisko martwicy z makrofagami w lewej okol. ciem. potyl. Necrotic focus with macrophages in left parieto-occipital area	przegroda i tylna ściana septum and posterior wall
3	81	M	Rozlany obrzęk, ogniskowe stare zmiany Edema and focal old lesions	przednia i tylna ściana anterior and posterior wall
4	79	F	Różnoczasowe wieloogniskowe uszkodzenie tkanki Multifocal lesions of various age	przegroda septum
5	45	M	Różnoczasowe wieloogniskowe uszkodzenie tkanki, przewaga świeżych zmian Multifocal lesions of various age, prominent recent necrotic changes	przednia i tylna ściana anterior and posterior wall
6	59	M	Różnoczasowe wieloogniskowe uszkodzenie tkanki, obrzęk Multifocal lesions of various age, edema	przegroda i przednia ściana septum, anterior wall
7	77	M	Różnoczasowe wieloogniskowe uszkodzenie tkanki Multifocal lesions of various age	przegroda i przednia ściana septum, anterior wall

we, różnoczasowe uszkodzenie mózgu, bądź uszkodzenie charakterystyczne dla świeżego zawału serca. Można więc przypuszczać, że w zawałe mięśnia serca prowadzącym do zgonu z reguły rozwijają się zmiany strukturalne w mózgu. W przypadku blizn pozawałowych w sercu stwierdzono w mózgu wieloogniskowe i dosyć rozległe zmiany. Nie były one wprawdzie bezpośrednią przyczyną zgonu, ale mogły mieć wpływ na ogólny stan pacjenta ze względu na zajęcie struktur należących do tworów siatkowatego.

W 2 przypadkach wielofazowego zawału mięśnia sercowego stwierdzono jedynie świeże uszkodzenie mózgu, z czego wynika, że nie każdy zawał serca prowadzi do rozwoju nieodwracalnych zmian struktural-

nych w ośrodkowym układzie nerwowym. Ustalenie, w jakich warunkach patofizjologicznych w przypadkach zawału mięśnia sercowego dochodzi do rozwoju uszkodzeń mózgu jest niemożliwe na podstawie badania materiału autopsyjnego. Tym niemniej umiejscowienie i charakter zmian w mózgu oraz ich porównanie z uszkodzeniami on występującymi po napadach padaczkowych typu grand mal (Jędrzejewska-Iwanowska 1974) wskazują, że istotnym czynnikiem powodującym rozwój zmian w mózgu w przypadkach z zawałem serca jest szybko narastające niedokrwienie znoszące działanie mechanizmów kompensacyjnych krążenia mózgowego.

A. Енджейевска-Ивановска, М. Габрыелевич

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МОЗГУ ПРИ ИНФАРКТАХ МИОКАРДА

Резюме

Целью работы было исследование морфологических изменений в мозгу с особым учетом ретикулярной формации и мозгового ствола в случаях инфаркта миокарда, а также сравнение морфологических изменений в мозгу с патоморфологической картиной сердечной мышцы.

Исследования проведены на 19 случаях секции со свежими или перенесенными инфарктами миокарда. Исследовали высечки из типичных областей мозга, из районов, в которых изменения устанавливали макроскопически, а также весь промежуточный мозг и мозговой ствол. Кроме того исследовали высечки из сердечной мышцы.

В случаях обширных инфарктов миокарда с течением, быстро приводящим к смерти, установлены только признаки диффузной ишемии и отека мозга. В случаях ограниченных некротических изменений сердечной мышцы и постинфарктных шрамов наблюдали очаги сравнительно свежего некроза в корково-подкорковых районах, составляющих границу васкуляризации больших артериальных стволов мозга. Обращало на себя внимание появление мелких некротических очагов в районе ретикулярной формации мозгового ствола, а особенно промежуточного мозга. Разновременным инфарктам соответствовало многоочаговое и многоэтапное повреждение мозга.

A. Jędrzejewska-Iwanowska, M. Gabryelewicz

MORPHOLOGY OF CEREBRAL CHANGES IN HEART INFARCTS

Summary

The paper concerns the morphological changes in the brain, with special regard paid to the reticular substance of diencephalon and brain stem, in the cases with the infarcts of heart muscle. The confrontation of the changes in the brain with pathomorphology of the heart muscle was also made.

The study was conducted on the 19 cases of fresh and old heart infarcts. Besides the heart muscle, the brain tissue sections were prepared from typical brain areas, from the macroscopically changed regions and also from the whole diencephalon and brain stem.

In cases of the vast heart muscle infarcts with the rapid course resulting in death there were in the brain only the features of diffuse ischemia and edema. In the cases with limited necrotic changes and scars in heart muscle there were observed rather fresh necrotic foci in the cortico-subcortical areas, the borderzones of circulation of the large cerebral arteries. Small necrotic foci in the reticular substance of the brain stem and particularly in diencephalon were remarkable. Multifocal and multiphase cerebral damage corresponded to multiphase heart infarcts.

PIŚMIENNICTWO

1. Bull G. M.: A comparative study of myocardial infarction and cerebral vascular accidents. *Geront. Clin.* 1963, 11, 193—205.
2. Dalli G., Chiaverini P.: Le sindromi coronarico-cerebrale e cerebro-cardiaca nei loro aspetti di patogenesi e di clinica. *Therapeutikon* 1966, 7, 3—49.
3. Englund C.: *Neuropathology of cardiorespiratory diseases. W: Pathology of nervous system.* Ed. J. Minckler. Mc Graw-Hill Inc. New York 1968, V. 1.
4. Jellinger K.: Anoxisch-vasale Hirnschäden nach chirurgischen Eingriffen. *Chirurgie* 1965, 36, 293—301.
5. Jędrzejewska-Iwanowska A.: *Obraz morfologiczny tworów siatkowatego międzymózgowia i pnia mózgu w padaczce. Rozprawa doktorska. Instytut Psychoneurologiczny, Warszawa, 1974.*
6. Paunescu-Podeanu A., Zosin P., Schneider F., Munteanu M.: La coaffection cerebrale chez les coronaries. *Confrontationes electroencephalographiques, cliniques, electrocardiographiques et biochemiques. Rev. Roum. Med. Intern.* 1967, 4, 35—43.
7. Popp S., Mihuta A., Nagkui A.: Suferinta cerebrale in boata coronariana. *Clujul Med.* 1967, 39, 243—248.
8. Trautwein H.: Zerebralsklerose beim Herzinfarkt. *Med. Welt* 1970, 21, 2087—2094.
9. Tucker C.: *Vascular pathophysiology and acute and chronic oxygen deprivation. W: Pathology of nervous system.* Ed. J. Minckler. Mc Graw-Hill Inc. New York 1968, V. 1.
10. Ueda K., Hashimoto M., Katsuki S.: Comparative study of arteriosclerosis between brain and heart with special reference to the cerebrovascular and coronary heart disease. *Jap. Circulat. J.* 1970, 34, 893—916.
11. Zülch K. J.: Über die Entstehung und Lokalisation der Hirninfarkt. *Zbl. Neurochir.* 1961, 21, 158—178.

Adres autorów: Zakład Anatomii Patologicznej Szpitala Bielańskiego, ul. Ceglowska 80, 01-809 Warszawa.

ROMAN GADAMSKI, GRAZYNA SZUMAŃSKA, MACIEJ BORKOWSKI,
JERZY WESOŁOWSKI, BOGUSŁAW RATYŃSKI

ZMIANY AKTYWNOŚCI ACETYLOCHOLINESTERAZY W RDZENIU KRĘGOWYM PSÓW PO CZASOWYM ZACIŚNIĘCIU AORTY PIERSIOWEJ

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

Kierownik Zespołu: prof. dr M. J. Mossakowski

Klinika Chirurgii Naczyniowej Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego

Kierownik Kliniki: prof. dr H. Rykowski

W dostępnym piśmiennictwie nie spotkano prac dotyczących aktywności acetylocholinesterazy (AChE) w warunkach niedokrwienia ośrodkowego układu nerwowego (oun) z wyjątkiem doniesienia Arsénio-Nunes i wsp. (1973). Stwierdzili oni obniżenie aktywności tego enzymu w korze mózgu po 30 i 90 minutowym niedokrwieniu. Książak i wsp. (1974) wykazali, że w półkulach mózgu świnki morskiej poziom acetylocholininy całkowitej obniża się o 30% w ciągu pierwszych dwóch minut podekapitacyjnej ischemii. Wykazano równocześnie, że zmniejsza się zawartość wolnej formy mediatora, podczas gdy jego forma związana nie podlega istotnym zmianom ilościowym. Odwrotny wpływ na poziom acetylocholininy w oun wywiera narkoza. Zastosowanie narkotycznej dawki barbituranów podwyższa zawartość tego mediatora o 40 do 60% (Crossland, Merrick, 1954; Elliot i wsp., 1950; Slater, 1969).

Należy przypuszczać, że obniżenie lub wzrost zawartości acetylocholininy wiąże się ze zmianą aktywności acetylotransferazy cholinowej i acetylocholinesterazy. Poziom mediatora w tkance nerwowej może być również uwarunkowany zmianami wewnątrzkomórkowej lokalizacji enzymów metabolizujących acetylocholinę (Książak i wsp., 1973).

Celem pracy było przesledzenie przy pomocy metody histochemicznej aktywności acetylocholinesterazy oraz zmian w jej wewnątrzkomórkowej lokalizacji w rdzeniu kręgowym psów po jego niedokrwieniu wywołanym czasowym wyłączeniem krążenia w piersiowym odcinku tętnicy głównej.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 16 psach mieszańcach, obu płci, o ciężarze około 10—12 kg. W znieczuleniu ogólnym wywołanym dożylnym podaniem Vetbutalu *) wyłączano krążenie w odcinku piersiowym tętnicy głównej przez założenie na okres 20 minut dwóch zacisków, poniżej łuku aorty i powyżej przepony. Po przywróceniu drożności odcinka piersiowego tętnicy głównej, zwierzęta utrzymywano przy życiu przez okres 2, 4, 6, 12, 24, 48 godz. oraz 4 i 6 dni. Materiał kontrolny stanowiły psy, u których wywołano tylko znieczulenie ogólne. Zwierzęta doświadczalne i kontrolne uśmiercano przez podanie letalnej dawki Morbitalu *). Wybrane segmenty z odcinka szyjnego, piersiowego i lędźwiowego rdzenia pobierano bezpośrednio po uśmierceniu psów i zamrażano w suchym lodzie.

Aktywność AChE oznaczano na skrawkach kriostatowych grubości 15 μm wg metody El Badawi i Shenka (1967) z użyciem jodku acetylotiocholiny (BDH) jako substratu oraz iso-OMPA (amid kwasu czteroizopropylfosforowego, Koch-Light) jako swoistego inhibitora butyrylocholinerazy. Dodatkowo wykonywano rutynowe barwienie skrawków fioletem krezyłu celem określenia ewentualnych zmian morfologicznych.

WYNIKI

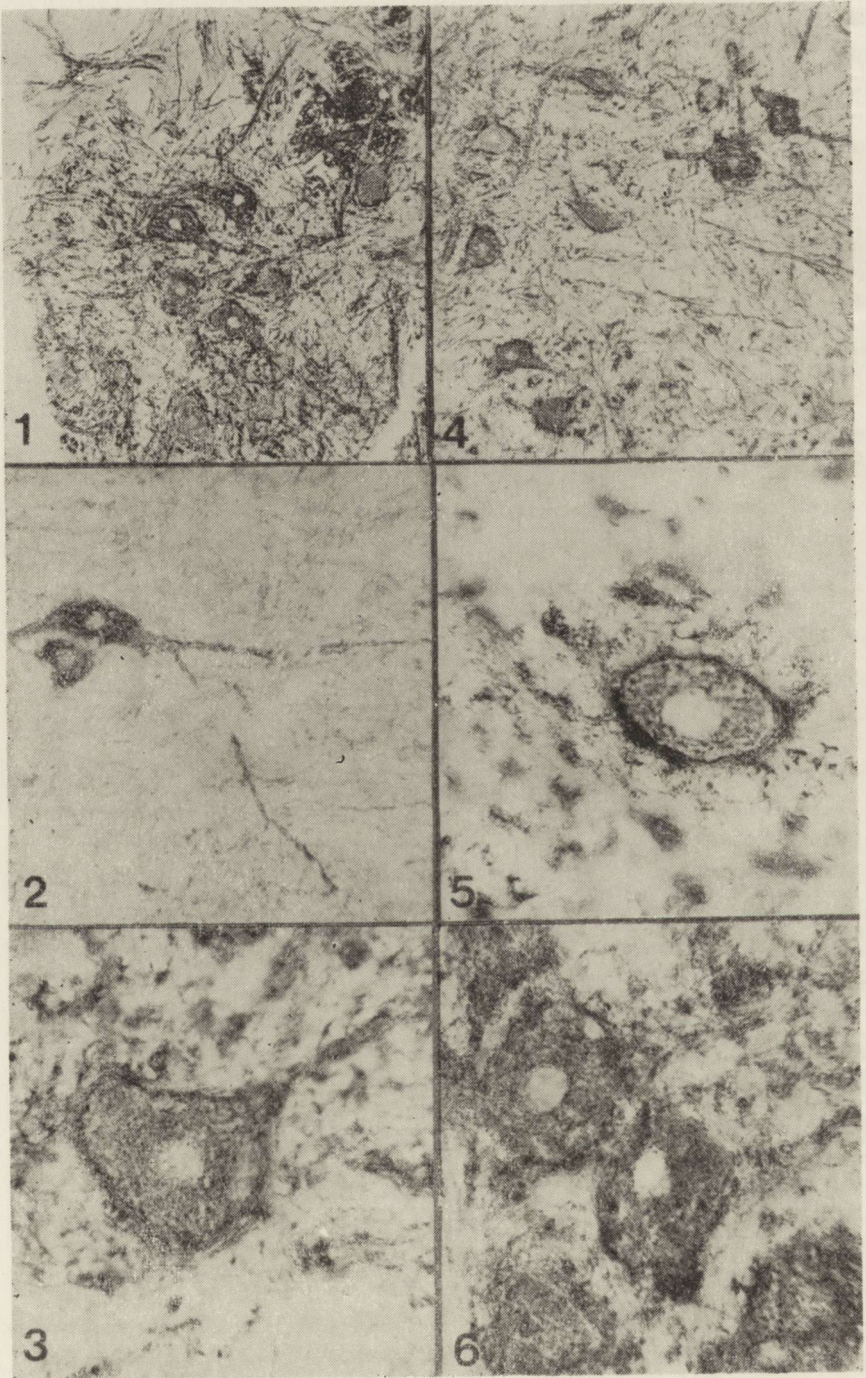
U zwierząt kontrolnych dodatni odczyn histochemiczny występował w neuropilu rogów przednich i tylnych rdzenia. Produkt reakcji był najczęściej widoczny w postaci włóknistych, rzadziej ziarnistych elementów stanowiących prawdopodobnie fragmenty podłużnych i poprzecznych przekrojów wypustek nerwowych. Ponadto intensywny odczyn histochemiczny obserwowano w neuronach ruchowych jądra brzuszno-bocznego (ryc. 1) i przyśrodkowego, jądra pośrodkowego bocznego, a także w neuronach spoidła szarego (ryc. 2). Neurony te wykazywały charakterystyczne rozmieszczenie produktu reakcji z intensywnym odczynem na błonie komórkowej i w przykomórkowych fragmentach wypustek nerwowych, umiarkowanym odczynem w obwodowej części cytoplazmy oraz nieznacznie silniejszym wokół ujemnego jądra komórkowego (ryc. 3). Ten typ wewnątrzkomórkowej lokalizacji enzymu stwierdzano we wszystkich segmentach rdzenia kręgowego. Aktywność AChE w odcinku szyjnym i piersiowym była nieznacznie niższa w porównaniu z odcinkiem lędźwiowym (ryc. 4, 5).

*) Produkowane przez Puławskie Zakłady Przemysłu Bioweterynaryjnego.

Niedokrwienie prowadziło do zmian w nasileniu odczynu histochemicznego i rozmieszczeniu we wszystkich odcinkach rdzenia produktu reakcji najwyraźniej zaznaczonych w odcinku lędźwiowym i piersiowym. Nasilenie zaburzeń aktywności wewnątrzkomórkowej lokalizacji AChE wykazywało ścisłą zależność od czasu przeżycia zwierząt po niedokrwieniu i odległości poszczególnych odcinków rdzenia od niedrożnej części tętnicy głównej.

U zwierząt z krótkim przeżyciem (2 i 4 godz.) obejmującym okres budzenia się z narkozy, obraz histochemiczny był podobny do opisanego u zwierząt kontrolnych. W 6 godzin po niedokrwieniu w neuronach ruchowych rogów przednich odcinka lędźwiowego wyraźnie zmniejszała się aktywność enzymu w błonie komórkowej przy niezmięnionej lub niekiedy podwyższonej aktywności w cytoplazmie (ryc. 6). W odcinku piersiowym poza opisanymi powyżej zmianami obserwowano przykomórkowe gromadzenie się ziarnistych złogów produktu końcowego reakcji, w związku z czym zarys neuronów stawał się mniej wyraźny (ryc. 7a, 7b). W tym samym czasie większość neuronów w odcinku szyjnym rdzenia wykazywała niezmięnięty obraz aktywności AChE. Obok nich występowały jednak komórki nerwowe z wyraźnie obniżoną aktywnością enzymatyczną, głównie w cytoplazmie (ryc. 8). U zwierząt z 24-godzinnym przeżyciem po niedokrwieniu spotykano w odcinku lędźwiowym liczne neurony wykazujące wewnątrzkomórkowe „ubytki” aktywności AChE umiejscowione w obwodowych częściach cytoplazmy, przy jednoczesnym nagromadzeniu produktu końcowego reakcji w błonie komórkowej i wokół jądra (ryc. 9, 10). W odcinku piersiowym przykomórkowe nagromadzenie ziarnistych struktur o wysokiej aktywności enzymatycznej było bardziej zaznaczone niż u zwierząt z 6 i 12 godzinnym przeżyciem (ryc. 11). Zmniejszała się również wyraźnie aktywność AChE w cytoplazmie neuronów ruchowych. W tym samym czasie w odcinku szyjnym rdzenia oprócz neuronów o stosunkowo nieznacznie zmienionym obrazie histochemicznym obserwowano komórki nerwowe o zatartych konturach, otoczone obfitymi skupieniami ziarnistego produktu reakcji (ryc. 12). W odcinkach rdzenia położonych na wysokości lub poniżej zamknięcia aorty (rdzeń piersiowy i lędźwiowy), w preparatach barwionych fioletem kryzylu spotykano hyperchromatyczne neurony z wypustkami osiowymi o krętym przebiegu, przykomórkowe zagęszczenia gleju (ryc. 13) oraz tworzące się grudki glejowe w neuropilu.

W materiale doświadczalnym pobieranym od zwierząt z przeżyciem dłuższym niż 24 godz. we wszystkich odcinkach rdzenia nasilenie odczynu histochemicznego jak i jego wewnątrzkomórkowa lokalizacja przypominała obrazy stwierdzone u zwierząt kontrolnych. U zwierząt



z 4-dniowym czasem przeżycia większość neuronów wykazywała zbliżone do prawidłowego rozmieszczenie produktu reakcji, z wyraźnie zaznaczoną aktywnością enzymatyczną na błonie komórkowej oraz słabszą aktywnością w cytoplazmie (ryc. 14). Jednakże nawet u zwierząt z 6-dniowym okresem przeżycia spotykano pojedyncze neurony o niepełnym zarysie błony komórkowej i pogrubiałych wypustkach (ryc. 15).

OMÓWIENIE

Przeprowadzone badania wykazały, że przejściowe niedokrwienie rdzenia kręgowego wywołuje zmiany w aktywności AChE wyrażające się zmniejszeniem intensywności odczynu oraz nieprawidłowością jego wewnątrzkomórkowego rozmieszczenia. Zmiany te są widoczne już u zwierząt z 6-godzinnym przeżyciem. W kolejnych przedziałach czasu po niedokrwieniu ulegają one nasileniu i stają się najbardziej wyraźne w 24 godzinie. Od tego czasu obserwuje się stopniowy powrót do normy intensywności odczynu i jego wewnątrzkomórkowego rozmieszczenia. Aktywność enzymatyczna u zwierząt z 4- a zwłaszcza 6-dniowym przeżyciem przypomina obrazy spotykane w kontroli.

Ryc. 1. Kontrola. Neurony ruchowe lędźwiowego odcinka rdzenia kręgowego. Wysoka aktywność AChE w błonie komórkowej i w cytoplazmie. W neuropilu przeważają elementy włókniste o wysokiej aktywności AChE. Pow. 100 ×.

Fig. 1. Control. Motoneurons of lumbar spinal cord. High activity of AChE in the cytoplasm and in the cellular membrane. In neuropil prevalence of AChE active fibrous elements. × 100.

Ryc. 2. Kontrola. Wysoka aktywność AChE w cytoplazmie i wypustkach komórek spoidłowych. Pow. 200 ×.

Fig. 2. Control. High activity of AChE in the cytoplasm and processes of commissural cells. × 200.

Ryc. 3. Kontrola. Prawidłowe rozmieszczenie aktywności enzymu w neuronach ruchowych odcinka lędźwiowego rdzenia kręgowego. Pow. 400 ×.

Fig. 3. Control. Normal distribution of the enzyme activity in motoneurons of lumbar spinal cord. × 400.

Ryc. 4. Kontrola. Nieznacznie niższa aktywność AChE w neuronie ruchowym odcinka szyjnego niż aktywność enzymu w neuronie ruchowym odcinka lędźwiowego rdzenia. Pow. 400 ×.

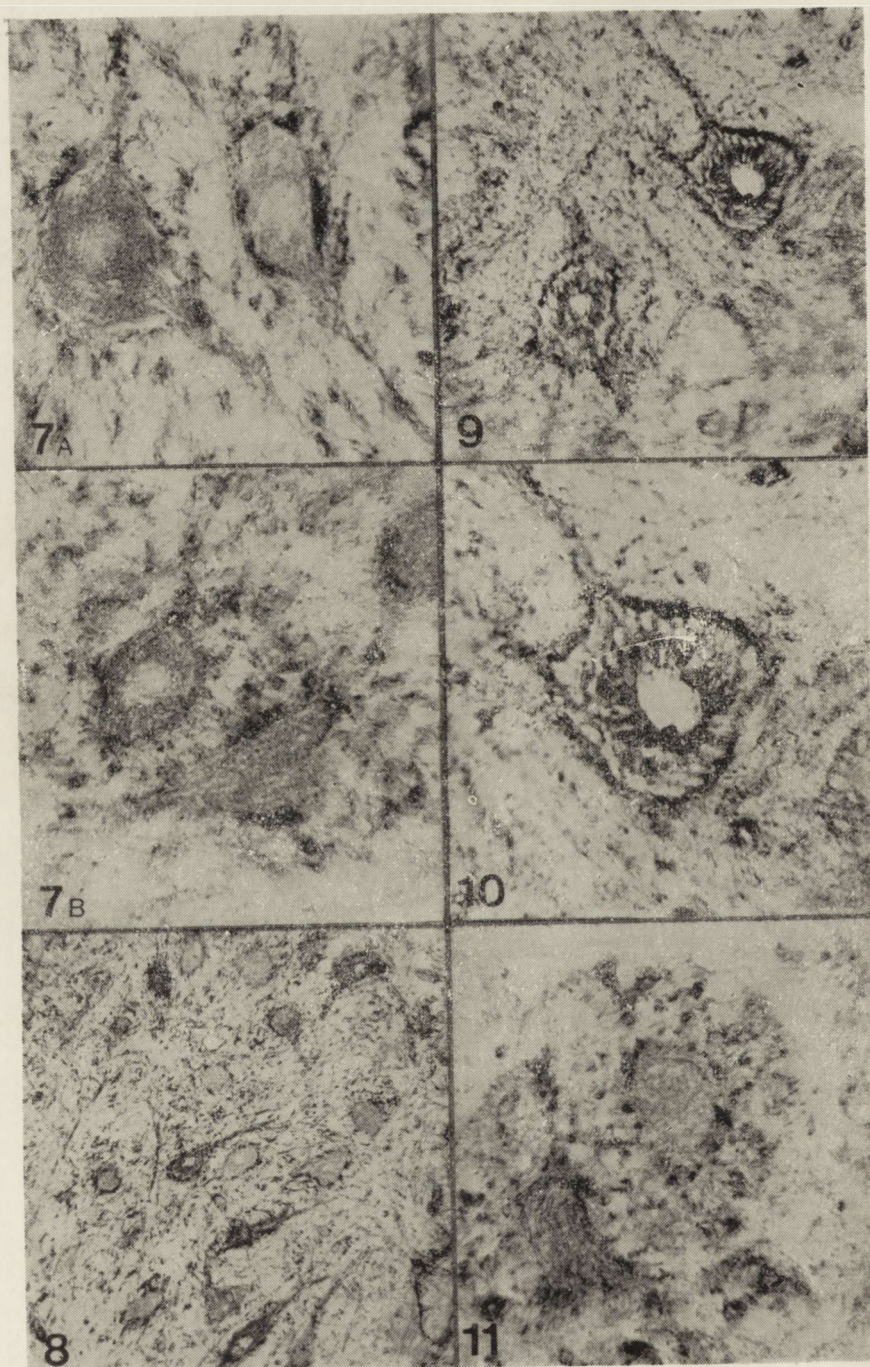
Fig. 4. Control. The activity of AChE in motoneurons of cervical spinal cord slightly lower than the activity in motoneuron of lumbar spinal cord. × 400.

Ryc. 5. Kontrola. Nieznacznie niższa aktywność AChE w neuronie ruchowym odcinka piersiowego w porównaniu do aktywności neuronu ruchowego w odcinku lędźwiowym rdzenia. Pow. 400 ×.

Fig. 5. Control. Slightly lower activity of AChE in motoneurons of thoracic spinal cord than the activity in the motoneuron of lumbar spinal cord. × 400.

Ryc. 6. Neurony ruchowe odcinka lędźwiowego 6 godz. po niedokrwieniu rdzenia kręgowego. Obniżenie aktywności enzymu w błonie komórkowej. Zachowanie lub nieznaczne podwyższenie aktywności AChE w cytoplazmie. Pow. 400 ×.

Fig. 6. Motoneurons of lumbar spinal cord 6 h after ischemia. Decrease of enzyme activity in cellular membrane. Maintenance or slight increase of AChE activity in the cytoplasm. × 400.



Dane uzyskane poprzednio w tym samym modelu doświadczalnym wskazują, że mimo zaciśnięcia piersiowego odcinka aorty zstępującej, w jej części brzusznej utrzymuje się skurczowe ciśnienie krwi w granicach od 20 do 50 mm Hg. Stwierdzono również zachowany, aczkolwiek bardzo zwolniony przepływ krwi, wynoszący od 2,5 do 3,0 cm/sek (Gadamski i wsp., 1976).

Krażenie krwi w odcinku łożyska tętniczego, położonego poniżej wyłączonej części tętnicy głównej, utrzymane dzięki uruchomieniu mechanizmów regulacyjnych i wykorzystaniu dróg bocznych, umożliwiło zachowanie strukturalnej i czynnościowej integralności rdzenia kręgowego, mimo stwierdzonych uprzednio zaburzeń metabolicznych (Gadamski i wsp., 1977).

Nieprawidłowości w ukrwieniu występujące w okresie niedrożności piersiowego odcinka aorty dotyczą nie tylko rdzenia kręgowego, lecz również narządów wewnętrznych, przede wszystkim wątroby, nerek i nadnerczy, zaopatrywanych w krew przez naczynia pochodzące z brzuszego odcinka tętnicy głównej. Prowadzą one do przejściowego przynajmniej zaburzenia ich czynności. Z drugiej strony gwałtowne wyłączenie rozległego odcinka pnia tętnicy głównej, prowadzi do urucho-

Ryc. 7A, B. Neurony ruchowe odcinka piersiowego 6 godz. po niedokrwieniu rdzenia kręgowego. Obniżenie aktywności AChE w błonie komórkowej. Gromadzenie się gruboziarnistych produktów reakcji wokół komórki nerwowej. Pow. 200 ×.

Fig. 7A, B. Motoneurons of thoracic spinal cord 6 h after ischemia. Decrease of AChE activity in cellular membrane. Accumulation of coarse granular products of enzymatic reaction around the neuron. × 200.

Ryc. 8. Neurony ruchowe odcinka szyjnego 6 godz. po niedokrwieniu rdzenia kręgowego. Obok neuronów prawidłowych znaczna liczba komórek nerwowych ze śladową aktywnością enzymu w cytoplazmie. Pow. 100 ×.

Fig. 8. Motoneurons of cervical spinal cord 6 h after ischemia. Besides normally reacting neurons some of them exhibit trace enzymatic activity in the cytoplasm. × 100.

Ryc. 9. Neurony ruchowe odcinka lędźwiowego 24 godz. po niedokrwieniu rdzenia kręgowego. Wysoka aktywność AChE w błonie komórkowej. Wyraźny brak aktywności enzymu w cytoplazmie, zwłaszcza w obwodowych częściach. Pow. 220 ×.

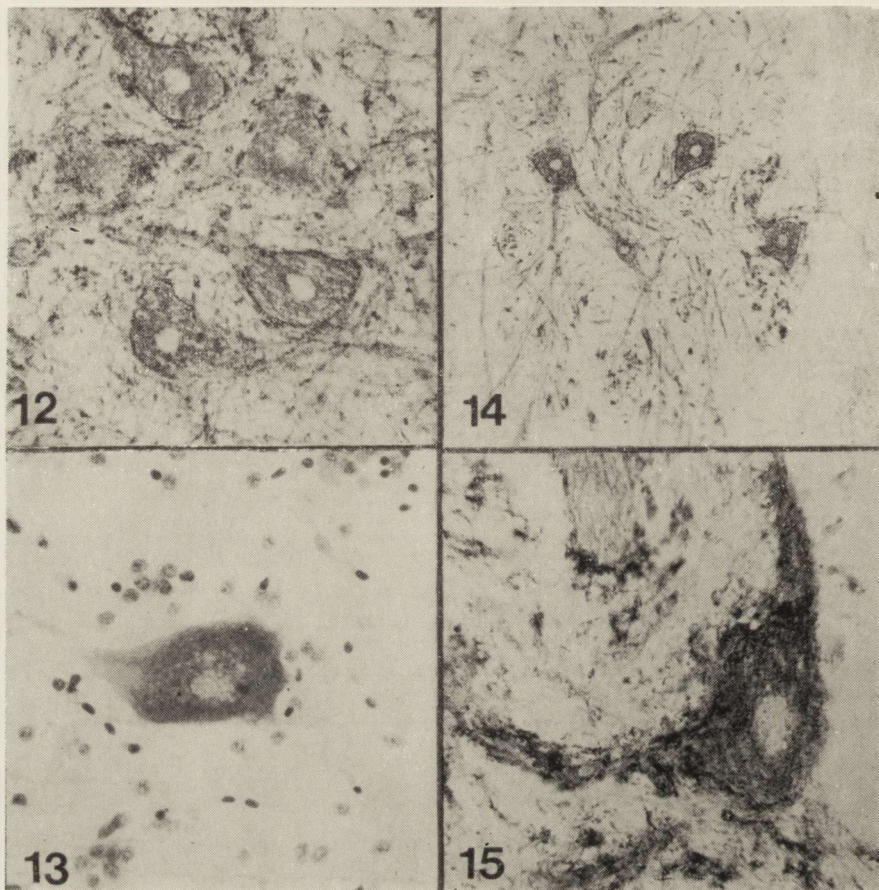
Fig. 9. Motoneurons of lumbar spinal cord 24 h after ischemia. High activity of AChE in cellular membrane. Evident lack of enzyme activity in the cytoplasm, mainly at its periphery. × 220.

Ryc. 10. Powiększenie ryc. 9. 400 ×.

Fig. 10. Magnification of Fig. 9. × 400.

Ryc. 11. Neurony ruchowe odcinka piersiowego 24 godz. po niedokrwieniu rdzenia kręgowego. Obniżona aktywność AChE w błonie komórkowej i cytoplazmie. Ziarnistości o wysokiej aktywności enzymatycznej wokół neuronu. Pow. 200 ×.

Fig. 11. Motoneurons of thoracic spinal cord 24 h after ischemia. Decreased activity of AChE in the cytoplasm and cellular membrane. Granular, active products of enzymatic activity around the neuron. × 200.



Ryc. 12. Neurony ruchowe odcinka szyjnego 24 godz. po niedokrwieniu rdzenia kręgowego. Neurony niezmienione sąsiadują z neuronami o zmniejszonej aktywności. Perineuronalne nagromadzenie aktywnych ziarnistości. Pow. 200 \times .

Fig. 12. Motoneurons of cervical spinal cord 24 h after ischemia. Neurons with normal and with a decreased AChE activity. Perineuronal accumulation of enzymatically active granules. \times 200.

Ryc. 13. Odcinek lędźwiowy 24 godz. po niedokrwieniu rdzenia kręgowego. Rozplęciem gleju w otoczeniu neuronów ruchowych oraz grudki glejowe w neuropilu. Fiolet krezyłu. Pow. 200 \times .

Fig. 13. Lumbar spinal cord 24 h after ischemia. Glia proliferation around the motoneurons, glial nodules in neuropil. Cresyl violet. \times 200.

Ryc. 14. Odcinek lędźwiowy 4 dni po niedokrwieniu rdzenia kręgowego. Aktywność AChE w neuronach ruchowych oraz w neuropilu podobna do kontroli. Pow. 100 \times .

Fig. 14. Lumbar spinal cord 4 days after ischemia. Activity of AChE in motoneurons and in neuropil similar to that of control. \times 100.

Ryc. 15. Neuron ruchowy w odcinku lędźwiowym 6 dni po niedokrwieniu rdzenia kręgowego. Rozmieszczenie aktywności AChE podobne do kontroli. Niepełny obrys błony komórkowej, wysoka aktywność enzymu w poszerzonych wypustkach komórki nerwowej. Pow. 400 \times .

Fig. 15. Motoneuron in lumbar spinal cord 6 days after ischemia. Distribution of AChE activity similar to that of control. Parts of cellular membrane are lacking enzyme activity whereas widened processes are highly active. \times 400.

mienia szeregu wyrównawczych mechanizmów wegetatywnych (Gadamski i wsp., 1976). W rozważaniach patomechanizmu przedstawionych powyżej nieprawidłowości w histochemicznym obrazie aktywności AChE poza miejscowym niedokrwieniem rdzenia należy uwzględnić działanie tych właśnie ogólnoustrojowych czynników. Za ich udziałem przemawia ponadto taki sam charakter zmian histochemicznych oraz dynamika ich narastania i cofania się w odcinkach rdzenia położonych zarówno poniżej jak i powyżej niedrożnej części aorty. To samo dotyczy opisanych poprzednio nieprawidłowości mikrokrążenia rdzeniowego (Gadamski i wsp., 1976).

Sledząc zmiany w aktywności badanego enzymu w okresie poischemicznym zwraca uwagę ich ścisła zbieżność w czasie z zaburzeniami w mikrokrążeniu rdzeniowym, sugerująca zależność nieprawidłowości histoenzymatycznych od upośledzenia ukrwienia rdzenia kręgowego.

Brak uchwytnej nieprawidłowości histochemicznych w rdzeniu kręgowym w krótkim okresie po niedokrwieniu (2—4 godz.), tj. w czasie budzenia się zwierząt z narkozy może być wynikiem zahamowania lub obniżenia aktywności bioelektrycznej układu nerwowego i zmniejszenia zapotrzebowania na przekaźniki bodźców nerwowych, w tym na acetylocholinę. Prawdopodobnie zmniejszone zużycie acetylocholiny na poziomie synaps nerwowych nie wymaga uaktywnienia hydrolizującego ją enzymu — acetylocholinesterazy.

W późniejszych okresach po niedokrwieniu (6 godz.) charakteryzujących się narastaniem zaburzeń w mikrokrążeniu rdzeniowym (krwinkotoki, przekrwienie bierne) występuje prawdopodobnie zmniejszenie syntezy acetylocholinesterazy odbywającej się w cytoplazmie neuronów (Kobayashi, Farner, 1964). Za koncepcją zahamowania syntezy AChE w następstwie niedokrwienia przemawiają obrazy mikroskopowe materiału pobranego w 24 godzinie przeżycia zwierząt, przede wszystkim ubytki w obwodowych częściach cytoplazmy motoneuronów. Należy podkreślić, że w tym właśnie czasie ujawniają się najbardziej drastyczne nieprawidłowości w mikrokrążeniu rdzeniowym, wskazujące na znaczne upośledzenie zaopatrzenia rdzenia kręgowego w krew. Natomiast zapoczątkowana w 48 godzinie przeżycia normalizacja aktywności acetylocholinesterazy zbiega się w czasie z wydatnym polepszeniem stanu mikrokrążenia rdzeniowego (Gadamski i wsp., 1976). Na podkreślenie zasługuje przy tym fakt, że występuje ona równocześnie we wszystkich odcinkach rdzenia, niezależnie od ich położenia w stosunku do wyłączonej części tętnicy głównej.

Mimo zaburzeń w nasileniu i śródkomórkowym rozmieszczeniu aktywności AChE nie stwierdzono histochemicznych wykładników zahamowania jej syntezy w żadnym z badanych przedziałów czasu po nie-

do krwienu. Znajduje to odpowiednik w stanie klinicznym zwierząt, które po cofnięciu się objawów urazu pooperacyjnego w większości przypadków wykazywały pełną sprawność ruchową.

P. Gadamski, G. Szumańska, M. Borkowski, E. Wesolowski, B. Ratyński

ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ В СПИННОМ МОЗГЕ СОБАК ПОСЛЕ ВРЕМЕННОГО ЗАЖИМА ГРУДНОЙ АОРТЫ

Резюме

Исследования проводили на 16 собаках, которым под общим наркозом перекрывали грудной участок аорты путем наложения на 20 мин двух зажимов: ниже дуги аорты и выше диафрагмы. После восстановления проходимости артерии животным сохраняли жизнь в течение 2, 4, 6, 12, 24, 48 часов, а также 4 и 6 дней. Спинальный мозг собак, которым давали только общий наркоз, составлял контрольный материал.

Активность ацетилхолинэстеразы (АЦХЭ) определяли на криостатических срезах по методу Эль Бадави и Шенка (1965) с использованием Iso-ОМПА в качестве специфического ингибитора бутирилхолинэстеразы. Ишемия спинного мозга вызывала изменения интенсивности и локализации активности АЦХЭ на всех его участках, которые наиболее явственно были выражены на поясничном и грудном участке. Явное снижение реакции, а также ее неправильную внутриклеточную локализацию наблюдали уже у животных с 6-часовым переживанием, которое максимально усиливалось через 24 часа переживания животных. С этого момента у животных наблюдали постепенное возвращение к норме. Ферментативная активность у животных с 6-дневным переживанием напоминала картины в контроле.

R. Gadamski, G. Szumańska, M. Borkowski, J. Wesolowski, B. Ratyński

THE CHANGES OF ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY IN SPINAL CORD OF THE DOGS AFTER TEMPORARY OCCLUSION OF DORSAL PART OF AORTA

Summary

The study was carried out on 16 dogs whose dorsal part of aorta was closed in general anesthesia for 20 min with two clamps: below the arch of aorta and above the diaphragm. After removal of the clamps animals were kept for 2, 4, 6, 12, 24, 48 h and 4 and 6 days survival. The spinal cords of anesthetized unoperated dogs were used as control material.

