

P105

EQZ 2  
ISSN 0028-3894



STOWARZYSZENIE NEUROPATOLOGÓW POLSKICH

# NEUROPATOLOGIA POLSKA

TOM XIX

1981

ZESZ. 3

---

WARSZAWA

137-DW  
<http://rcin.org.pl>

# NEUROPATHOLOGIA POLSKA

K W A R T A L N I K

---

Tom XIX

LIPIEC-WRZESIEŃ

Nr 3

---

## KOMITET REDAKCYJNY

*Jolanta Borowska-Lehman, Maria Dąbbska, Jerzy Dymecki, Andrzej Goncerzewicz, Janusz Groniowski, Adam Kunicki, Tadeusz Majdecki, Mirosław J. Mossakowski, Janina Rafałowska, Mieczysław Wender, Irmina Zelman*

## PRZY WSPÓŁPRACY

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

## REDAKCJA ŚCISŁA

*Janusz Groniowski, Adam Kunicki, Mieczysław Wender, Irmina Zelman*

## REDAKCJA

Redaktor Naczelny: *Mirosław J. Mossakowski*

Sekretarz Redakcji: *Halina Weinrauder*

## ADRES REDAKCJI

Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej Polskiej Akademii Nauk,  
ul. Dworkowa 3, 00-784 Warszawa, tel. 49-82-79, 49-70-18

Wydawca

PAŃSTWOWY ZAKŁAD WYDAWNICTW LEKARSKICH

ANNA FIDZIAŃSKA, IRENA NIEBRÓJ-DOBOSZ, JANINA RAFAŁOWSKA  
BARBARA RYNIEWICZ

## CORRELATIVE MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL STUDIES IN A CASE OF SUBACUTE PROGRESSIVE PANENCEPHALOMYELITIS CAUSED BY PARAMYXOVIRUS

Department of Neurology, School of Medicine, Warszawa  
Head of the Department: prof. dr. I. Hausmanowa-Petrusewicz

Subacute sclerosing leucoencephalitis (SSLE) (van Bogaert, 1949), or subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) (Greenfield, 1950), has long been attracting the interest of clinicians, neuropathologists, immunologists, and virologists. The etiology and pathogenesis of the disease are still incompletely understood. In commonly encountered Cowdry's A-type inclusions (Crome, Guthrie 1963; Ostrowska, 1967), structures corresponding to paramyxovirus have been demonstrated by electron microscope (Herndon, Rubinstein, 1968). This and the raise of the measles virus antibody titer (Connolly, 1968) provided the basis for assuming the measles virus being the etiological agent in SSPE (Adams, 1968), especially since immunomorphological studies revealed the measles virus antigen (Jenis et al., 1973). Experiments with inoculating biopsy material, however, often gave negative results (Foley, Williams, 1953; Perier et al., 1968).

Recently the measles virus (Edmonton virus) has been shown not to be identical with that isolated from SSPE cases. The structure of protein M in SSPE differs from that of the measles virus (Hall et al., 1978; Wechsler, Field, 1978).

The results of immunological studies are not unequivocal either (Perier et al., 1968). Demonstration of a statistically significant raise of the Epstein-Bar virus antibody titer (Gotlieb-Stematsky et al., 1975) suggests that a different etiology may be considered.

The diagnostic, clinical, and morphological difficulties justify the presentation of the following case.

### CASE REPORT

Girl, aged 6 1/2 year; second normally delivered child after uncomplicated pregnancy; weight at birth 3260 g. Began walking at 18 months; psychomotor development otherwise normal.

History: occasional nasopharyngeal infections; measles at 12 months. Family history uncontributory.

The girl was admitted to the Department of Neurology in Warsaw after 2 months of disease, at the age of 4 years and 4 months in September 1973. She was found to suffer from numerous akinetic fits with loss of consciousness and dropping of the head. Objective abnormalities included exaggerated knee jerks, unsteady gait and clumsiness. Mental development was at the level of 3 years old child.

Laboratory findings: routine analyses of blood, urine and cerebro-spinal fluid were normal. Serum measles virus antibody titer 1:64, CSF -- 1:8. Conduction velocity in peripheral nerves and biopsy of the sural nerve were normal. EEG record revealed burst of delta, theta, sharp waves and spike discharges.

During further observation at the outpatient department progressing mental deterioration and an increasing frequency of seizures were noted; at the age of about 4 years and 10 months the girl stopped walking, speaking and obeying the orders.

Readmitted to the Department in September 1975, at the age of 6 years and 4 months, she did neither walk, speak, nor report physiological needs. There were very frequent akinetic fits. Her condition worsened rapidly and she developed respiratory disturbances with high fever. She died at the age of 6 1/2 year, after 2 years and 4 months of illness.

Laboratory findings at the time of in- and outpatient care ruled out an inflammatory process, inborn metabolic disorders, metachromatic leukodystrophy, and a proliferative process. The diagnosis was Lennox-Gastaut syndrome in a course of CNS degenerative process.

#### NEUROPATHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL EXAMINATION

Autopsy showed passive hyperemia of viscera, bilateral lobular pneumonia, state after tracheostomy, and clubfeet (Dr. P. B. Kozłowski).

Formalin-fixed and paraffin-embedded sections of the two cerebral hemispheres, mesencephalon, brain stem and many spinal cord segments were stained or impregnated with hematoxylin-eosin, van Gieson, Klüver-Barrera, Holmes, Cajal (paraffin sections). Mallory's phosphotungstic acid hematoxylin and Hortega methods.

For biochemical myelin analyses specimens were taken from the white matter of the frontal and occipital lobes and from the thoracic spinal cord. Corresponding control specimens were obtained from a 5-year old girl who died of rheumatic disease and showed only brain edema in gross neuropathological examination. The myelin was isolated for all biochemical analyses by the method of Agrawal et al. (1974). The total lipids were determined after

Skiński and Barclay (1969) and neutral lipids were separated by the chromatographic method of Müller and Vahar-Matiar (1974). The sections for electron microscopy were prepared routinely.

Neuropathological examination revealed the following:

1) Perivascular and diffuse hematogenic inflammatory infiltration of the leptomeninges and brain tissue by mononuclears, mostly lymphocytes, but also plasma cells and monocytoïds, the latter found mainly in the leptomeninges.

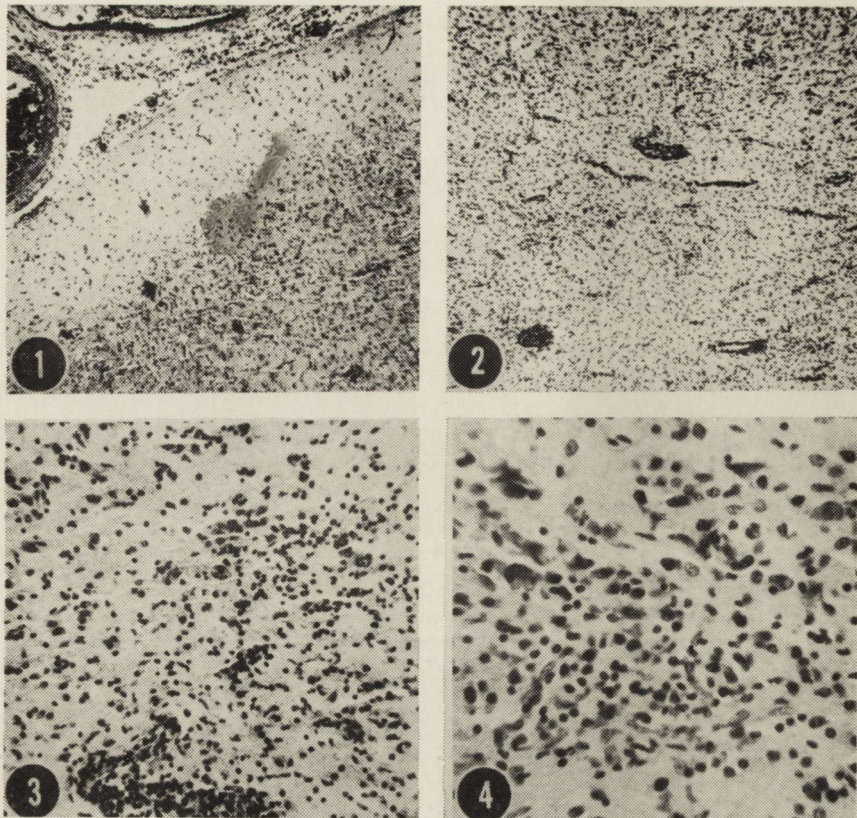
Cuffing involved principally veins and very fine vessels, in the grey (Fig. 1) and in the white (Fig. 2) matter. Monocytes occasionally infiltrated vessel walls (Fig. 3); scattered mononuclear cells were as well present in the cortex and white matter (Fig. 1 and 2).

The process was diffuse in the hemispheres and less pronounced in the pallidum and hypothalamus. In the areas in which infiltrative changes were less pronounced, gliomesenchymal nodules were visible (Fig. 4). The inflammatory process, most pronounced at the basis of the pons, diminished gradually down the brain stem and spinal cord, in which scattered cuffings and gliomesenchymal nodules were seen.

Slight loss of neurons in areas with severe inflammatory changes was masked by diffuse infiltration. Fairly numerous nerve cells showed features of the ischemic and chronic disease. Tigrolysis was seen in a part of anterior horn motoneurons and in neurocytes of the dorsal root ganglia. Cowdry's type A intranuclear inclusion bodies were found in numerous nerve and glia cells of the brain (Fig. 5 and 6). In the white matter glial cells of the frontal and temporal lobes, in light microscopy, under magnification  $500\times$ , about 100 such inclusion bodies were seen in consecutive areas.

Typical intranuclear and intracytoplasmic inclusions were identified in numerous neurons and oligodendrocytes by electron microscopy. Affected nuclei (Fig. 5, 6) contained randomly dispersed aggregates of nucleocapsids, that usually filled the entire nucleus except a narrow, peripheral layer of chromatin (Fig. 5A, B). The nucleocapsids at high magnification, had a hollow tubular configuration with an outer diameter of 18 nm and an inner diameter of 8 nm. The nucleocapsids, in longitudinal section, contained a band pattern (Fig. 6B) with a longitudinal periodicity of approximately 5 nm. The cytoplasmic nucleocapsids had approximately the same dimensions and tubular structure as the nuclear elements. The distribution of cells with intranuclear inclusions was topographically consistent with the areas covered by the inflammatory process.