The activity of AChE was studied on cryostat sections according to method of El Badawi, Shenk (1965) with Iso-OMPA, the specific inhibitor of butyrylcholinesterase.

Ischemia of spinal cord caused changes in the intensity and distribution of AChE, most evident in lumbar and dorsal spinal cord. Marked decrease and abnormal intracellular distribution of the enzyme activity was observed already in animals with 6 h survival. The alterations were most expressed in the material after 24 h survival. Since then the enzymatic activity started to normalize and in animals with 6 days survival was close to the control material.

PIŚMIENNICTWO

1. Arsénio-Nunes M. L., Hossman E., Farkas-Bargeton: Ultrastructural and histochemical investigation of the cerebral cortex of cat during and after complete ischaemia. *Acta neuropath.* (Berl.), 1973, 26, 329—344.
2. Crossland J., Merrick A. J.: The effect of anaesthesia on the acetylcholine content of brain. *J. Physiol.*, 1954, 125, 56—66.
3. El-Badawi A., Schenk F. A.: Histochemical methods for separate, consecutive and simultaneous demonstration of acetylcholinesterase and norepinephrine cryostat sections. *J. Histochem. Cytochem.*, 1967, 15, 580—588.
4. Elliot K. A. C., Swank R. L., Henderson N.: Effects of anesthetics and convulsants on acetylcholine content of brain. *Am. J. Physiol.*, 1950, 162, 469—474.
5. Gadamski R., Rap Z., Borkowski M., Ratyński B., Wesołowski J.: Ocena zmian w rdzeniu kręgowym psów po doświadczalnym zaciśnięciu aorty piersiowej. *Badania histologiczne i histochemiczne*. 1978 (w przygotowaniu do druku).
6. Gadamski R., Szumańska G., Borkowski M., Ratyński B., Wesołowski Z., Rykowski H.: Wpływ niedokrwienia rdzenia kręgowego u psów na stan bariery naczyniowej i mikrokrążenie. *Neuropat. Pol.*, 1976, 14, 301—312.
7. Kobayashi H., Farner D. S.: Cholinesterases in the hypothalamohypophysical neurosecretory system of the white-crowned sparrow. (*Zonotrichia leucophrys gambelii*). *Z. Zellforsch.*, 1964, 63, 965—973.
8. Książak H., Komender B., Gromek A.: The effect of barbiturate anesthesia on acetylcholine content and intracellular localization of acetylcholinesterase in the central nervous system. *Acta Physiol. Pol.*, 1973, 24, 455—463.
9. Książak H., Zaleska M., Gromek A.: Level of total and bound acetylcholine in conditions of hypoxia, ischemia and barbiturate anesthesia in guinea pig brain. *Bull. Acad. Pol. Sci.*, 1974, 22, 649—656.
10. Slater P.: The effects of intraventricular injections of quaternary ammonium compounds on the acetylcholine content of rat brain. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 1969, 181, 253—262.

Adres dr wet. R. Gadamskiego: Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, 00-784 Warszawa, ul. Dworkowa 3

KOMUNIKATY

W dniach od 24 do 26 listopada 1978 odbędzie się w Budapeszcie XI Sympozjum Dunajskie Neurologii, Neuropatologii i Neurologii Dziecięcej z następującą tematyką:

- I Patofizjologia, anatomia patologiczna, diagnostyka i leczenie wzmożonego ciśnienia śródczaszkowego.
- II Patologia płynu mózgowo-rdzeniowego.
- III Tematy wolne.

Zgłoszenia referatów łącznie z krótkim streszczeniem należy kierować do 1 lipca 1978 r. na adres: prof. dr E. Csanda, Department of Neurology, Semmelweis Medical University, H-1083 Budapest, Balassa ut. 6.

Ewentualne zapytania proszę kierować na adres prof. dr med. M. Wendera, Klinika Neurologiczna AM, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań.

*

*

*

The Society of Neuropathology of the German Democratic Republic will meet in Leipzig on 22.—24. March 1979. The main theme will be "Technical Methods in Neuropathology". For information write to: Prof. Dr. A. Arendt, DDR 701 Leipzig, Liebigstrasse 26 (German Democratic Republic).

*

*

*

W dniach 22—24 marca 1979 odbędzie się w Lipsku konferencja Towarzystwa Neuropatologów Niemieckiej Republiki Demokratycznej. Głównym tematem konferencji będą „Techniczne metody w neuropatologii”. Zgłaszanie uczestnictwa i referatów do 15. września 1978 r.

Informacji udziela prof. dr A. Arendt, DDR 701 Leipzig, Liebigstrasse 26. DDR

MARIA DĄMBSKA, AGNES DANIELEWICZ-KOTOWICZ

MORPHOLOGICAL STUDY ON MYELINATION
OF SOME STRUCTURES OF RABBIT BRAIN

PRELIMINARY REPORT

Laboratory of Developmental Neuropathology, Medical Research Centre,
Polish Academy of Science

Head: Ass. Prof. M. Dąmbaska

Laboratory of the Ultrastructure of the Nervous System,
Medical Research Centre, Polish Academy of Science

Head: Ass. Prof. J. W. Borowicz

Rabbit proved to be an useful animal for experimental studies on the effect of factors damaging the central nervous system during development. The knowledge of normal development is fundamental for this type of studies. There exist some histoenzymatic and biochemical reports concerning development and particularly myelination of rabbit brain (Wender et al., 1969; Wender, Zgorzalewicz, 1969; Zgorzalewicz, 1973), but morphological analyses of the course of myelination are lacking. This fact inclined us to study the course of myelination in some structures of the brain stem and of corpus callosum.

Rabbits, in the 1st, 4th, 8th, 16th and 35th day of life, were used (4 animals in each group from 2 different broods in pairs). From each pair, the brain of one rabbit was taken for light microscope examination, and the other one for electron microscopic study. Animals anesthetized with ether were sacrificed by decapitation. Tissue blocks from the brain hemispheres, pons and medulla were embedded in paraffin. The sections were stained according to Klüver-Barrera and Heidenhain methods. Tissue samples for electron microscopic examination were prepared according to the methods used for ultrastructural studies and examined in Tesla 500 BS and JEM 7A electron microscope.

Myelin staining proved the generally accepted opinion that rabbit is born with almost unmyelinated nervous system. In newborn rabbits brain stem myelin sheaths are distinctly visible only in the intracerebral part of the cranial nerve roots. Besides in the phylogenetically old structures as medial lemniscus a few, thin fibres slightly stained for myelin are present (Fig. 1). On the 4th day the myelination of these

pathways advances considerably. On the 8th day of life some myelin sheaths in medial longitudinal fasciculus (Fig. 2) and spino-cerebellar ventral and dorsal tracts are already distinct. At this stage no myelin sheath are present in cortico-spinal tract. During the next week myelin development is so advanced that on the 16th day of life the brain stem seems to be well myelinated (Fig. 3). However, the intensity of myelin staining differs in particular pathways, being most intense in medial lemniscus and only slight in cortico-spinal tract. On the 35th day of life all brain stem pathways are well myelinated. The development of myelin sheaths in cortico-spinal and cortico-ponto-cerebellar tracts is also well advanced (Fig. 4).

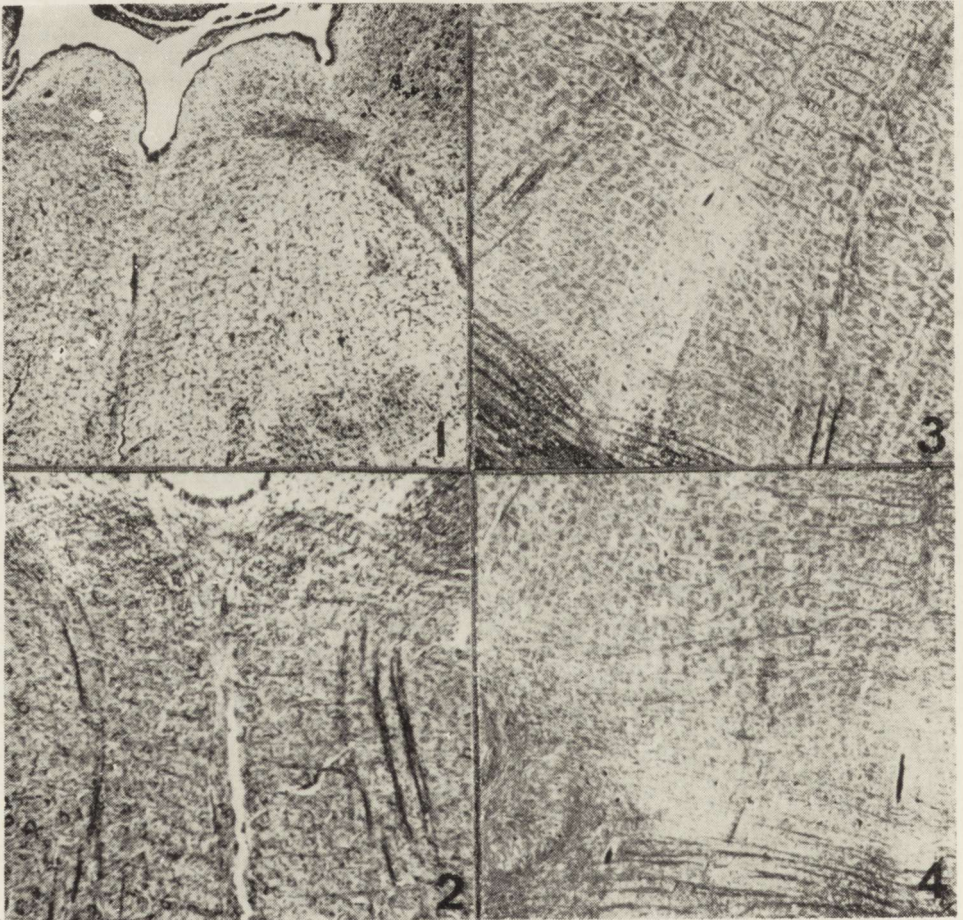


Fig. 1—4. Rabbit brain stem. Myelination in the 1, 8, 16, 35th day of life. Klüver-Barrera. $\times 60$.

Ryc. 1—4. Mielinizacja pnia mózgu królika w 1, 8, 16, 35 dniu życia. Klüver-Barrera. Pow. $60 \times$.

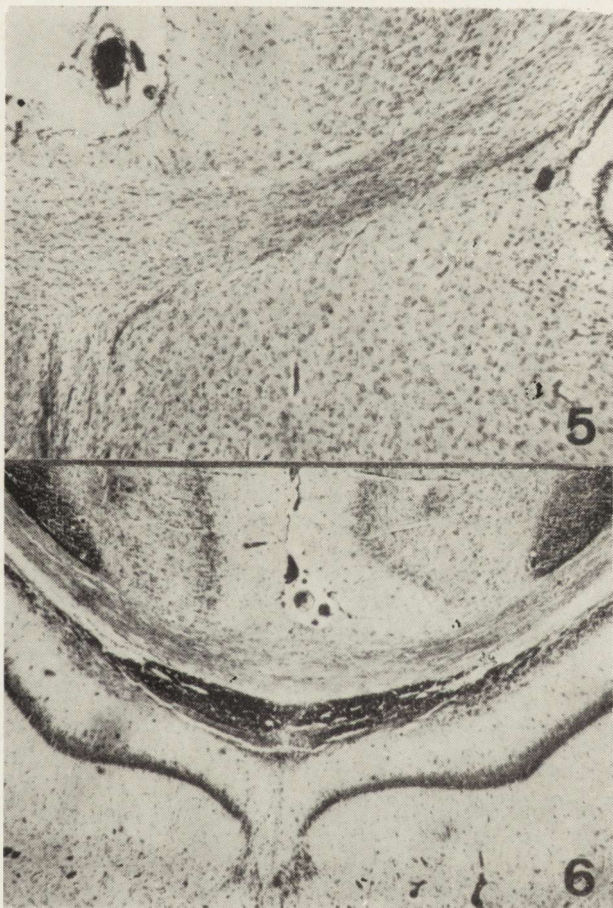
Corpus callosum becomes myelinated according to its phylo- and ontogenetic development, later than the brain stem. On the 8th day of life no myelin sheaths are visible though proliferation of the myelination glia is prominent. On the 16th day myelin sheaths in the corpus callosum are already present (Fig. 5) and on the 35th day myelination is well advanced. However, a comparison with the fornix shows that the myelination of corpus callosum is less progressed than in the phylogenetically older fornix (Fig. 6).

Fig. 5. Corpus callosum, 16th day of life. Klüver-Barrera. $\times 60$.

Ryc. 5. Spoidło wielkie, 16 dzień życia. Klüver-Barrera. Pow. $60 \times$.

Fig. 6. Corpus callosum and fornix in 35 day of life. Klüver-Barrera. $\times 40$.

Ryc. 6. Spoidło wielkie i sklepienie w 35 dniu życia. Klüver-Barrera. Pow. $40 \times$.



Electron microscopic studies revealed consecutive phases of the nervous fibres myelination in the brain stem since the first day after birth, when in the latero-ventral part of the brain stem among the overwhelming number of unmyelinated fibres some fibres demonstrated the initial stage of myelination. They are often in direct contact with the

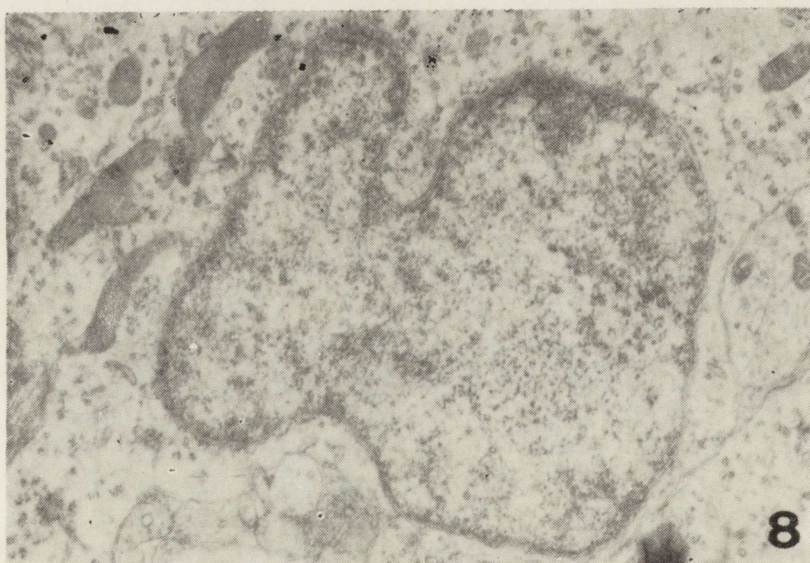
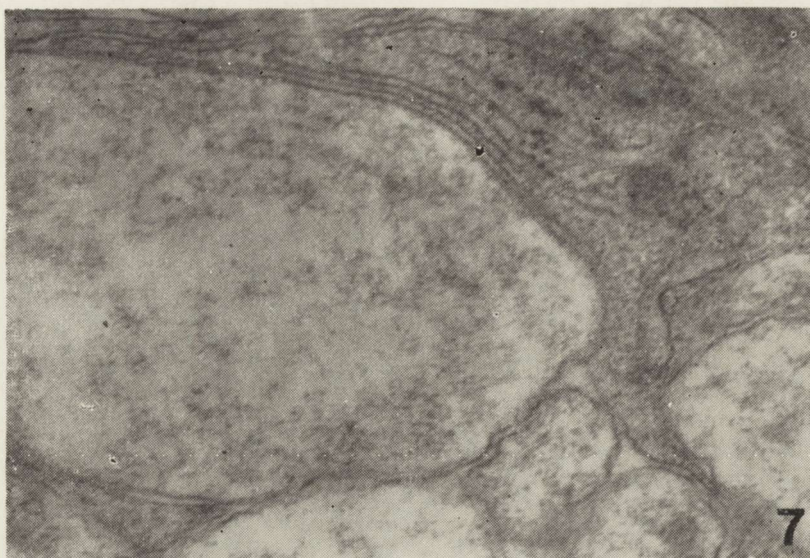


Fig. 7. Corpus callosum, 8th day of life. Nerve fibre in close contact with glial cell (premyelination stage). $\times 39\ 000$.

Ryc. 7. Spoidło wielkie, 8 dzień życia. Włókno w ścisłym kontakcie z komórką glejową (stadium premyelinizacji). Pow. $39\ 000 \times$.

Fig. 8. Corpus callosum, 8th day of life. Glial cell — irregular shape of nucleus with invaginations. Numerous organelles and large mitochondria. $\times 17\ 500$.

Ryc. 8. Spoidło wielkie, 8 dzień życia. Komórka glejowa — jądro o nieregularnym kształcie z wgłobieniem, liczne organelle, wśród nich duże mitochondria. Pow. $17\ 500 \times$.

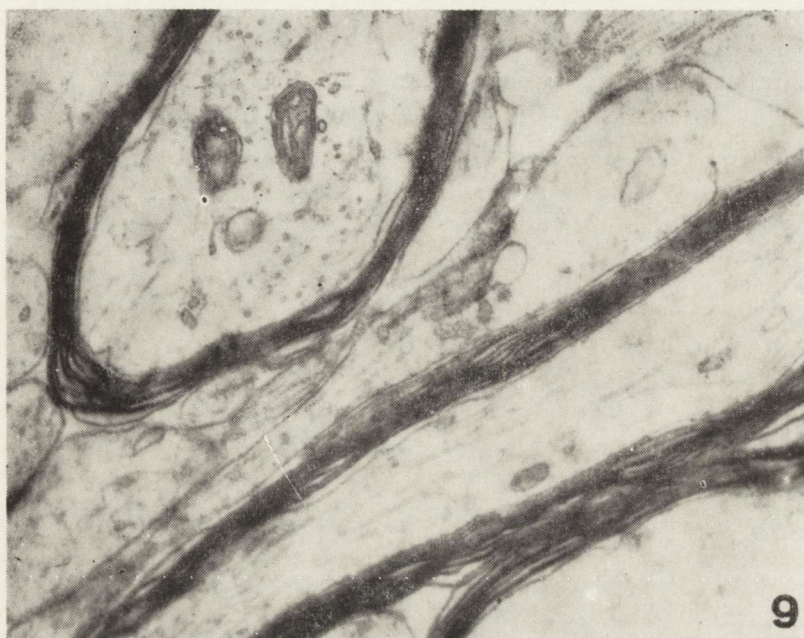


Fig. 9. Corpus callosum, 35th day of life. Many nerve fibre surrounded by well developed myelin sheaths. $\times 31\,500$.

Ryc. 9. Spoidło wielkie, 35 dzień życia. Wiele włókien nerwowych otoczonych dobrze wykształconymi osłonkami mielinowymi. Pow. $31\,500 \times$.

glial cell cytoplasm, which surrounds them spirally forming frequently well visible mesaxon (Peters, 1974). Either single or numerous myelin lamellae are also visible around some fibres. On the 4th day there is an evident presence of well myelinated fibres while others remain in the initial stage of the process. With time lapse the number of myelinated fibres increases constantly. However, no myelinated fibres were observed in corpus callosum on the 8th day of life, while stages corresponding to the premyelination stage (Samorajski, Friede, 1968) were encountered. Close contact of the fibre with glial cell is evident, but without any electron-optically dense lamellae (Fig. 7). A striking feature is the presence of glial cell forms described by Bunge (1968), visible also at light microscopic examination. The nuclei of these glial forms are pleomorphic, frequently of irregular shape, with narrowings or invaginations. The cytoplasm contains numerous organelles, mainly large, dark mitochondria (Fig. 8). Glial cells of various stages of development are seen within the same area. Some of them correspond to glioblasts (Waughn, 1969), others to light and dark gliocytes (Ling et al., 1973) and to astrocytes of varying maturity.

On the 16th day of life myelin sheaths are still rather scanty. On the 35th day of life many sheaths became significantly thicker but numerous unmyelinated fibres are also encountered (Fig. 9).

The above presented results do not require any comment. It is worth stressing that the ultrastructural examination reveals the beginning of myelination much earlier, than in classical staining methods.

M. Dąbska, A. Danielewicz-Kotowicz

BADANIA MORFOLOGICZNE MIELINIZACJI NIEKTÓRYCH STRUKTUR MÓZGU KRÓLIKA

Doniesienie wstępne

Streszczenie

Badano w mikroskopie świetlnym i elektronowym przebieg mielinizacji w spoidle wielkim i w niektórych strukturach pnia mózgu królika. Badania wykonano w 1, 4, 8, 16 i 35 dniu życia. U noworodka wyraźnie ukształtowane osłonki obserwowano jedynie w korzeniach nerwów czaszkowych. W czwartym dniu życia stwierdzono mielinizację *lemniscus medialis*, w ósmym dniu *fasciculus longitudinalis medialis* i *tractus spino-cerebellaris*. W szesnastym dniu życia pień mózgu królika sprawia wrażenie zmielinizowanego, jedynie w *tractus cortico-spinalis* mielinizacja jest słabo zaznaczona. W trzydziestym piątym dniu wszystkie drogi pnia są dobrze zmielinizowane. Spoidło wielkie mielinizuje się później. W szesnastym dniu osłonki mielinowe są nieliczne, a w 35 dniu mielinizacja nie jest jeszcze zakończona. W badaniu w mikroskopie elektronowym obserwuje się różne fazy mielinizacji włókien nerwowych w pniu mózgu już od pierwszego dnia po urodzeniu, a w spoidle wielkim od 8 dnia życia.

М. Домбска, А. Данелевич-Котович

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МИЕЛИНИЗАЦИИ НЕКОТОРЫХ СТРУКТУР МОЗГА КРОЛИКА

Резюме

Исследовали в световом и электронном микроскопе ход миелинизации в большой спайке и в некоторых структурах мозгового ствола кролика. Исследования проводили в 1, 4, 8, 16 и 35 день жизни. У новорожденного отчетливое формирование оболочки наблюдали только в корешках черепномозговых нервов. На 4-ый день жизни установлена миелинизация *lemniscus medialis*, на 8-ой день *fasciculus longitudinalis medialis* и *tractus spino-cerebellaris*. На 16ый день жизни мозговой ствол кролика выглядел миелинизированным, только в *tractus cortico-spinalis* миелинизация была выражена слабо. На 35-ый день все пути ствола были хорошо миелинизированы. Большая спайка миелинизируется позже. На 16ый день миелиновых оболочек мало, а на 35ый день миелинизация еще не окончена. При исследовании в электронном микроскопе наблюдаются различные фазы миелинизации нервных волокон в мозговом стволе уже с 1-го дня после рождения, а в большой спайке — с 8ого дня жизни.

REFERENCES

1. Bunge R.: Glial cells and the central myelin sheath. *Physiol. Rev.*, 1968, 48, 197—252.
2. Ling E., Peterson J., Privat A., Mori S., Leblond C.: Investigation of glial cells in semithin sections. I. Identification of glial cells in the brain of young rats. *J. Comp. Neurol.*, 1973, 149, 43—72.
3. Peters A.: The morphology of the developing myelin sheath. In: *Drugs and the developing brain*. Eds.: A. Vernadakis, N. Weiner, Plenum Press, 1972, 395—414.
4. Samorajski T., Friede R.: A quantitative electron microscopic study of myelination in the pyramidal tract of rat. *J. Comp. Neurol.*, 1968, 134, 323—333.
5. Waughn J.: An electron microscopic analysis of gliogenesis in rat optic nerves. *Z. Zellforsch.*, 1969, 94, 293—324.
6. Wender M., Kozik M., Owsianowski M.: A histoenzymatic study of neuroglia during myelination of the rabbit brain. *Folia Histochem. Cytochem.*, 1969, 7, 135—150.
7. Wender M., Zgorzalewicz B.: Activation of amino acids in the developing rabbit brain. *Folia biol.*, Praha 1969, 17, 159—166.
8. Zgorzalewicz B.: Activity of sRNA amino acyl synthetases in ontogenic development of rabbit brain. *Biol. Neonate*. 1973, 23, 161—170.

Author's address: Laboratory of Developmental Neuropathology Medical Research Centre, Polish Academy of Science, 3 Pasteur Str., 02-093 Warsaw. Poland

INFORMACJA
GŁÓWNEJ BIBLIOTEKI LEKARSKIEJ
UL. CHOCIMSKA 22, 00-791 WARSZAWA

Od 1976 r. Główna Biblioteka Lekarska (GBL) wprowadziła nową formę działalności informacyjno-usługowej w postaci mikroform. Skompletowanie nowoczesnych urządzeń mikrofilmowych umożliwia zaopatrywanie użytkowników na terenie całego kraju, zarówno lekarzy praktyków jak i naukowców, w potrzebne do pracy materiały biblioteczne w formie mikrofilmowanej. Mogą to być zarówno fragmenty wydawnictw zwartych, artykuły z czasopism, zbiory specjalne jak i materiały informacyjne.

Obecnie GBL realizuje zamówienia w postaci mikroklisz względnie jacket'ów. Na specjalne życzenie (o ile odbiorca dysponuje czytnikiem tylko do mikrofilmów) GBL może wykonać mikrofilm na taśmie 35 lub 16 mm.

Zamówienia na mikrokopie potrzebnych dokumentów należy składać na piśmie osobiście lub listownie w sekretariacie GBL. Cena jednego arkusza negatywu mikrokliszy wynosi 50 zł, pozytywu — 23 zł, diazokopii — 14 zł, jednej klatki mikrofilmu — 1 zł. Na jednej mikrokliszy mieści się około 60 stron tekstu formatu A-4.

Informacja dodatkowa

Mikroklisza jest to błona płaska o wymiarach 106 × 148 mm (A-6), w górnej jej części mieści się pole tytułowe, na którym wpisane są dane bibliograficzne zmikrofiszowanego dokumentu, czytelne okiem nieuzbrojonym. Jacket (karta kieszeniowa) jest to torebka z cienkiej folii pospajana poziomo, tworząca podłużne kieszenie, w które wsunięte są odcinki taśmy 16 mm.

MIECZYŚLAW WENDER, MIROŚLAW B. KOZIK

ENZYME HISTOCHEMISTRY OF THE NEUROGLIA IN DEMYELINATING DISEASES

Department of Neurology, Institute of Diseases of the Nervous System
and Sensory Organs, Medical Academy, Poznań

The involvement of neuroglial cells in many pathological processes of the central nervous system (CNS) has long been acknowledged. The neuroglial reaction usually has been considered in morphological terms, and only rarely has the pathological material been investigated with a histochemical approach to various enzymic activities because of the scantiness of human material suitable for such investigations. Hence, we thought it meaningful to present a critical review of cases of demyelinating diseases investigated in our Institute with the aid of histo-enzymic methods (Wender, Kozik, 1969; Kozik, 1973; Wender, 1974). We assume that these investigations will contribute to a better understanding of the mechanism and role played by the neuroglia in the CNS diseases, first of all in those in which the myelin sheaths are primarily injured. This assumption is based on the observations in both human and experimental diseases, that all processes leading to an increased biological activity of the neuroglia, independently on their nature, bring about changes in the histochemical activity of the glia. Such changes have been observed in early periods of differentiation of matrix cells into spongioblasts (Wender et al., 1970), during myelination gliosis (Friede, 1961; Wender, Kozik, 1968), in the course of neuroallergic reaction in the brain (Wender et al., 1966), as a phenomenon accompanying demyelinating processes (Ibrahim, Adams, 1965) and in inflammatory diseases of the brain (Farkas-Bargeton et al., 1975).

MATERIAL AND METHODS

The investigated material comprised 3 cases of multiple sclerosis (MS) and one case of subacute sclerosing panencephalitis (SSPE). The clinical and histopathological features of these cases were typical and did not create any diagnostic problems.

Autopsy was performed within 2—8 hours after the patient's death. The material for histoenzymic investigations was immediately fixed in 10 percent formol-calcium solution at 4°C for 18 h. Frozen sections 15 µm thick were subjected to following histoenzymic assays: acid phosphatase (E.C. 3.1.3.2), alkaline phosphatase (E.C. 3.1.3.1), adenosinetriphosphate hydrolase (E.C. 3.6.1.3), thiaminepyrophosphate hydrolase (E.C. 2.5.1a), acetylcholinesterase (E.C. 3.1.1.7) and nonspecific cholinesterase (E.C. 3.1.1.8). In the MS cases, the activities of nonspecific esterase and of arylsulphate sulphohydrolase were assayed as well. Further details concerning the individual reactions were reported previously (Wender, Kozik, 1968). Paraffin and celoidin embedded sections were subjected to routine histological staining (Hematoxylin-eosin, Nissl, Holzer, Sudan IV, Spielmeyer, Woelcke).

RESULTS

Acid phosphatase (AcP). A strong enzyme reaction was found in the cellular elements of perivascular infiltrates of fresh demyelination plaques in MS cases. A distinct staining was also observed in cells furnishing the reactive zone at the edge of the lesion, particularly in macrophages and in the adjacent astroglia. A comparable reactivity was demonstrated by gitter cells within the demyelination plaques. Some of the oligodendroglial cells outside the demyelination foci exhibited also distinct acP activity. In contrary, glial cells and glial fibres in old plaques showed no reaction. Nerve cells in the vicinity of demyelination plaques exhibited a markedly reduced acP activity. In the SSPE case the lymphocytes and plasmocytes of the perivascular infiltrates displayed the highest enzyme activity (Fig. 1). The glial cells

Fig. 1. AcP activity in cellular elements of perivascular infiltrates in SSPE. × 80.

Ryc. 1. Aktywność fosfatazy kwaśnej w komórkach nacieków okołonaczyniowych. Podostre stwardniające zapalenie mózgu. Pow. 80 ×.

Fig. 2. Decreased alpP activity within the field of myelin fading (discoloration) in MS. × 20.

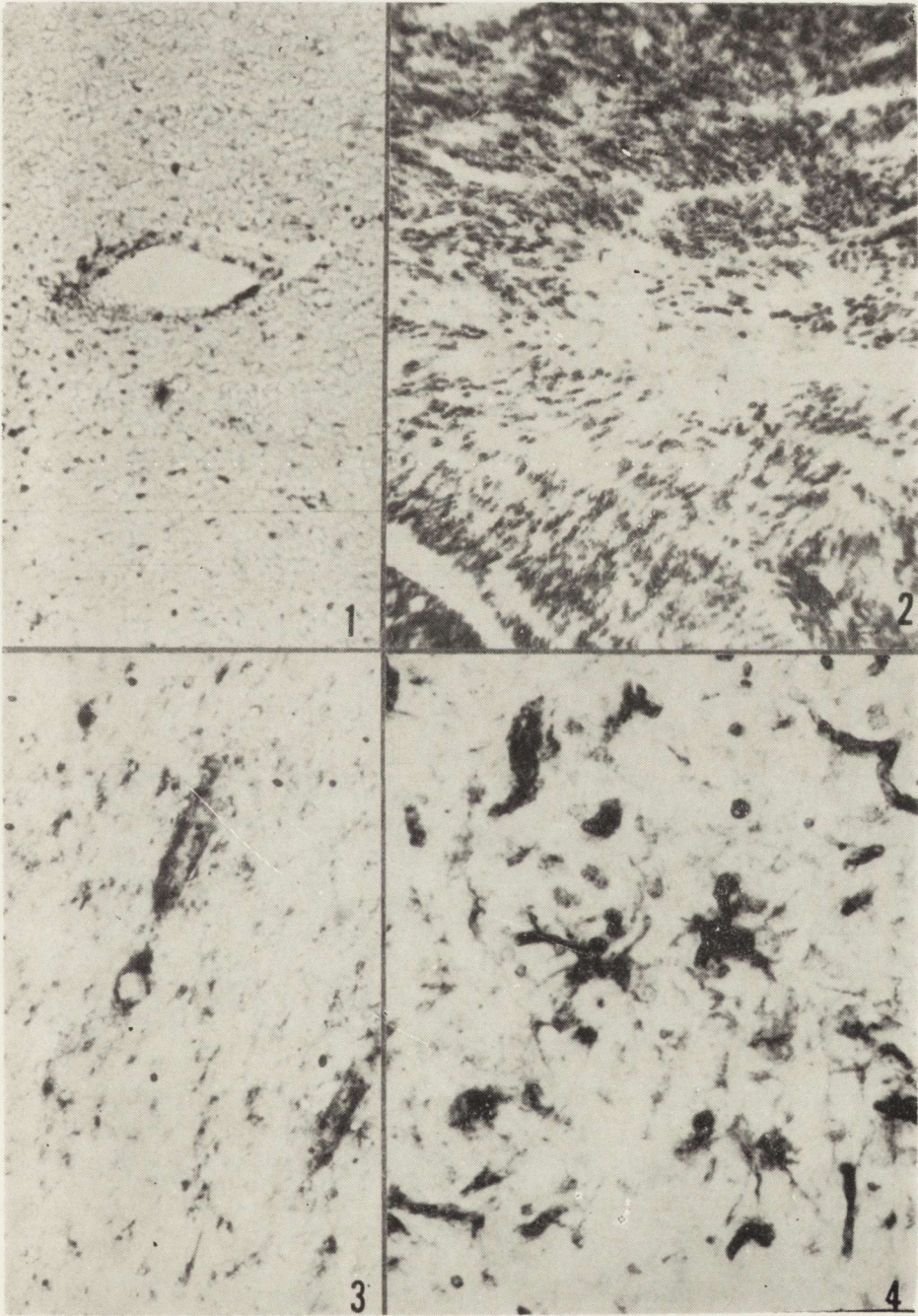
Ryc. 2. Obniżona aktywność fosfatazy zasadowej w polu spłowienia mieliny. Stwardnienie rozsiane. Pow. 20 ×.

Fig. 3. ATP-ase activity in hematogenic and glial infiltrates in SSPE. × 80.

Ryc. 3. Aktywność adenzynotrójfosfatazy w naciekach hematogennych i glejowych. Podostre stwardniające zapalenie mózgu. Pow. 80 ×.

Fig. 4. Strong TPP-ase activity in the hypertrophied astroglia in MS. × 30.

Ryc. 4. Silna aktywność pyrofosfatazy tiaminowej w przerosłych komórkach astrogleju. Stwardnienie rozsiane. Pow. 30 ×.



forming nodules and diffuse infiltrates as well as the rod cells exhibited distinct acP activity, though considerably weaker than the cellular elements of perivascular infiltrates.

Alkaline phosphatase (alkP). Fresh demyelination foci of the MS cases were completely unreactive. In normal white matter alkP activity may be demonstrated as diffuse staining within myelin sheaths (Fig. 2). The perivascular infiltrates in MS cases were weakly reactive. In older plaques alkP activity was demonstrated within area of the fibrous gliosis. In the SSPE case alkP activity was stated in cells forming the infiltrates. In regions where the exudate displaced the myelinated fibres, the perivascular spaces were considerably less reactive.

Adenosinetriphosphate hydrolase (ATP-ase). A strong ATP-ase activity was displayed by hematogenic cellular infiltrates, by all cells of the reactive wall of plaques, mainly by macrophages and the hypertrophied astrocytes. Numerous interfascicular oligodendroglial cells of the white matter, even remote from demyelination foci, were stained positively for ATP-ase. In old plaques the enzyme activity was quite marked in glial fibres in areas of both isomorphic and anisomorphic gliosis. In sections from the SSPE case, a positive enzyme reaction was evident in inflammatory cells of hematogenic and glial origin. The strongest enzyme activity was displayed by the rod cells as well as by both the diffuse and nodular glial infiltrates, though as a whole, the reaction of the glial cells was only moderate (Fig. 3).

Thiaminepyrophosphate hydrolase (TPP-ase). Distinct differences in enzymic activity were noted between fresh and old plaques. In recent plaques there was a strong enzymic activity demonstrable in all reactive cellular elements of the plaques, in macrophages, in astroglia and in hematogenic infiltrates (Figs. 4, 5). In older plaques TPP-ase activity was demonstrable only within perivascular macrophages, whereas glial fibres displayed strong enzyme reaction (Fig. 6). A marked TPP-ase activity was also observed in numerous interfascicular oligodendroglial cells outside the region of demyelination. In SSPE, a positive reaction for TPP-ase was exhibited by hematogenic and glial infiltrates.

Nonspecific esterase (nE). In early MS plaques the enzymic reaction products in the form of small intracytoplasmic granules occurred predominantly within phagocytes. The nE activity was particularly marked at the edges of the plaque. In old plaques the enzyme reaction was observed only in singular cells in the neighbourhood of blood vessels.

Acetylcholinesterase (AChE). Most of the glial cells in MS plaques were unreactive, only singular gemistocytes were positively

Fig. 5. Marked enzymic reaction for TPP-ase in cells of the reactive wall at the edge of a MS plaque. $\times 20$.

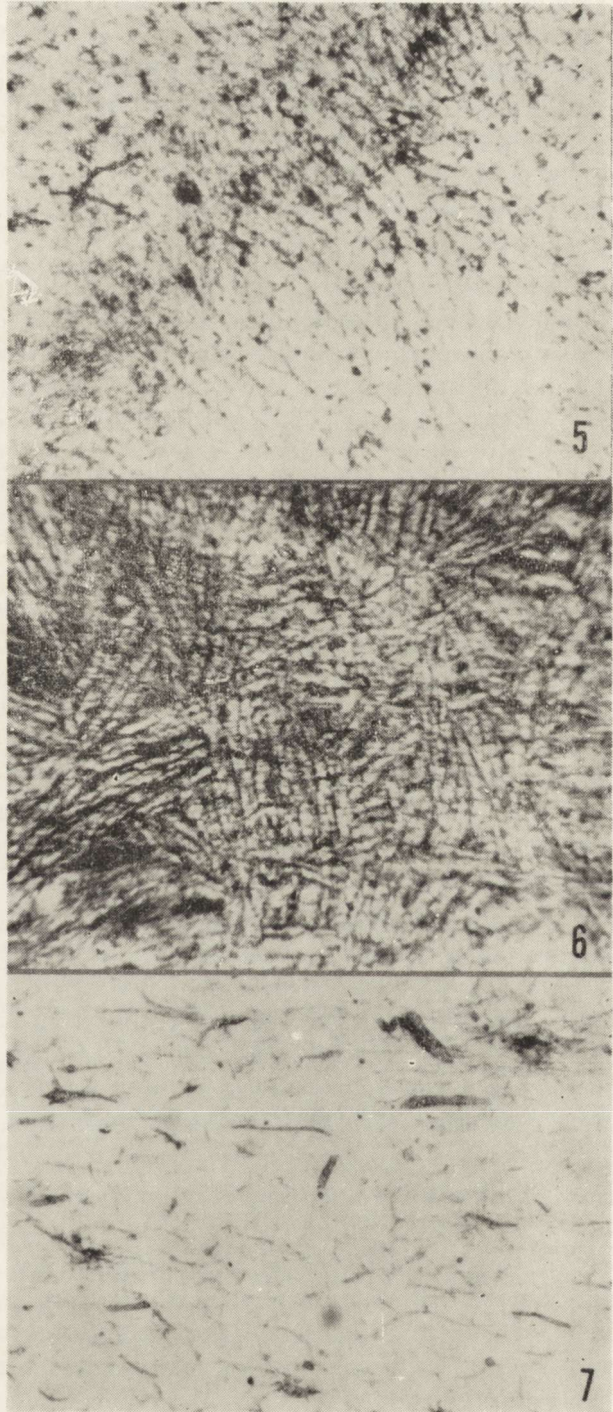
Ryc. 5. Znaczny odczyn enzymatyczny na pyrofosfatazę tiaminową w komórkach brzeżnego wału odczynowego plaki. Stwardnienie rozsiane. Pow. $20 \times$.

Fig. 6. TPP-ase activity in glial fibres in an old plaque in MS. $\times 20$.

Ryc. 6. Aktywność pyrofosfatazy tiaminowej we włóknach glejowych w starej placie. Stwardnienie rozsiane. Pow. $20 \times$.

Fig. 7. Strong reaction for TPP-ase in the nodular glial infiltrates in SSPE $\times 20$.

Ryc. 7. Silny odczyn na pyrofosfatazę tiaminową w grudkowych naciekach glejowych. Podostre stwardniające zapalenie mózgu. Pow. $20 \times$.



stained. Similarly in SSPE case the hematogenic and glial infiltrates were negative.

Nonspecific cholinesterase (NChE). Unlike in the normal nervous tissue where a considerable number of glial cells in the white matter exhibits a positive staining for NChE, the cells in MS plaques were completely unreactive. Neither in MS nor in SSPE cases did the cellular infiltrates display any enzyme activity.

Arylsulphate sulphohydrolase C (ASS-C). The MS plaques lacked any ASS-C activity, which may be demonstrated in myelinated nerve fibre bundles. At the edges of the demyelination foci many cells of the reactive zone were positively stained for ASS-C.

DISCUSSION

Inflammatory processes occurring in the CNS are characterized by evident changes in the enzymic outfit and activity of the predominantly reactive cells. These changes are common to all inflammatory processes, however, they seem to bear some specificity for the individual diseases. The hematogenic cellular infiltrates present usually increased activities of the lysosomal set of enzymes such as acP and TPP-ase (the enzyme which is believed to be a marker of the Golgi apparatus), of ATP-ase and to a lesser extent of alkP. These changes are unspecific and common to many pathological processes in human, such as all kinds of encephalitides and demyelinating diseases, and in experimental pathology, such as in experimental allergic encephalitis (Wender et al., 1966) or herpes simplex encephalitis (Farkas-Bargeton et al., 1975).

The enzymic changes observed in various cells during these processes are as a whole comparable. All the cells participating in the process (the hypertrophied astroglia, phagocytes and rod cells) demonstrated markedly increased TPP-ase activity, and moderately elevated ATP-ase and acP activities. Comparing MS specimens with those from SSPE cases, some differences in intensity of enzymic activity are apparent. However, the significance of these differences is unclear.

In MS cases increased acP and TPP-ase activities have been observed in oligodendroglial cells remote from morphologically recognizable areas of demyelination. This could suggest, that these cells acquire an increased functional activity reflected by the elevated enzymic activity even without morphological signs of hypertrophy. Thus, the results of our investigations clearly indicate that when evaluating glial reaction not only morphological signs but also results of histoenzymic observations should be taken into consideration. Interesting impli-

cations may be derived from the awkward occurrence and localization of ATP-ase and TPP-ase activity in glial fibres of the investigated MS cases. This observation however, escapes our understanding. The enzyme TPP-ase is recognized as specifically attached to the Golgi apparatus, thus deserving the name of its marker enzyme, whereas the role of ATP-ase is strictly connected with the energy-rich phosphate compound dependent on active transport processes of the cell. It is unlikely, however, that the occurrence of these enzymes in cells constituting fibrous gliosis could be explained in similar terms.

Anyhow, the presented observations indicate that at present, not all of the problems concerning the biological significance of the mentioned enzymes in the CNS are fully understood. We would also like to stress the unusually high activity of nonspecific esterase (carboxyl-ester hydrolase) and of arylsulphate sulphohydrolase displayed by the lipomacrophages in MS cases, and the possible importance of these enzymes in digestion and degradation of myelin lipids.

M. Wender, M. B. Kozik

HISTOCHEMIA ENZYMÓW NEUROGLEJU W CHOROBAH DEMIELINIZACYJNYCH

Streszczenie

Przeprowadzono histochemiczne badania aktywności enzymów hydrolitycznych w trzech przypadkach stwardnienia rozsianego oraz w jednym przypadku podostrego stwardniającego zapalenia mózgu.

Wykazano spadek aktywności sulfatazy arylowej, nieswoistej cholinesterazy i fosfatazy alkalicznej w obrębie blaszek demielinizacji w stwardnieniu rozsianym. Komórki oligodendrogleju i astrogleju w ich obszarze odznaczają się wzrostem aktywności adenozynotrójfosfatazy, pyrofosfatazy tiaminowej oraz kwaśnej fosfatazy. Największe nasilenie aktywności obserwowano w obrębie glejowego wału reaktywnego na obrzeżu zmian. Wzrost aktywności fosfatazy kwaśnej i pyrofosfatazy tiaminowej obserwowano również w komórkach glejowych w okolicach oddalonych od obszarów demielinizacji. Znaczenie pierwotne tych nieswoistych zaburzeń w procesie demielinizacji wydaje się wątpliwe.

W przypadku podostrego stwardniającego zapalenia mózgu stwierdzono w odczynowym gleju w istocie białej mózgu wyraźny wzrost aktywności pyrofosfatazy tiaminowej oraz tylko nieznaczny adenozynotrójfosfatazy i kwaśnej fosfatazy. Nie stwierdzono zależności pomiędzy wzrostem aktywności enzymatycznej w oligodendrogleju a procesem rozpadu osłonek mielinowych.

Wyniki badań wskazują, że w ocenie procesów przerostowych gleju oprócz zmian morfologicznych winno uwzględniać się również wyniki badań histoenzymatycznych.

М. Вендер, М. Козик

ГИСТОХИМИЯ ФЕРМЕНТОВ НЕЙРОГЛИИ
ПРИ ДЕМИЕЛИНИЗАЦИОННЫХ БОЛЕЗНЯХ

Резюме

Были проведены гистохимические исследования активности гидролитических ферментов в трех случаях рассеянного склероза, а также в одном случае субострого оmozололевого воспаления мозга.

Было показано падение активности арилосульфатазы, неспецифической холинэстеразы и щелочной фосфатазы в области бляшек демиелинизации при рассеянном склерозе. Клетки олигодендроглии и окружающая их астроглия характеризуются ростом активности АТФ-азы, ТФФ-азы и кислой фосфатазы. Самая высокая активность наблюдалась в области глиального реактивного вала. Рост активности кислой фосфатазы и ТФФ-азы наблюдался также в глиальных клетках в областях, удаленных от мест демиелинизации. Первичное значение этих неспецифических нарушений в процессе демиелинизации кажется сомнительным.

В случае субострого оmozололевого воспаления мозга был обнаружен в реактивной глии белого вещества мозга отчетливый рост активности ТФФ-азы и кислой фосфатазы. Не было отмечено аналогии между ростом ферментной активности в олигодендроглии и процессом распада миелиновых оболочек.

В целом, эти исследования указывают, что в оценке процессов гипертрофии глии кроме морфологических изменений следует учитывать также результаты гистоэнзиматических исследований.

REFERENCES

1. Farkas-Bargeton E., Arsenio-Nunes M. L., Lycke E., Sourrander P.: Vascular and glial alterations in experimental herpes simplex encephalitis. Proc. VII Internat. Congress Neuropath. Eds. S. Környey, S. Tariska, S. Gostonyi. Excerpta Medica, Amsterdam, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1975.
2. Friede R.: A histochemical study of DPN-diaphorase in human white matter with some notes on myelination. J. Neurochem. 1961, 8, 17—30.
3. Ibrahim M., Adams C.: The relation between enzyme activity and neuroglia in early plaques of multiple sclerosis. J. Path. Bact., 1965, 90, 239—243.
4. Kozik M.: Activity of hydrolytic enzymes in a case of subacute multiple sclerosis. Path. Europ., 1973, 8, 143—147.
5. Wender M.: Contribution to the histoenzymology of subacute sclerosing panencephalitis. Acta neuropath. (Berl.) 1974, 30, 339—343.
6. Wender M., Kozik M.: Histochemistry of cerebral white matter in relation to myelination of mouse brain. J. Hirnforsch., 1968, 10, 79—88.
7. Wender M., Kozik M.: Contribution to the histoenzymatic changes in multiple sclerosis. Acta neuropath. (Berl.) 1969, 13, 143—148.
8. Wender M., Kozik M., Wojciechowski T.: Enzymhistochemische Untersuchungen zur Entwicklung der Neuroglia des menschlichen Gehirns. Acta histochem., 1970, 36, 32—43.
9. Wender M., Kozik M., Wróblewski T., Rudnicka M.: Histochemical enzyme studies in experimental allergic encephalomyelitis. Path. Europ., 1966, 2, 135—148.

Authors' address: Department of Neurology, Medical Academy, Przybyszewskiego Str. 49, 60—355 Poznań, Poland

JULIAN M. ŻHABOTINSKY, HENRYK V. KONOVALOV, LUBOV A.
FEDOROVA, EUGENIUS I. CHUMASOV

SOME FUNDAMENTAL QUESTIONS OF MORPHO-
AND PATHOGENESIS OF DEMYELINATING DISEASES
OF THE NERVOUS SYSTEM

Institute of Experimental Medicine, Academy of Medical Sciences
of USSR, Leningrad, USSR

At the present moment there are no differences in the opinion that demyelinating diseases of the nervous system in man and experimental animals develop as a result of complex immunopathological responses. However, elucidation of pathogenetic mechanisms involved in demyelinating process meets considerable difficulties.

It is well known, that experimental encephalomyelitis (EAE) and polyneuritis (EAN) obtained in various animal species represent adequate models of demyelinating diseases of both central and peripheral nervous system in humans, therefore their morphological and immunological studies offer extreme value for elucidation of the pathogenesis of corresponding pathology in man. Our report is devoted to one of the most fundamental questions of morpho- and pathogenesis of demyelinating diseases, namely to that whether demyelination is a primary result of the antigen-antibody response or it is due to the invasion of inflammatory cells of hematogenic origin into myelin, representing the manifestation of hypersensitivity of the delayed type. In that particular point opinions of various authors differ to a great extent. Some authors (Waksman, 1956; Lampert, 1967, 1969; Paterson, 1960, 1966; Wiśniewski et al., 1969, 1974) consider the development of demyelinating process to depend upon specifically sensitized mononuclear cells (monocytes and/or lymphocytes), penetrating into myelin and destructing it. Other investigators (Ferraro, 1944; Pette, Pette, 1963; Zhabotinski et al., 1964, 1968, 1971, 1975; Field, Raine, 1966; Howell, Kidd, 1969; Allt et al., 1971) point out at primary destruction of myelin, depending on the immunological response of antigen-antibody type.

The present paper is based on morphological and immunological studies, which have been carried out during many years on EAE and EAN in various animal species (rabbits, guinea pigs, rats). It presents the evidence for the primary nature of demyelination. At the same time the works of these authors, who believe that myelin breakdown depends directly upon the primary penetration of sensitized macrophages of hematogenic origin into myelin, are critically reviewed. Their evidence comes to the following main points:

1. Periaxonal demyelination in EAE and EAN develops secondarily as a result of invasion of hematogenic macrophages into the myelin, this being the morphological manifestation of delayed hypersensitivity (DH).

2. There is a definite correlation between the demyelinating process and respective positive intracutaneous test for DH (specificity, dynamics).

3. EAE transfer may be accomplished by lymph node cells from the affected donors to isologic animal-recipients.

4. There is no parallelism between the presence of circulating complement-fixing antibodies determined in CF-test in EAE and EAN and the severity of the immunopathologic process in the central and peripheral nervous system respectively.

Morphologic studies play a decisive part in clarifying the role of various immunologic reactions in the nervous system in both EAE and EAN. First of all it is necessary to make clear whether demyelination occurs as a primary phenomenon or its development is due to the invasion of sensitized macrophages of hematogenic origin. For the question discussed it is necessary to know whether phagocytosis of myelin breakdown products takes place in motile macrophages of hematogenic origin or in myelin forming oligodendrocytes in case of EAE and in Schwann cells in EAN, i.e. by the way of autophagocytosis. Assessing these important questions one should bear in mind that demyelination with fine-granular myelin breakdown, demonstrable by Marchi method, is an indisputable morphologic criterion of the immunopathologic process in the nervous system both in EAE and EAN on the light microscopy level (Figs. 1 and 2). Unfortunately, the fine-granular myelin breakdown products have hardly been described in the majority of papers dealing with morphologic changes in EAE and EAN; the diagnosis being usually made on the account of inflammatory infiltration or myelin pallor around the vessels, which most frequently is due to pushing off myelin fibres by edematous fluid or infiltrating inflammatory cells.

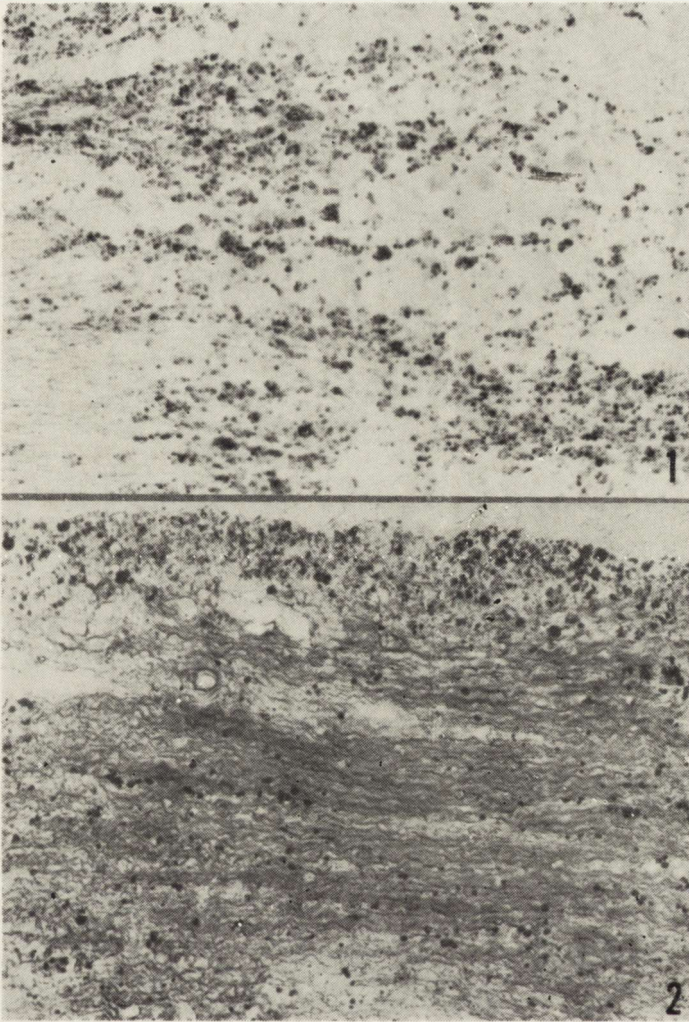


Fig. 1. Fine-granular myelin breakdown in trigeminal ganglion of an rabbit in EAN. Marchi. $\times 80$.

Ryc. 1. Droбноziarnisty rozpad mieliny w zwoju nerwu trójdzielnego u królika w EAN. Marchi. Pow. $80 \times$.

Fig. 2. Proliferation and hypertrophy of Schwann cells at the sites of myelin breakdown in a rabbit lumbar spinal ganglion. Nissl. $\times 300$.

Ryc. 2. Rozplem i przerost komórek Schwanna w ognisku rozpadu mieliny w zwoju rdzenia lędźwiowego u królika. Nissl. Pow. $300 \times$.

In numerous experiments carried out on different experimental animals we showed that on both microscopic and submicroscopic levels the myelin breakdown in EAE and EAN starts primarily in the processes of proliferating hypertrophied oligodendrocytes or in the bodies of Schwann cells (Figs. 3, 4 and 5a, b). Penetration of myelin with he-

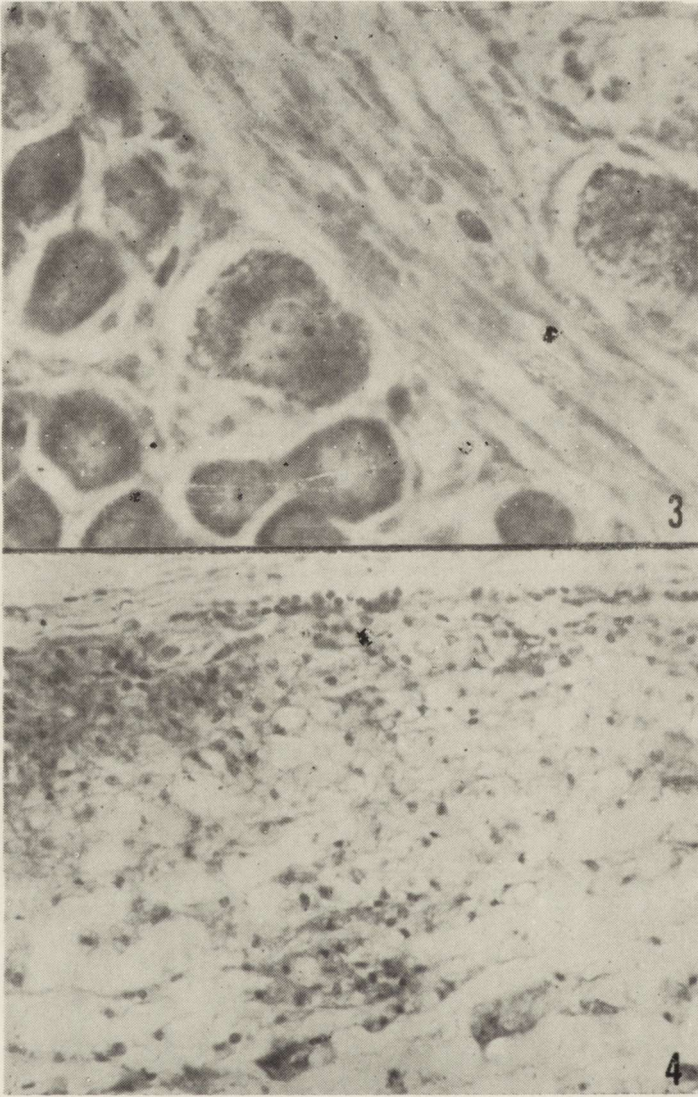


Fig. 3. Periaxonal granular myelin breakdown in the white matter of the lumbar region of the guinea pig spinal cord in EAE. Marchi. $\times 110$.

Ryc. 3. Periaksonalny, ziarnisty rozpad mieliny w istocie białej odcinka lędźwiowego rdzenia kręgowego świnki morskiej w EAE. Marchi. Pow. $110 \times$.

Fig. 4. Proliferation and hypertrophy of oligodendrocytes in the white matter of the cervical region of the rabbit spinal cord in EAE. Nissl. $\times 300$.

Ryc. 4. Rozplem i przerost oligodendrocytów w istocie białej odcinka szyjnego rdzenia kręgowego królika w EAE. Nissl. Pow. $330 \times$.

matogenic macrophages has been observed as a secondary phenomenon. In the cytoplasm of hypertrophied oligodendrocytes and Schwann cells rough endoplasmic reticulum, ribosomes, and Golgi complex are mar-

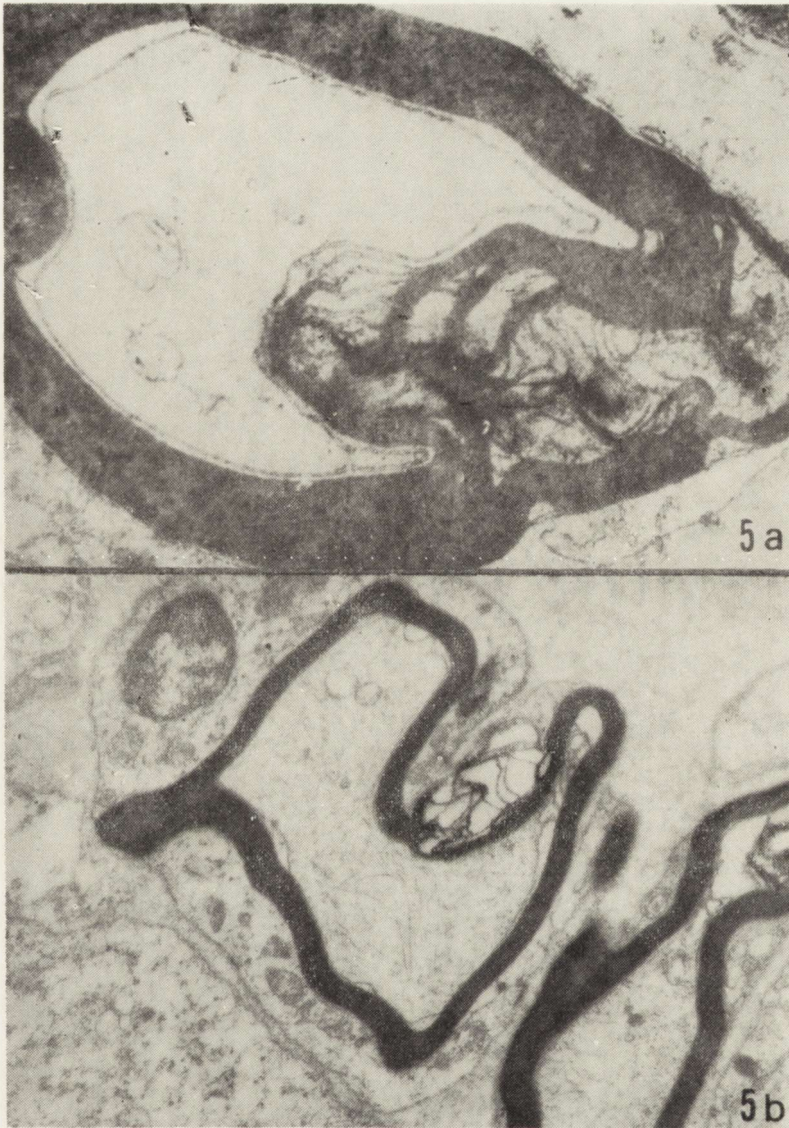


Fig. 5 a, b. Primary protrusions of myelin sheath with lamination of myelin lamellae and fissure-like cavity formation around the axon in rabbit EAN. $\times 14\ 000$.
Ryc. 5 a, b. Pierwotne wypuklenie osłonki mielinowej z rozwarstwieniem blaszek mieliny i tworzeniem szczelinowatych jam wokół włókna osiowego u królika z EAN. Pow. 14 000.

kedly increased, „digestive chambers”, where lysis of myelin breakdown products occurs, are frequently formed (Figs. 6, 7 and 8). This autophagocytosis is generally similar to that, which had been observed in Wallerian degeneration and diphtheric intoxication. The authors de-

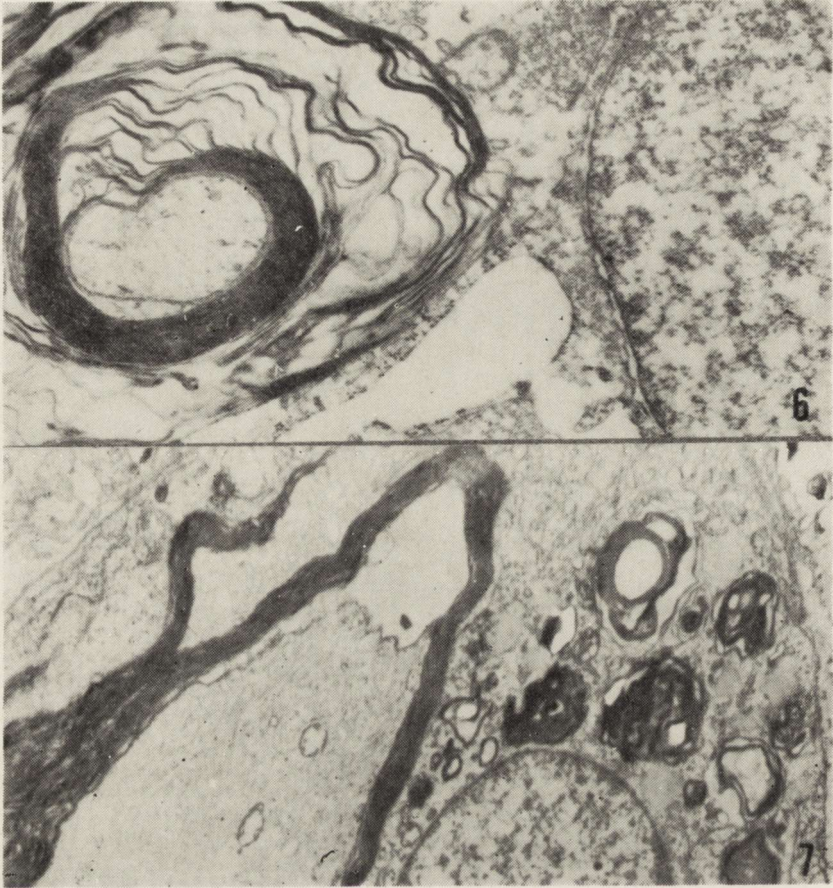


Fig. 6. Splitting of external myelin sheath lamellae in the cytoplasm of an altered oligodendrocyte. Marked dilatation of endoplasmic reticulum cisterns. $\times 12\ 000$.

Ryc. 6. Rozwarstwienie zewnętrznych blaszek osłonki mielinowej w cytoplazmie zmienionego oligodendrocytu. Znaczące poszerzenie zbiorników siatki śródplazmatycznej. Pow. 12 000.

Fig. 7. Hypertrophied oligodendrocyte with myelin breakdown products. Separation of external myelin sheath lamellae with their spreading into the oligodendrocyte cytoplasm. Dilatation of space between the internal lamella of myelin sheath and the axon. $\times 14\ 000$.

Ryc. 7. Przerost komórki oligodendrogleju zawierającej produkty rozpadu mielin. Rozwarstwienie zewnętrznych blaszek osłonki mielinowej i rozproszenie ich w cytoplazmie oligodendrocytu. Przestrzeń między aksonem i wewnętrzną blaszką osłonki mielinowej znacznie poszerzona. Pow. 14 000 \times .

describing phagocytosis of myelin breakdown products by motile macrophages do not generally mention the proliferation of Schwann cells or oligodendrocytes which is very well visible already under light microscope at the sites of demyelination.

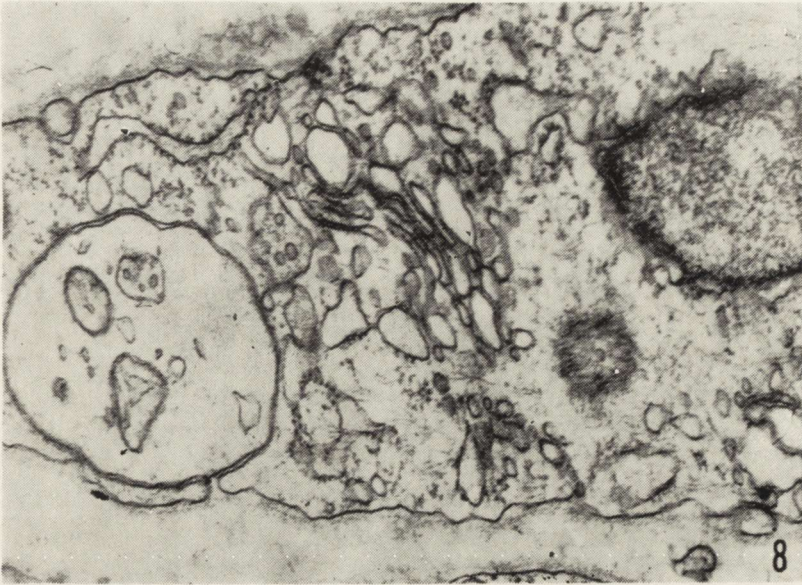


Fig. 8. Hypertrophy of the Golgi apparatus. Its vesicles and tubules in Schwann cell are enlarged. Periaxonal destruction of myelin sheath. $\times 7100$.

Ryc. 8. Przerost aparatu Golgiego. Powiększenie pęcherzyków i kanałów tego aparatu w komórce Schwanna. Periaksonalne zniszczenie osłonki mielinowej. Pow. 7100 \times .

According to our data, demyelination and inflammatory infiltration developing independently, usually do not coincide topographically. In EAE the inflammatory process occurs as a rule in the pia mater and in the walls of the cerebral venules, while at the site of even intense myelin breakdown the inflammatory cells are almost absent. In EAN, in the peripheral nervous system cellular infiltrations are mostly localized in the connective tissue of the intervertebral ganglia and in that of their roots, whereas at the sites of demyelination Schwann cells proliferation and hypertrophy are the leading features. Our observations on primary nature of demyelination in EAE and EAN are of a great importance regarding the assessment of the role of delayed hypersensitivity mechanism in these immunopathologic processes. The absence of destructive alteration of oligodendrocytes and Schwann cells in demyelination areas as well as their extensive reactive changes evoked by myelin breakdown testify against an essential and primary damage of these cells in EAE and EAN.

Selective injury to myelin sheath by myelinotoxic antibodies is in agreement with numerous biochemical data indicating significant differences of the chemical and hence antigenic composition of myelin lamel-

lae from other cellular membranes, including cytoplasmic membrane from which the myelin is formed.

The second important question requiring consideration is that which concerns the existence of parallelism between the hypersensitivity of the delayed type and occurrence of EAE and EAN. The works originating from the recent years have convincingly indicated that EAE may be evoked without the positive DH-response and the latter can be observed without development of any immunopathologic process in the nervous system (i.e. there may be a complete dissociation between them). Eylar et al. (1970) established that in case when tryptophane is selectively eliminated from the encephalogenic AI — protein of the CNS myelin, it loses its encephalogenic property, but continues to induce strong cutaneous DH-response equivalent to that resulting from AI-protein as a whole. Spitler et al. (1972) also showed that there may be a complete dissociation between the delayed hypersensitivity to encephalitogenic protein and EAE development. When various peptides isolated from the AI-protein were inoculated, they induced EAE in guinea pigs without cellular immunity to primary protein, and on the contrary, the latter developed in the absence of the central nervous system involvement. Similar observations were published by Burnett and Eylar (1971) as well as by Hashim and Stilling (1973). Comparing the composition of amino acids and immunologic properties of natural and synthetic peptides the above mentioned authors showed that quite different groups of peptides in the encephalitogenic AI-protein are responsible for EAE development and the DH-response occurrence. EAE development depends on the presence of tryptophane in a peptide, while the DH determinant is represented by five or even less amino acids in the N-terminal area (Ala-Ser-Ala-Gen-Lys). Our own experiments with boiled peripheral myelin also confirmed the fact that positive DH-response to myelin without EAN development is possible. Rabbits sensitized with boiled myelin developed EAN in 50 percent of cases when subsequently injected with small doses of native myelin, being otherwise ineffective. This was indicative of a possibility to differentiate a sensitizing and morbidic quota.

An important evidence in favour of the decisive role of cellular immunity in the development of the immunopathologic process in the nervous system is given by the authors, who had shown the possibility of positive transfer of EAE from the affected animals to the healthy recipients of the same species by means of sensitized lymph node cells. Similar experiments with blood serum gave negative results. However, not denying the possibility of such a transfer in inbred animal lines,

one should admit that some of the experiments of this kind were not convincing enough. In addition one can not reject possibility that, when living lymph node cells are administered to recipient animal, those of the plasma cells group may continue producing antibodies. It should be emphasized that as a rule demyelination has not been observed in recipients, neurological symptoms were not infrequently absent and only inflammatory infiltration of a greater or lesser intensity and extent has been noted. Thus, Paterson (1960) who was the first to describe such a transfer of EAE in rats by means of lymph node cells, based his conclusions on the presence of inflammatory infiltrations in the walls of some venules with no demyelination features in the recipient animals. Clinical neurological symptoms were present only in 2 of 14 animals. Aström and Waksman (1962) published also the data concerning succesful passive transfer of EAE in rabbits by means of lymph node cells. However, they consider the results as positive due to the presence of limited lymphocyte accumulations within adventitia and rarely around venules of the brain in recipient animals. According to their description, on sections stained by Spielmeyer and Louez methods, demyelination was localized within spinal cord. Clear spaces around veins seen on the microphotograph depend probably on the existence of infiltration and edema at these sites. No fine-granular myelin breakdown is present. Moreover it should be pointed out that Waksman himself (1959), when discussing Chase's report, referring to the previously mentioned results, had stressed that recipients showed only typical leptomeningeal, subpial and subependymal infiltrations composed of histocytes and lymphocytes, but hardly was possible to find demyelination and inflammatory cells within cerebral tissue. Further investigations on EAE and EAN, with more extensive morphological controls are necessary to establish demyelination in the recipient animals.

The fourth argument of the authors holding the view on fundamental role of the delayed hypersensitivity in the pathogenesis of EAE and EAN consists in the lack of parallelism between formation of antibodies specific for the nerve tissue and development of the demyelinating process within nervous system. These observations are however, relevant only to complement-fixing antibodies. In great number of investigations, including our own it has been shown that these antibodies are not the factors leading to EAE or EAN development. Administration of emulsion of frog peripheral nerves to rabbits does not cause the EAN development despite of complement-fixing antibodies to myelin appearing in high titers in the blood. On the contrary, supression of these antibodies formation by means of the destruction of the posterior

hypothalamus in rabbits resulted in EAN development, while the emulsion of frog peripheral nerves or their myelin has been administered. Under such conditions the disease frequently runs a very severe course. These observations are indirectly suggesting the possible protective role of complement-fixing antibodies against EAN development. Beginning with experiments of Bornstein and Appel (1961) numerous studies demonstrated the presence of myelinotoxic substances (antibodies?) in the blood of animals affected with EAE and EAN. These substances induce typical demyelination of central and peripheral nerve fibres in tissue cultures, when the effect of hematogenic cells action has been excluded. In our own experiments on the effect of lymph node cells from the animals with EAN on the tissue culture of the dorsal root ganglia, we did not observe selective myelin breakdown. General toxic effect on all the structures of the explant, including neurons and Schwann cells was the only finding. The role of myelinotoxic antibodies in the development of the demyelinating process *in vitro* has been confirmed in a series of immunofluorescence studies (gamma globulin fixation on myelin sheaths).

Plasma cells, which are the main antibody producers are likely to play very important role in demyelination development. Already in the prodromal period of EAE and EAN they appear in great number in lymph nodes (Fig. 9) and than at 6—7 days following immunization in the blood. On the subsequent days, before appearance of neurological symptoms, they are found in those sites of the nervous system, which are preferentially involved in the disease process (Fig. 10). The appearance of these cells is not related to inflammatory monocytic and lymphocytic infiltrations. It was also possible to prove the immunoglobulin presence in plasma cells in the course of EAN, when immunofluorescent technique have been applied. It should be emphasized that already in early stages of EAN one may observe this fluorescent gamma-globulins in the root ganglia, deposited in the walls of venules and around them before first appearance of both myelin destruction and inflammatory infiltration.

The scope of the present paper does not permit us to discuss the very important and extensive question concerning the role of delayed hypersensitivity in the development of the demyelinating diseases of the nervous system. Like many other authors, we assume delayed hypersensitivity to sensitize animal organism and to increase the permeability of the blood vessels, thus providing the possibility for myelinotoxic antibodies to penetrate from the blood vessels into the tissue. In experiments carried out in our Laboratory it has been demonstrated that

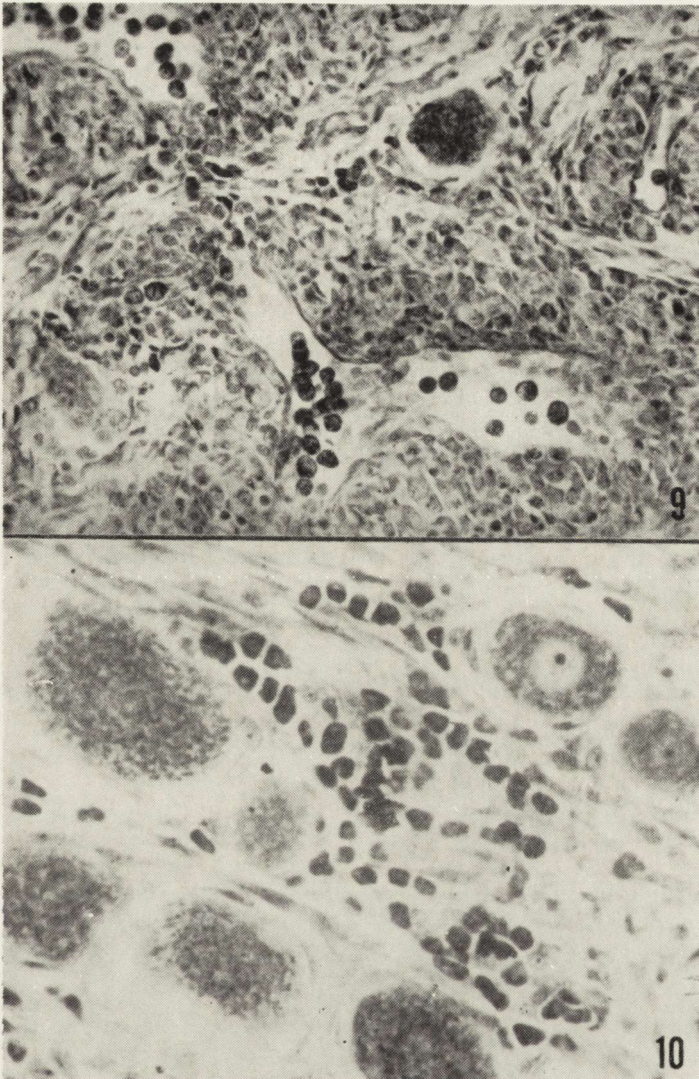


Fig. 9. Plasmoblasts and plasmocytes in the lumina of blood vessels. Nissl. $\times 300$.

Ryc. 9. Plazmoblasty i plazmocyty w świetle naczyń. Nissl. Pow. $300 \times$.

Fig. 10. Plasmoblasts and plasmocytes in the endoneurium of a spinal ganglion. Nissl. $\times 600$.

Ryc. 10. Plazmoblasty i plazmocyty w śródnerwiu zwoju rdzeniowego. Nissl. Pow. $600 \times$.

in EAN the blood vessels permeability was the highest in the posterior root ganglia, being the site of the most severe morphological changes.

The data presented in this paper permit us to suppose that serum myelinotoxic antibodies are of uttermost importance for the develop-

ment of demyelinating diseases of the nervous system, while the DH contributes to their penetration from the blood into the nervous tissue. It should be noted that judging from the literature data, the conclusions we have made for the autoimmune diseases of the nervous system refer also to other immunopathologic processes such as experimental allergic orchitis and thyroiditis (Brown et al., 1967; Toullet, Voisin, 1969; Nakamura, Weigle, 1969; Anderson, Rose, 1971).