2) At the areas where the hematogenic inflammatory process was pronounced there was marked micro- and astroglial proliferation. In the grey matter, especially of the cortex, microglial proliferation dominated (Fig. 7).



*Fig. 1.* Perivascular and diffuse infiltration in subarachnoid space. Obliteration of cortical architecture. HE,  $\times 60$ .

*Ryc. 1.* Okolonaczyniowy i rozlany naciek w przestrzeni podpajęczynówkowej. Zatarcie warstwowości kory. HE, pow.  $60\times$ .

*Fig. 2.* Perivenous and scattered inflammatory infiltrations in white matter. HE,  $\times 60$ .

*Ryc. 2.* Naciek okołozylny oraz rozproszony w istocie białej. HE, pow.  $60\times$ .

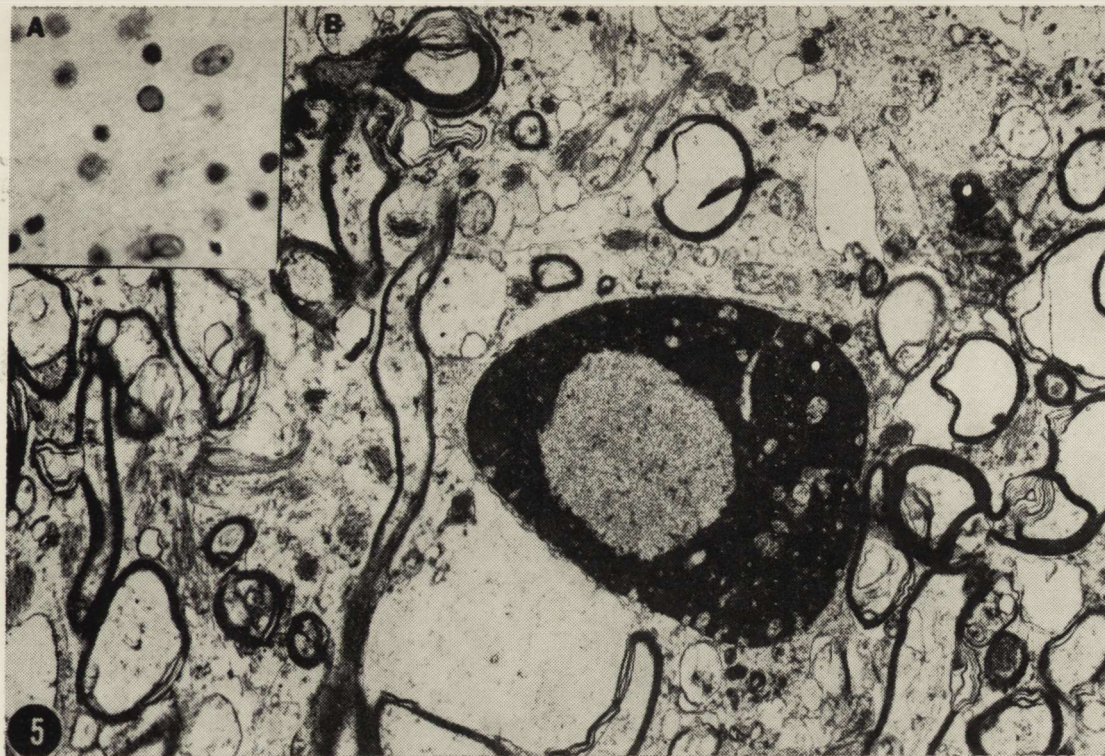
*Fig. 3.* Mononuclear infiltration and glial proliferation in the white matter. Infiltration of the vessel walls. HE,  $\times 200$ .

*Ryc. 3.* Naciek złożony z komórek jednojądrzastych oraz rozplem gleju komórkowego w istocie białej. Naciek w ścianie naczynia. HE, pow.  $200\times$ .

*Fig. 4.* Pons. Gliomesenchymal nodule. Intranuclear inclusion in the nerve cell HE,  $\times 400$ .

*Ryc. 4.* Most. Grudka mikroglejowa-astrocytarna. Wewnątrzjądrowy wręt w komórce nerwowej. HE, pow.  $400\times$ .

This together with the diffuse hematogenic infiltration sometimes gave the appearance of a cell-rich cortex with obliterated stratification. In the white matter astrocytic cellular gliosis was more distinct and klasmatodendrosis was frequent (Fig. 8). Gemistocytic cells were scattered in the grey and the