J. M. Żabotyński, H. W. Konowałow, L. A. Fiodorowa, E. I. Czumasow

NIKTÓRE PODSTAWOWE PROBLEMY MORFO- I PATOGENEZY
DEMIELINIZACYJNYCH CHOROÓB UKŁADU NERWOWEGO

Streszczenie

W pracy omawiano trudności interpretacyjne na jakie napotyka się jeśli demielinizacyjne choroby układu nerwowego traktowane są jako wynik tylko jednej reakcji — nadwrażliwości typu późnego. Przedstawione dane wykazują, że proces demielinizacyjny i zapalny w doświadczalnym alergicznym zapaleniu mózgu i rdzenia (EAE) oraz w doświadczalnym alergicznym zapaleniu nerwów (EAN) nie zawsze pokrywają się topograficznie i nie przebiegają w tym samym czasie. Stwierdzono, że przeciwciała mielinotoksyczne pojawiają się w EAN u zwierząt przeważnie przed wystąpieniem objawów neurologicznych. Uszkodzające właściwości tych przeciwciał *in vitro* potwierdzono w badaniach immunofluorescencyjnych z wiązaniem gammaglobulin na osłonkach mielinowych chorych zwierząt. Wykazano, że istnieje różnica między uczulającą i patogenetyczną aktywnością antygeny powodującego zapalenie nerwów. Zamieszczone w pracy dane pozwalają sądzić, że do wywołania choroby demielinizacyjnej układu nerwowego niezbędne są surowicze przeciwciała mielinotoksyczne. W warunkach *in vivo* są one w zasadzie produkowane miejscowo. Nadwrażliwość typu późnego sprzyja przenikaniu do tkanki nerwowej immunocytów lub produkowanych przez nie swoistych przeciwciał.

Ю. М. Жаботинский, Г. В. Коновалов, Л. А. Фёфорова, Е. И. Чумасов

НЕКОТОРЫЕ АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ MORFO- И ПАТОГЕНЕЗА
ДЕМИЕЛИНИЗИРУЮЩИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Резюме

В работе обсуждаются затруднения, возникающие при объяснении демиелинизирующих заболеваний нервной системы как результата одной гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Представленные данные показывают, что демиелинизирующий и воспалительный процессы при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите (ЭАЭ) и полиневрите (ЭАП) не всегда совпадают топографически и во времени. Обнаружено, что миелинотоксические антитела образуются при ЭАП у животных в большинстве случаев до появления неврологических симптомов болезни; повреждающие свойства этих антител *in vitro* подтверждены соответствующими иммунолюминесцентными исследованиями с фиксацией иммуноглобулинов на миелиновых оболочках. Показана возмож-

ность дифференцировки между сенсibiliзирующей и болезнетворной активностями невритогенного материала. Приведенные материалы дают основание полагать, что для развития демиелинизирующих заболеваний нервной системы необходимы сывороточные миелинотоксические антитела. В условиях целого организма они в основном образуются местно; ГЗТ — способствует поступлению из крови в нервную ткань иммуноцитов или образуемых ими специфических антител.

REFERENCES

1. Allt G., Evans E., Evans D.: The vulnerability of immature rabbits to allergic neuritis: a light and electron microscope study. *Brain Res.* 1971, 29, 271—291.
2. Anderson Ch., Rose N.: Induction of thyreoiditis in the rabbit by intravenous injection of papain-treated rabbit thyreoglobulin. *J. Immunol.* 1971, 107, 1341—1348.
3. Aström K., Waksman B.: The passive transfer of experimental allergic encephalomyelitis and neuritis with living lymphoid cells. *J. Path. Bact.* 1962, 83, 89—106.
4. Bornstein M., Appel S.: The application of tissue culture to the study of experimental allergic encephalomyelitis. I. Pattern of demyelination. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1961, 20, 141—157.
5. Brown P., Glynn L., Holborow E.: The dual necessity for delayed hypersensitivity and circulating antibody in experimental allergic orchitis in guinea pigs. *Immunology* 1967, 13, 307—314.
6. Burnett P., Eylar E.: Allergic encephalomyelitis. Oxidation and cleavage of the single tryptophan residue of the A1 protein from bovine and human myelin. *J. biol. Chem.* 1971, 246, 3425—3430.
7. Eylar E., Cacam J., Jackson J., West all F., Robinson A.: Experimental allergic encephalomyelitis: synthesis of disease-inducing site of the basic protein. *Science* 1970, 168, 3425—3430.
8. Ferraro A.: Pathology of demyelinating diseases as an allergic reaction in the brain. *Arch. Neurol. Psychiat.* 1944, 52, 443—483.
9. Field E., Raine C.: Experimental allergic encephalomyelitis: an electron microscopic study. *Am. J. Path.* 1966, 49, 537—553.
10. Hashim G., Stilling F.: Allergic encephalomyelitis: characterization of the determinants for delayed type hypersensitivity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1973, 50, 589—596.
11. Howell J., Kidd M.: An electron microscopical comparison of primary and secondary demyelination in the rat central nervous system. *Virchow Arch. Abt. Z. Zellpath.* 1969, 2, 187—202.
12. Lampert P.: Mechanism of demyelination in experimental allergic neuritis. *Electron microscopic studies. Lab. Invest.* 1969, 20, 127—138.
13. Lampert P.: Electron microscopic studies on ordinary and hyperacute experimental allergic encephalomyelitis. *Acta neuropath.* 1967, 9, 99—126.
14. Nakamura R., Weigle W.: Transfer of experimental autoimmune thyroiditis by serum from thyroidectomized donors. *J. exp. Med.* 1969, 130, 263—285.
15. Paterson P.: Transfer of allergic encephalomyelitis in rats by means of lymph node cells. *J. exp. Med.* 1960, 111, 119—136.
16. Paterson P.: Experimental allergic encephalomyelitis and autoimmune disease. *Adv. Immunol.* 1966, 5, 131—208.

17. Pette E., Pette H.: Some remarks on the pathogenesis of demyelinating diseases. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1963, 22, 528—532.
18. Spiter L., Müller C., Fudenberg H., Eylar E.: Experimental allergic encephalitis. Dissociation of cellular immunity to brain protein and disease production. *J. exp. Med.* 1972, 136, 156—174.
19. Toullet T., Voisin G.: Réactions d'hypersensibilité et anticorps sériques envers les auto-antigènes de spermatozoïdes relations avec le mécanisme de l'orchite aspermatogénétique auto-immune. *Ann. Inst. Pasteur* 1969, 116, 579—601.
20. Zhabotinsky J., Khai L.: Patho-morphological changes in the nervous system of rabbits with experimental allergic polyneuritis. *Arch. Path. (USSR)* 1964, 5, 19—25.
21. Zhabotinsky J., Manina A., Komissarchik J.: Submicroscopic changes of myelin in experimental allergic polyneuritis in the process of demyelination. *Arch. Path. (USSR)* 1968, 6, 3—7.
22. Zhabotinsky J., Manina A.: The phagocytic activity of the Schwann cells. *Citology (USSR)* 1971, 5, 600—608.
23. Zhabotinsky J., Ioffe V.: Experimental allergic demyelinating diseases of nervous system. Leningrad. *Medizina*, 1975.
24. Waksman B.: Experimental allergic encephalomyelitis and the „autoallergic” diseases. *Int. Arch. Allerg.* 1959, 14, 1—87.
25. Wiśniewski H., Prineas J., Raine C.: An ultrastructural study of experimental demyelination and remyelination. I. Acute experimental allergic encephalomyelitis in the peripheral nervous system. *Lab. Invest.* 1969, 21, 105—112.
26. Wiśniewski H., Brostoff S., Carter H., Eylar E.: Recurrent experimental allergic polyganglioradiculoneuritis. *Arch. Neurol.* 1974, 30, 347—358.

Authors' address: Institute of Experimental Medicine Academy of Medical Sciences. Prosp. Kirowski 69/71, Leningrad P-22, USSR

HENRYK CHMIELEWSKI, KAZIMIERZ MĄDRY, HALINA CUKROWSKA,
ZDZISŁAW MACIEJEK

ZABURZENIA RÓWNOWAGI KWASOWO-ZASADOWEJ KRWI I PŁYNU MÓZGOWO-RDZENIOWEGO U CHORYCH ZE STWARDNIENIEM ROZSIANYM

Klinika Neurologiczna Instytutu Narządów Zmysłów WAM

Kierownik: doc. dr habil. med. H. Chmielewski

Zakład Analityki Lekarskiej Instytutu Chorób Wewnętrznych WAM

Kierownik: dr med. K. Mądry

Zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej w krwi i płynie mózgo-rdzeniowym w schorzeniach neurologicznych stanowią stały przedmiot zainteresowania klinicystów. Dotyczy to zarówno stężenia jonów wodorowych jak i innych badanych parametrów (Kaasik i wsp., 1971; Zupping i wsp., 1971; Mrówka i wsp., 1973a, b i inni). Z dotychczasowych badań wynika, że pH płynu mózgowo-rdzeniowego zależy prawie całkowicie od stosunku ciśnienia parcjalnego dwutlenku węgla do wodorowęglanów ($p\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$) (Posner i wsp., 1965). Cestan i wsp. (cyt. za Posner i wsp., 1965) stwierdzili, że pH krwi i płynu mózgowo-rdzeniowego często zmieniają się w przeciwstawnych kierunkach, ponieważ CO_2 dyfunduje łatwo z krwi do płynu mózgowo-rdzeniowego w przeciwieństwie do wodorowęglanów. Winterstein (1956) w badaniach doświadczalnych udowodnił, że podczas dożylnego wlewu roztworu chlorku amonu występuje wzrost pH płynu mózgowo-rdzeniowego i obniżenie stężenia jonów wodorowych w krwi tętniczej. Chociaż jest oczywiste, że pH krwi i płynu mózgowo-rdzeniowego mogą być względnie niezależne, istnieje mało informacji w jakim stopniu zmiany stężenia jonów wodorowych odzwierciedlają odchylenia w równowadze kwasowo-zasadowej mózgu.

Dotychczasowe badania równowagi kwasowo-zasadowej w chorobach ośrodkowego układu nerwowego dotyczyły przede wszystkim udarów, guzów i urazów czaszkowo-mózgowych (Tschirigi, 1960; Shalit i wsp., 1967; Bielokurow, 1969; Kaasik i wsp., 1971; Mrówka i wsp., 1973b). Stwierdzono obniżenie stężenia standardowych dwuwęglanów przy

wzroście ciśnienia parcjalnego dwutlenku węgla i jonów wodorowych w płynie mózgowo-rdzeniowym. Powoduje to nasilenie zaburzeń w krążeniu mózgowym oraz wtórnie metabolizmu mózgu.

Celem pracy jest zbadanie czy proces wielogniskowej demielinizacji w ośrodkowym układzie nerwowym powoduje zaburzenia w równowadze kwasowo-zasadowej w krwi i płynie mózgowo-rdzeniowym.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono u 20 chorych w wieku 21—40 lat (14 kobiet i 6 mężczyzn) ze stwardnieniem rozsianym w różnym okresie choroby. Ze względu na znaczną rozbieżność wyników prawidłowych wartości wskaźników równowagi kwasowo-zasadowej zarówno w krwi włośniczkowej jak i w płynie mózgowo-rdzeniowym, wykonano badania kontrolne w grupie 20 chorych z zespołem bólów krzyżowo-lędźwiowych. Płyn mózgowo-rdzeniowy i krew włośniczkową pobierano do mikrokapilar bez dostępu powietrza, przed zastosowaniem leczenia. Badania wykonywano aparatem Mikroastrup typu BMS-2 formy Radiometer wg metody Sigaard-Andersen i Engel (1960). Uwzględniano parametry równowagi kwasowo-zasadowej: stężenie jonów wodorowych, ciśnienie parcjalne dwutlenku węgla i tlenu we krwi włośniczkowej oraz w płynie mózgowo-rdzeniowym pobranych anaerobowo ($p\text{CO}_2$ i $p\text{O}_2$), aktualne stężenie dwuwęglanów, stężenie dwuwęglanów standardowych, zasady buforowe, nadmiar lub niedobór zasad. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej testem t — Studenta.

WYNIKI

Wartości średnie parametrów równowagi kwasowo-zasadowej krwi włośniczkowej i płynu mózgowo-rdzeniowego przedstawiono w tabelach 1 i 2. U chorych ze stwardnieniem rozsianym w porównaniu z grupą kontrolną stwierdzono znamienne statystycznie wzrost pH krwi włośniczkowej ($p < 0,05$). Obserwowano również wzrost ciśnienia parcjalnego tlenu i obniżenie stężenia dwutlenku węgla we krwi włośniczkowej, nieznamienny statystycznie. Odchylenia wartości pozostałych parametrów równowagi kwasowo-zasadowej były niewielkie i nie przekraczały błędu pomiarów.

W płynie mózgowo-rdzeniowym w porównaniu z grupą kontrolną stwierdzono nieznaczące obniżenie stężenia jonów wodorowych ($p > 0,1$), ciśnienia parcjalnego dwutlenku węgla i zasobu zasad ($p > 0,3$) oraz wzrost ciśnienia parcjalnego tlenu ($p > 0,3$). Wartości pozostałych parametrów były bardzo zbliżone.

Tabela 1. Równowaga kwasowo-zasadowa krwi włośniczkowej u chorych ze stwardnieniem rozsianym i grupie kontrolnej

Table 1. Acid-base equilibrium of capillary blood in patients with multiple sclerosis and in the control group

Rodzaj przypadków Type of cases	pH	p CO ₂ mm Hg	BB mEq/l	SB mEq/l	AB mEq/l	p O ₂ mm sl.Hg	BE mEq/l
Stwardnienie rozsiane	7,38	34,86	42,61	21,07	20,04	76,71	-3,91
Multiple sclerosis	±0,03	±4,81	±4,03	±2,07	±2,55	±6,66	±2,59
Grupa kontrolna Control group	7,34	37,37	43,52	20,48	20,14	71,25	-4,67
	±0,03	±2,80	±3,43	±0,98	±1,54	±8,75	±1,12
Porównanie statystyczne Statistical significance	t 2,18 p < 0,05	1,21 > 0,3	0,47 > 0,6	0,68 > 0,5	0,09 > 0,9	1,37 > 0,1	0,71 > 0,4

Oznaczenia:

Symbols:

pH — pH krwi pobranej bez dostępu powietrza
pH of blood collected without air access

p CO₂ — ciśnienie parcjalne CO₂ w mm Hg
CO₂ partial pressure in mm Hg

p O₂ — ciśnienie parcjalne tlenu w mm Hg
oxygen partial pressure in mm Hg

BB — zasób zasad
base budget

SB — stężenie standardowych dwuwęglanów
concentration of standard bicarbonates in mEq/l

AB — stężenie aktualne dwuwęglanów
— actual concentration of bicarbonates in mEq/l

BE — nadmiar lub niedobór zasad
excess or deficiency of bases in mEq/l

OMÓWIENIE

Z przeprowadzonych badań wynika, że w stwardnieniu rozsianym występują miernie nasilone zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej krwi i płynu mózgowo-rdzeniowego, przy czym kierunek zmian we krwi i płynie mózgowo-rdzeniowym jest podobny.

Dotyczą one obniżenia stężenia jonów wodorowych i ciśnienia parcjalnego dwutlenku węgla oraz wzrostu ciśnienia parcjalnego tlenu. Zupping i wsp. (1971) obserwowali podobne zmiany, lecz o większym nasileniu w przypadkach udarów mózgu. Towarzyszył im ponadto wzrost stężenia mleczanów i pirogronianów w płynie mózgowo-rdzenio-

Tabela 2. Równowaga kwasowo-zasadowa płynu mózgowo-rdzeniowego u chorych ze stwardnieniem rozsianym i grupie kontrolnej

Table 2. Acid-base equilibrium of cerebrospinal fluid in patients with multiple sclerosis and in the control group

Rodzaj przypadków Type of cases	pH	p CO ₂ mm Hg	BB mEq/l	SB mEq/l	AB mEq/l	p O ₂ mm Hg	BE mEq/l
Stwardnienie rozsiane Multiple sclerosis	7,28 ±0,03	41,93 ±8,14	34,27 ±2,55	18,9 ±2,37	18,94 ±2,81	57,29 ±3,33	-6,01 ±2,88
Grupa kontrolna Control group	7,25 ±0,03	46,12 ±7,87	37,0 ±6,96	19,24 ±2,55	19,96 ±4,30	54,75 ±5,95	-6,31 ±3,46
Porównanie statystyczne Statistical comparison	1,613 >0,1	1,00 >0,3	1,03 >0,3	0,26 >0,7	0,54 >0,5	1,04 >0,3	0,18 >0,8

Oznaczenia:

Symbols:

pH — pH płynu mózgowo-rdzeniowego pobranego bez dostępu powietrza
pH of cerebro-spinal fluid collected without air access

Inne oznaczenia jak w tabeli 1.

Other explanations as in Table 1.

wym (Kaasik i wsp., 1971). Odchylenia powyższe wiązano z hiperwentylacją będącą korzystnym wskaźnikiem dla rokowania, ponieważ normalizuje przemianę komórkową w ogniskowym przekrwieniu i obrzęku mózgu (Zupping i wsp., 1971).

U ludzi zdrowych oraz chorych z wyrównanym krążeniem, wartości p CO₂ w płynie mózgowo-rdzeniowym są w znacznej mierze funkcją przemiany tkanki nerwowej, natomiast w warunkach patologicznych w większym stopniu niż w normalnych warunkach krążenie mózgowe podlega wpływom czynników zewnętrznych np. hiperwentylacji (Mrówka i wsp., 1973). Zagadnieniem tym zajmowali się również Bradley i Semple (1962), którzy stwierdzili, że średnie wartości parametrów równowagi kwasowo-zasadowej płynu mózgowo-rdzeniowego z nakłucia lędźwiowego i zbiornika podpotylicznego były identyczne, nawet po dwugodzinnym podawaniu dożylnie roztworu dwuwęglanu sodu. Natomiast badania Fishera i Christiansona (1963) wykazały, że podczas ostrej hiperwentylacji stężenie jonów wodorowych i ciśnienia parcjalne dwutlenku węgla płynu zbiornikowego zmieniały się znacznie, podczas gdy wartości płynu mózgowo-rdzeniowego z nakłucia lędźwiowego pozostawały prawie stałe. Z obserwacji tych wynika, że stężenie jonów wodo-

rowych płynu mózgowo-rdzeniowego z nakłucia lędźwiowego ulega mniejszym zmianom.

Istnieje również mało informacji w jakim stopniu zmiany pH płynu mózgowo-rdzeniowego odzwierciedlają zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej tkanki mózgowej. Dawson (1956) uważa, że skład płynu mózgowo-rdzeniowego jest taki sam jak płynu pozakomórkowego mózgu, a więc wartość pomiaru równowagi kwasowo-zasadowej płynu mózgowo-rdzeniowego powinna odpowiadać pH płynu pozakomórkowego. Tschirigi (1960) udowodnił, że pH powierzchni mózgu i płynu mózgowo-rdzeniowego są zbliżone. Stwierdzone w naszych badaniach obniżenie zasad buforowych oraz ciśnienia parcjalnego dwutlenku węgla przemawia za ewentualnym zmniejszeniem przemiany w mózgu. Założenia te znajdują uzasadnienie w wynikach badań Shalit'a i wsp. (1967), którzy stwierdzili, że w przypadku uszkodzenia górnej części rdzenia przedłużonego, mostu i śródmózgowia zmniejsza się przepływ mózgowy oraz metabolizm mózgu, a także zmniejsza się bądź znika zależność krążenia mózgowego od ciśnienia parcjalnego dwutlenku węgla.

Ujemną stroną własnych obserwacji stanowi niewielka liczba pacjentów ze stwardnieniem rozsianym oraz brak badań uwzględniających różne okresy choroby.

X. Хмелевски, К. Мондры, Х. Цукровска, З. Мацейек

НАРУШЕНИЯ КИСЛОТНО-ЩЕЛОЧНОГО РАВНОВЕСИЯ КРОВИ И СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ У БОЛЬНЫХ РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ

Резюме

Исследования проведены на 20 больных рассеянным склерозом в разные периоды болезни и на 20 пациентах с синдромом поясничнокрестцовых болей (контрольная группа). Спинномозговую жидкость и капиллярную кровь брали микрокапиллярами без доступа воздуха. Исследования выполняли при помощи аппарата Микроаструп типа ВМС-2 (Радиометр). У больных рассеянным склерозом по сравнению с контрольной группой установлено повышение концентрации ионов водорода в капиллярной крови (рН), снижение парциального давления двуокиси углерода и повышение парциального давления кислорода (в мм рт. ст.) в спинномозговой жидкости. Одновременно наблюдали незначительное снижение буферных щелочей в спинномозговой жидкости по отношению к контрольным исследованиям. Полученные результаты по-видимому свидетельствуют о понижении метаболизма мозга. Небольшое число исследований не позволяет сравнить кислотно-щелочное равновесие крови и спинномозговой жидкости у больных рассеянным склерозом в начальный период болезни и во время рецидивов.

H. Chmielewski, K. Mądry, H. Cukrowska, Z. Maciejek

ACID-BASE EQUILIBRIUM DISTURBANCES OF BLOOD
AND CEREBROSPINAL FLUID IN PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS

Summary

The studies were carried out on 20 patients suffering from multiple sclerosis and on 20 others with lumbosacral pain syndrome (control group). Cerebrospinal fluid and capillary blood were collected in microtubes without access of air. The studies were made on Microastrup BMS-2 (Radiometer).

In comparison with the control group the multiple sclerosis patients showed an increase of hydrogen ion concentration in capillary blood (pH), a decrease of carbon dioxide tension and an increase of oxygen tension (in mm of Hg) in cerebrospinal fluid and a slight decrease of buffer basicity in cerebrospinal fluid. These results are indicative of decreased cerebral metabolism. The limited number of performed assays do not permit to compare the acid-base equilibrium of blood and cerebrospinal fluid in patients with multiple sclerosis in the initial stages of the disease and during recurrences.

PISMIENICTWO

1. Biełokurow J. N.: Naprężenie kisłoroda w tkani mózga pri giemorragiczeskom insulcie i jego izmienienie pri kisłorodnoj terapii. Wopr. Niejrochir., 1969, 2, 39—43.
2. Bradley R. D., Semple S. J. G.: Comparison of certain acid-base characteristics of arterial blood, jugular venous blood and cerebrospinal fluid in man and effect on them of some acute and chronic acid-base disturbances. J. Physiol., 1962, 160, 381—391.
3. Dawson H., Physiology of ocular and cerebrospinal fluids. Ed.: J. A. Churchill Ltd. London, 1956.
4. Fisher V. S., Christianson L. C.: Cerebrospinal fluid acid-base balance during a changing ventilatory state in man. Appl. Physiol., 1963, 18, 712—718.
5. Kaasik E. A., Raudam E.: Cerebrospinal fluid metabolics. Acidosis and brain oxygen supply. Arch. Neurol., 1971, 25, 33—38.
6. Mrówka R., Wencel T., Żołnierczyk Z.: Ocena krążenia mózgowego na podstawie próby hiperwentylacyjnej. Neurol. Neurochir. Pol., 1973a, 7, 383—386.
7. Mrówka R., Wencel T., Żołnierczyk Z.: Ciśnienie cząstkowe tlenu i dwutlenku węgla w płynie mózgowo-rdzeniowym i krwi tętniczej w chorobach nowotworowych i naczyniowych mózgu oraz obrażeniach czaszkowo-mózgowych. Neurol. Neurochir. Pol. 1973b, 7, 825—828.
8. Posner J. E., Swanson A. G., Plum F.: Acid-base balance in cerebrospinal fluid. Arch. Neurol., 1965, 12, 479—496.
9. Shalit M. N., Reinmuth O. M., Shimojyo S., Scheinberg P.: Carbon dioxide and cerebral circulatory control. III. The effect of brain stem lesions. Arch. Neurol., 1967, 12, 342—353.

10. Siggaard-Andersen O., Engel K.: A new acid-base monogram. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1960, 12, 177—186.
11. Tschirigi R. D.: Chemical environment of central nervous system. W: *Handbook of physiology*. Washington D. C.: American Physiology Society, vol. 3, section 1, 1960.
12. Winterstein H.: Clinical control of pulmonary ventilation. *New Eng. J. Med.*, 1956, 255, 331—336.
13. Zupping R., Kaasik A. E., Raudam E.: Cerebrospinal fluid metabolic acidosis and brain oxygen supply. *Arch. Neurol.*, 1971, 25, 33—38.

Adres autora: Klinika Neurologiczna Instytutu Narządów Zmysłów WAM, 90-549, Łódź, ul. Żeromskiego 113

CATHERINE MAJTÉNYI

A FEMALE CASE OF MARCHIAFAVA-BIGNAMI SYNDROME

National Institute for Nervous and Mental Diseases, Budapest, Hungary
Director: Prof. dr St. Tariska

In the last years the number of alcoholic encephalopathies increased remarkably all over the world. This also reflected on the number of cases of various types of alcoholic encephalopathies, collected in our laboratory. In 1967 Tariska described two cases of alcoholic Marchiafava-Bignami syndrome, since then the number of our cases increased up to nine. Five of them were observed during two last years. In one case Marchiafava-Bignami syndrome occurred in a female patient. Rarity of female cases of the syndrome inclined us to present it.

CASE REPORT

A 59 year old woman was admitted to the hospital in confused condition. According to the anamnesis she had only finished 4 classes of elementary school. She was married twice, but never had children. In her youth she was treated for lues. She had run the household well until recently. Living together with an alcoholic man for the last half year she had drank much of alcohol. The data concerning the quality of the alcohol are uncertain. According to her sister's opinion, she had consumed wine, beer and brandy indiscriminantly for years. Six weeks prior to her death she became unwell on the street and fell. Since then she lied in bed and was unable to speak, to eat and to drink. She had been shouting in an unarticulated way.

At the admission to the hospital the patient was agitated, defending herself against any examinations and shouting miningless words or their fragments. After several days her restlessness decreased, but she remained without contact ability, her speaking being reduced to one or two syllables, except her name, which she pronounced properly. She was in general bad condition, and looked much older for her age. Liver was enlarged. Besides transient central paralysis of the facial nerve, no motor symptoms were present. Pyramidal signs were absent. In later

period she developed rapidly progressing difficulty in swallowing, with preserved pharyngeal reflexes; phenomenon being considered as a paralysis of pseudobulbar type. She had to be nourished artificially until the end of her life. Severe bronchitis, present from the beginning of her illness went over to pneumonia. Blood pressure was 100/70 mm Hg. Stupor, then coma appeared. The patient died 4 weeks after admission to the hospital.

Laboratory data: Urine urobilinogen elevated. Serum bilirubin content — 1.9 mg%. Serum potassium level decreased. Cerebro-spinal fluid normal. In electrocardiogram signs of ischemia. Repeated electroencephalography showed severe and progressing alterations in bioelectric function, localized rather in diencephalic than cortical regions.

General autopsy revealed suppurative bronchitis and bronchiolitis with bronchopneumonia in both inferior lobes and emphysema of lungs. Liver showed fatty degeneration. Minimal general arteriosclerosis was found. Arteries on the basis of the brain were tortuous but free of plaques. The brain was atrophic, however, bilateral herniation of unci and tonsils, due to brain swelling, was present. On the cut surfaces central cerebral white matter was grayish in colour. The oral part of corpus callosum, including genu was wide and normal in appearance. Splenium corporis callosi, although normal in size, contained in central zone an area of reduced consistency, brain tissue being yellow in colour and partially liquefied (Fig. 1). This softened focus did not reach the ven-

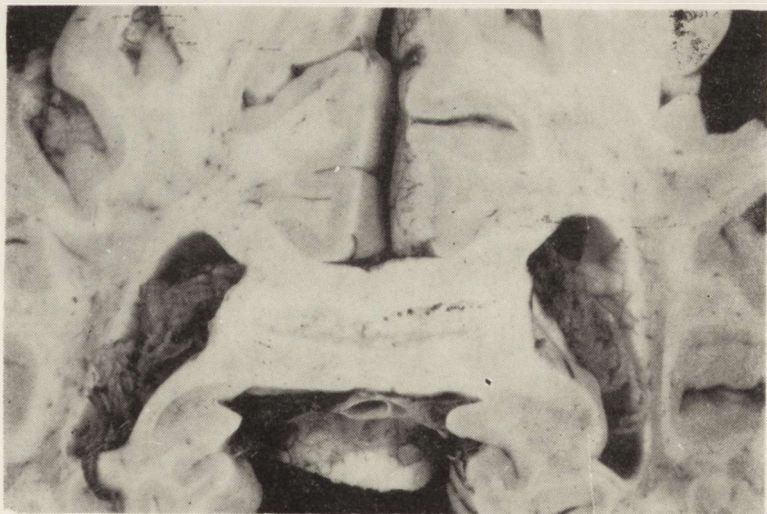


Fig. 1. Splenium corporis callosi with central demyelination. Natural size.
Ryc. 1. Trzon spoidła wielkiego z ogniskiem centralnej demielinizacji. Wielkość naturalna.

tricular walls; it ceased bilaterally half a centimeter medially from the ependyma.

The above mentioned alteration of corpus callosum was histologically identified as elongated demyelination focus spreading parallelly along callosal fibres, with remarkably irregular margins (Fig. 2). On the ba-

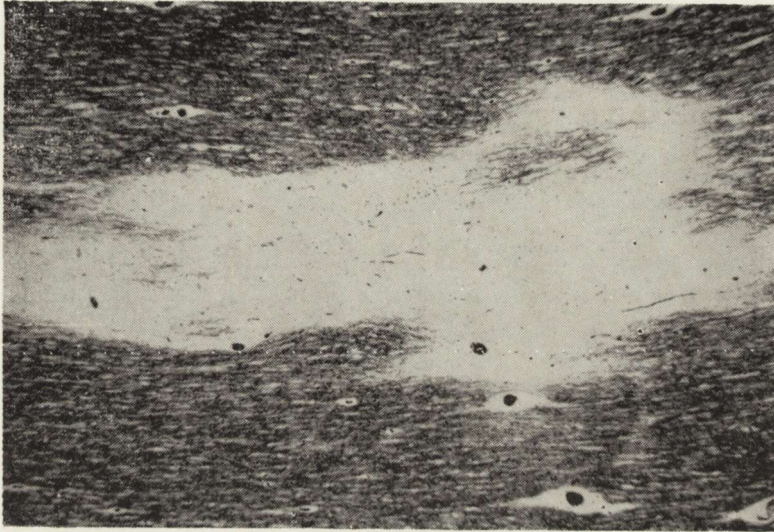


Fig. 2. Irregular demyelination involving central part of the callosal splenium. Woelcke. $\times 25$.

Ryc. 2. Nieregularne ognisko demielinizacji zajmujące środkową część trzonu spoidła wielkiego. Woelcke. Pow. 25 \times .

sal side the above described focus contacted another area of demyelination, this being narrower and smaller than the former one. Central area of demyelination focus contained liquid material which stained pink with Sudan III. Maltese cross birefringency was seen in polarized light. The margins of the demyelinated focus were crowded with gitter cells (Fig. 3A), the most numerous around capillary blood vessels. Swollen oligodendroglial nuclei and few spindle-shaped cells were also seen in the demyelination margins (Fig. 3B). Binuclear glial cells were common. Swollen protoplasmic astrocytes were present in the vicinity of demyelination (Fig. 4A).

The destruction of myelin was complete; from the margin of focus swollen myelin fibres were extended to the destroyed central zone (Fig. 4B). In the middle of liquefied area the nerve fibres were apparently destroyed. However, in the oral part of the focus some fibres were well visualized by silver impregnation. Swelling of the preserved nerve fibres was a common feature.

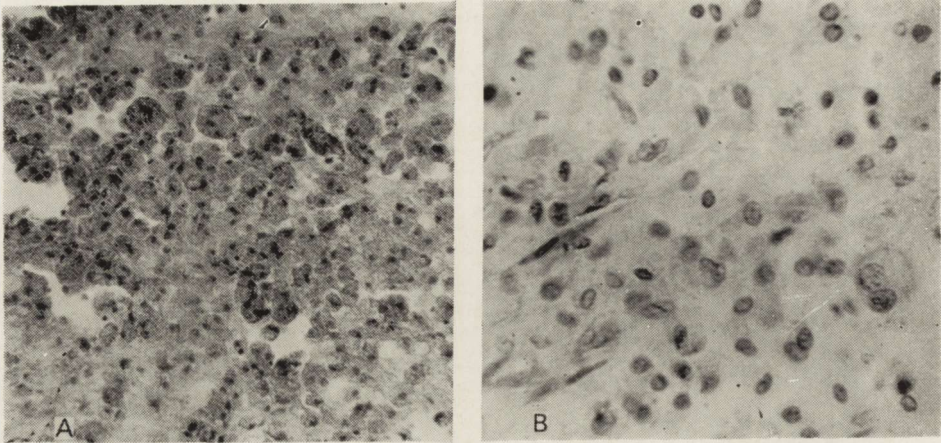


Fig. 3. Margins of demyelination focus. A. Numerous gitter cells filled with Sudan III positive material. Sudan III + HE. $\times 157$. B. Area with spindle-shaped cells, Nissl. $\times 25$.

Ryc. 3. Obrzeże ogniska demielinizacji. A. Liczne komórki żerne wypełnione materiałem sudanofilnym. Sudan III z HE. Pow. 157 \times . B. Pole z komórkami o wrzecionowatym kształcie. Nissl. Pow. 25 \times .

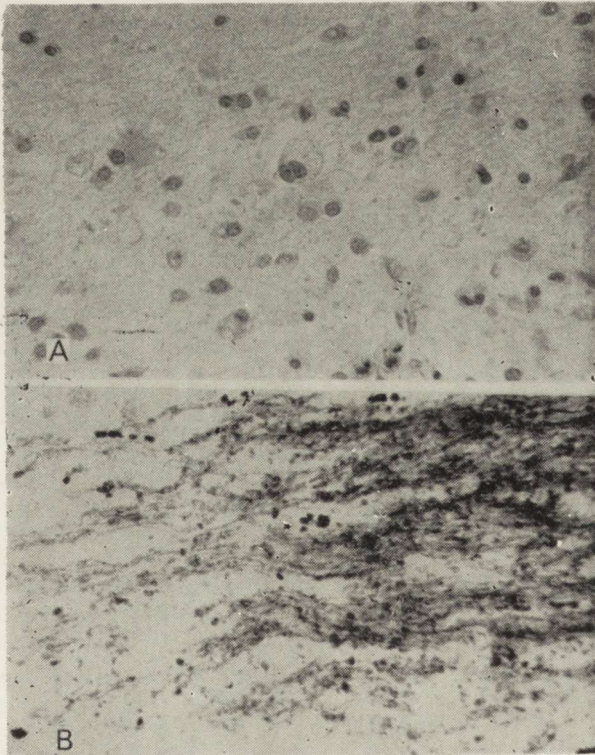


Fig. 4. Margins of demyelination focus. A. Protoplasmic astrocytes in the vicinity of the focus. Nissl. $\times 157$. B. Swollen and fragmented myelin fibres in the periphery of the focus. Woelcke $\times 63$.

Ryc. 4. Obrzeże ogniska demielinizacji. A. Protoplazmatyczne astrocyty w pobliżu ogniska. Nissl. Pow. 157 \times . B. Obrzmienie i fragmentacja włókien mielinowych na obwodzie ogniska. Woelcke. Pow. 63 \times .

In the white matter of the right gyrus cinguli, in the immediate vicinity of the callosal splenium there was a small focus of demyelination. Its marginal zone revealed features of very active myelin breakdown and removal, while its central area was totally devoid of myelin. There was demyelination of the central fibres in the optic nerves (Fig. 5). The columnae fornicis were pale in myelin staining, but no

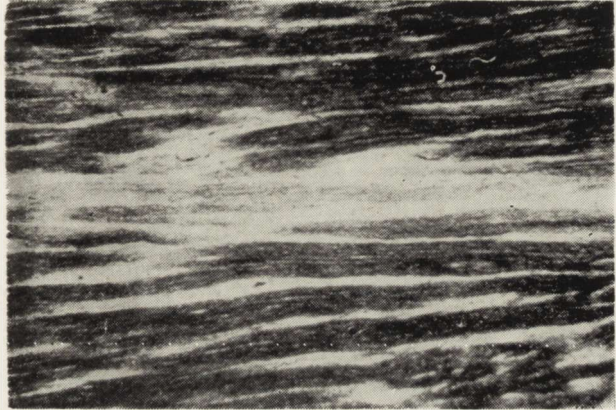


Fig. 5. Demyelinated fibres in the centre of optic nerve. Woelcke. $\times 25$.

Ryc. 5. Zdemielinizowane włókna w części centralnej nerwu wzrokowego. Woelcke. Pow. 25 \times .

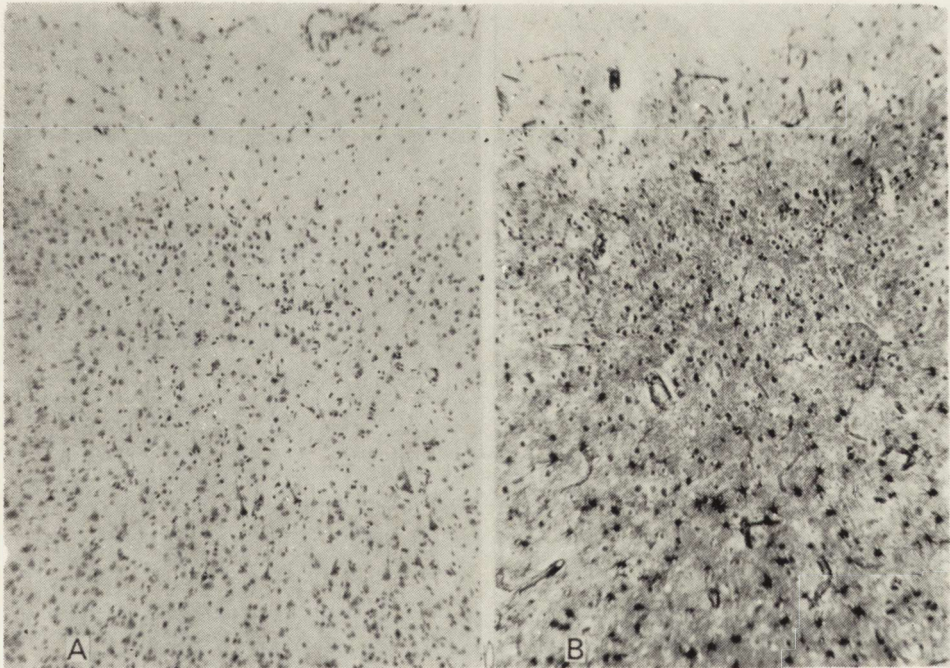


Fig. 6. Frontal cortex. A. Morel's type of neuronal loss. Nissl. $\times 63$. B. Increased number of astrocytes. Cajal-Globus. $\times 63$.

Ryc. 6. Kora czołowa. A. Zanik neuronów typu Morela. Nissl. Pow. 63 \times . B. Zwiększona liczba astrocytów. Cajal-Globus. Pow. 63 \times .

focal lesions were present in here. The anterior commissure remained intact.

Generalized cortical nerve cells loss was present, this being the most severe in frontal lobes and accompanied by glial cell proliferation and increased fibrogliosis. The distribution of cortical abnormalities was that of Morel's type (Fig. 6 A, B).

In addition, small angioma has been found in the head of the right caudate nucleus.

DISCUSSION

Castaigne et al. (1971) gave full account of the clinical and neuropathological characteristics of the disease, basing on 10 their own cases and 105 cases reviewed from the literature. They distinguished two types of the clinical course of the disease — one more acute with a sudden onset, and the chronic form lasting for years. The two forms of illness differ from each other not only in their clinical symptomatology, but also in characteristics of histopathological alterations.

The case presented above revealed acute clinical symptoms which corresponded to the acute myelin destruction in the splenial part of corpus callosum, leading to its partial necrosis with cavity formation.

The fact that the patient was an alcoholic woman makes the case even more interesting. Till now two female cases of Marchiafava-Bignami syndrome were reported, both of them in French literature. The first one was published by Schwob et al. in 1953, the second by Delay et al. in 1956. Castaigne et al. (1971) mentioned the third female patient (their case No 7), but they did not mention any data referring to her alcoholism. Therefore our female patient with Marchiafava-Bignami syndrome should be considered as the third one reported in the literature and the first one in Hungary.

C. Majtényi

ZESPÓŁ MARCHIAFAVA-BIGNAMI U KOBIETY

Streszczenie

Kobiece przypadki zespołu Marchiafava-Bignami są rzadkie. W piśmiennictwie znane są tylko dwa opisy zespołu Marchiafava-Bignami u kobiet alkoholiczek. Przedstawiony przez autorkę przypadek jest trzecim w piśmiennictwie, a pierwszym zweryfikowanym przypadkiem na Węgrzech.

Przedstawiono dokładny obraz i przebieg kliniczny oraz zmiany neuropatologiczne przypadku, który reprezentował ostrą postać choroby wg klasyfikacji Castaigne i wsp. (1971).

Ц. Майтеньи

СИНДРОМ МАРКИАФАВЫ-БИНЬЯМИ У ЖЕНЩИНЫ

Резюме

Случаи синдрома Маркиафавы-Биньями у женщин редки. В литературе известны только два описания синдрома Маркиафавы-Биньями у женщин-алкоголичек. Представленный автором случай является третьим в литературе и первым проверенным случаем в Венгрии.

Представлена подробная картина и клиническое течение, а также невропатологические изменения случая, который представил собой острую форму болезни согласно классификации Кастена и др. (1971).

REFERENCES

1. Castaigne P., Buge A., Cambier J., Escourolle R., Rancurel G.: La maladie de Marchiafava-Bignami. Etude anatomo-clinique de six observations. *Rev. Neurol.*, 1971, 125, 179—196.
2. Delay J., Boudin G., Brion S., Barbizet J.: Etude anatomoclinique de huit encéphalopathies alcooliques. *Rev. Neurol.*, 1956, 94, 596—601.
3. Schob R. A., Gruner J., Fouquier E., Harl J. M., Francon J., Guerre J.: Sur trois cas de syndrome confusionnel avec contracture chez des éthyliques. Le probleme des encéphalopathies carentielles. *Rev. Neurol.*, 1953, 88, 174—190.
4. Tariska I.: A corpus callosum centralis degeneratioja. Marchiafava-Bignami-féle syndroma. *MTA. V. Oszt. Kozl.*, 1967, 18,

Authors address: National Institute for Nervous and Mental Diseases, Budapest 1281, II Vörösh ut. 116

EUGENIA TARNOWSKA-DZIDUSZKO, JADWIGA KAHL-KUNSTETTER

PRZYPADEK BĄBLOWCA O NIEZWYKŁYM PRZEBIEGU KLINICZNYM I OBRAZIE MORFOLOGICZNYM

Zakład Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego, Warszawa

Kierownik: doc. dr med. J. Dymecki

I Klinika Neurologiczna Instytutu Psychoneurologicznego, Warszawa

Kierownik: prof. dr med. A. Dowżenko

Bąbłowiec mózgu należy do rzadko spotykanych pasożytniczych chorób układu nerwowego a weryfikacje patomorfologiczne przypadków tego schorzenia nie są liczne. Skłania to nas do przedstawienia własnej obserwacji i skonfrontowania zmian w ośrodku z klinicznym zespołem chorobowym.

OPIS PRZYPADKU

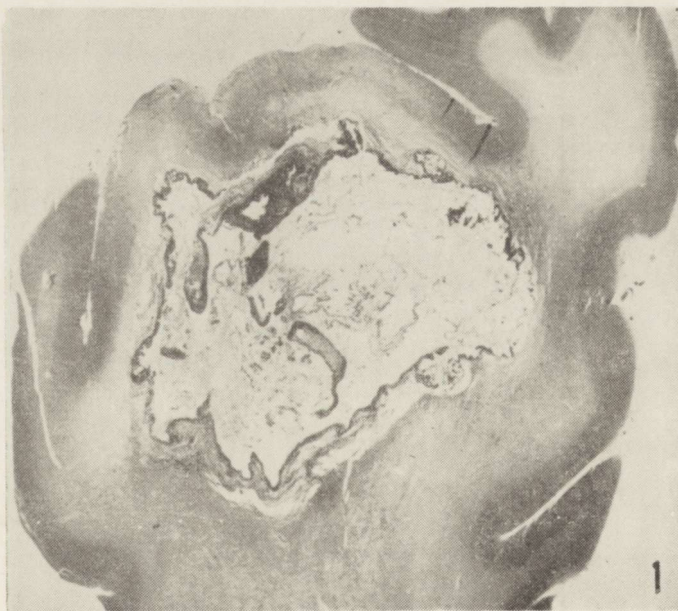
U chorej Z. W., lat 60, bez uchwytniej przyczyny narastał w okresie 5 miesięcy spastyczny bezwład prawej kończyny górnej, następnie kończyn dolnych, któremu towarzyszyły połowicze prawostronne napady typu Jacksona. W tym czasie pojawiły się również szybko postępujące zaniki mięśniowe w obrębie wszystkich kończyn. Od 5 miesiąca choroby pacjentka zaczęła zmieniać się psychicznie. W 10 miesiącu choroby wystąpiła dezorientacja, niepokój, zaburzenia rytmu snu, objawy regresji psychicznej, a następnie zaburzenia zwieraczy i afazja czuciowo-ruchowa. Chora przebywała dwukrotnie w różnych oddziałach neurologicznych, z których wypisywała się na własne żądanie przed ukończeniem obserwacji. Rozpoznawano chorobę zwyrodnieniową układu nerwowego, ostatnio przypuszczano, że jest to stwardnienie zanikowe boczne.

W 11 miesiącu choroby w czasie 11-dniowego pobytu w Klinice Neurologicznej Instytutu Psychoneurologicznego stwierdzono odwodnienie i wyniszczenie, odleżyny, prawie pełne porażenie wszystkich kończyn ze wzmożeniem napięcia mięśni typu pozapiramidowego, dodatni objaw Babińskiego, znacznie nasilony zanik mięśni, afazję czuciowo-ruchową, niepokój, dysforię. Przed zakończeniem badań diagnostycznych wystąpił nagły zgon wśród objawów porażenia oddechu.

Badania dodatkowe wykazały zmiany zapalne w moczu, OB 20/43, liczba granulocytów kwasochłonnych w rozmazie krwi 1. W płynie mózgowo-rdzeniowym białko 40 mg%, cytoza 3. W badaniu EEG stwierdzono ogniskową zmianę w lewej okolicy czołowo-ruchowo-skroniowej na tle znacznie zmienionej czynności podstawowej. Badanie EMG wykazało ciężkie uszkodzenie neuronu obwodowego o typie komórkowym. W badaniu EKG stwierdzono przedwczesne pobudzenia komorowe.

Postępujący przez 10 miesięcy proces chorobowy z otępieniem i zajęciem układu piramidowego, pozapiramidowego, uszkodzeniem neuronu obwodowego, afazją i zaburzeniami zwieraczy skłaniał do rozpoznania choroby Jakoba-Creutzfeldta. Sekcja ogólna wykazała zator głównych gałęzi tętnicy płucnej, zwłóknienie śródmiąższowe mięśnia sercowego, zapalenie płuc, przewlekłe odmiedniczkowe zapalenie nerek.

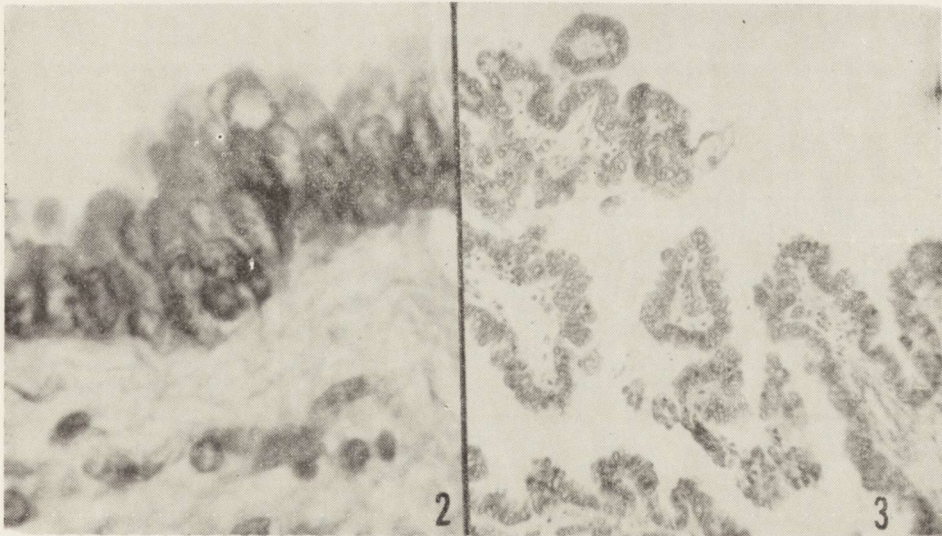
W makroskopowym badaniu mózgu stwierdzono 3 guzy o wyglądzie torbieli, o nieregularnym, zygzakowatym kształcie (ryc. 1), wielkości od ziarna bobu do gołębiego jaja. Torbiele w półkulach mózgu były zlokalizowane przystrzałkowo; jedna w okolicy ruchowo-ciemieniowej lewej, druga — w okolicy ciemieniowej prawej. Trzecia torbiel zniszczyła korę i istotę białą lewej półkuli mózdzku. Cienkościenne przegrody



Ryc. 1. Torbiel bąblowca w półkuli mózgu. H.-E. Pow. lupowe.
Fig. 1. Echinococcus cyst in cerebral hemisphere. H.-E. Magn. glass.

dzieliły torbiele na kilka dużych jam, wypełnionych galaretowatą szklistą masą o brunatnym zabarwieniu. Ponadto obserwowano nieznaczny zanik płatów czołowych oraz w naczyniach podstawy zmiany miażdżycowe I°. Do badania mikroskopowego pobrano wycinki przez półkule mózgu, ponadto wycinki z mózdzku i rdzenia kręgowego. Zastosowano barwienia: fioletem krezyłu, hematoksyliną-eozyną, mucykarminem, wg metody van Gieson, Spielmeyera, Kanzlera-Arendta i Bielschowskiego. Skrawki zawierające torbiele badano w serii ciągłej.

Wynik badania mikroskopowego: Ściana torbieli od strony światła była zbudowana z walcowatych komórek o skąpej, piankowej cytoplazmie i dużym, owalnym jądrze. Przylegały one do warstwy kutikularnej zbudowanej z równoległe ułożonych prążków o lekko falistym przebiegu (ryc. 2). Ściana cysty tworzyła często palczaste wybrzuszenia wpuklone do jej światła (ryc. 3) wypełnionej jednorodną eozynochłoną masą. We wnętrzu jamy obserwowano czasami belecзки, igielkowate twory (jak po wypłukanym cholesterolu), leżące w skupieniach zmienne komórki warstwy parenchymalnej mogące odpowiadać obumarłym pęcherzykom potomnym pasożyta oraz detryt komórkowy. Do du-

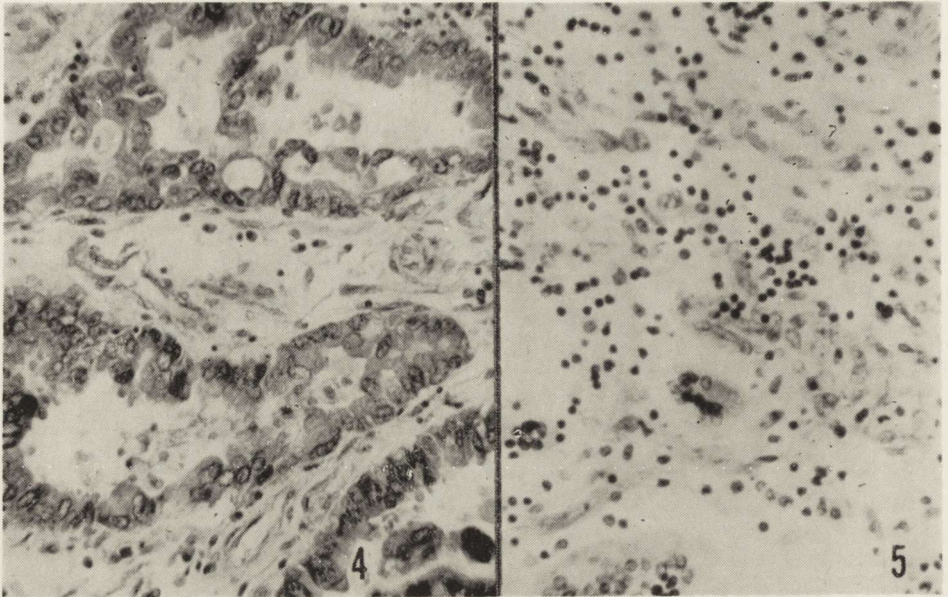


Ryc. 2. Warstwa komórek walcowatych wyścielających ścianę torbieli. H.-E. Pow. 400 \times .

Fig. 2. Layer of cylindrical cells lining the wall of the cyst. H.-E. \times 400.

Ryc. 3. Palczaste wybrzuszenia ścian torbieli i pęcherzyki wtórne wewnątrz jamy. H.-E. Pow. 80 \times .

Fig. 3. Finger-like extensions of the walls of the cyst and secondary follicles inside the cavity. H.-E. \times 80.



Ryc. 4. Drobne torbiele w proliferującej tkance mezenchymalnej. Fiolet krezyłu.
Pow. 200 \times .

Fig. 4. Small cysts in proliferating mesenchymal tissue. Cresyl violet. \times . 200.

Ryc. 5. Rozplem komórek mezenchymalnych w otoczeniu torbieli. Fiolet krezyłu.
Pow. 200 \times .

Fig. 5. Proliferation of mesenchymal cells around the cyst. Cresyl violet. \times . 200.

zych torbieli przylegały skupienia drobnych cyst pasożyta leżące już w ziarninie (ryc. 4). Główki pasożyta nie znaleziono.

W otoczeniu torbieli były widoczne pola masywnego rozplemu komórek, głównie mezenchymalnych (ryc. 5). W ziarninie występowały liczne komórki olbrzymie (ryc. 6), a ponadto komórki nabłonkowe, fibroblasty, limfocyty, komórki plazmatyczne, pojedyncze leukocyty, makrofagi oraz liczne naczynia o zmienionych ścianach. W tkance ner-

Ryc. 6. Komórki olbrzymie typu ciała obcego. Fiolet krezyłu. Pow. 200 \times .

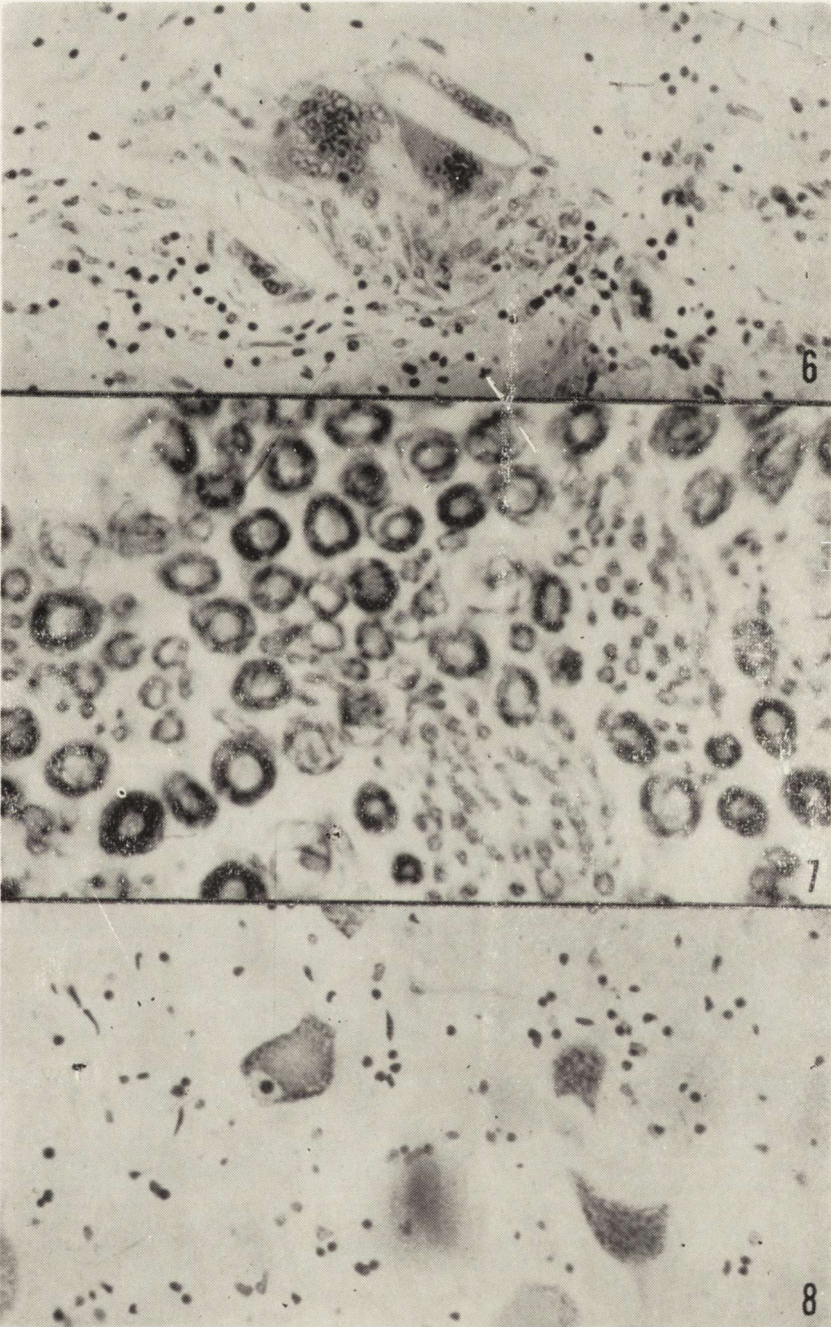
Fig. 6. Giant cells of foreign body type. Cresyl violet. \times . 200.

Ryc. 7. Przekrój poprzeczny korzenia przedniego. Uszkodzenie włókien nerwowych i splotenie osłonek mielinowych. Spielmeyer. Pow. 400 \times .

Fig. 7. Transverse section of anterior root. Lesion of nerve fibres and fading of myelin sheaths. Spielmeyer. \times . 400.

Ryc. 8. Schorzenie osiowe komórek nerwowych rogów przednich. Wzmóżona sate-
litoza, grudki glejowe. Fiolet krezyłu. Pow. 200 \times .

Fig. 8. Axonal reaction of neurons in anterior horns. Increased satellitosis, glial cell nodules. Cresyl violet. \times . 200.



wowej w sąsiedztwie ziarniny obserwowano rozplem i przerost gleju z obecnością astrocytów tucznych i komórek pałeczkowatych. Odczyn włóknisty gleju w ziarninie i najbliższym otoczeniu był nikły, a struktura tkanki rozluźniona. Przynaczyniowo obserwowano wielorzędowe nacieki limfocytarne, które zmniejszały się w miarę oddalania się od torbieli.

W obrębie całej kory mózgu obserwowano rozsiane ubytki komórek nerwowych, największe w korze ruchowej, ciemieniowej, rogu Amona, w korze skroniowej i w korze wyspy. Plackowate opustoszenia komórek nerwowych miejscami prowadziły do zatarcia warstwowej budowy kory. Zachowane komórki nerwowe wykazywały różny stopień uszkodzenia. Często obserwowano zwyrodnienie barwikowe, schorzenie ischemiczne i ciężkie oraz cienie neuronów. Zmianom komórkowym towarzyszyły zwłaszcza w dolnych warstwach kory, wzmożona satelitoza, neuronofagia i grudki glejowe. W korze mózdzku obserwowano krzaczkę glejową. Zarówno w korze jak i w istocie białej spotykano rozproszone komórki pałeczkowate. Spłowienie, a częściowo i rozpad osłonek mieliny obserwowano w otoczeniu torbieli, w istocie białej zakrętu hipokampa, zakrętu przed- i pozaśrodkowego oraz w istocie białej listeczków mózdzku. Glejoza włóknista okołonaczyniowa była wzmożona. W układzie naczyń śródmiąższowych mózgu zwłaszcza włóściczki i drobne tętniczki kory były zwłókniałe, o poszerzonych obrzękłych ścianach i proliferujących śródbłonkach. W naczyniach kory i opon stwierdzono świeże zakrzepy. W gałce bladej naczynia drobnego kalibru i przydanka większych naczyń uległy zwapnieniu. Struktura tkanki wokół naczyń, zwłaszcza w istocie białej była rozluźniona a przestrzenie okołonaczyniowe często poszerzone. W jądrach podstawy stwierdzono stan zatokowaty.

W korzeniach przednich rdzenia, zwłaszcza w jego odcinku krzyżowym i lędźwiowym zwracało uwagę uszkodzenie włókien nerwowych i osłonek mielinowych oraz ich gorsza barwliwość (ryc. 7). Struktura pola korzeniowego przedniego była rozluźniona. Liczba komórek nerwowych w rogach przednich uległa redukcji, a zachowane neurony były wybitnie stłuszczałe. Bardzo często obserwowano schorzenie osiowe. Ubytkom komórkowym w polu korzeniowym przednim i w rogach przednich towarzyszył rozplem i przerost gleju pod postacią wzmożonej satelitozy i neuronofagii oraz obecności komórek pałeczkowatych (ryc. 8). Odczyn włóknisty gleju był miernie nasilony, nieco bardziej w polu korzeniowym przednim. Układ naczyniowy rdzenia był wybitnie zmieniony. Ściany naczyń włosowatych i tętniczek były zwłókniałe bądź też zupełnie zeszkliwiałe. W rdzeniu, podobnie jak w korze półkul mózgowych napotymano drobne kłęбки naczyniowe.

OMÓWIENIE

W przedstawionym przypadku dominującą zmianą były wielojamowe torbiele, których struktura makro- i mikroskopowa odpowiadała pęcherzom bąblowca, jego postaci pęcherzowej (*Echinococcus alveolaris*). Jest to rzadko spotykane schorzenie układu nerwowego. Fischer (1955) znalazł pierwotny bąblowiec mózgu tylko w 4 przypadkach, a wtórny przy pierwotnym zajęciu wątroby — w 27 przypadkach. W przeciwieństwie do *Echinococcus cysticus* ta postać bąblowca występuje w postaci licznych ognisk o wyglądzie dużych wielojamowych torbieli, umiejscowionych predylekcyjnie w okolicy ciemieniowej, w jądrach podstawy i w mózdzku. Na ogół podkreśla się bardzo powolny, trwający od 10 do 20 lat, wzrost torbieli bąblowca u człowieka (Dobrowolski i wsp. 1971). Obserwowano jednak i szybki wzrost kilkumiesięczny (Fischer 1955; Schroeder, Medoc 1952). Wokół torbieli brak jest zwykle wyraźnej torebki. W naszym przypadku z wybiórczym zajęciem oun lokalizacja torbieli była typowa. Zajęta była prawie symetrycznie okolica ciemieniowa, lewa półkula mózdzku a ponadto okolica ruchowa. Wzrost torbieli był szybki, bo zaledwie 11-miesięczny.

Struktura ściany pasożyta i zawartość jam sugerują obecność cysty w fazie wzrostu (dobrze zachowana warstwa parenchymalna, skupienia komórek parenchymalnych w świetle jam). Nie znalazłyśmy główki pasożyta nawet w skrawkach z serii ciągłej. Na podobne trudności zwracają uwagę Trelles i wsp. (1967) uważając je za typowe również i dla groniastej postaci wągrzycy. Oprócz miejscowego uszkodzenia tkanki spowodowanego obecnością torbieli i wybitnego odczynu wytwórczego w przedstawionym przypadku obserwowano uogólnione zmiany patologiczne w całym układzie nerwowym. Na poziomie rdzenia kręgowego stwierdzono znaczne uszkodzenie osłonek mielinowych i włókien nerwowych w korzonkach przednich, rozluźnienie struktury tkanki w polu korzonkowym przednim oraz przerzedzenie komórek nerwowych w rogach przednich rdzenia. Klinicznym wykładnikiem tych zmian był neurogeny zanik mięśni sugerujący w początkowym okresie choroby stwardnienie zanikowe boczne.

W korze skroniowej i czołowej, a zwłaszcza w rogu Amona plackowate opustoszenia komórek nerwowych i nasilone uszkodzenie zachowanych neuronów mogą tłumaczyć szybko postępujący proces regresji czynności psychicznych, obserwowany u chorej. Umiejscowienie torbieli i towarzyszący im odczyn wytwórczy wyjaśnia obserwowany klinicznie zespół spastyczny, afazję czuciowo-ruchową oraz ogniskowe napady typu Jacksona. Nasilenie zmian zwyrodnieniowych w ścianach naczyń, a zwłaszcza zeszkliwienie i zwłóknienie naczyń śródrzeniowych i ko-

rzeniowych oraz zwłóknienie włóśniczek i drobnych tętniczek kory mózgu ze zmniejszeniem ich światła trudno wiązać tylko z wiekiem chorej. Wydaje się, że zarówno na nasilenie uszkodzeń parenchymalnych jak i na nasilenie zmian stwardnieniowych w naczyniach śródmiaższowych mózgu i rdzenia, poza czynnikiem ischemicznym mogły wywierać wpływ torbiele bąblowca. W piśmiennictwie podkreślano wielokrotnie toksyczne oddziaływanie torbieli pasożytów z gromady tasiemców na tkankę gospodarza (Schroeder, Medoc 1952; Stępień 1962; Barrientos i wsp. 1967; Dobrowolski i wsp. 1971 i inni).

Uszkodzenie rogów przednich rdzenia kręgowego przy śródrdzeniowym umiejscowieniu torbieli opisali w wągrzycy Cabieses i wsp. (1959), a przy lokalizacji cysty bąblowca w trzonie kręgu Schroeder i Medoc (1952). Meyer (1906) i Kahn (1972) obserwowali natomiast zespół stwardnienia zanikowego bocznego w wągrzycy przy zajęciu przez proces zapalny opon twardych bądź miękkich górnego odcinka rdzenia szyjnego. W dostępnym piśmiennictwie nie znaleźliśmy podobnego zespołu uszkodzenia korzeni przednich i rogów przednich rdzenia. Można sądzić, że w przypadkach z umiejscowieniem pasożyta w mózgu rdzeń kręgowy nie zawsze był szczegółowo badany (Fischer 1956; Barrientos i wsp. 1967; Peters 1970).

Z badań Trellesa i wsp. (1967) nad zachowaniem się ściany cysty pasożyta wynika, że gęsta sieć kanalików odżywczych zawarta w każdej komórce parenchymalnej może świadczyć o żywej przemianie materii pasożyta. Zdaniem autorów produkty tej przemiany muszą wywierać toksyczny wpływ na tkankę gospodarza. Jak dalece wpływają one na reakcje immunologiczne jest sprawą otwartą. W naszym przypadku uogólniony odczyn mezenchymalny upodabnia je do reakcji hiperergiczej w przebiegu procesu zapalnego.

W naszym przypadku bąblowiec, dzięki obecności wielogniskowych torbieli jak i uogólniony, najprawdopodobniej toksyczny wpływ na tkankę nerwową mózgu i rdzenia kręgowego naśladował w przebiegu klinicznym istnienie wieloukładowego schorzenia zwyrodnieniowego o. un. Zespół kliniczny był najbardziej podobny do choroby Jakoba-Creutzfeldta i czynił to rozpoznanie w okresie życia chorej prawdopodobnym.

WNIOSKI

1. Torbiele bąblowca uszkadzają tkankę nerwową gospodarza w sposób bezpośredni i powodują objawy stanowiące następstwo umiejscowienia cysty pasożyta. Ponadto wywierają uogólniony wpływ toksyczny na tkankę nerwową i układ mezenchymalny przyspieszając i nasilając objawy inwolucji starczej.

2. Choroba pasożytnicza oun może naśladować w przebiegu klinicznym wieloukładowy proces zwyrodnieniowy.

Э. Тарновска-Дидушко, Я. Каль-Кунстеттер

СЛУЧАЙ ЭХИНОКОККА МОЗГА С НЕОБЫЧНЫМ КЛИНИЧЕСКИМ ТЕЧЕНИЕМ И МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНОЙ

Резюме

В течение 10 месяцев у 60-ти летней женщины развились спастический паралич с увеличенным мышечным напряжением экстрапирамидного типа, значительная нейрогенная атрофия мышц клеточного типа, симптомы психической регрессии с беспокойством и сенсомоторная афазия. Смерть была вызвана на 11 день пребывания в больнице закупоркой главной ветки легочной артерии.

Кроме атрофийных изменений мозга были обнаружены 3 большие кисты. Был обнаружен пузырьчатый эхинококк мозга.

Кроме локального механического повреждения нервной ткани кистами, были обнаружены отчетливая пролиферационная реакция мезенхимы, значительная интенсивность дегенеративных изменений в интерстициальных стенках сосудов мозга и спинного мозга, повреждениях миелиновых оболочек, передних корешков, и регрессивные изменения в нервных клетках коры и убиток нервных клеток.

В работе обсуждается патомеханизм изменений и проводится клинико-морфологическая корреляция исключительно редкой паразитической болезни центральной нервной системы, протекание которой симулировало многосистемную дегенеративную болезнь.

E. Tarnowska-Dziduszko, J. Kahl-Kunstetter

UNUSUAL CLINICAL COURSE AND MORPHOLOGICAL PICTURE OF AN *ECHINOCOCCUS CEREBRI* CASE

Summary

Sixty years-old woman developed during 10 months period a spastic tetraplegia with increased muscular tension of extrapyramidal type, marked muscular neurogenic atrophy of cellular type, the signs of psychic regression with anxiety and sensomotoric aphasia. Death on 11th day of hospitalization resulted from the emboli of main branches of pulmonary artery.

Macroscopically apart from atrophic changes of the brain there were found 3 large cysts. Microscopically the diagnosis was: *Echinococcus alveolaris cerebri*. Other changes except local mechanical damage of nervous tissue caused by the cysts consisted of prominent proliferation of mesenchymal cells, marked increase of degenerative alterations in the vascular walls of the brain and of the spinal cord, the damage of myelin sheaths of anterior roots, axonal reaction of anterior horns neurons, regressive changes in neurons of cerebral cortex and loss of some neurons.

The discussion concerns pathomechanism of changes and clinical and morphological correlation of this unfrequent in central nervous system parasite disease, the course of which imitated polysystemic degeneration disease.

PIŚMIENNICTWO

1. Barrientos J., Schirmer E., Schenone H., Aranda R., Concha L., Rojas A.: Investigation de cisticercosis e hidatidosis en 5. 132 autopsies practicodas en al Hospital Psycguiatrico de Santiago (1939—1966). *Boletin Chileno de Parasitologia* 1967, 22, 150—155.
2. Cabiese F., Vallenias M., Landa R.: Cysticercosis of the spinal cord. *J. Neurosurg.*, 1959, 16, 337—341.
3. Dobrowolski K. A., Klimaszewski S. M., Szeleńgiewicz H.: *Płazińce*. W: *Zoologia*. Ed.: PZWS, Warszawa 1971, 140—158.
4. Fischer W.: Die parasitären Erkrankungen des Zentralnervensystems und seiner Hüllen. W: *Hdb. der spez. Anatomie u. Histologie*, Ed.: Lubarsch. Springer Verlag, Berlin 1955, 13/III, 372—413.
5. Kahn P.: Cysticercosis of the central nervous system with amyotrophic lateral sclerosis, case report and review of literature. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 1972, 35, 81—87.
6. Meyer E.: Amytrophische Lateralsklerose kombiniert mit multiplen Hirncysticerken. *Arch. Psychiat. Nervenkr.* 1907, 41, 640—652.
7. Peters G.: *Parasiten*. W: *Klinische Neuropatologie*. G. Thieme Verlag, Stuttgart 1970, 119—121.
8. Schroeder A. H., Medoc J.: Hydatid disease of the spinal column. *J. Nervous Mental Dis.*, 1952, 116, 1025—1046.
9. Stępień L.: Cerebral cysticercosis in Poland. Clinical symptoms and operative results in 132 cases. *J. Neurosurg.*, 1962, 505—513.
10. Trelles J. O., Palomino L., Caceres A.: Histopatologie de la cysticercose cerebrale. *Acta neuropath. (Berl.)*, 1967, 8, 115—132.

Adres autorki: Zakład Neuropatologii, Instytut Psychoneurologiczny, 02-957 Warszawa, al. Sobieskiego 1/9

HANS JÜRGEN HOLZHAUSEN

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE BEFUNDE
BEI TIEREXPERIMENTELLEN NERVENTUMOREN DER RATTE

Pathologisches Institut der Martin-Luther-Universität Halle/Saale, DDR
Direktor: Prof. Dr sc. med. W. Jänisch

Die elektronenmikroskopische Untersuchung tierexperimenteller Nerven-tumoren ist interessant, da sich nicht nur Rückschlüsse auf die Histogenese dieser Tumoren, sondern auch auf die der Neurinome des Menschen ergeben. Ein derartiges Vorgehen ist gerechtfertigt, da die Vergleichbarkeit der tierexperimentellen Nerventumoren mit den Neurinomen des Menschen gegeben ist (Georgsson u. Mitarb., 1969; Jänisch, Schreiber, 1969; Menzel, Zülch, 1972). Hinsichtlich der Histogenese der Neurinome stehen sich das neuroektodermale Schwannzellkonzept und das Konzept des fibroblastischen Ursprunges gegenüber (Stout, 1949).

MATERIAL UND METHODE

Untersucht wurde ein maligner anaplastischer Tumor des Nervus trigeminus einer BD-IX Ratte. Zur Geschwulstinduktion wurde postnatal eine Dosis von 17 mg/kg Äthylnitrosoharnstoff (ÄNH) subcutan injiziert. Tötung des Tieres mit 242 Tagen bei Protrusio bulbi. Fixierung der Tumorteile in phosphatgepufferter 6%iger Glutaraldehydlösung (pH 7,3). Nachfixierung in veronalgepufferter 2%iger Osmiumsäure (pH 7,3). Entwässerung in der aufsteigenden Acetonreihe. Einbettung in Durcupan ACM 2. Kontrastierung der Ultradünnschnitte mit Bleizitrat. Untersuchung der Schnitte mit den Elektronenmikroskopen ELMI-D2 und SEM.

ERGEBNISSE

Der Tumor besteht grösstenteils aus locker gelagerten, undifferenzierten ovalen und pleomorphen Zellen mit schmalen Fortsätzen (Abb. 1 und 4). Es besteht ein mässiger Organellengehalt bei zahlreichen freien, rosettenartig angeordneten Ribosomen. Auffällig sind die Verschie-



bung der Kern-Plasmarelation sowie die marginalen Chromatinkondensationen. Selten sind Bruchstücke einer Basalmembran. Vereinzelt auftretende fibroblastenähnliche Zellen zeigen ein aktiviertes endoplasmatisches Retikulum (Abb. 2). Gruppenförmig auftretende grosse spindelförmige Zellen besitzen lange protoplasmareiche Zellfortsätze (Abb. 2). Die Fortsätze sind polar angeordnet und lagern sich an Tumorzellen, an andere Zellfortsätze oder an Axone an. Das Plasma der Fortsätze enthält reichlich feine fibrilläre Filamente oder vereinzelt auch lange Filamente mit tubulärer Struktur (Abb. 2 und 5). Nach peripher hin nehmen in den Fortsätzen die membrangebundenen Ribosomen zugunsten der freien Ribosomen ab. In mässiger Menge finden sich Tumorzellen mit Inkorporation von praeexistenten Axonen (Abb. 3). Diese Zellen besitzen Basalmembranen.

Der Interzellularraum weist reichlich schmale Zellfortsätze von Tumorzellen auf. Diese Fortsätze können sich an Tumorzellen anlagern (Abb. 1), miteinander bündeln (Abb. 1 und 5) oder ineinander falten. Andere Fortsätze zeigen eine kreisförmige Umhüllung von virtuellen Punkten (Abb. 5), von Zellfortsätzen oder von Axonen (Abb. 4). Die Umhüllung kann ein oder mehrschichtig sein. Die Fortsätze sind unterschiedlich eng gegeneinander gelagert. Im Extrazellularraum finden sich feine Fibrillen (Abb. 1 und 3) und stellenweise auch Kollagenfasern.

Als Besonderheit ist die in Abbildung 6 dargestellte Anordnung von Tumorzellen zu bewerten. Diese Zellen bilden zusammen mit ihren Fortsätzen einen dichten Wall. Dieser grenzt ein Kompartiment des extrazellulären Raumes ab, das sich durch seinen hohen Fibrillengehalt auszeichnet. Die Fibrillen verdichten sich an der Zellmembran. In den Zellfortsätzen treten reichlich kleine Vesikel und Tubuli auf.

DISKUSSION

Die grossen spindelförmigen Zellen sind den von Pineda (1964, 1966) beschriebenen Lemmozyten ähnlich. Besonders die langen protoplasmareichen Zellfortsätze mit den Filamenten stimmen hinsichtlich ihres

Abb. 1. Undifferenzierte Tumorzellen mit schmalen Fortsätzen. Deutliche Verschiebung der Kern-Plasmarelation. Marginale Chromatinkondensationen. Im Interzellularraum zahlreiche schmale Zellfortsätze, die sich bündeln und an die Tumorzellen anlegen. $\times 14\ 800$.

Ryc. 1. Niezróznicowane komórki guza z wąskimi wypustkami. Wyraźny niestunek między jądrem i cytoplazmą. Brzeźne skupienia chromatyny. W przestrzeni międzykomórkowej liczne, wąskie wypustki komórek, tworzące wiązki i układające się wzdłuż komórki. Pow. $14\ 800 \times$.