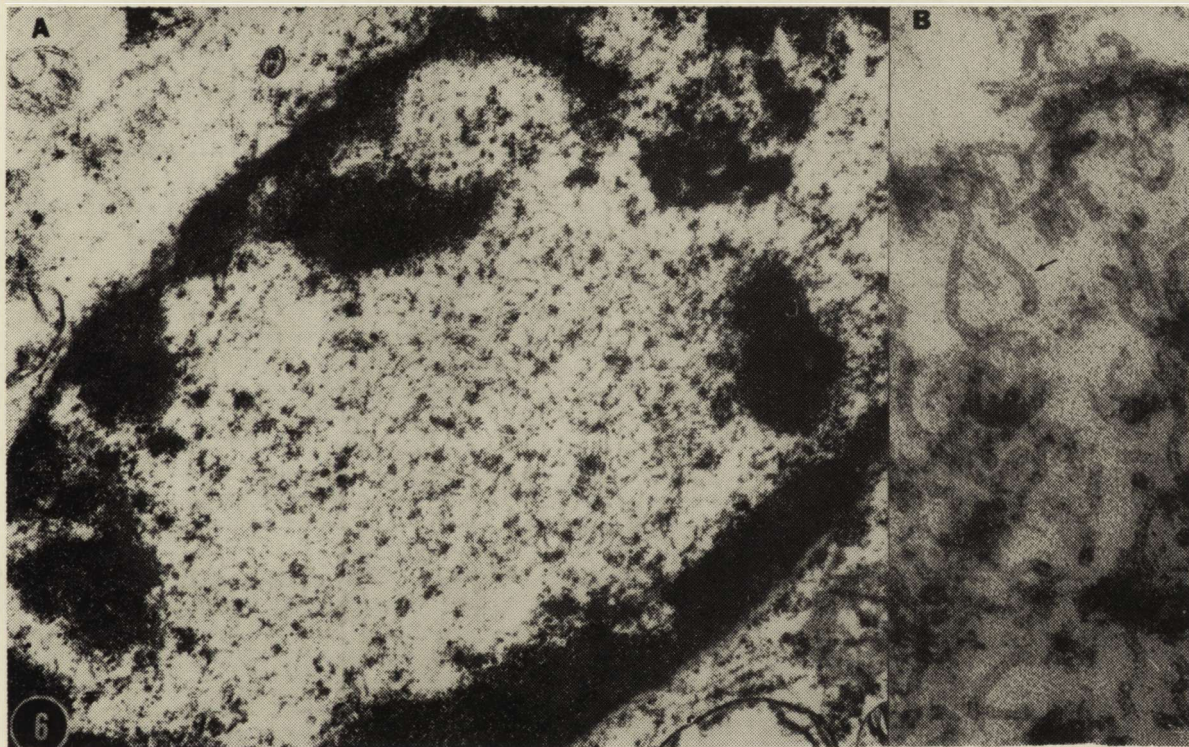


*Fig. 5A.* Oligodendroglial cell with type A intranuclear inclusion. HE,  $\times 1000$ .

*Fig. 5B.* An oligodendroglial cell with a nuclear inclusion filled with tubular structures.  $\times 9\ 500$ .

*Ryc. 5A.* Wewnątrzjądrowy wręt typu A w komórce oligodendroglejowej. HE, pow.  $\times 1\ 000$ .

*Ryc. 5B.* Jądro komórki oligodendroglejowej wypełnione tubularnymi strukturami. Pow.  $\times 9\ 500$ .



*Rig. 6A.* Nucleocapsid filaments form a large inclusion in the nucleus.  $\times 17\ 500$ . *Fig. 6B.* High magnification of nucleocapsid filaments. Note their tubular structure and the periodic stratification on their outer wall (arrow).  $\times 78\ 000$ .

*Fyc. 6A.* Duży wtret wewnątrzjądrowy utworzony z filamentów nukleokapsydów. Pow.  $\times 17\ 500$ . *Ryc. 6B.* Wycinek poprzeczny w b. dużym powiększeniu. Zwraca uwagę tubularna struktura i poprzeczne prążkowanie filamentu nukleokapsydu (strzałka). Pow.  $\times 78\ 000$ .



white matter alike. Fibrous gliosis was not seen outside sub-ependymal areas. The distribution of the abnormalities corresponded to that of the inflammatory changes and was diminishing in intensity in the caudal direction.

3) Spongy degeneration seen in cortical layer II and sometimes additionally III „a” of the frontal and the occipital lobes was consistent with the loss of neurocytes (Fig. 9). In the semioval centre of the frontal lobe there were „rain drops” and other characteristics of edema. Edematous necrosis was present deeper in the cortical sulci of all lobes and was most distinct in the frontal and the occipital lobes. Venous stasis was prominent.

4) Demyelination was slight and limited to the semioval centres, the axis of gyrus cinguli, the isthmi and axes of the gyri of the temporal lobe, the lateral parts of the corpus callosum, and the basal ganglia (Fig. 10).

In the spinal cord slight secondary demyelination involved the lateral pyramidal, rubrospinal, dorsal and ventral spino-cerebellar tracts. Sudanophilic lipid deposits were only seen in perivascular spaces in the white matter of the temporal lobes.

The biochemical results are summarized in Table 1.

#### DISCUSSION

The morphology and localization of the process allow to include our case to the group of SSPE. Nevertheless, it differs from most of the cases described so far. The differences are; 1) Paucity of clinical symptoms relative to the abundance of morphological changes in the central nervous system; 2) very faint demyelination; 3) uncommon localization of vasogenic lesions; 4) absence of fibrogliosis.