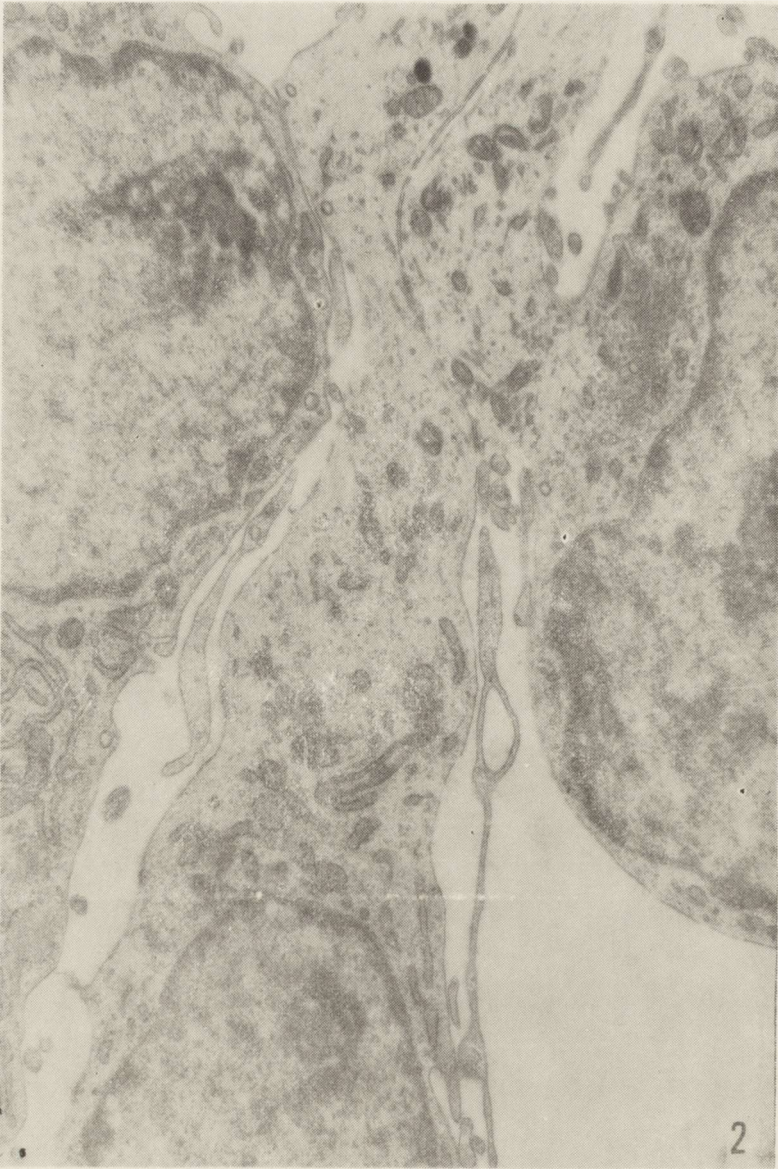


Abb. 2. In Bildmitte eine grosse spindelförmige Tumorzelle mit einem langen protoplasmareichen Fortsatz, dessen Plasma reichlich feine Fibrillen enthält. Die untere Zelle verfügt über einen gleichartigen Fortsatz. Die obere Zelle stellt eine fibroblastenähnliche Zelle dar. $\times 16\ 200$.

Ryc. 2. W centrum duża wrzecionowata komórka guza z długą wypustką bogatą w cytoplazmę, zawierającą dużą ilość cienkich fibryli. Komórka leżąca niżej ma taką samą wypustkę. Komórka widoczna powyżej jest podobna do fibroblasta. Pow. 16 200 \times .

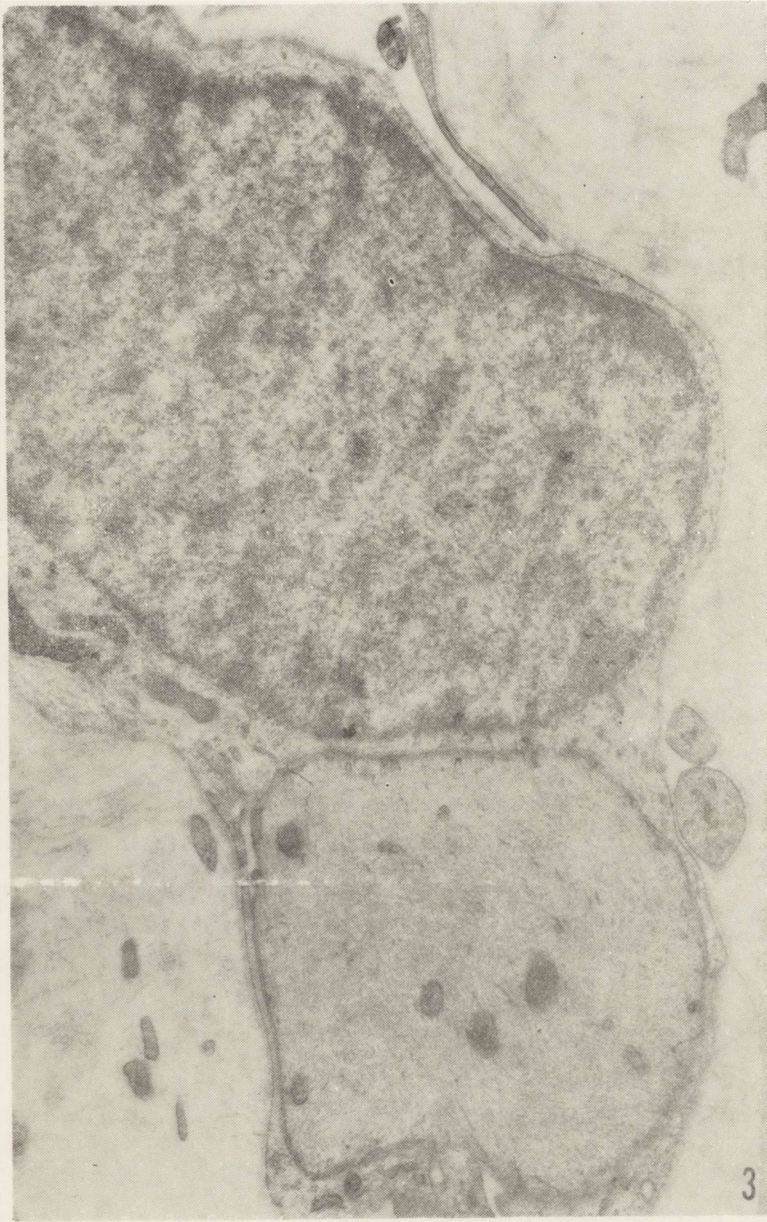


Abb. 3. Tumorzelle mit Inkorporation eines Axons. Die Zelle ist von einer Basalmembran umgeben. Im Extrazellularräum reichlich feine Filamente. $\times 20\,100$.

Ryc. 3. Komórka guza z wcielonym włóknem osiowym. Komórka otoczona błoną podstawową. W przestrzeni międzykomórkowej obfitość cienkich włókienek. Pow. $20\,100 \times$.

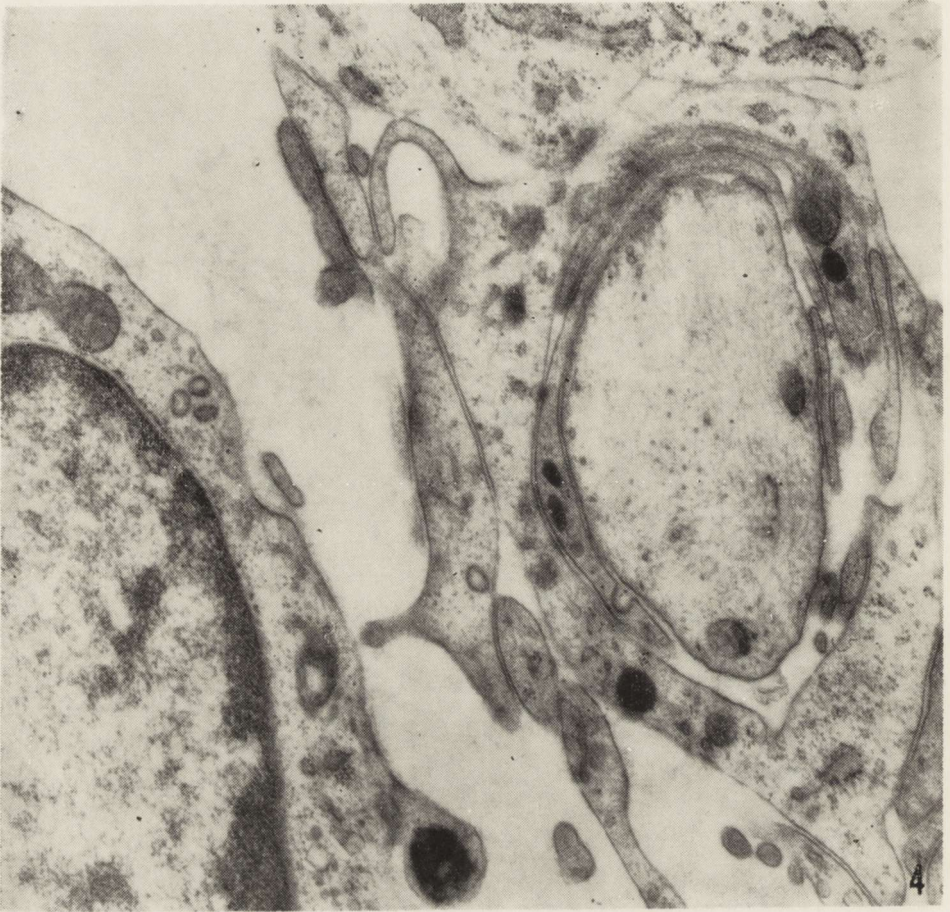


Abb. 4. Umhüllung eines Axons durch schmale Tumorzellfortsätze, die teilweise eng aneinander gelagert sind. Links eine undifferenzierte Tumorzelle mit Bruchstücken einer Basalmembran. $\times 32\,500$.

Ryc. 4. Włókno osiowe otoczone wąskimi wypustkami komórki nowotworowej, które są miejscami ciasno zbite. Po stronie lewej niezróżnicowana komórka guza z fragmentami błony podstawowej. Pow. $32\,500 \times$.

Verhaltens mit den sogenannten Neuriten überein (Pineda, 1966). Da die Lemmozyten auf die Lemmoblasten zurückgehen, bestehen embryogenetische Relationen zu den Schwanzzellen, die sich ebenfalls von den Lemmoblasten herleiten (Pineda, 1964).

Tumorzellen mit Inkorporation von Axonen sprechen auch für einen Ursprung des Tumors aus blastomatösen Schwanzzellen (Pineda, 1966; Fisher, Vuzevski, 1968; Koestner u.Mitarb., 1971; 1972). Teleologisch lassen sich diese Bilder als karikierte Bildungen von Myelinscheiden deuten.

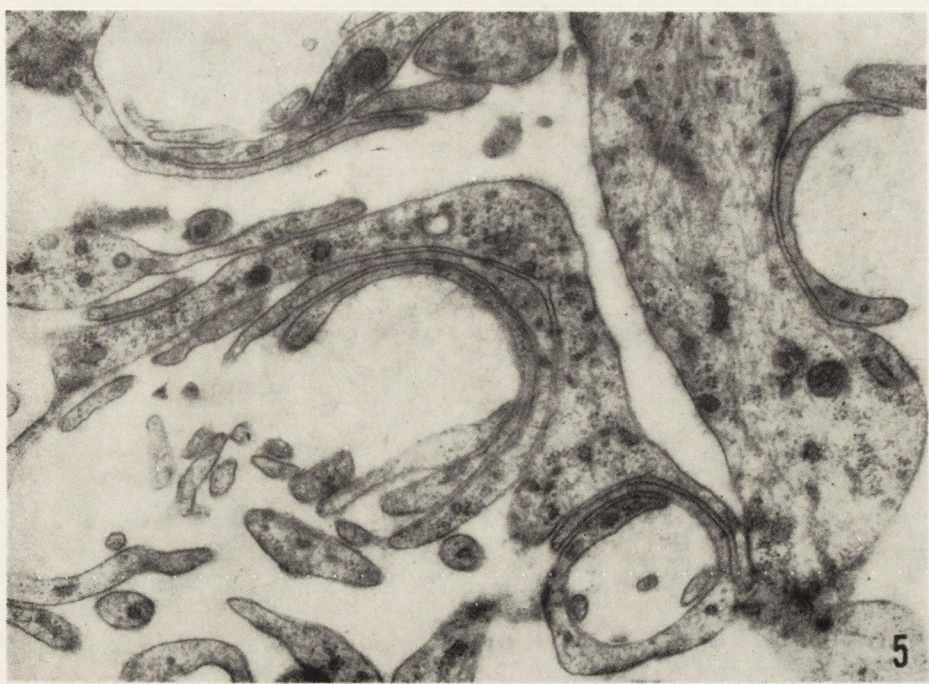


Abb. 5. Schmale, eng aneinander gelagerte Tumorzellfortsätze mit kreis- und halbkreisförmiger Umhüllung virtueller Punkte. Rechts ein protoplasmareicher Zellfortsatz mit langen tubulären Filamenten im Plasma. × 28 700.

Ryc. 5. Wąskie, ciasno zbite wypustki komórek nowotworowych otaczające koliste i półkolistości urojony punkt. Po stronie prawej bogata w cytoplazmę wypustka komórki z długimi tubularnymi włóknkami w cytoplazmie. Pow. 28 700 ×.

Das Verhalten der schmalen Zellfortsätze zeigt Parallelen zu Leistungen von aktiven Schwanzzellen (Barton, 1962). Die gebündelten Fortsätze erinnern an die Endschleifen der Myelinscheiden am Ranvierschen Schnürring (Waggener, 1966) oder an die Bügnerschen Leitbänder (Wechsler, Hossmann, 1965).

Die kreisförmige Anordnung von Fortsätzen um virtuelle Punkte, andere Fortsätze oder um Axone ist Ausdruck eines flächenumhüllenden Wachstums (Cervos-Navarro, Matakas, 1968) und ist als Versuch zur Ausbildung einer Myelinscheide zu deuten (Georgsson u.Mitarb., 1969; Jänisch u.Mitarb., 1970). Die Einrollung von Axonen lässt Bilder entstehen, wie sie für Nerven von Invertebraten typisch sind (Schade, 1973).

Fibroblastenähnliche Zellen sind in histogenetischer Hinsicht schwer zu deuten (Wechsler u.Mitarb., 1969; Jänisch u.Mitarb., 1970). Sowohl Fibroblasten als auch aktivierte Schwanzzellen verfügen über ein dilatiertes endoplasmatisches Retikulum (Wechsler, 1964; Giesecking, 1966).

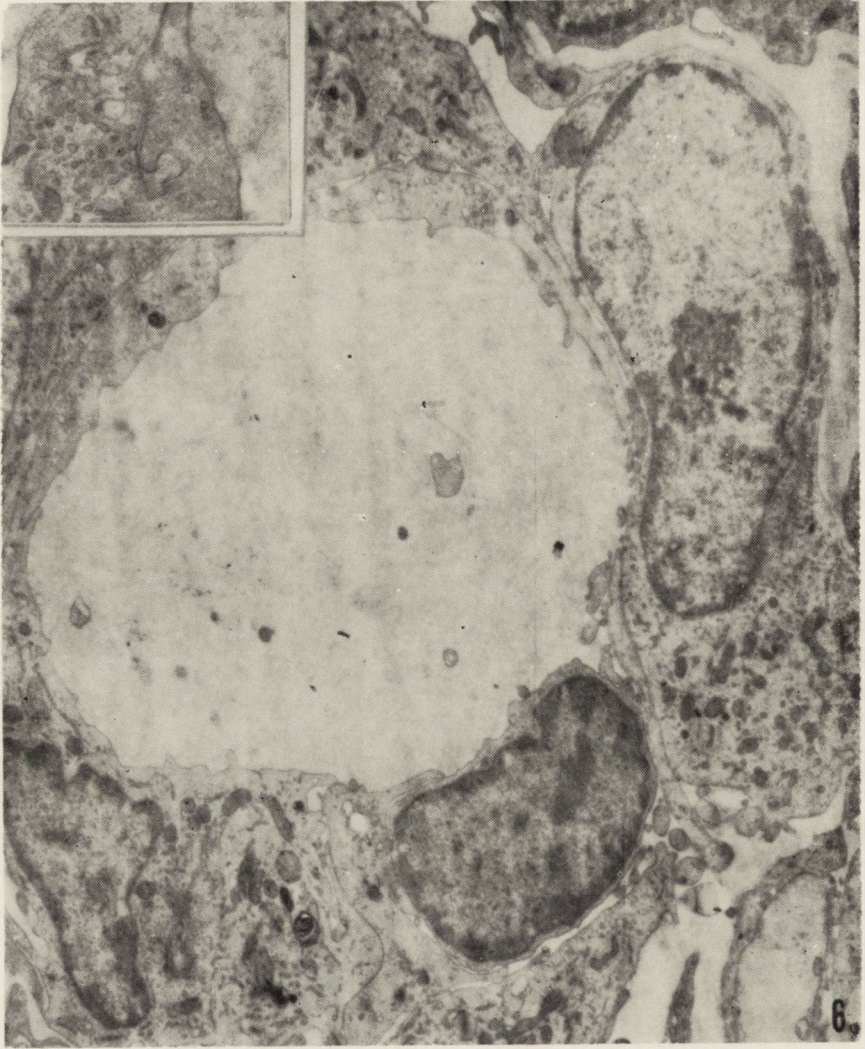


Abb. 6. Wallartige Zusammenlagerung von Tumorzellen mit Umgrenzung eines Kompartimentes des Extrazellulärraumes. Reichlich feine Fibrillen im umgrenzten Raum. Zahlreiche kleine Vesikel und Tubuli in den Zellfortsätzen. $\times 9\ 900$. Vergr. des Inset $\times 20\ 300$.

Ryc. 6. Wał komórek nowotworowych wokół części przestrzeni międzykomórkowej. Obfitość cienkich fibryli w odgraniczonej przestrzeni. Liczne małe mitochondria i tubule w wypustkach komórek. Pow. $9\ 900 \times$. Pow. wstawki $20\ 300 \times$.

Der Nachweis von Kollagenfasern muss nicht für eine fibroblastische Genese (Raimondi, Beckman, 1967) der Nerventumoren sprechen, da auch Schwannzellen Kollagenfasern bilden (Wechsler, 1964; Harkin, 1966). Die Natur der wallartigen Tumorzellanordnung ist unklar. Möglicherweise ist sie Ausdruck eines flächenumhüllenden Wachstums.

Das weitgehende Fehlen von Basalmembranen erklärt sich durch die Anaplasie und das fortgeschrittene Alter des Tumors (Koestner u. Mitarb., 1971; Cravioto u. Mitarb., 1973). Obwohl der Tumor insgesamt entdifferenziert ist, lassen sich aus dem Nachweis lemmozytenähnlicher Zellen, dem Nachweis von Tumorzellen mit Inkorporation von Axonen und dem Verhalten der schmalen Zellfortsätze Kriterien für seine Ableitung aus blastomatösen Schwannzellen gewinnen.

H. J. Holzhausen

ULTRASTRUKTURA DOŚWIADCZALNYCH NERWIAKÓW SZCZURA

Streszczenie

Omówiono ultrastrukturę złośliwego, anaplastycznego nerwiaka nerwu trójdziałelnego wywołanego u szczura etylnitrozomocznikiem. Za pochodzeniem guza z blastycznych komórek Schwanna przemawiają komórki podobne do lemmocytów, komórki nowotworowe z wcielonymi włóknami osiowymi oraz typowe ułożenie się wypustek komórek nowotworowych.

Х. И. Хольцхаузен

УЛЬТРАСТРУКТУРА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ НЕВРОМ КРЫСЫ

Резюме

Рассмотрена ультраструктура злокачественной анапластичной невромы тройничного нерва, вызванной у крысы этилнитрозомочевинной. В пользу происхождения опухоли из бластических клеток Шванна свидетельствуют клетки, похожие на леммоциты, опухолевые клетки с включенными осевыми волокнами, а также типичное укладывание отростков опухолевых клеток.

LITERATUR

1. Barton A. A.: Tumors of nerve: an electron microscope study. *Brit. J. Cancer*, 1962, 16, 466—476.
2. Cervós-Navarro J., Matakas F.: Elektronenmikroskopischer Beitrag zur Histogenese der Neurinome. *Verh. Dtsch. Ges. Path.*, 1968, 52, 391—395.
3. Cravioto H., Weiss J. F., Weiss E. de C., Goebel H. H., Ransohoff J.: Biological characteristics of peripheral nerve tumors induced with ethylnitrosourea. *Acta neuropath. (Berl.)*, 1973, 23, 265—280.
4. Fischer E. R., Vuzevski V. D.: Cytogenesis of schwannoma (neurilemmoma), neurofibroma, dermatofibroma and dermatofibrosarcoma as revealed by electron microscopy. *Amer. J. clin. Path.*, 1968, 49, 141—154.
5. Georgsson G., Wessel W., Thomas C.: Zur Feinstruktur experimenteller Nerven tumoren. *Z. Krebsforsch.*, 1969, 72, 12—23.
6. Gieseking R.: Mesenchymale Gewebe und ihre Reaktionsformen im elektro-nenoptischen Bild. *Veröffentlichungen aus der morphologischen Pathologie*. G. Fischer, Jena, 1966.
7. Harkin J. C.: Localization of the cellular site of collagen synthesis in peripheral nerves by electron microscopic autoradiography using H³-Proline.

- Proc. Vth Internat. Congr. Neuropath. Eds.: F. Lüthy, A. Bischoff, Exc. Med. Foundation, Amsterdam, 1966, p. 861.
8. Jänisch W., Schreiber D.: Experimentelle Geschwülste des Zentralnervensystems. G. Fischer, Jena, 1969.
 9. Jänisch W., Lageman A., Dietz W., Schreiber D.: Experimentelle Nerventumoren bei Ratten durch Induktion mit N-Methyl-N-nitrosoharnstoff., *Exp. Path.*, 1970, 4, 317—328.
 10. Koestner A., Swenberg J. A., Wechsler W.: Transplacental production with ethylnitrosourea of neoplasms of the nervous system in Sprague Dawley rats. *Amer. J. Path.*, 1971, 63, 37—50.
 11. Koestner A., Swenberg J. A., Wechsler W.: Experimental tumors of the nervous system induced by resorptive N-nitrosourea compounds. *Progr. exp. Tumor Res.*, S. Karger, Basel, 1972, 17, 9—30.
 12. Mennel H. D., Zülch K. J.: Formale Pathogenese experimenteller Hirntumoren. *Acta neuropath. (Berl.)*, 1972, 21, 140—153.
 13. Pineda A.: Neurolemmomas. A correlative study with silver carbonate techniques and electron microscopy. *Transact. Amer. Neurol. Ass.*, 1964, 89, 331—342.
 14. Pineda A.: Electron microscopy of the lemmocyte in peripheral nerve tumors (neurilemmomas). *J. Neurosurg.*, 1966, 26, 35—44.
 15. Raimondi A. J., Beckman F.: Perineural fibroblastomas: their fine structure and biology. *Acta neuropath. (Berl.)*, 1967, 8, 1—23.
 16. Schade H. A. R.: Sinneszellen und Nervenzellen. In: Hirsch G. C., Ruska H., Sitte P.: *Grundlagen der Cytologie*. G. Fischer, Jena, 1973.
 17. Stout A. P.: Tumors of the peripheral nervous system. In: *Atlas of tumor pathology*. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, 1949.
 18. Waggener J. D.: Ultrastructure of benign peripheral nerve sheath tumors. *Cancer*, 1966, 19, 699—709.
 19. Wechsler W.: Zur Feinstruktur normaler, embryonaler, reaktiver und blastomatöser Zeller des Nervensystems. *Verh. dtsh. Ges. Path.*, 1964, 48, 129—134.
 20. Wechsler W., Hossmann K. A.: Zur Feinstruktur menschlicher Akustikusneurinome. *Beitr. path. Anat.*, 1965, 132, 319—343.
 21. Wechsler W., Kleihues P., Matsumoto S., Zülch K. J., Ivankovic S., Preussmann R., Druckrey H.: Pathology of experimental neurogenic tumors chemically induced during prenatal and postnatal life. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1969, 159, 360—408.

Anschrift des Verfassers: Pathologisches Institut der Martin-Luther-Universität 402 Halle/Saale, DDR, Leninallee 14

DIETER SCHREIBER, WERNER JÄNISCH, KARIN ZIMMERMANN

DIE FREQUENZ VON METASTASEN IM ZENTRALNERVENSYSTEM
(ZNS) IN ABHÄNGIGKEIT VON TUMORARTEN
UND LEBENSALTER. EINE UNTERSUCHUNG
AM OBDUKTIONSGUT

Pathologisches Institut der Martin-Luther-Universität Halle/Saale (DDR)
Direktor: Prof. Dr sc. med. W. Jänisch

Die Häufigkeit von malignen Geschwülsten und ihr Metastasierungsgrad unterliegen zeitlichen, örtlichen und therapeutischen Einflüssen. Um Verschiebungen im Tumorspektrum zu erfassen, sind von Zeit zu Zeit Bestandsaufnahmen erforderlich. In gezielter Fortsetzung einer Untersuchung am Pathologischen Institut der Medizinischen Akademie Erfurt (DDR) aus den Jahren 1954—1965 (Jänisch et al. 1966) wurde das Obduktionsgut des Pathologischen Institutes der Martin-Luther-Universität Halle/Saale der Jahre 1960—1970 nach den gleichen Gesichtspunkten hinsichtlich Frequenz und Herkunft von Metastasen im ZNS bearbeitet. Die Ergebnisse dieser vergleichenden Untersuchung werden nachstehend mitgeteilt.

MATERIAL UND METHODIK

Am Pathologischen Institut der Martin-Luther-Universität Halle/Saale wurden vom 1. 1. 1960 bis 31. 12. 1970 34 008 Obduktionen ausgeführt. In 9872 Fällen (29,0%) fanden sich insgesamt 10 190 maligne extrakranielle Geschwülste; maligne Doppeltumoren lagen in 318 Fällen vor. Systemerkrankungen (Leukosen, Retikulosen, Plasmozytome, Lymphogranulomatosen usw.) wurden nicht in die Auswertung einbezogen. Unter ZNS—Metastasen wurden alle Metastasen in Gehirn, Rückenmark und deren Häuten sowie in der Hypophyse zusammengefasst. Unberücksichtigt blieben Metastasen, die kontinuierlich von angrenzenden Knochen auf das ZNS übergewachsen waren. Mit Ausnahme von 89 Fällen wurde das Gehirn bei der Obduktion routinemässig untersucht. Die dadurch bedingte geringe Ungenauigkeit in der Metastasenhäufigkeit verliert durch die Grösse des Beobachtungsgutes an Bedeutung. Die Sektion von Rückenmark und Hypophyse erfolgte nur, wenn klinisch oder

pathologisch-anatomisch der Verdacht auf pathologische Veränderungen in diesen Organen bestand. Da sich bei den engen räumlichen Verhältnissen im Wirbelkanal und in der Sella turcica raumbeengende Prozesse frühzeitig bemerkbar machen, dürfte der Prozentsatz unerkannter Metastasen klein sein.

Es wurde eine Aufgliederung des Materials nach Altersgruppen, Tumorarten und Häufigkeit der ZNS-Metastasen bei verschiedenen Primärtumoren vorgenommen. Bei den zahlenmäßig kleinen Gruppen der Sarkome und Melanozytoblastome wurde auf eine Aufschlüsselung nach dem Tumorsitz verzichtet, zumal deren Ausgangspunkt nicht in jedem Fall feststellbar war. Weiterhin ermittelten wir das Verteilungsmuster der Metastasen im ZNS sowie die Häufigkeit singulärer (eine Hirnmetastase neben anderen Körpermetastasen) und solitärer (einzige Tumorabsiedlung überhaupt) Hirnmetastasen.

Für sämtliche Werte wurden die Vertrauensgrenzen p_u und p_o (zugrundeliegende Irrtumswahrscheinlichkeit 1%) nach folgenden Formeln berechnet:

$$p_u = \frac{h}{h + \left(1 - h + \frac{1}{n}\right) F}$$

bei $f_1 = 2(n - nh + 1)$ $f_2 = 2nh$ "Freiheitsgraden" für F

$$p_o = \frac{\left(h + \frac{1}{n}\right) F}{1 - h + \left(h + \frac{1}{n}\right) F}$$

bei $f_1 = 2(nh + 1)$ $f_2 = 2n(1 - h)$ "Freiheitsgraden" für F (vgl. Weber 1972).

Damit ist ein statistisch gesicherter Vergleich zum Beobachtungsgut von Jänisch et al. (1966) möglich (Tab. 1, 3, 5, 6).

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Häufigkeit von ZNS-Metastasen im gesamten Sektionsgut und in einzelnen Altersklassen

Unter 34 008 Sektionen wurden 688 Fälle (2%) mit Metastasen im ZNS gefunden (Tab. 1). Bei Bezug auf die Gesamtzahl von 10 190 malignen Geschwülsten beträgt die Häufigkeit der ZNS-Metastasen 6,8%. In der Untersuchung von Jänisch et al. (1966) liegen die entsprechenden Vergleichswerte bei 1,6% bzw. 8,2%. Diese Unterschiede sind vermutlich

Tabelle 1. Häufigkeit von ZNS-Metastasen in verschiedenen Altersgruppen

Tabela 1. Częstość przerzutów nowotworowych do ośrodkowego układu nerwowego w poszczególnych grupach wieku

Alter in Jahren Wiek (lata)	Zahl der Sektionen Liczba sekcji	Maligne extrakranielle Tumoren**		Mit ZNS-Metastasen		Vertrauensbereich Przedział ufności	ZNS-Metastasen in % (Jänisch et al. 1966) Przerzuty do ośrodk. układu nerwowego w % (wg Jänischa i wsp. 1966)
		Zahl Złośliwe guzy pozaczaszkowe Liczba	%	Zahl Z przerzutami do ośrodk. układu nerwowego Liczba	%		
0—10	7354	40	0,5	5	12,5	2,9—26,2	25,0
11—20	370	29	7,8	5	17,2	4,0—36,7	15,0
21—30	603	76	12,5	17	22,3	12,0—35,6	21,7
31—40	1034	238	23,0	30	12,2	7,8—28,0	22,0
41—50	1808	582	32,1	68	11,7	7,0—12,8	12,0
51—60	4695	1752	37,3	197	11,2	9,1—12,4	11,7
61—70	9237	3699	38,9	262	7,1	5,9—7,8	7,2
71—80	6984	2785	39,8	96	3,4	2,8—4,4	4,0
über—ponad 81	1922	670	34,8	8	1,2	0,4—2,5	1,4
Insgesamt Razem	34007*)	9871*)	29,0	688	7,0	7,0	8,2

*) 1 Fall von Bronchuskarzinom ohne Altersangabe
1 przypadek raka oskrzeli, wiek pacjenta niezany

**) Maligne Doppeltumoren nicht berücksichtigt
Nie uwzględniono mnogich guzów złośliwych

auf die verschiedene Zusammensetzung des Ausgangsmaterials hinsichtlich Tumorarten und Anteil der Kindersektionen zurückzuführen. Von den 688 Fällen mit ZNS-Metastasen erwiesen sich 398 als multiple und 290 als singuläre Absiedlungen; aus letzterer Gruppe waren 48 nur im Gehirn lokalisiert (solitäre Hirnmetastasen).

Die Aufgliederung nach Altersgruppen zeigt, dass ZNS-Metastasen in jedem Lebensalter vorkommen und dass bis zum 70. Lebensjahr zwar ein kontinuierlicher Anstieg der absoluten Häufigkeitsziffern festzustellen ist, prozentual jedoch eine Häufigkeitsabnahme ab 4. Jahrzehnt eintritt (Tab. 1). Die grosse Breite der Vertrauensbereiche bis zum 40. Lebensjahr ist durch die relativ kleinen Fallzahlen in diesen Altersgruppen bedingt. Die grösste relative Häufigkeit von ZNS-Metastasen wurde zwischen 21 bis 30 Jahren ermittelt. Die Abnahme der Metastahäufigkeit im ZNS mit zunehmendem Lebensalter, die auch von anderen Autoren beobachtet wurde (Rudershausen 1932, Halpert et al. 1960, Romodanov et al. 1973), hängt offenbar mit der geringeren Wachstumsgeschwindigkeit und Metastasierungsneigung der Primärtumoren bei älteren Menschen zusammen.

Häufigkeit von ZNS-Metastasen bei verschiedenen Primärtumoren

Aus Tabelle 2 lässt sich errechnen, dass Melanozytoblastome 6,1 mal häufiger als Karzinome und 5,9 mal häufiger als Sarkome ins ZNS metastasieren. Die ZNS-Metastasen von Lungenkarzinomen stellen in un-

Tabelle 2. ZNS-Metastasen bei verschiedenen Tumorengruppen

Tabela 2. Przerzuty do oun w różnych rodzajach nowotworów

Maligne extrakranielle Tumoren	Zahl	Mit ZNS-Metastasen Zahl	%
Złośliwe guzy zewnątrzczaszkowe	Liczba	Z przerzutami do oun Liczba	%
Karzinome	9410	604	6,4
Raki			
Sarkome	484	32	6,6
Mięsaki			
Melanozytoblastome	87	34	39,1
Czerniaki			
Sonstige maligne Tumoren (Teratome, Mesotheliome, Neuroblastome usw.)	209	18	8,6
Inne guzy złośliwe (potworniaki, międzybłoniaki, złośliwe nerwiaki)			
Insgesamt	10190	688	6,8
Razem			

Tabelle 3. Anteil einzelner Tumorarten an der Gesamtzahl der Fälle mit ZNS-Metastasen

Tabela 3. Częstość występowania przerzutów do ośn w zależności od rodzaju nowotworu

Tumorart	ZNS-Metastasen (Path. Institut Halle)		ZNS-Metastasen (Jänisch et al 1966)	
	Zahl	%	Zahl	%
Rodziej guza	Przerzuty w ośn (Inst. Patol. Halle)		Przerzuty w ośn (Jänisch i wsp. 1966)	
	Liczba	%	Liczba	%
Lungenkarzinome	409	59,6	191	48,2
Rak pluc				
Mammakarzinome	65	9,5	43	10,9
Rak sutka				
Magen-Darm-Karzinome	37	5,4	27	6,8
Rak żołądka i jelit				
Melanozytoblastome	34	4,9	22	5,6
Czerniak				
Sarkome	32	4,6	33	8,3
Mięsak				
Nierenkarzinome	22	3,2	20	5,1
Rak nerki				
Uteruskarzinome	15	2,2	8	2,0
Rak macicy				
Schilddrüsenkarzinome	9	1,3	10	2,5
Rak gruczołu tarczowego				
Chorionepitheliome	6	0,8	6	1,5
Kosmówczak				
Gallenblasen- und Gallenwegskar- zinome	6	0,8	4	1,0
Rak pęcherza i dróg żółciowych				
Sonstige	53	7,7	32	8,1
Inne nowotwory				
Insgesamt	688	100,0	396	100,0
Razem				

serem Material mit fast 60% den weitaus grössten Anteil (Tab. 3). Alle übrigen Tumorarten sind mit weniger als 10% beteiligt. Der Anteil der Lungenkarzinome als Primärgeschwulst bei ZNS-Metastasen ist entsprechend der allgemeinen Häufigkeitszunahme dieser Tumorart in den letzten Jahrzehnten stetig angewachsen. Dagegen ist bei den Mammakarzinomen eine rückläufige Tendenz feststellbar (Tab. 4), offenbar als Folge einer frühzeitigen Diagnostik und Therapie. Nach einer älteren Sammelstatistik von Henschen (1955) wurden Lungenkarzinome lediglich in 27,4% und Mammakarzinome in 21,1% der Fälle als Ausgangspunkt bei Hirnmetastasen ermittelt. Jänisch et al. (1966) errechneten aus einer Literaturzusammenstellung ab 1955 für Lungenkarzinome bereits 46,1% und für Mammakarzinome 11,5%.

Tabelle 4. Anteil der Lungen- und Mammakarzinome an der Gesamtzahl der Fälle von ZNS-Metastasen

Tabela 4. Liczba przerzutów raka płuc i sutka na ogólną liczbę przerzutów do oun

Autor Autor	Fälle mit ZNS-Metastasen Liczba przypad- ków z przerzu- tami do oun	Lungenkarzinome		Mammakarzinome	
		Zahl Rak płuc Liczba	% % %	Zahl Rak sutka Liczba	% % %
Lesse, Netsky (1954)	207	50	24,2	71	34,3
Chason et al. (1963)	200	122	61,0	10	5,0
Richards, McKissock (1963)	389	252	64,8	23	5,9
Aronson et al. (1964)	370*)	184	49,7	51	14,0
Jänisch et al. (1966)	396	191	48,2	43	10,9
Romodanov et al. (1973)	220	104	47,3	15	6,8
Eigenes Material Własny materiał	688	409	59,6	65	9,5
Insgesamt Razem	2470	1312	53,1	278	11,3

*) 27 Fälle von Hirnmetastasen bei Leukämien wurden abgezogen

Nie uwzględniono 27 przypadków przerzutów do mózgu w przebiegu białaczek

Ein anderes Bild ergibt sich, wenn die Häufigkeit von ZNS-Metastasen bei den einzelnen Tumorarten ermittelt wird. Danach besteht bei Chorionepitheliomen und Melanozytoblastomen die grösste Metastasierungsneigung ins ZNS (Tab. 5). Lungen- und Mammakarzinome folgen nach den Schilddrüsenkarzinomen erst an 4. und 5. Stelle. Von weiteren Tumorarten verdienen nur die Nierenkarzinome und die Sarkome stärkere Beachtung; alle sonstigen Geschwulstarten, z. B. Krebse des Magen- und Darmtraktes, der Gallenblase und ableitenden Gallenwege, des weiblichen Genitale usw., rufen in weniger als 2% der Fälle Metastasen im ZNS hervor.

Durch Zusammenfassung mit dem Material des Pathologischen Institutes der Medizinischen Akademie Erfurt lassen sich wesentlich grössere Fallzahlen und schärfer begrenzte Konfidenzintervalle erzielen (Tab. 6). Es bestätigt sich, dass Chorionepitheliome und Melanozytoblastome signifikant häufiger Metastasen im ZNS verursachen als andere Geschwülste. Nach diesen Ergebnissen metastasieren Chorionepitheliome 1,4 mal häufiger als Melanozytoblastome, 3,0 mal häufiger als Lungenkarzinome und 3,9 mal häufiger als Mammakarzinome in das ZNS.

Tabelle 5. Häufigkeit von ZNS-Metastasen bei verschiedenen Primärtumoren

Tabela 5. Częstość przerzutów pierwotnych nowotworów różnego typu do ośn

Tumorart Rodzaj guza	Zahl der Fälle (Path. Inst. Halle)	Mit ZNS-Meta- stasen		Vertrauens- bereich	ZNS-Me- tastasen in % (Jänisch et al. 1966)
	Liczba przy- padków (Inst. Patol. Halle)	Zahl	%		Przerzuty do ośn w % (Jänisch i wsp. 1966)
		Z	%	Przedział uf- ności	
Chorionepitheliome	11	6	54,5	19,2—87,0	60,0
Kosmówczək					
Melanozytoblastome	87	34	39,1	26,0—48,0	42,1
Czerniak					
Schilddrüsenkarzinome	49	9	18,4	7,3—37,0	—
Rak gruczołu tarczowego					
Lungenkarzinome	2262	409	18,0	10,5—26,7	20,6
Rak płuc					
Mammakarzinome	516	65	12,6	9,7—15,6	20,0
Rak sutka					
Nierenkarzinome	278	22	7,9	4,7—12,3	14,7
Rak nerki					
Sarkome	484	32	6,4	4,2—9,3	10,1
Mięsak					
Magen-Darm-Karzinome	2666	37	1,4	1,0—2,0	2,0
Rak żołądka i jelit					
Karzinome des Uterus u. übrigen weibl. Genitale	1308	15	1,1	0,5—1,8	2,5
Rak macicy i narządów rodnych u kobiet					
Gallenblasen (-wegs)- Karzinome	702	6	0,8	0,2—1,9	1,0
Rak pęcherzyka i dróg żółciowych					
Sonstige Tumoren					
Inne guzy	1827	53	2,9	2,0—3,6	3,8
Insgesamt	10190	688	6,8	6,8	8,2
Razem					

Verteilungsmuster der Metastasen im ZNS

Die Metastasen sind überwiegend im Grosshirn, an zweiter Stelle im Kleinhirn lokalisiert (Tab. 7). Eine signifikante Bevorzugung einer Hirnhälfte ist nicht nachweisbar. Die von einigen Autoren (Krasting, 1906, weitere Literatur: Henschen 1955) angenommene Häufung von Metastasen in der linken Grosshirnhemisphäre lässt sich weder in un-

Tabelle 6. Häufigkeit von ZNS-Metastasen bei verschiedenen Primärtumoren (zusammengefasstes Material des Pathol. Institutes Halle und des Pathol. Institutes Erfurt nach Jänisch et al. 1966)

Tabela 6. Częstość przerzutów do ośn w przebiegu różnych nowotworów pierwotnych (materiał zbiorczy Instytutu Patol. w Halle i Instytutu Patol. w Erfurcie wg Jänischa i wsp. 1966)

Tumorart	Zahl der Fälle	Mit ZNS-Metastasen	Vertrauensbereich	
Rodziej guza	Liczba przypadków	Zahl Z Liczba	Przedział ufności	
		% przerzutami do ośn %		
Chorionepitheliome	21	12	57,1	31,0—81,1
Kosmówczak				
Melanozytoblastome	144	58	40,3	30,3—50,0
Czerniak				
Lungenkarzinome	3189	600	18,8	18,8
Rak płuc				
Mammakarzinome	731	108	14,8	12,0—18,0
Rak sutka				
Nierenkarzinome	414	42	10,1	6,7—13,8
Rak nerki				
Sarkome	811	65	8,0	6,6—9,5
Mięsak				
Magen-Darm-Karzinome	4058	65	1,6	1,2—2,1
Rak żołądka i jelit				
Karzinome des Uterus u. übrigen weibl. Genitale	1666	24	1,4	0,8—2,1
Rak macicy i narządów rodnych u kobiet				
Gallenblasen (-wegs)- Karzinome	1114	10	0,9	0,3—1,0
Rak pęcherzyka i dróg żółciowych				

serem Material noch in anderen Arbeiten (Störtebecker 1954, Romodanov et al. 1973) bestätigen.