A number of authors have stressed the difficulty of correlating the clinical picture of SSPE with its morphology (Usunoffetah, 1961; Osetowska, 1974). Nonetheless, in most of the cases described, lesions of the basal ganglia and brain stem were associated with various extrapyramidal and myoclonic manifestations, and in the terminal stage with rigidity. The increasing dementia syndrome in our case is accounted for by the intensity of the inflammatory process in the cerebral cortex and thalami. What is difficult to explain is the total absence of extrapyramidal symptoms in the presence of pronounced lesions of the putamen, caudate nucleus and claustrum and less marked ones in the pallidum and substantia nigra. In cases with similar lesions of the extrapyramidal system structures (Greenfield, 1950; Foley, Williams, 1953; Wender, Znamierowska, 1958; Mossakowski, Mathieson, 1961; Osetowska, 1961; Seitelberger, 1961) a variety of extrapyramidal symptoms were present. One can assume the age might have been an influencing factor. Apart of Seitelberger's case 2 and Osetowska's case 15, the cases which have been described in the literature refer to children over 7 years old. We do not

Table 1 Biochemical results. In parentheses results from age — matched control

Tabela 1 Wyniki badań biochemicznych, uzyskane w opisywanym przypadku SSPE oraz (w nawiasie) w przypadku kontrolnym

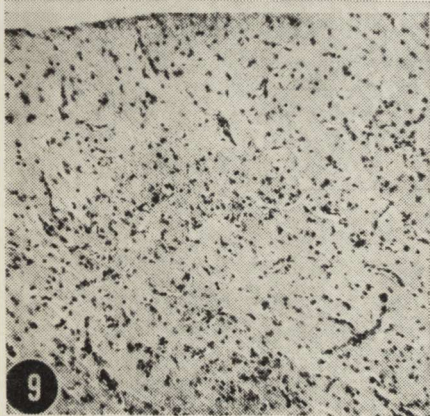
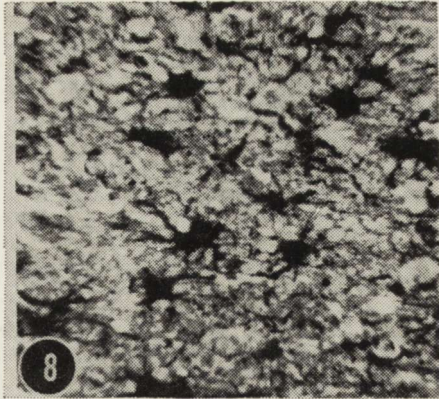
Myelin isolated from the white matter of: Mielina izolowana z istoty białej:	Amount of myelin, mg/g of tissue Ilość mieliny mg/g tkanki	Ratio of myelin fractions* Stosunek frakcji mielinowych*	Lipids, mg/g of myelin Lipidy mg/1 g mieliny	Cerebrosides** % of neutral lipids Cerebrozydy** % lipidów obojętnych	Esterified cholesterol** % of neutral lipids Estry cholesterolu** % lipidów obojętnych
frontal lobe płata czołowego	210.8 (292.4)	1:0.1:0.02 (1:0.5:0.2)	110.3 (141.8)	28.3 (37.9)	15.0 (0)
occipital lobe płata potylicznego	188.8 (470.8)	1:0.7:0.3 (1:0.9:0.7)	58.5 (168.0)	17.1 (35.3)	4.9 (0)
thoracic spinal cord rdzenia piersiowego	536.9 (610.0)	1:1.4:0.2 (1:3.3:6.9)	27.9 (26.4)	36.2 (16.5)	0 (0)

\* The order is: light myelin: heavy myelin: membrane fraction (light myelin taken as 1.0)

Wartości w stosunku frakcji mielinowych oznaczają mielinę lekką: mielinę ciężką: frakcję błonową (mielina lekka przyjęta została jako 1.0)

\*\* In heavy myelin

Wartości stwierdzone w mielinie ciężkiej



*Fig. 7.* Superior frontal gyrus. Proliferating microglial cells. Hortega,  $\times 100$ .

*Ryc. 7.* Proliferacja mikrogleju w zawoju czołowym górnym. Hortega. Pow.  $\times 100$ .

*Fig. 8.* Superior frontal gyrus. Clazmatodendrosis. Cajal,  $\times 400$ .

*Ryc. 8.* Klazmatodendroza w zawoju czołowym górnym. Cajal. Pow.  $\times 400$ .

*Fig. 9.* Frontal pole. Spongy state of IInd cortical layer. Loss of nerve cells. HE,  $\times 100$ .

*Ryc. 9.* Zgąbczenie w II warstwie kory bieguna czołowego. Opustoszenia komórkowe. HE. Pow.  $\times 100$ .

*Fig. 10.* Discrete demyelination of white matter of gyrus cinguli, lateral part of corpus callosum, centrum semiovale, basal ganglia and subcortical zones of temporale lobe. Klüver-Barrera,  $\times 1$ .

*Ryc. 10.* Spłowienie mieliny w istocie białej zakrętu obręczy, bocznej części spoidła wielkiego ośrodku półowalnym, jądrach podkorowych oraz w podkorowej istocie białej płata skroniowego, Klüver-Barrera. Pow.  $1 \times$ .

know when exactly the myelination of the hemispheres is completed, but is has been described as well advanced in the frontal lobes in the 18th month of life (Dekaban, 1959). The delayed motor development in our patient may perhaps point to a delayed maturation of the nervous system. The early-childhood forms of Huntington chorea and Wilson disease not only run

a more severe and rapid clinical course often also show increasing rigidity as the only symptom of extrapyramidal lesions. Perhaps, incomplete CNS myelination is responsible for the absence of extrapyramidal clinical symptoms. The *status dysmyelinisatus* in the basal ganglia with absence of sudanophilic lipids also may be indicative of incomplete myelination. This seems to be confirmed by the biochemical analysis of myelin (Table 1). This „immature“ proportions of myelin fractions and the much smaller than in controls amount of cerebroside, which are an indicator of myelination (Cumings et al., 1958; Svennerholm, Vanier, 1972), seem to point to a certain delay in the maturation of myelin. The most distant changes are present in the frontal and the occipital lobes. In the spinal cord myelination seems to be less delayed, and the only sign is the „immature“ biochemical pattern of the myelin fractions.

In our case, the fairly protracted course of the disease should have caused intense demyelination and profuse accumulation of sudanophilic lipids (Osetowska, 1974). Yet, the demyelination is very discrete. Such was described in many cases (Foley, Williams, 1953; Tariska, 1961; Usunoff et al., 1961). but in none of these was the disease lasting longer than 14 months. This inconspicuous demyelination is particularly difficult to explain in view of the very numerous inclusion bodies in the oligodendroglia. The weak morphological expression of demyelination may be due to the fact that the pathological process affected a not yet fully mature nervous system.

Our biochemical analysis (Table 1) revealed the greatest abnormalities in lipid composition to have affected the heavy myelin. The presence in the heavy myelin of cholesterol esters is a manifestation of the demyelination process (Bowen, Davison, 1976), mild in the occipital lobe, more pronounced in the frontal lobe, not discernable in the spinal cord. The smaller amount of myelin in our case in comparison to control case may point to immaturity as well as to demyelination in the former.

Correlation of the morphological findings with the biochemical results emphasizes the sensitivity of the latter.

Similarly to other cases (Tariska, 1961), our case shows edematous and ischemic changes. They appear in the form of spongy state of the cerebral cortex in the depth of the sulci. It is possible that the blood flow disturbances related to edema results in the „rain drops“ in the semioval centre, in the arterial border zone between the anterior cerebral artery and midcerebral artery. Inflammatory reaction in the semioval centre is relatively less pronounced, with features of edema predominating.

More difficult to explain is the spongy state, which is located in layer II of the cortex, sometimes additionally in the sublayer III „a“ of the frontal lobes. It is probably connected with the paucity of vascularisation of the superficial cortex layers in comparison to the deep layers with much more dense capillary network (Rowbotham, Little, 1963).

The inclusion bodies also seen in the astroglial cells, are probably responsible for their regressive changes. The insufficiency of the astroglial is manifested by the lack of fibrous gliosis. The absence of sclerosis, a feature which distinguishes our case from most of those described in the literature, appears to lend support to Tariska's (1961) definition of the disease as subacute progressive panencephalitis or, considering the spinal cord involvement, subacute progressive panencephalomyelitis.

In inclusion bodies of Cowdry's type A, electron microscopy revealed structures corresponding to measles or parainfluenza viruses of the paramyxovirus group. However, since the titer of measles virus antibodies was low in the serum and very low in the CSF and demonstration of the measles antigen in ultrastructural investigations was not performed, the etiology of our case of subacute progressive panencephalomyelitis cannot be determined with any accuracy.

A. Fidziańska, I. Niebrój-Dobosz, J. Rafałowska, B. Ryniewicz

KORELACYJNE BADANIA MORFOLOGICZNE I BIOCHEMICZNE W PRZYPADKU  
*PANENCEPHALOMYELITIS SUBACUTA PROGRESSIVA* WYWOŁANYM PRZEZ  
*PARAMYXOVIRUS*

Streszczenie

Dziewczynka w wieku 6 i pół roku zachorowała w wieku 4 lat i 2 miesięcy. Na czoło obrazu klinicznego wysuwała się degradacja psychiczna oraz liczne napady utraty kontaktu z otoczeniem i akinetyczne. Zgon nastąpił po 2 latach i 4 miesiącach trwania choroby.

Badanie morfologiczne wykazało: 1) okolonaczyniowy i rozproszony naciek krwiopochodny w oponach i tkankach mózgu, 2) wybitną proliferację gleju gwiaździstego i mikrogleju, 3) liczne wtręty śródnajdrowe typu A Cowdry'ego, które w badaniu ME ujawniły struktury, odpowiadające wirusowi odry lub paragrypy w grupie paramyksowirusów.

Badania biochemiczne lipidów mieliny wykazały opóźnienie dojrzewania mieliny oraz dyskretną demielinizację. Przypadek różni się od opisywanych w literaturze: ubogą symptomatologią kliniczną w stosunku do bardzo nasilonych zmian morfologicznych, nikłym procesem demielinizacyjnym, rzadko spotykaną lokalizacją zmian naczyniopochodnych oraz brakiem glejozy włóknistej.

A. Фидянска, И. Небруй-Добощ, Я. Рафалоска, Б. Рыневич

КОРРЕЛЯТИВНЫЕ MORFOЛОГИЧЕСКИЕ  
И БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ  
В *PANENCEPHALOMYELITIS SUBACUTA PROGRESSIVA*,  
ВЫЗВАННЫМ ПАРАМИКСОВИРУСОМ

Резюме

Авторы описывают случай *panencephalomyelitis subacuta progressiva*.