Ein hundert zehn der von uns beobachteten Fälle (1,1% der malignen extrakraniellen Tumoren im Obduktionsgut) wiesen Metastasen nur im ZNS auf; 62 mal handelte es sich um multiple, 48 mal um solitäre Herde. Sieben und dreizig der solitären Metastasen fanden sich beim Bronchialkarzinom. Die Registrierung derartiger Fälle von Hirnmetastasen besitzt praktische Bedeutung, da durch ihre operative Entfernung die Chance auf eine — wenn auch verhältnismässig geringe — Lebensverlängerung besteht. Romodanov et. al. (1973) zeigten, dass die Überlebenszeit von Patienten mit operierten Metastasen beim Lungenkarzinom auf das 4fache, beim Mammakarzinom auf das 3,3fache und beim hypernephroiden Karzinom auf das 2,7fache gegenüber nicht operierten Patienten angestiegen war (Tab. 8).

Tabelle 7. Verteilungsmuster der ZNS-Metastasen

Tabela 7. Występowanie przerzutów w ośrodku z uwzględnieniem ich umiejscowienia

Lokalisation im ZNS Umiejscowienie w ośrodku	Zahl der Fälle*) Liczba przypadków*)
Gesamtes Gehirn	54
Mózgowie	
Grosshirn rechts	303
Prawa półkula	
Grosshirn links	277
Lewa półkula	
Kleinhirn	227
Mózdżek	
Pons	38
Most	
Medulla oblongata	17
Rdzeń przedłużony	
Rückenmark	11
Rdzeń kręgowy	
Hirnhäute	126
Opony mózgu	
Hypophyse	27
Przysadka	

*) Wegen der Multiplizität der Metastasen ist die Zahl grösser als die Zahl der Tumorfälle mit Hirnmetastasen im Obduktionsgut.

*) Z powodu występowania mnogich przerzutów, liczba przerzutów w ośrodku jest większa niż liczba badanych przypadków.

Tabelle 8. Durchschnittliche Überlebenszeit operierter und nichtoperierter Patienten mit Hirnmetastasen (Romodanov et al. 1973)

Tabela 8. Średni czas przeżycia operowanych i nie operowanych pacjentów z przerzutami do mózgu (Romodanov i wsp. 1973)

Primärtumoren Guz pierwotny	Operiert		Nicht operiert	
	Zahl der Fälle	Mittlere Überlebenszeit (Monate)	Zahl der Fälle	Mittlere Überlebenszeit (Monate)
	Operowane		Nie operowane	
	Liczba przypadków	Średni czas przeżycia (miesiące)	Liczba przypadków	Średni czas przeżycia (miesiące)
Lungenkarzinom	16	11	21	2,7
Rak płuc				
Mammakarzinom	6	18	1	5,5
Rak sutki				
Hypernephroides Karzinom	8	13,3	1	5,0
Rak nadnerzy				

D. Schreiber, W. Jänisch, K. Zimmermann

CZĘSTOŚĆ PRZERZUTÓW NOWOTWOROWYCH
DO OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO
W ZALEŻNOŚCI OD RODZAJU GUZA I WIEKU PACJENTÓW

Streszczenie

W okresie 1960—1970 wykonano w Instytucie Patologii Uniwersytetu w Halle 34.008 badań sekcyjnych. Złośliwe nowotwory poza ośrodkowym układem nerwowym stwierdzono w 9872 przypadkach (29%). U 318 osobników wykryto dwa pierwotne guzy złośliwe, co sprawiło, że liczba pierwotnych guzów wzrosła do 10.190. Przerzuty do ośrodkowego układu nerwowego obserwowano w 688 przypadkach (6,8% wszystkich guzów złośliwych). Prawie 60% przerzutów do ośrodkowego układu nerwowego pochodziło z raków płuc, każdy inny rodzaj guza nie przekraczał 10%. Częstość przerzutów raka sutka do oun wyraźnie się zmniejszyła w ostatnich latach. Złośliwe kosmówczaki i czerniaki dają względnie często przerzuty do ośrodkowego układu nerwowego przekraczając liczbę przerzutów pochodzących z raków płuc i sutka dwu- lub trzykrotnie. Wyniki te są szczególnie wyraźne kiedy rozpatruje się je razem z opublikowanymi uprzednio przez Jänischa i wsp. (1966), co dodatkowo zmniejsza błąd statystyczny.

Д. Шрайбер, В. Ениш, К. Циммерманн

ЧАСТОТА МЕТАСТАЗОВ В ЦНС В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВИДОВ ОПУХОЛЕЙ
И ВОЗРАСТА. ИССЛЕДОВАНИЕ СЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА

Резюме

С 1 января 1960 г. по 31 декабря 1970 г. в Университетском патологическом институте города Ралле (ГДР) было произведено 34 008 вскрытий. Злокачественные опухоли были найдены у 9872 умерших (29% от общего числа вскрытий). У 318 умерших нашли две первичные опухоли, так что общее число злокачественных новообразований равняется 10 190. Из них 688 метастазировали в ЦНС (6,8% от общего числа злокачественных опухолей). Почти 60% всех метастазов в ЦНС были обусловлены раком легких. Все остальные виды опухолей участвовали в общем числе случаев с метастазами в ЦНС значительно реже, не достигая 10%. При раке молочных желез частота метастазирования в ЦНС в последние годы значительно снизилась. Относительная частота метастазирования в ЦНС оказывается наибольшей при хорионэпителиомах и при меланцитобластомах. Это становится еще более убедительным, если суммировать наши данные с предыдущими результатами (Jenisch et al., 1966), получая таким образом более крупные показатели.

LITERATUR

1. Aronson S. C., Garcia J. H., Aronson B. E.: Metastatic neoplasms of the brain: their frequency in relation to age. *Cancer* (Philad.), 1964, 17, 558—563.
2. Chason J. L., Walker F. B., Landers J. W.: Metastatic carcinoma in the central nervous system and dorsal root ganglia. A prospective autopsy study. *Cancer* (Philad.), 1963, 16, 781—787.
3. Halpert B., Erickson E. E., Fields W. S.: Intracranial involvement from carcinoma of the lung. *Arch. Path.*, 1960, 69, 93—103.

4. Henschen F.: Die Tumoren des Zentralnervensystems und seiner Hüllen. Handb. spez. path. Anat. Histol., Hrsg.: O. Lubarsch, F. Henke, R. Rössle. Berlin, Göttingen, Heidelberg. Springer, 1955, Bd. 13/3, s. 657.
5. Jänisch W., Unger H., Petermann A.: Über die Häufigkeit und Herkunft von Metastasen im Zentralnervensystem. Dtsch. Z. Nervenheilk. 1966, 189, 79—86.
6. Krasting K.: Beitrag zur Statistik und Kasuistik metastatischer Tumoren, besonders der Carcinom-metastasen im Zentralnervensystem (auf Grund von 12 730 Sektionen der pathologisch-anatomischen Anstalt Basel). Z. Krebsforsch. 1906, 4, 315—379.
7. Lesse S., Netsky M. G.: Metastasis of neoplasms to the central nervous system and meninges. Arch. Neurol. Psychiat. (Chic.), 1954, 72, 133—153.
8. Richards P., McKissock M.: Intracranial metastases. Brit. med. J., 1963, 1, 15—18.
9. Romodanov A. P., Zozulja Ju. A., Sosnov Ju. D.: Metastatische Hirngeschwülste (russ.), Kiev, „Zdorovja“ 1973.
10. Rudershausen V.: Über Häufigkeit und Art der Hirngeschwülste an Hand des Sektionsmaterials des Pathologischen Institutes Heidelberg. Virchows Arch. path. Anat., 1932, 285, 318—331.
11. Störtebecker T. P.: Metastatic tumors of the brain from a neurosurgical point of view. A follow-up study of 158 cases. J. Neurosurg., 1954, 11, 84—111.
12. Weber E.: Grundriss der biologischen Statistik. 7. Aufl., Jena: Fischer 1972.

Anschrift der Verfassern: Pathologisches Institut der Martin-Luther-Universität Halle/Saale, DDR-402 Halle, Leninallee 14

ALEXANDER ARENDT

ZUR KLASSIFIKATION DER SARKOME DES ZENTRALNERVENSYSTEMS

Abteilung für Neuropathologie des Pathologischen Institutes
der Karl-Marx-Universität Leipzig, DDR

Die Ordnung der Geschwülste kann nach verschiedenen Prinzipien erfolgen. So ist eine Klassifikation nach dem Verhalten des Tumors zur Umgebung und zum Organismus, nach dem Prinzip der Organlokalisation, nach ätiologischen Faktoren, nach der vergleichenden Embryogenese und nach histogenetischen Gesichtspunkten möglich. Die histologisch-histogenetische Betrachtungsweise ist aber immer noch die einzige umfassende Methode und trotz aller erkenntnistheoretischen Fortschritte hat sich kein Weg zu einer neuen Systematik gezeigt. Die histogenetische Klassifikation der Geschwülste, beruhend auf Virchows (1863) „genetischen Standpunkt“, ist heute noch die Methode der Wahl (v. Albertini, 1956). Sie ist eine vergleichende histologische Methode, die in der Systematik vom Normalgewebe ausgeht.

Auch die Klassifikation der Hirngeschwülste, vor allem der Gliome, erfolgt nach histogenetischen Gesichtspunkten unter Berücksichtigung embryogenetischer Kriterien. Das Verhaltensprinzip hat für die Beurteilung der intrakraniellen Tumoren eine nicht zu unterschätzende Bedeutung erlangt, geht es doch in den Begriff der „biologischen Wertigkeit“ (Zülch, 1971) ein.

Eine Klassifikation nach dem Prinzip der Organlokalisation lässt sich bei allen Geschwülsten ohne Schwierigkeiten aufstellen. Jedes System dieser Art kann aber nur eine praktische Lösung sein und darf keinen Anspruch auf Wissenschaftlichkeit erheben (v. Albertini, 1956). Für die primären Sarkome des Zentralnervensystems und seiner Anhangsgebilde ist eine lokalisatorische Ordnung jedoch bisher noch üblich.

Die Benennung und damit auch Zuordnung der intrakraniellen und spinalen Sarkome wird bis heute unterschiedlich gehandhabt. Zum Teil werden diese Geschwülste nach ihrer topischen Prädilektion, zum Teil nach ihrer vermeintlichen Herkunft oder nach der Zellform benannt.

Die Begriffe „diffuse Sarkomatose der Leptomeninx“, „diffuse Sarkomatose der Gefäße“, „umschriebenes Sarkom der Arachnoidea“, „umschriebenes Sarkom der Gefäße“ und „zerebellares Sarkom“ entsprechen einem lokalisatorischen Prinzip der Klassifikation.

Bei Anerkennung einer grossen Zahl von organspezifischen Tumorsonderformen, zu denen u.a. die Geschwülste des Nervensystems zu rechnen wären, sollte eine regionale Klassifikation innerhalb des Nervensystems vermieden werden. Bereits früher haben auch wir (Arendt, 1964, 1977) vorgeschlagen, die primären Sarkome des Zentralnervensystems und seiner Anhangsgebilde nach histologisch-histogenetischen Gesichtspunkten zu ordnen. Nach diesen Prinzipien lassen sich vor allem im Gehirn und Rückenmark sowie seiner Häute folgende auftretende maligne Bindegewebstumoren unterscheiden: 1. Sarkome, die sich mit dem fibrillären Bindegewebe vergleichen lassen; 2. Sarkome, die sich mit dem retikulären Bindegewebe vergleichen lassen. Sehr seltene Formen sind die meningeale Meningiomatose, myxomatöse, chondroplastische und embryonale Sarkome.

Sarkome, die mit dem fibrillären Bindegewebe in Beziehung zu bringen sind, gehen von der Dura, der Leptomeninx oder dem Gefässbindegewebe aus. Meist handelt es sich um spindelzellige, fibroplastische Geschwülste, aber auch polymorphzellige Formen treten auf. Die in diese Gruppe gehörenden Sarkome lassen sich nicht immer von einem dedifferenzierten Meningiom oder Neurinom unterscheiden, vor allem, wenn die für diese Geschwülste typischen Architekturen nicht mehr nachweisbar sind.

Bei den Sarkomen des retikulären Bindegewebes handelt es sich vornehmlich um Retikulosarkome-Mikroglione, seltener um Lymphosarkome.

Diese Tumoren können von den perivaskulären Interferrenzonen abgeleitet werden. Auch hier treten verschiedene Reifungsstufen mit fließenden Übergängen und unterschiedlichen zellulären Elementen auf. Die histologische Abgrenzung hat gegenüber Erkrankungen des hämatopoetischen Systems, histioretikulozytären Granulomatosen, so vor allem gegenüber der zerebralen Form der Histiozytose und den intrazerebralen mykotischen Granulomen sowie gegenüber einem Oligodendrogliom, Medulloblastom, Pinealom und einer Enzephalitis zu erfolgen.

Die Einordnung des „umschriebenen Sarkoms der Gefäße“, des sogenannten monstrozellulären Sarkoms (Zülch, 1971) oder Riesenzellfibrosarkoms (Kernohan, Uihlein, 1962) ist noch umstritten. Verschiedenartige Auffassungen stehen sich bei der Deutung dieser Geschwulst gegenüber. Dieser sowohl makroskopisch als auch histologisch gut abgrenzbare Tumor wird einerseits als Sarkom, andererseits als eine Variante

des Glioblastoms (Russell, Rubinstein, 1971) angesehen. Weder die Gewebezüchtung (Kersting, 1961; Lumsden, 1971) noch die Elektronenmikroskopie (Lynn et al., 1968; Zülch, Wechsler, 1968) haben zu einer eindeutigen Zuordnung dieser Geschwulst führen können.

Die starke Proliferation mesenchymaler Elemente in einigen Glioblastomen hat dazu geführt, diese als neoplastisch anzusehen und so von Gliosarkomen zu sprechen (Rubinstein, 1972).

Bei Anerkennung der noch bestehenden Problematik in der Zuordnung einiger Hirngeschwülste wird eine allgemein verbindliche Klassifikation der Tumoren des Zentralnervensystems und seiner Anhangsgebilde berücksichtigen müssen, dass auch die primären intrakraniellen und spinalen Sarkome nur nach histologisch-histogenetischen Kriterien benannt und geordnet werden können. Der strukturelle Bauplan einer Geschwulst, charakterisiert durch das Abweichen vom normalen Gewebe ist entscheidend sowohl für die histologische Diagnose als auch für die Benennung eines Tumors. Damit bildet des Gewebsbild die Grundlage für eine brauchbare Terminologie auch der primären Sarkome des Zentralnervensystems und seiner Anhangsgebilde.

A. Arendt

KLASYFIKACJA MIĘSAKÓW OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO

Streszczenie

Aczkolwiek istnieje wiele zasad podziału nowotworów to wydaje się, że ocena histologiczno-histogenetyczna jest jak dotychczas najdokładniejsza i najlepsza. Brak jednolitej nomenklatury dla mięsaków śródczaszkowych i rdzeniowych skłaniał badaczy do klasyfikowania tych guzów zależnie od ich lokalizacji, domniemanego pochodzenia i wyglądu komórek. Mimo tych trudności wszystkie pierwotne mięsaki śródczaszkowe i rdzeniowe powinny być oceniane na podstawie kryteriów histologiczno-histogenetycznych. Wygląd pierwotnych mięsaków ośrodkowego układu nerwowego winien stanowić podstawę do opracowania użytecznego mianownictwa.

A. Arendt

КЛАССИФИКАЦИЯ САРКОМ ЦНС

Резюме

Несмотря на то, что существует много принципов классификации опухолей, представляется, что гистолого-гистогенетическая оценка является в настоящее время самой точной и наилучшей. Отсутствие единой номенклатуры внутричерепных и спинномозговых сарком склоняло исследователей к классификации этих опухолей в зависимости от их локализации, предполагаемого происхождения и вида клеток. Несмотря на эти трудности все первичные внутричерепные и спинномозговые саркомы следует оценивать на основании гистолого-гистогенетических критериев. Вид первичных сарком должен являться основой для разработки приемлемой терминологии.

LITERATUR

1. Albertini A. v.: Allgemeine Systematik der Geschwülste. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie. Hrsg.: F. Büchner, E. Letterer, F. Roulet. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1956, Bd. 6, Tl. 3.
2. Arendt A.: Histologisch-diagnostischer Atlas der Geschwülste des Zentralnervensystems und seiner Anhangsgebilde, Fischer, Jena, 1964, 1977.
3. Kernohan J. W., Uihlein A.: Sarcomas of the brain. Thomas, Springfield, Ill., 1962.
4. Kersting G.: Die Gewebezüchtung menschlicher Hirngeschwülste. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1961.
5. Lumsden C. E.: The study by tissue culture of tumours of the nervous system. In: Pathology of tumours of the nervous system. Eds.: D. S. Russell, L. J. Rubinstein, Arnold, London, 1971.
6. Lynn J. A., Panopio L. T., Martin J. H., Shaw M. L., Race G. J.: Ultrastructural evidence for astroglial histogenesis of the monstrocellular astrocytoma (So-called monstrocellular sarcoma of brain). *Cancer*, 1968, 22, 356—366.
7. Polak M.: Blastomas del sistema nervioso central y periferico. *Patologia y ordenacion histogenetica*. Lopez, Buenos Aires, 1966.
8. Rubinstein L. J.: Tumors of the central nervous system. AFI of Pathology, Washington, D.C., 1972.
9. Russell D. S., Rubinstein L. J.: Pathology of tumours of the nervous system. Arnold, London, 1971.
10. Virchow R.: Die krankhaften Geschwülste. Hirschwald, Berlin, 1863.
11. Zülch K. J.: Atlas of the histology of brain tumors. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1971.
12. Zülch K. J., Wechsler W.: Pathology and classification of gliomas. In: Progress in Neurological Surgery. Eds.: H. Krayenbühl, P. E. Maspes, W. H. Sweet. Karger, Basel, 1968, v. 2.

Anschrift des Verfassers: Abteilung für Neuropathologie des Pathologischen Institutes der Karl-Marx-Universität, DDR 701 Leipzig, Liebigstrasse 26

JERZY W. ŁAZAREWICZ

WAPŃ — TRANSPORT I ROLA W METABOLIZMIE KOMÓREK MÓZGU

STRESZCZENIE PRACY HABILITACYJNEJ

Zespół Neurochemii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
Polskiej Akademii Nauk, Warszawa

Badanie transportu jonów wapnia w mózgu prowadzono na skrawkach lub izolowanych synaptosomach (Cooke, Robinson, 1971; Stahl, Swanson, 1972; Blaustein, 1975; Goddard, Robinson, 1976), brak jest natomiast danych dotyczących transportu wapnia w ciałach komórek nerwowych i glejowych. Istnieją także rozbieżności między wynikami różnych autorów badających transport wapnia w mitochondriach mózgu (Tjioe i wsp., 1970; Carafoli, Lehninger, 1971; Böhme i wsp., 1973). Obserwowano różne efekty działania wapnia na metabolizm skrawków mózgu, jednakże ich mechanizmy nie są jasne (Takagaki, 1968; Huttunen, 1969; Ruščák, Ruščáková, 1971).

W przedstawionej pracy podjęto próbę wykazania zależności mechanizmów działania jonów Ca^{2+} na metabolizm mózgu w normie oraz w warunkach niedokrwienia od własności transportu wapnia. W tym celu badano transport wapnia w mitochondriach oraz w izolowanych i hodowanych komórkach tkanki nerwowej, a także działanie wapnia na metabolizm mózgu w warunkach *in vitro* oraz *in vivo* w ischemii.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły skrawki kory półkul mózgowych i frakcje komórek mózgu królika wzbogacone w ciała neuronów i astrocyty, izolowane metodą Hambergera i wsp. (1975), oraz hodowane *in vitro* komórki glejaka ludzkiego linii 138 MG (Pontén, Macintyre, 1968) i *neuroblastoma* myszy linii 1300, klon 41 A 3 (Augusti-Tocco, Sato, 1969). Mitochondria mózgu królików i świnek morskich izolowano metodą Oza- wy i wsp. (1966), w niektórych doświadczeniach oczyszczano je na gradiencie ficollu (Łazarewicz wsp., 1974). Synaptosomy izolowano na gra-

diencie sacharozy lub ficollu (Łazarewicz i wsp., 1974, 1977). Niedokrwienie mózgu świnek morskich, trwające do 5 minut, wywoływano przez dekapitację zwierząt. Przy badaniu transportu wapnia posługiwano się izotopem ^{45}Ca , w niektórych doświadczeniach oznaczano wapń metodą mikrofotometrii płomieniowej i spektrofotometrii absorpcji atomowej. W badaniach nagromadzania wapnia w mitochondriach, synaptosomach i izolowanych komórkach nerwowych i glejowych półkul mózgu inkubację kończono przez oziębianie i odwirowanie próby (Łazarewicz i wsp., 1974, 1975, 1977). Dynamikę uwalniania ^{45}Ca z izolowanych komórek mózgu i synaptosomów badano stosując technikę superfuzji (Łazarewicz i wsp., 1977). Aktywność heksokinazy i dehydrogenazy izocytrynianowej NADP-zależnej badano metodą spektrofotometryczną. Poziom ATP, fosfokreatyny i mleczanu oznaczano enzymatycznie metodą spektrofluorymetryczną. Oddychanie skrawków mózgu badano konwencjonalną metodą manometryczną Warburga, do pomiaru zużycia tlenu przez mitochondria stosowano elektrodę Clarka. Wbudowywanie ^{14}C -leucyny do białek i puli wolnych aminokwasów w skrawkach mózgu badano metodą konwencjonalną. Zawartość kwasów tłuszczowych w mitochondriach oznaczano metodą kolorymetryczną (Łazarewicz i wsp., 1972), a identyfikację kwasów tłuszczowych prowadzono przy użyciu chromatografii gazowej.

WYNIKI I DYSKUSJA

Badanie transportu wapnia w mitochondriach mózgu. W stosowanych warunkach doświadczalnych ograniczone nagromadzanie wapnia sprzężone z oddychaniem uzależnione od obecności fosforanu było aktywowane przez rotenon lub glutaminian (gdy substratem oddechowym był bursztynian), przez magnez w przypadku glutaminianu oraz pirogronianu i jabłczanu, a także przez $\text{ATP} + \text{Mg}^{2+}$ przy utlenianiu wszystkich substratów oddechowych. Nie potwierdzono więc obserwowanej przez Tjioe i wsp. (1970) bezwzględnej zależności nagromadzania wapnia sprzężonego z oddychaniem w mitochondriach mózgu od obecności ATP w medium inkubacyjnym. Stwierdzono, że w mitochondriach mózgu, podobnie jak w mitochondriach wątroby (Dargel, 1974) pobudzenie nagromadzania wapnia przez rotenon zależy od obecności tego inhibitora w środowisku inkubacyjnym przed dodaniem wapnia. Przypuszczalnie rotenon zapobiega gromadzeniu się szczawiooctanu, inhibitora dehydrogenazy bursztynianowej i w ten sposób aktywuje transport Ca^{2+} sprzężony z utlenianiem bursztynianu.

Stwierdzono, że sprzężony z oddychaniem ograniczony transport wapnia w mitochondriach mózgu jest aktywowany przez ATP. Działanie to nie jest związane z dostarczaniem energii do transportu (nie jest blokowane przez oligomycynę i atraktylozyd), nie polega także na wytrąceniu kompleksu nukleotydu z fosforanem wapnia w macierzy mitochondriów. ATP może zapobiegać uszkadzającemu działaniu wapnia na błony mitochondrialne przez hamowanie fosfolipazy A_2 i wiązanie nadmiaru jonów Ca^{2+} w medium inkubacyjnym.

Badania wykazały więc, że podstawowe własności transportu wapnia w izolowanych mitochondriach mózgu są podobne do ogólnych cech transportu w mitochondriach innych tkanek kręgowców, natomiast zaobserwowane odrębności dotyczą własności transportu Ca^{2+} mających drugorzędne znaczenie.

Transport wapnia w izolowanych lub hodowanych *in vitro* komórkach mózgu. Dane z piśmiennictwa, uzyskane w badaniach na skrawkach mózgu i synaptosomach (Blaustein, 1974), wskazują na zależność poziomu wapnia w komórkach mózgu od szeregu czynników. Do najważniejszych zaliczyć można bierne wnikanie Ca^{2+} , uwarunkowane przepuszczalnością błon plazmatycznych dla wapnia, które jest większe w błonach zdepolaryzowanych oraz aktywny transport Ca^{2+} na drodze wymiany z sodem, który zależy od gradientu stężeń sodu wewnątrz i na zewnątrz komórki.

Prowadzone w tej pracy równoległe badania transportu wapnia w izolowanych z mózgu frakcjach wzbogaconych w astrocyty i ciała neuronów oraz w hodowanych *in vitro* komórkach glejaka i *neuroblastoma* wykazały, że wymiana Na^+ — Ca^{2+} była znacznie wyższa w astrocytach i komórkach glejaka. Komórki te wykazywały także specyficzną wrażliwość na wzrost stężenia jonów potasu w medium inkubacyjnym, manifestującą się pobudzeniem zarówno nagromadzenia jak i uwalniania wapnia. W izolowanych ciałach neuronów oraz w komórkach *neuroblastoma* efekt ten nie występował lub był słabo wyrażony. Wynikom tym odpowiada wykazana w tej pracy mniejsza zdolność do nagromadzenia wapnia we frakcjach subkomórkowych izolowanych z ciał neuronów w porównaniu z mitochondriami i mikrosomami komórek glejowych. Jednocześnie wskazują one na możliwość pełnienia przez glej istotnej roli w transporcie i kompartmentacji wapnia w ośrodkowym układzie nerwowym.

Zależność pomiędzy transportem wapnia a metabolizmem komórek mózgu. Badano działanie wapnia na aktywność cytoplazmatycznej i mitochondrialnej dehydrogenazy izocytrynia nowej zależnej od NADP oraz heksokinazy mitochondrialnej mózgu.

Obie formy dehydrogenazy izocytrynianowej zależnej od NADP wykazały wysoką wrażliwość na hamujące działanie wapnia (70% inhibicję obserwowano przy stężeniu Ca^{2+} 0,5 mM). Efekt ten jest znoszony przez magnez w wysokich stężeniach. Wapń hamuje także aktywność heksokinazy oraz produkcję mleczanu w cytosolu mózgu, przy czym 50% hamowanie obserwowano przy stężeniu wapnia 2,5 mM. Hamowanie aktywności heksokinazy przez wapń jest znoszony przez EGTA, obniża się również w tych warunkach, w których występuje nagromadzenie wapnia w mitochondriach. Zdolność mitochondriów mózgu do gromadzenia wapnia ma więc istotne znaczenie w utrzymywaniu optymalnego wewnętrznego środowiska jonowego i zapobieganiu szkodliwemu działaniu wapnia na metabolizm komórek mózgu.

Badania, których celem było wyjaśnienie w jakim stopniu transport wapnia obciąża metabolizm energetyczny mózgu i w ten sposób pośrednio może wpływać na inne szlaki przemian, prowadzono na skrawkach mózgu. Stwierdzono, że w czasie inkubacji skrawków w środowisku Krebsa, dodanie wapnia powoduje obniżenie oddychania i glikolizy tlenowej, a jednocześnie podwyższenie wbudowywania ^{14}C -leucyny do białek i wewnątrzkomórkowej puli wolnych aminokwasów. Natomiast inkubacja skrawków mózgu w warunkach prowadzących do depolaryzacji błon i zwiększonego gromadzenia wapnia, to jest przy podwyższeniu poziomu potasu lub w obecności ouabainy w medium inkubacyjnym, zmienia radykalnie działanie wapnia na metabolizm skrawków. W tych warunkach doświadczalnych zaobserwowano pobudzenie przez wapń oddychania i glikolizy tlenowej, a hamowanie glikolizy beztlenowej. Wapń wywoływał obniżenie zawartości związków wysokoenergetycznych i obniżenie wbudowywania ^{14}C -leucyny do białek skrawków mózgu inkubowanych w warunkach tlenowych w środowiskach depolaryzujących.

Wyniki doświadczalne wskazują na istnienie różnych mechanizmów działania wapnia na metabolizm komórek mózgu, zależnych od warunków doświadczalnych. W czasie inkubacji skrawków mózgu w środowisku kontrolnym Krebsa, wapń obniża pobudliwość błon (Carnay, Grundfest, 1974) i zmniejsza zużycie energii na transport jonów, a w konsekwencji hamuje oddychanie i glikolizę. Trudno natomiast przyjąć za Takagaki (1968), że w tym przypadku wapń bezpośrednio wywiera hamujące działanie na enzymy glikolityczne komórek mózgu.

Podczas inkubacji w warunkach prowadzących do depolaryzacji błon (w obecności ouabainy lub wyższych stężeń potasu), wnikanie wapnia do komórek jest ułatwione. W warunkach tlenowych jony wapnia gromadzą się w mitochondriach. Dzięki temu procesowi utrzymywane jest stałe stężenie jonów Ca^{2+} w środowisku wewnętrznym komórki, co zapobiega modyfikującemu działaniu wapnia na aktywność licznych enzy-

mów cytoplazmatycznych. Mitochondrialny transport wapnia sprzężony z oddychaniem hamuje oksydacyjną fosforylację i zużywa w określonych warunkach doświadczalnych istotną część zasobów energetycznych komórki. W ten sposób wapń wpływa na przemianę energetyczną, zwłaszcza na oddychanie i aktywność glikolityczną, a pośrednio i na inne szlaki metaboliczne, jak biosynteza białka. Jest mało prawdopodobne, aby w tych warunkach doświadczalnych jony wapnia bezpośrednio wpływały na mechanizm biosyntezy białka w mózgu, jak sugerował Huttunen (1970).

Bezpośrednie wewnątrzkomórkowe oddziaływanie wapnia jako czynnika modyfikującego aktywność szeregu enzymów w mózgu (aktywacja procesów katabolicznych oraz hamowanie procesów anabolicznych i generujących energię) może zachodzić przy podwyższonym poziomie wapnia w cytoplazmie. Warunki dla tego stanu stwarza depolaryzacja błon przy zahamowanym gromadzeniu wapnia w mitochondriach mózgu, co w doświadczeniach *in vitro* osiągnęto przez inkubację skrawków mózgu w atmosferze beztlenowej, w środowiskach zawierających ouabainę lub wyższe stężenia potasu. Uzyskane dane sugerują ponadto, że jony wapnia odgrywają istotną rolę w mechanizmie odwrócenia efektu Pasteura w skrawkach mózgu inkubowanych w środowiskach depolaryzujących.

Wapń w procesie uszkodzenia mitochondriów w mózgu w niedokrwieniu. Wykazano, że ischemia dekapitacyjna już w pierwszych kilku minutach jej trwania prowadzi do poważnych zaburzeń podstawowych funkcji metabolicznych izolowanych mitochondriów mózgu. Zgodnie z wcześniejszymi doniesieniami Ozawy i wsp. (1966), obserwowano rozprężenie oksydacyjnej fosforylacji, ponadto stwierdzono obniżenie zdolności do gromadzenia wapnia. Zaburzeniom tym towarzyszy uwalnianie kwasów tłuszczowych. Wykazano, że egzogenne oleinian powoduje zaburzenia oksydacyjnej fosforylacji i transportu Ca^{2+} w kontrolnych mitochondriach mózgu, co świadczy o udziale nienasyconych kwasów tłuszczowych, uwalnianych w mózgu w czasie niedokrwienia, w mechanizmie uszkodzania funkcji mitochondriów. Uwalnianie kwasów tłuszczowych, głównie nienasyconych, w mitochondriach mózgu jest spowodowane hydrolizą fosfolipidów przez mitochondrialną fosfolipazę A_2 . Wykazano, że proces ten w warunkach *in vitro* jest aktywowany przez jony Ca^{2+} . *In vivo* w niedokrwieniu są spełnione warunki do bezpośredniego, wewnątrzkomórkowego oddziaływania wapnia na metabolizm mózgu. Na podstawie przedstawionych obserwacji oraz omówionych poprzednio efektów działania wapnia na metabolizm komórek mózgu przedstawiono hipotezę postulującą możliwość udziału wapnia w mechanizmie uszkodzenia mitochondriów mózgu w niedokrwieniu.

WNIOSKI

1. Podstawowe własności transportu wapnia w izolowanych mitochondriach mózgu są podobne do ogólnych cech transportu Ca^{2+} w mitochondriach innych tkanek kręgowców. Sprzężony z oddychaniem transport wapnia w mitochondriach mózgu wykazuje pewne specyficzne cechy, które mają przypuszczalnie drugorzędne znaczenie dla fizjologii komórek mózgu.

2. Transport wapnia w komórkach astrogleju i ciałach neuronów wykazuje różne własności, co wyraża się wyższą aktywnością wymiany sód—wapń w komórkach glejowych oraz specyficzną wrażliwością transportu Ca^{2+} w tych komórkach na pobudzające działanie jonów potasu.

3. Powiązanie transportu wapnia w mitochondriach z metabolizmem komórek mózgu ma złożony charakter:

— dzięki nagromadzeniu wapnia w mitochondriach jest utrzymywane prawidłowe, niskie stężenie wapnia w cytoplazmie, co zapobiega szkodliwemu działaniu wapnia na metabolizm komórek,

— zużycie energii związane z gromadzeniem wapnia w mitochondriach mózgu może doprowadzić w określonych warunkach do obniżenia potencjału energetycznego komórek mózgu i do wtórnych zaburzeń metabolicznych.

4. Wapń może w różny sposób wpływać na metabolizm skrawków mózgu *in vitro*. Zależnie od warunków doświadczalnych jony Ca^{2+} regulują pobudliwość błon plazmatycznych, działają na procesy bioenergetyczne w mitochondriach lub bezpośrednio wpływają na aktywność wrażliwych enzymów. Mechanizmy te stanowią podłoże odwrócenia efektu Pasteura w skrawkach mózgu inkubowanych w mediach depolaryzujących.

5. Aktywacja przez wapń procesów katabolicznych, a zwłaszcza lipolizy fosfolipidów błon mitochondrialnych może być jednym z elementów mechanizmu uszkodzenia mitochondriów mózgu w niedokrwieniu.

PIŚMIENNICTWO

1. Augusti-Tocco G., Sato G.: Establishment of functional clonal lines of neurons from mouse neuroblastoma. Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 1969, 64, 311—315.
2. Blaustein P.: The interrelationship between sodium and calcium fluxes across cell membranes. Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 1974, 70, 33—82.
3. Blaustein M. P.: Effects of potassium, veratridine and scorpion venom on calcium accumulation and transmitter release by nerve terminals *in vitro*. J. Physiol. 1975, 247, 617—655.
4. Böhme G., Lutze G., Pollak K. H., Winter O., Thews J., Kassebaum I.: Zur energiebedürftigen Ca^{2+} -Akkumulation in Mitochondrien aus Rattenhirn. J. Neurochem. 1973, 21, 1509—1516.
5. Carafoli E., Lehninger A. L.: A survey of the interaction of calcium ions with mitochondria from different tissues and species. Biochem. J., 1971, 122, 681—690.

6. Carnay L., Grundfest S.: Excitable membrane stabilization by diphenylhydantoin and calcium. *Neuropharmacology* 1974, 13, 1097—1108.
7. Cooke W. J., Robinson J. D.: Factors influencing calcium movements in rat brain slices. *Am. J. Physiol.* 1971, 221, 218—225.
8. Dargel R.: Effect of Ca^{2+} on coupling of rat liver mitochondria. *FEBS Letters*, 1974, 42, 57—60.
9. Goddard G. A., Robinson J. D.: Uptake and release of calcium by rat brain synaptosomes. *Brain Res.* 1976, 110, 331—350.
10. Hamberger A., Hansson H. A., Sellström Å.: Scanning and transmission electron microscopy on bulk prepared neuronal and glial cells. *Exp. Cell Res.* 1975, 92, 1—10.
11. Huttunen M. O.: Protein and ribonucleic acid metabolism in rat brain cortex slices. Thesis, Helsinki, 1969.
12. Łazarewicz J. W., Strosznajder J., Gromek A.: Effects of ischemia and exogenous fatty acids on the energy metabolism in brain mitochondria. *Bull. Acad. Pol. Sci., Ser. sci. biol.* 1972, 20, 599—606.
13. Łazarewicz J. W., Haljamäe H., Hamberger A.: Calcium metabolism in isolated brain cells and subcellular fractions. *J. Neurochem.* 1974, 22, 33—45.
14. Łazarewicz J. W., Hamberger A.: Respiration-linked limited calcium accumulation in brain mitochondria. *Bull. Acad. Pol. Sci., Ser. sci. biol.*, 1975, 23, 143—151.
15. Łazarewicz J. W., Kanje M., Sellström A.: Calcium fluxes in cultured and bulk isolated neuronal and glial cells. *J. Neurochem.* 1977, 29, 495—502.
16. Ozawa K., Seta 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.
17. Pontén J., Macintyre E. H.: Long term culture of normal and neoplastic human glia. *Acta path. microbiol. scand.*, 1968, 74, 465—486.
18. Ruščák M., Ruščáková D.: Metabolism of the nerve tissue in relation to ion movements in vitro and in situ. University Park Press, 1971.
19. Stahl W. L., Swanson P. D.: Calcium movements in brain slices in low sodium or calcium media. *J. Neurochem.* 1972, 19, 2395—2407.
20. Takagaki G.: Control of aerobic glycolysis and pyruvate kinase activity in cerebral cortex slices. *J. Neurochem.* 1968, 15, 903—916.
21. Tjioe S., Bianchi C. P., Haugaard N.: The function of ATP in Ca^{2+} uptake by rat brain mitochondria. *Biochim. biophys. Acta* 1970, 216, 270—273.