Девочка, 6½-года, заболела в возрасте 4 лет и 2 месяцев. В клинической симптоматологии преобладала психическая деградация и множественные при-

падки мышечной гипотонии с кратковременным отсутствием сознания (акинетические припадки). Смертельный исход наступил в 2 года и 4 месяца от начала болезни.

Микроскопическое исследование обнаружило:

1) периваскулярный и диффузный гематогенный инфильтрат в мягкой мозговой оболочке и в тканях мозга,

2) интенсивную пролиферацию макро-и микроглыальных элементов,

3) множественные внутриядерные включения. Их электронно-микроскопическое исследование обнаружило структуры вируса кори или парагриппа из группы парамиксовирусов.

Биохимическое исследование липидов миелина обнаружило нарушение созревания миелина и небольшую демиелинизацию.

Наблюдаемый случай отличается от описанных в литературе

1) небольшой клинической симптоматологией по сравнению с интенсивными морфологическими изменениями,

2) слабо выраженной демиелинизацией,

3) редко встречаемой локализацией сосудистых нарушений и

4) отсутствием фибриллярного глиоза.

#### REFERENCES

- Adams, J. M.: Clinical pathology of measles encephalitis and sequelae. *Neurology* 1968, 18, 52—56.
- Agrawal, H. C., Trotter, J. L., Burton, R. M., Mitchell, R. F.: Metabolic studies on myelin. Evidence for a precursor role of a myelin subfraction. *Biochem. J.* 1974, 140, 99—109.
- Bogaert, van, L.: Etude des manifestations neurales reactionelles et inflammatoires, surtout chez l'enfant. *Acta Neurol. Psychiat. Belg.* 1949, 49, 733—740.
- Bowen, D. M., Davison, A. N.: Biochemistry of brain degeneration. In: *Biochemistry and neurological disease*, Ed. A. N. Davison, Blackwell Scientific Publications, Oxford 1976, 2—51.
- Connolly, J. H.: Additional data on measles virus antibody and antigen in subacute sclerosing panencephalitis. *Neurology* 1968, 18, 87—89.
- Crome, L., Guthrie, J.: A case of subacute inclusion encephalitis. *Arch. Dis. Childh.* 1963, 38, 301—308.
- Cummings, J. N., Goodwin, H., Woodward, E. M., Curson, G.: Lipids in the brains of infants and children. *J. Neurochem.* 1958, 2, 289—294.
- Dekaban, A.: *Neurology of infancy*. Williams, Wilkins, Baltimore 1959.
- Foley, J., Williams, D.: Inclusion encephalitis and its relation to subacute sclerosing leucoencephalitis. *Quart. J. Med.* 1953, 22, 157—194.
- Gotlieb-Stematsky, T., Rannon, L., Vonsover, A.: Antibody to Epstein-Barr virus in subacute sclerosing panencephalitis patients. *Eur. Neurol.* 1975, 13, 418—421.
- Greenfield, J. G.: Encephalitis and encephalomyelitis in England and Wales during the last decade. *Brain* 1950, 73, 141—166.
- Hall, W. W., Kiessling, W., Meulen, V.: Membrane proteins of subacute sclerosing panencephalitis and measles virus. *Nature* 1978, 272, 460—462.
- Herndon, R. M., Rubinstein, L. J.: Light and electron microscopy observations on the development of viral particles in the inclusions of Dawson's encephalitis (Subacute sclerosing panencephalitis). *Neurology* 1968, 18, 8—18.

14. Jenis, E. H., Knieser, M. R., Rothhouse, P. A., Jensen, G. E., Scott, R. M.: Subacute sclerosing panencephalitis. Immunoultrastructural localization of measles-virus antigen. *Arch. Pathol.* 1973, 95, 81—89.
15. Mossakowski, M. J., Mathieson, G. M. B.: A Parkinsonian syndrome in the course of subacute encephalitis. *Neurology* 1961, 11, 461—469.
16. Müller, J., Vahar-Matiar, H.: Eine chromatographische Micromethode zur Bestimmung der Lipide im Liquor cerebrospinalis. *Z. Neurol.* 1974, 206, 333—344.
17. Osetowska, E.: The distribution of telencephalic lesions in subacute sclerosing leucoencephalitis. In: *Encephalitides*. Ed. L. van Bogaert et al. Elsevier, Amsterdam 1961, 414—469.
18. Osetowska, E.: Neuropatologia zapaleń mózgu wirusowych i alergicznych. *PZWL, Warszawa* 1974, 108—132.
19. Ostrowska, D.: Morfologia wtretów wewnątrzkomórkowych w podostrym stwardniającym zapaleniu mózgu. *Neuropat. Pol.* 1967, 6, 69—78.
20. Perier, C., Thiry, L., Vanderhaeghen, J. J., Pelc, S.: Attempts at experimental transmission and electron microscopic observations in subacute sclerosing panencephalitis. *Neurology* 1968, 18, 138—143.
21. Rowbotham, G. F., Little, E.: The candelabra arteries and the circulation of the cerebral cortex. *Brit. J. Surg.* 1963, 50, 694—697.
22. Seitelberger, F.: Contribution to the histopathology of van Bogaert's subacute sclerosing leucoencephalitis. In: *Encephalitides*. Ed. L. van Bogaert et al. Elsevier, Amsterdam 1961, 340—352.
23. Skipski, V. P., Barclay, M.: Thin layer chromatography of lipids. In: *Methods in enzymatology*. Ed. J. M. Lowenstein. Academic Press, New York 1969, 13, 530—598.
24. Svennerholm, L., Vanier, M. T.: The distribution of lipids in the human nervous system. II. Lipid composition of human fetal and infant brain. *Brain Res.* 1972, 47, 457—468.
25. Tariska, S.: The vasal mechanisms responsible for the pathological variations of subacute progressive panencephalitis. In: *Encephalitides*. Ed. L. van Bogaert et al. Elsevier, Amsterdam 1961, 541—559.
26. Usunoff, G., Bojinov, S., Georgiew, I.: Discussion on the subacute sclerosing encephalitides of Dawson, Pette-Döring and van Bogaert. In: *Encephalitides*. Ed. L. van Bogaert et al. Elsevier, Amsterdam 1961, 501—508.
27. Wechsler, S. L., Fields, B. N.: Differences between the intracellular polypeptides of measles and SSPE virus. *Nature* 1978, 272, 458—460.
28. Wender, M., Znamierowska, M.: Zagadnienia diagnostyki klinicznej i anatomopatologicznej podostrego stwardniającego zapalenia istoty białej mózgu. *Neurol. Neurochir. Pol.* 1958, 8, 423—434.