Adres autora: Zespół Neurochemii, Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, ul. Dworkowa 3, 00-784 Warszawa

WSKAZÓWKI DLA AUTORÓW

Neuropatologia Polska zamieszcza prace z zakresu neuropatologii klinicznej i doświadczalnej oraz dziedzin pokrewnych (neuroonkologii, neuroanatomii, neurochemii itp.).

Redakcja pisma przyjmuje do druku prace oryginalne i doniesienia kazuistyczne; prace poglądowe — przygotowane wyłącznie na zaproszenie Redakcji.

Neuropatologia Polska przyjmuje do druku prace w języku polskim, angielskim, francuskim i niemieckim.

Warunkiem przyjęcia pracy jest oświadczenie autora, że praca nie była drukowana w innym czasopiśmie oraz pisemna zgoda kierownika placówki/ek na jej opublikowanie.

Objętość pracy oryginalnej nie powinna przekraczać wraz z pełną dokumentacją (streszczenie, piśmiennictwo, atbele, wykresy, ryciny itp.) 20 stron, pracy kazuistycznej — 10 stron.

Prace należy przysyłać w 2 egzemplarzach w znormalizowanym maszynopisie (4-cm margines z lewej strony, 30 wierszy na stronę z zachowaniem podwójnego odstępu, bez odręcznych poprawek i podkreśleń).

Wykaz piśmiennictwa, ułożony alfabetycznie, powinien obejmować wyłącznie pozycje cytowane w pracy. W wykazie piśmiennictwa podaje się nazwiska i inicjały wszystkich autorów, tytuł pracy, nazwę czasopisma, rok, tom, pierwszą i ostatnią stronę publikacji. W przypadku źródeł książkowych — nazwisko(a) i inicjał(y) autorów, tytuł książki (ew. rozdziału), wydawcę, miejsce i rok wydania. W tekście należy podać nazwisko autora(ów) oraz rok publikacji. W przypadku, gdy autorów cytowanej pozycji jest więcej niż dwóch, należy podać nazwisko pierwszego autora ze skrótem „i wsp.”.

Ryciny ograniczone do niezbędnych powinny być oznaczone kolejnymi numerami. Wskazane jest zestawienie rycin w tablice zbiorcze o wymiarach 12,5 × 19 cm.

Redakcja prosi o nadsyłanie objaśnień i podpisów do tabel, schematów i rycin oraz streszczenia w języku polskim i angielskim.

Redakcja zastrzega sobie prawo wprowadzania koniecznych poprawek stylistycznych i zmniejszania ilości rycin bez porozumienia z autorem.

Redakcja nie zwraca maszynopisów nadesłanych prac.

Redakcja prosi autorów o dokładne sprawdzenie tekstów apelując o zwięzłość, przejrzysty układ pracy oraz staranne przygotowanie materiału ilustracyjnego.

Autorzy otrzymują pierwszą korektę pracy. W korekcie Redakcja uwzględnia jedynie błędy literowe oraz poprawki pomyłek drukarskich.

Autorzy prac zamieszczonych w *Neuropatologii Polskiej* otrzymują honorarium wg ustalonych stawek oraz 25 odbitek na koszt autora.

ZBIGNIEW M. RAP

MORFOLOGICZNA OCENA FUNKCJI POWZGÓRZOWO-PRZYSADKOWEGO UKŁADU NEUROSEKRECYJNEGO W NADCIŚNIENIU WEWNĄTRZCZASZKOWYM

STRESZCZENIE PRACY HABILITACYJNEJ

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

Podwzgórzowo-przysadkowy układ neurosekrecyjny (PPUN), zwany peptoergicznym, produkujący hormony oksytocynę i wazopresynę należy do struktur, które w stanach nadciśnienia wewnątrzczaszkowego ulegają często uszkodzeniu. U podłoża uszkodzeń tkankowych leżą zaburzenia hemodynamiczne w sieci naczyń krwionośnych zaopatrujących w krew poszczególne okolice PPUN (Kraus 1933, Wolman 1956, Rap 1967, Rap, Zaremba 1970, Rap, Liudkowskaja 1971). Z klinicznego punktu widzenia zaburzenia funkcji PPUN, ważnego ogniwa w regulacji gospodarki wodno-elektrolitowej, stanowią istotny problem w prowadzeniu chorych z uszkodzeniami ośrodkowego układu nerwowego.

Odkrycie zjawiska neurosekrecji (Scharer 1928) oraz zastosowanie histologicznych metod wybarwiania materiału neurosekrecyjnego (Bargmann 1949) jak również badania mikroskopowo-elektronowe umożliwiły morfologiczną ocenę funkcji układu neurosekrecyjnego. Mimo obszernego piśmiennictwa nadal brak jest jednoznacznej oceny odpowiedzi układu neurosekrecyjnego na wzrost ciśnienia wewnątrzczaszkowego. Dotychczasowe doniesienia z patologii ludzkiej ograniczają się w większości do oceny gromadzenia materiału neurosekrecyjnego na jednym z poziomów PPUN (Müller, Mortillaro 1957, Fiedorowa 1966, Oksche, Rabl 1968). Więcej danych na ten temat dostarczyły badania prowadzone na zwierzętach, którym wywoływano nadciśnienie wewnątrzczaszkowe (Rap, Staszewska-Barczak 1974, Rap i wsp. 1975, Rap, Chwalbińska-Moneta 1977).

Celem pracy było wykazanie przy użyciu metod morfologicznych zaburzeń funkcji przykomorowo-nadwzrokowo-przysadkowego układu

neurosekrecyjnego w warunkach ostrego i przewlekłego nadciśnienia wewnątrzczaszkowego u zwierząt doświadczalnych i u ludzi zmarłych z powodu organicznych chorób układu nerwowego.

MATERIAŁ I METODY

Materiał doświadczalny. Doświadczenia przeprowadzono na psach, kotach i królikach, którym wywoływano krwotok podpajęczynówkowy (Rap 1966) lub nadtwardówkowy ucisk mózgu (Ishii i wsp. 1959). W zależności od wysokości ciśnienia wewnątrzczaszkowego i czasu jego trwania wyodrębniono grupę z ostrym nadciśnieniem wewnątrzczaszkowym (czas przeżycia zwierząt od 4 do 6 godzin) i grupę z przewlekłym nadciśnieniem wewnątrzczaszkowym (czas przeżycia zwierząt od 24 godzin do 30 dni). W grupie z ostrym nadciśnieniem wewnątrzczaszkowym zwierzęta pozostawały na oddechu kontrolowanym. Ponadto prowadzono w sposób ciągły pomiary układowego tętniczego ciśnienia krwi i płynu mózgowo-rdzeniowego.

Autopsyjny materiał ludzki. Do badań morfologicznych pobrano PPUN od 28 zmarłych z powodu chorób naczyniowych mózgu. W zależności od czasu przeżycia chorych wyodrębniono grupę pacjentów zmarłych przed upływem 24 godzin z objawami ostrego nadciśnienia wewnątrzczaszkowego oraz grupę pacjentów zmarłych w przedziale czasu od 24 godzin do 3 miesięcy. Bloki tkankowe obejmujące PPUN utrwalano w roztworze formaliny, płynie Bouina i w płynie Rossmanna. Skrawki zatopione w parafinie krojono serią ciągłą.

Barwienia histologiczne. Gomori dodatni materiał neurosekrecyjny wybarwiano hematoksyliną chromową z floksyną i fuksyną aldehydową. Poza tym stosowano rutynowe barwienia histologiczne.

Metody histochemiczne. Złogi mukopolisacharydów obojętnych i glikogenu oceniano przy zastosowaniu reakcji PAS z kontrolnym trawieniem diastazą oraz blokowaniem grup aldehydowych dimedonem. Mukopolisacharydy kwaśne wybarwiono błękitem alcjanu przy pH 2,5 i błękitem Astra. Tłuszczowce wykrywano sudanem czarnym B.

Materiał do badań w mikroskopie elektronowym zarówno u ludzi jak i u zwierząt pobierano z nerwowej części przysadki, przeprowadzano i barwiono w sposób rutynowy. Zdjęcia wykonywano w mikroskopie elektronowym JEM 7A i Tesla SB-500.

WYNIKI

Stan czynnościowy PPUN oceniano przyjmując następujące kryteria morfologiczne:

— ocena aktywności komórek neurosekrecyjnych (ocena syntezy) jąder przykomorowych i nadwzrokowych w oparciu o 4-stopniową klasyfikację zaproponowaną przez Polenowa i Fiedorową (1966);

— zmiany w gromadzeniu i rozmieszczeniu materiału neurosekrecyjnego w szlakach i nerwowym płacie przysadki (ocena transportu i uwalniania neurohormonów);

— odkładanie mukopolisacharydów obojętnych i kwaśnych oraz glikogenu w strukturach PPUN jako wyraz wczesnych zaburzeń metabolicznych występujących w stanach niedotlenienia i niedokrwienia tkanki nerwowej;

— ultrastrukturalna weryfikacja zmian we włóknach i zakończeniach neurosekrecyjnych, kulach Herringa oraz w pituicytach.

Materiał doświadczalny

U zwierząt z ostrym nadciśnieniem wewnątrzczaszkowym neurony jąder przykomorowych i nadwzrokowych wykazywały umiarkowaną (typ II neuronu) i obniżoną (typ III) aktywność neurosekrecyjną. Obserwowano również ciemne neurony stanowiące wykładnik zmian zwyrodnieniowych (typ IV). Natomiast komórki o wysokiej aktywności neurosekrecyjnej obserwowano rzadko (typ I). Ponadto występowały komórki nerwowe, które należało uznać za postaci przejściowe. W krwotoku podpajęczynówkowym przeważał II i III typ neuronów. W ucisku nadtwardówkowym mózgu stwierdzono przewagę neuronów typu II i IV.

U zwierząt z dłuższym przeżyciem aktywność neurosekrecyjna neuronów jąder wielkokomórkowych podwzgórza wykazywała wyraźną zależność od czasu przeżycia. W 24 i 48 godzinie po wprowadzeniu krwi do przestrzeni podpajęczynówkowej przeważały neurony II typu, potem pojawiały się neurony typu III i IV, a najpóźniej I typu. Poczynając od 3 dnia występowało zwiększenie aktywności neurosekrecyjnej neuronów jąder przykomorowych i nadwzrokowych (typ I, II i III), z tym, że ciemne zwyrodniałe komórki nerwowe (typ IV) obserwowano nawet w 30 dniu po krwotoku.

Rozmieszczenie i nagromadzenie materiału neurosekrecyjnego na przebiegu szlaków podwzgórzowo-przysadkowych było różne w obu modelach doświadczalnych ostrego nadciśnienia wewnątrzczaszkowego. W krwotoku podpajęczynówkowym materiał neurosekrecyjny w postaci zbitych konglomeratów gromadził się głównie w wewnętrznej warstwie lejka przysadki i przynaczyniowo w jego warstwie zewnętrznej. W modelu nadtwardówkowego ucisku mózgu niewielka ilość drobnopięknego materiału neurosekrecyjnego była rozsiana w warstwie wewnętrznej i częściowo w warstwie zewnętrznej lejka przysadki. W przewlekłym krwotoku podpajęczynówkowym umiarkowana ilość materiału neurosekrecyjnego występowała przeważnie w postaci kul Herringa w wewnętrznej warstwie lejka.

Również nagromadzenie materiału neurosekrecyjnego w nerwowym płacie przysadki wykazywało różnice w obu modelach doświadczalnych. Znaczne ilości drobno- i gruboziarnistego materiału obserwowano w ostrym i przewlekłym krwotoku podpajęczynówkowym, znacznie mniej w nadtwardówkowym ucisku mózgu.

Przedstawionym zmianom w układzie neurosekrecyjnym towarzyszyły w obu grupach doświadczalnych uszkodzenia strukturalne (obrzęk, krwinkotoki, drobne ogniska martwicy), stanowiące następstwo zaburzeń w miejscowym krążeniu krwi. Zmiany te były bardziej nasilone i występowały częściej w ucisku nadtwardówkowym. Wtórny uszkodzeniom strukturalnym towarzyszyło zwiększone gromadzenie obojętnych mukopolisacharydów i glikogenu. W ostrym nadciśnieniu wewnątrzczaszkowym stwierdzono obfite złogi substancji PAS-dodatnich wokół naczyń krwionośnych wyniosłości środkowej, lejka i nerwowego płata przysadki oraz w warstwie podwyściółkowej komory III mózgu i jej zachyłka lejkowego. Złogi glikogenu były w tym czasie nieznaczne. W późniejszym okresie (2—9 dni) krwotoku podpajęczynówkowego wzrastało znacznie odkładanie się glikogenu w PPUN. Łańcuszkowate układy ziaren glikogenu obserwowane w lejku przysadki były prawdopodobnie związane z włóknami neurosekrecyjnymi, względnie z wypustkami komórek glejowych. Pojedyncze ziarna glikogenu lub ich skupienia spotykano w balonowato rozdętych tworach, odpowiadających pustym kulom Herringa (6 μm — 200 μm) rozmieszczonych w wewnątrzprzysadkowej części lejka i nerwowym płacie przysadki.

Badania mikroskopowo-elektronowe poszerzyły spostrzeżenia z mikroskopu świetlnego. W obu modelach ostrego nadciśnienia wewnątrzczaszkowego obserwowano zmiany we włóknach neurosekrecyjnych i ich zakończeniach bardziej nasilone w nadtwardówkowym ucisku niż w krwotoku podpajęczynówkowym. Polegały one na obrzmieniu włókien neurosekrecyjnych i ubytku ziaren neurosekrecyjnych, którym towarzyszył wzrost liczby jasnych pęcherzyków o średnicy 500 Å. Zachowane we włóknach ziarna neurosekrecyjne wykazywały zróżnicowane nieprawidłowości strukturalne. Część z nich była pozbawiona osmofilnej treści, a pozostałe wykazywały cechy rozpadu. Równocześnie ze zmianami we włóknach neurosekrecyjnych i kulach Herringa, w których zwiększała się ilość tzw. ciał fagozomalnych obserwowano zmiany reaktywne w pituicytach. Manifestowały się one występowaniem wodniczek między blaszkami błony jądrowej i tworzeniem układów syncycjalnych z włóknami neurosekrecyjnymi, w wyniku czego w cytoplazmie pituicytów znajdowano ziarna neurosekrecyjne.

U zwierząt z przewlekłym nadciśnieniem wewnątrzczaszkowym charakter zmian odzwierciedlał współistnienie procesu zwyrodnieniowego i regeneracyjnego. Zmiany regeneracyjne we włóknach neurosekrecyj-

nych wyrażały się poza obecnością ziaren elementarnych, występowaniem struktur tubularnych i umiarkowanej ilości ciał fagozomalnych. Podobnie jak u zwierząt z krótkim przeżyciem obserwowano zmiany w strukturze ziaren neurosekrecyjnych, przy czym na podkreślenie zasługuje występowanie w nich wtęretów glikoproteidowych. Mniej nasilone zmiany zwyrodnieniowe we włóknach neurosekrecyjnych i kulach Herringa wyrażały się obecnością licznych tworów wieloblaszkowych i wielopęcherzykowych, a niekiedy występowaniem obfitych złogów glikogenu i kropli tłuszczu. Podobnie zróżnicowane zmiany obserwowano w pituicytach.

Autopsyjny materiał ludzki

W grupie przypadków z ostrym nadciśnieniem wewnątrzczaszkowym neurosekrecyjne komórki jąder wielokomórkowych podwzgórza wykazywały cechy umiarkowanej i obniżonej aktywności neurosekrecyjnej (typ II i III), obserwowano również neurony IV i I typu. W zależności od czasu przeżycia chorych stwierdzano zmiany proporcji poszczególnych typów neuronów neurosekrecyjnych. Częściej niż w materiale doświadczalnym obserwowano neurony o cechach zwyrodnienia aksonalnego. W obrębie jąder nerwów przykomorowych i nadwzrokowych znajdowano cienie komórek nerwowych oraz opustoszenia komórkowe. O gromadzeniu i rozmieszczeniu materiału neurosekrecyjnego w szlakach podwzgórzowo-przysadkowych i w nerwowym płacie przysadki decydowały występujące w nich wtórne zmiany naczyniopochodne. Materiał Gomori dodatni występował w postaci drobnych ziarnistości lub zbitych konglomeratów położonych wokół naczyń krwionośnych i w brzegach ognisk uszkodzenia. W drugiej grupie przypadków w lejku i nerwowym płacie przysadki znajdowano duże, bezjądrzaste kule o rozmiarach od 150 μm do 400 μm wypełnione polichromatycznymi ziarnistościami. We wszystkich badanych przypadkach w strukturach PPUN odkładały się w dużych ilościach obojętne mukopolisacharydy. Odkładanie się glikogenu zwiększało się w okresie od 2 do 14 dnia po uszkodzeniu ośrodkowego układu nerwowego. Glikogen gromadził się przede wszystkim w neuropilu wyniosłości środkowej, w mniejszym stopniu w lejku i nerwowym płacie przysadki, a ponadto w wyżej wymienionych kulach ziarnistych. Ziarnistości wykazujące dodatni odczyn PAS po blokowaniu dimedonem, wybarwiały się również błękitem alcjanu, co może wskazywać na obecność kwaśnych mukopolisacharydów.

Zmiany ultrastrukturalne w nerwowym płacie przysadki u ludzi zmarłych przed upływem 24 godzin charakteryzował znaczny ubytek

ziarnistości elementarnych we włóknach neurosekrecyjnych i ich zakończeniach z równoczesnym zwiększeniem liczby jasnych pęcherzyków (o średnicy 500 Å). W części włókien neurosekrecyjnych i w kulach Herringa obserwowano zwiększoną ilość ciał fagozomalnych, zwykle w postaci jedno-, dwu i wieloblaszkowych lub wielopęcherzykowych. Znaczne nasilenie zmian zwyrodnieniowych występowało w drugiej grupie przypadków. Sporadycznie znajdowano tzw. regeneracyjne formy kul Herringa i zakończeń neurosekrecyjnych, szczególnie bogatych w struktury tubularne i mitochondria. Pituicyty wykazywały cechy zwyrodnienia gromadząc liczne kule tłuszczowe i materiał lipofuscynopodobny. Odrębnym elementem strukturalnym znajdującym się w nerwowej części przysadki były olbrzymie komórki o budowie gruczołowej, z nieregularnym małym jądrem i licznymi fagozomami. Wewnątrz fagozomów spotykano resztki włókien neurosekrecyjnych i dobrze zachowanymi ziarnami elementarnymi, kule tłuszczowe i dużą ilość materiału lipofuscynopodobnego.

OMÓWIENIE

Przedstawione badania morfologiczne PPUN u zwierząt i ludzi z ostrym i przewlekłym nadciśnieniem wewnątrzczaszkowym wskazują na pobudzenie jego aktywności. Stopień pobudzenia układu neurosekrecyjnego był zależny od rodzaju, natężenia i czasu działania czynnika uszkadzającego oraz zaburzeń w krążeniu mózgowym i w układzie naczyniowym okolicy podwzgórzowo-przysadkowej. W ostrym nadciśnieniu wewnątrzczaszkowym stwierdzano wysoką aktywność PPUN, podczas gdy w przewlekłym nadciśnieniu ulegała ona stopniowemu obniżeniu. Nadtwardówkowy ucisk mózgu wywołuje najsilniejszą reakcję ze strony PPUN. Wyrazem zwiększonej funkcji PPUN była umiarkowana i obniżona aktywność neuronów jąder nadwzrokowych i przykomorowych oraz niewielkie ilości materiału neurosekrecyjnego w szlakach i w nerwowym płacie przysadki. Podobne zmiany w PPUN obserwowano u ludzi z ostrym i przewlekłym nadciśnieniem wewnątrzczaszkowym, jakkolwiek w tym przypadku ocena transportu i gromadzenia materiału neurosekrecyjnego narażała na znaczne trudności, które były spowodowane obecnością ognisk martwicy w lejku przysadki. Wysoką aktywność przejawiał również PPUN w ostrym krwotoku podpajęczynówkowym. W tym zespole chorobowym przy obniżonej i umiarkowanej aktywności neuronów neurosekrecyjnych jąder wielkokomórkowych podwzgórza obserwowano zwiększony transport materiału neurosekrecyjnego. W przewlekłym nadciśnieniu wewnątrzczaszkowym, w zależności od czasu jego trwania, następowało stopniowe obniżanie aktywności PPUN.

Przemawiał za tym wzrost liczby neuronów o wysokiej aktywności neurosekrecyjnej i umiarkowane ilości gromadzonego materiału neurosekrecyjnego w szlakach i w nerwowym płacie przysadki.

Na obraz zmian występujących w przypadku wzmożonego ciśnienia śródczaszkowego składają się procesy odczynowe, zwyrodnieniowe i regeneracyjne. Zmiany reaktywne, obserwowane zarówno w materiale ludzkim jak i doświadczalnym, wyrażały się w zróżnicowaniu aktywności neurosekrecyjnej jąder wielkokomórkowych podwzgórza, ubytkiem ziaren elementarnych we włóknach neurosekrecyjnych i ich zakończeniach oraz zmianami w strukturze ziaren elementarnych. Towarzyszyły im objawy egzocytozy błon włókien neurosekrecyjnych (Barner, Lederis 1966). Procesy wsteczne były reprezentowane przez zmiany w strukturze komórek nerwowych jąder nadwzrokowych i przykomórkowych. Ciemne obkurczone neurony spotykane w obu jądrach neurosekrecyjnych podwzgórza mogły być zarówno wyrazem ich hyperfunkcji jak i stanowić następstwo upośledzonego ukrwienia tkanki. Ten typ komórek występował najczęściej u zwierząt z uciskiem nadtwardówkowym mózgu oraz w ostrym i przewlekłym krwotoku podpajęczynówkowym. W jądrach wielkokomórkowych podwzgórza u ludzi przeważały natomiast neurony z cechami centralnej chromatolizy. Ten typ uszkodzenia neuronów neurosekrecyjnych odnieść należy do uszkodzenia ich wypustek osiowych w związku z obecnością ognisk naczyńopochodnych w lejku przysadki.

Inwolucyjne zmiany we włóknach neurosekrecyjnych, ich zakończeniach i kulach Herringa wyrażały się wzrostem ilości ciał polimorficznych występujących pod postacią ciemnych, błoniastych lub wielopęcherzykowych tworów oraz ubytku ziaren elementarnych i mitochondriów. Ten typ zmian przeważał w materiale ludzkim. Wydaje się przy tym, że analiza materiału pobranego do badania w 6 do 14 godzin po zgonie dopuszcza traktowanie tych zmian jako uszkodzenia przeżyciowe. Spotykane u ludzi wykładniki zwyrodnienia włókien neurosekrecyjnych i kul Herringa były podobne do opisywanych u zwierząt doświadczalnych, którym przecinano lejek lub przetrzymywano na bezpłynowej diecie (Dellmann, Rodriguez 1970, Dellmann 1973, Polenow i wsp. 1975), a także u zwierząt poddanych szokowi hypowolemicznemu (Rap 1975). W przewlekłym krwotoku podpajęczynówkowym u zwierząt stwierdzano wypełnione złogami glikogenu wyrodniejące kule Herringa, niespotykane w doświadczalnym ucisku nadtwardówkowym ani w materiale ludzkim. Strukturą, wymagającą omówienia były kule ziarniste, wypełnione polichromatycznymi ziarnami, występujące w obrębie nerwowej części przysadki u ludzi. Wydaje się, że kule te są zwyrodniałymi komórkami żernymi, natomiast zawarte w nich ziarnistości

odpowiadają autofagozomom wypełnionym materiałem lipofuscynopodobnym, resztkami włókien neurosekrecyjnych i kulami tłuszczu.

Za wykładniki zmian regeneracyjnych w neuronach neurosekrecyjnych należy uznać obecność ich postaci o zróżnicowanej aktywności neurosekrecyjnej jak i ich formy przejściowe. Za zmiany o cechach regeneracyjnych we włóknach i zakończeniach neurosekrecyjnych oraz kulach Herringa uznać należy zwiększenie ilości struktur tubularnych, mitochondriów i ciemnych błoniastych tworów. Występowały one znacznie częściej u zwierząt z przewlekłym krwotokiem niż u ludzi.

Odkładanie się materiału PAS-dodatniego i glikogenu w PPUN było zależne od stopnia niedotlenienia i niedokrwienia jego struktur (Szymańska i wsp. 1974, Zelman i wsp. 1974, Rap 1975, 1976). W ostrym nadciśnieniu wewnątrzczaszkowym u zwierząt i u ludzi obserwowano przewagę PAS-dodatniego materiału o cechach obojętnych mukopolisacharydów, natomiast w stanach przewlekłego nadciśnienia wewnątrzczaszkowego zwiększało się odkładanie glikogenu, zarówno we włóknach neurosekrecyjnych jak i kulach Herringa.

Przedstawiona charakterystyka morfologiczna PPUN może stanowić wykładnik jego czynnościowej aktywności. Ocena poziomu wazopresyny we krwi u zwierząt z ostrym nadciśnieniem wewnątrzczaszkowym wykazała znaczny wzrost jej stężenia w granicach od 7,6 do 720 $\mu\text{U}/\text{ml}$ krwi (Rap, Chwalbińska-Moneta 1977). Tak znaczny wzrost wazopresyny we krwi może wywierać wpływ zarówno na układ krążenia jak i na gospodarkę wodno-elektrolitową ustroju.

PISMIENNICTWO

1. Barrer R., Lederis K.: Ultrastructure of the rabbit neurohypophysis with special reference to the release of hormones. *Z. Zellforsch.* 1966, 75, 201—239.
2. Bargmann W.: Über die neurosekretorische Verknüpfung von Hypothalamus und Neurohypophyse. *Z. Zellforsch.* 1949, 34, 610—634.
3. Dellmann H. D., Rodriguez E. M.: Herring bodies: An electron microscopic study on local degeneration and regeneration of neurosecretory axons. *Z. Zellforsch.* 1970, 111, 293—315.
4. Dellmann H. D.: Degeneration and regeneration of neurosecretory system. W: *Internat. Review of Cytology*. Eds.: S. H. Bourne, J. F. Damelli, K. W. Jeon. Academic Press., New York-London 1973.
5. Fiedorowa L. A.: Morfologičeskije izmjenienija w gipotalamo-gipofizarnoj neurosekretornoj sistiemie w ostrom pieriodie zakrytoj trawmy czerepa u golownowo mozga. Aftoreferat. Institut Experimentalnoj Mediciny, A.M.N. Leningrad, 1966.
6. Ishii S., Haymer R., Kelley W. A., Evans J. P.: Studies of cerebral swelling. II. Experimental cerebral swelling produced by supratentorial extradural compression. *J. Neurosurg.* 1959, 16, 152—166.

7. Kraus E. J.: Über nekrobiotische Veränderungen in der Hypophyse insbesondere in Hypophysenstiel bei chronischen Hirndruck. *Virchows Arch.* 1933, 290, 658—668.
8. Müller W., Mortillaro E.: Der Neurosekretgehalt in Hypophysenhinterlappen des Menschen bei intrakraniellen raumfordernden Prozessen. *Acta endocr. (Kbh)* 1957, 24, 153—158.
9. Oksche A., Rabl R.: Über das Verhalten des Neurosekretorischen Zwischenhirnsystem des Menschen unter pathologischen Bedingungen. *Z. Zellforsch.* 1964, 63, 418—446.
10. Polenow A. L., Fiedorowa L. A.: Sowremiennyje metody diagnostyki i leczenia niewrochirurgicznych zabołewanii. *Niewrochir. Żur.* 1966, 4, 141—163.
11. Polenow A. L., Ugrumow M. W., Belenky M. A.: On degeneration of peptergic neurosecretory fibres in the albino rat. *Cell Tissue Res.* 1975, 160, 113—123.
12. Rap Z. M.: Zmiany morfologiczne w podwzgórze, lejku i przysadce mózgowej w krwotokach podjąęczynówkowych i dokomorowych u królików. *Neuropat. Pol.* 1966, 1, 23—52.
13. Rap Z. M.: Zmiany morfologiczne w układzie podwzgórzowo-przysadkowym ze szczególnym uwzględnieniem lejka przysadki w krwotokach śródczaszkowych u ludzi. *Neuropat. Pol.* 1967, 5, 297—319.
14. Rap Z. M., Zaremba J.: Pathomechanism of secondary morphological lesions in the hypothalamo-hypophyseal system in cases of increased intracranial pressure. *Pol. Med. J.* 1971, 1, 187—207.
15. Rap Z. M., Liudkowskaja I. G.: Secondary morphological lesions in the hypothalamo-hypophyseal systems in case of thrombosis and stenosis of internal carotid arteries. *Polish Med. J.* 1971, 5, 1201—1213.
16. Rap Z. M., Szumańska G., Gajkowska B.: Influence of experimental subarachnoid hemorrhage on the occurrence of glycogen in hypothalamo-hypophyseal system of rabbits. *Neuropat. Pol.* 1975, 13, 33—47.
17. Rap Z. M., Staszewska-Barczak J.: Adrenergic response and morphologic changes in the neurosecretory system and adrenal cortex during intracranial hypertension in cats. *Proc. VIIth Internat. Congress Neuropath., Eds. S. Koernyey, S. Tariska, S. Gostonyi. Excerpta Medica, Amsterdam, Akademiai Kiado, Budapest* 1975, 623—626.
18. Rap Z. M.: Morphological changes in the hypothalamo-hypophyseal system after short-lasting hypovolemic shock. *Internat. Symp. Pathophysiological, biochemical and morphological aspects of cerebral ischemia and arterial hypertension. Warsaw, 1975. Abstracts.*
19. Rap Z. M.: Effects of intracranial hypertension on glycogen accumulation in neurohypophysis. *Proc. VIIth Internat. Symp. on Neurosecretion. Leningrad* 1976.
20. Rap Z. M., Chwalbińska-Moneta J.: Vasopressin concentration in the blood during acute short-lasting intracranial hypertension in cats. *Internat. Symp. E. Riesch on the pathology of cerebrospinal microcirculation. Berlin* 1977. Raven Press — w druku.
21. Scharrer E.: Die Lichtempfindlichkeit blinder Erlitzen (Untersuchungen über das Zwischenhirn der Fische). *Ztschr. vergl. Physiol.* 1928, 7, 1—38.
22. Szumańska G., Gadamski R., Czernicki Z., Jurkiewicz J., Teżycka J.: Zmiany histochemiczne w mózgu kota w doświadczalnym ucisku nadtwardówkowym. *Neuropat. Pol.* 1974, 12, 447—459.

23. Wolman L.: Pituitary necrosis in intracranial pressure. *J. Path. Bact.* 1956, 72, 575—586.
24. Zelman I. B., Szewczykowski J., Jurkiewicz J., Czernicki Z.: Patomorfologia w doświadczalnym uciskowym obrzęku mózgu u kota. *Neuropat. Pol.* 1974, 12, 425—434.

Adres autora: Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, ul. Dworkowa 3, 00-784 Warszawa

T R E Ś Ć

M. Wender, Z. Adamczewska, J. Pankrac, A. Wajgt: Lipidy mieliny w encefalopatii cyjanowej	153
M. Wender, J. Stanisławska, H. Filipek-Wender: Estrы cholesterolu mózgu w encefalopatii cyjanowej	163
H. Szydłowska, M. Śmiałek, M. Sikorska: Wpływ kwasu tioktanowego i pirofosforanu tiaminy na zawartość glikogenu i aktywność α -4-glukozylotransferazy UDPglukoza-glikogen w mózgu szczura po zatruciu tlenkiem węgla	173
A. Jędrzejewska-Iwanowska, M. B. Gabryelewicz: Morfologiczny obraz mózgu w zawałach mięśnia serca	181
R. Gadamski, G. Szumańska, M. Borkowski, J. Wesołowski, B. Ratyński: Zmiany aktywności acetylocholinesterazy w rdzeniu kręgowym psów po czasowym zaciśnięciu aorty piersiowej	191
M. Dąbska, A. Danielewicz-Kotowicz: Badania morfologiczne mielinizacji niektórych struktur mózgu królika	203
M. Wender, M. B. Kozik: Histochemia enzymów neurogleju w chorobach demielinizacyjnych	211
J. M. Zabotyński, H. W. Konowałow, L. A. Fiodorowa, E. I. Czumasow: Niektóre podstawowe problemy morfo- i patogenezy demielinizacyjnych chorób układu nerwowego	219
H. Chmielewski, K. Mądry, H. Cukrowska, Z. Maciejek: Zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej krwi i płynu mózgowo-rdzeniowego u chorych ze stwardnieniem rozsianym	233
C. Majtényi: Zespół Marchiafava-Bignami u kobiety	241
E. Tarnowska-Dziduszko, J. Kahl-Kunstetter: Przypadek bąblowca o niezwykłym przebiegu klinicznym i obrazie morfologicznym	249
H. J. Holzhausen: Ultrastruktura doświadczalnych nerwiaków szczura	259
D. Schreiber, W. Jänisch, K. Zimmermann: Częstość przerzutów nowotworowych do ośrodkowego układu nerwowego w zależności od rodzaju guza i wieku pacjentów	269
A. Arendt: Klasyfikacja mięsaków ośrodkowego układu nerwowego	281
J. W. Łazarewicz: Wapń — transport i rola w metabolizmie komórek mózgu. Streszczenie pracy habilitacyjnej	285
Z. M. Rap: Morfologiczna ocena funkcji podwzgórzowo-przysadkowego układu neurosekrecyjnego w nadciśnieniu wewnątrzczaszkowym. Streszczenie pracy habilitacyjnej	293

СО Д Е Р Ж А Н И Е

М. Вендер, З. Адамчевска, Я. Панкрац, А. Вайгт: Липиды миелина при цианистой энцефалопатии	153
М. Вендер, Я. Станиславска, Х. Филипек-Вендер: Эфиры холестерина мозга при цианистой энцефалопатии	163
Х. Шьдловска, М. Смялек, М. Сикорска: Влияние липоевой кислоты и пиррофосфата тиамина на уровень гликогена и на активность глюкозилтрансферазы УДФ-глюкоза гликоген в мозгу крыс после отравления окисью углерода	173
А. Енджейевска-Ивановска, М. Габрыелевич: Морфологические изменения в мозгу при инфарктах миокарда	181
Р. Гадамски, Г. Шуманьска, М. Борковски, Е. Весоловски, Б. Ратыньски: Изменения активности ацетилхолинэстеразы в спинном мозге собак после временного зажима грудной аорты	191
М. Домбска, А. Данелевич-Котович: Морфологические исследования миелинизации некоторых структур мозга кролика	203
М. Вендер, М. Козик: Гистохимия ферментов нейроглии при демиелинизирующих болезнях	211
Ю. М. Жаботинский, Г. В. Коновалов, Л. А. Федорова, Е. И. Чумасов: Некоторые актуальные вопросы морфо- и патогенеза демиелинизирующих заболеваний нервной системы	219
Х. Хмелевски, К. Мондры, Х. Цукровска, З. Мацейек: Нарушения кислотно-щелочного равновесия крови и спинномозговой жидкости у больных рассеянным склерозом	233
Ц. Майтеньи: Синдром Маркиафавы-Биньями у женщины	241
Э. Гарновска-Дидушко, Я. Каль-Кунстеттер: Случай эхинококка мозга с необычным клиническим течением и морфологической картиной	249
Х. И. Хольцхаузен: Ультраструктура экспериментальных невром крысы	259
Д. Шрайбер, В. Енищ, К. Циммерманн: Частота метастазов в ЦНС в зависимости от видов опухолей и возраста (исследование секционного материала)	269
А. Арендт: Классификация сарком ЦНС	281
Е. В. Лазаревич: Транспорт и роль кальция в метаболизме мозга	285
З. М. Рап: Морфологическая оценка функции гипоталамо-гипофизарной нейросекреторной системы при внутричерепном давлении	293

CONTENTS

M. Wender, Z. Adamczewska, J. Pankrac, A. Wajgt: Myelin lipids in cyanide encephalopathy	153
M. Wender, J. Stanisławska, H. Filipek-Wender: Cerebral cholesteryl esters in cyanide encephalopathy	163
H. Szydłowska, M. Śmiałek, M. Sikorska: The effect of thioctic acid and thiamine pyrophosphate on glycogen level and UDPglucose : glycogen glucosyltransferase activity in rat brains following carbon monoxide intoxication	173
A. Jędrzejewska-Iwanowska, M. B. Gabryelewicz: Morphology of cerebral changes in heart infarcts	181
R. Gadamski, G. Szumańska, M. Borkowski, J. Wesółowski, B. Ratyński: The changes of acetylcholinesterase activity in spinal cord of the dogs after temporary occlusion of dorsal part of aorta	191
M. Dąbska, A. Danielewicz-Kotowicz: Morphological study on myelination of some structures of rabbit brain	203
M. Wender, M. B. Kozik: Enzyme histochemistry of the neuroglia in demyelinating diseases	211
J. M. Zhabotinsky, H. V. Konovalov, L. A. Fedorova, E. I. Chumàsov: Some fundamental questions of morpho- and pathogenesis of demyelinating diseases of the nervous system	219
H. Chmielewski, K. Mądry, H. Cukrowska, Z. Maciejek: Acid-base equilibrium disturbances in patients with multiple sclerosis	233
C. Majtényi: A female case of Marchiafava-Bignami syndrome	241
E. Tarnowska-Dziduszko, J. Kahl-Kunstetter: Unusual clinical course and morphological picture of an Echinococcus cerebri case	249
H. J. Holzhausen: Elektronenmikroskopische Befunde bei Tierexperimentellen Nerventumoren der Ratte	259
D. Schreiber, W. Jänisch, K. Zimmermann: Die Frequenz von Metastasen im Zentralnervensystem (ZNS) in Abhängigkeit von Tumorarten und Lebensalter. Eine Untersuchung am Obduktionsgut	269
A. Arendt: Zur Klassifikation der Sarkome des Zentralnervensystems	281
J. W. Lazarewicz: Calcium — transportation and role in brain metabolism	285
Z. M. Rap: Morphological evaluation of the function of hypothalamo-hypophyseal neurosecretory system under condition of intracranial hypertension	293

WARUNKI PRENUMERATY

Cena prenumeraty krajowej:

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

Prenumeratę na kraj przyjmują Oddziały RSW „Prasa — Książka — Ruch” oraz urzędy pocztowe i doręczyciele — w terminach:

- do 25 listopada na styczeń, I kwartał, I półrocze roku następnego i na cały rok następny,
- do dnia 10 miesiąca, poprzedzającego okres prenumeraty, na pozostałe okresy roku bieżącego.

Jednostki gospodarki uspołecznionej, instytucje i organizacje społeczno-polityczne składają zamówienie w miejscowych Oddziałach RSW „Prasa — Książka — Ruch”.

Zakłady pracy i instytucje w miejscowościach, w których nie ma Oddziałów RSW, oraz prenumeratorzy indywidualni zamawiają prenumeratę w urzędach pocztowych lub u doręczycieli.

Prenumeratę ze zleceniem wysyłki za granicę, która jest o 50% droższa od prenumeraty krajowej, przyjmuje RSW „Prasa — Książka — Ruch”, Centrala Kolportażu Prasy i Wydawnictw, ul. Towarowa 28, 00-958 Warszawa, konto PKO nr 1531-71 — w terminach podanych dla prenumeraty krajowej.

*

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: 36668