Adres autorów: Klinika Neurologiczna AM, ul. Lindleya 4, paw. 4. 02-005 Warszawa.

TERTIUS DECIMUS CONGRESSUS  
SOCIETATIS POLONICAE HISTORIAE ARTIS MEDICAE  
KATOWICE MCMLXXXII

Uprzejmie informujemy, że w dniach 17—18 września 1982 r. odbędzie się w Katowicach XIII ZJAZD POLSKIEGO TOWARZYSTWA HISTORII MEDYCYNY. Zjazd stanowić ma przegląd działalności historyków medycyny, farmacji i dyscyplin pokrewnych oraz stać się ma spotkaniem miłośników dziejów służby zdrowia.

- Tematy Zjazdu: 1. Polska myśl medyczna w organizacji i ochronie zdrowia w środowisku przemysłowym (w tym sesje: a — Bionegatywne warunki środowiska pracy w XIX i XX w.; b — Rozwój organizacji ochrony zdrowia; c — Instytucje opieki zdrowotnej w przemyśle: inspekcja lekarska, ubezpieczenia; d — Naukowa, społeczna i polityczna rola środowiska medycznego w miastach i okręgach przemysłowych).
2. Varia.

Szczegółowe informacje o programie i warunkach uczestnictwa zostaną rozesłane do wszystkich zainteresowanych, którzy do dnia 31 grudnia 1981 r. nadeślą zgłoszenia udziału. Zgłoszenia oraz streszczenia komunikatów (o objętości 1 strony maszynopisu) a także wszelką korespondencję prosimy kierować na adres komitetu organizacyjnego: XIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Historii Medycyny, Komitet Organizacyjny, Apteka nr 1 „Pod Oriem”, — ul. Warszawska 6, 40-006 Katowice.

Przewodniczący Komitetu Organizacyjnego



EUGENIA TARNOWSKA-DZIDUSZKO, DANUTA OSTROWSKA

## ANALIZA KLINICZNO-MORFOLOGICZNA WTÓRNYCH KRWOTOKÓW DO PNIA MÓZGU W PRZEBIEGU NADNAMIOTOWYCH OGNISK ROZMIĘKANIA

Zakład Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego  
Kierownik Zakładu: prof. dr J. Dymecki

Wtórne krwotoki do pnia mózgu spotyka się u chorych w przebiegu procesów patologicznych, którym towarzyszy gwałtowne zwiększanie się masy śródczaszkowej w przestrzeni nadnamiotowej. Najczęściej spostrzega się je w przebiegu masywnych krwotoków śródmózgowych i pierwotnych lub przerzutowych nowotworów mózgu (Dill, Isenhour 1939; Poppen i wsp. 1952; Finney, Walker 1962; Friede, Roessmann 1966; Stehbens 1972). Znane są również opracowania morfologiczne, w których wymienia się ich powstawanie w przebiegu masywnego rozmiękania półkul mózgu (Kuleczycki 1964; Cohen Aronson 1968; Fields, Halpert cyt. za Stehbensem 1972; Ansari 1974; Kreindler i wsp. 1974). Jednakże w większości opracowań klinicznych i morfologicznych, a nawet w podręcznikach, pomija się zazwyczaj rozmiękanie mózgu jako przyczynę wtórnych krwotoków do pnia (Peters 1970; Yates 1976).

Podobnie w diagnostyce klinicznej rzadko pamięta się o tym powikłaniu w przebiegu procesu rozmięknieniowego toczącego się nadnamiotowo, mimo że stanowi ono w istocie przyczynę śmierci chorego.

Celem niniejszego opracowania była analiza morfologiczna wtórnych krwotoków do pnia mózgu w przebiegu nadnamiotowych ognisk rozmiękania oraz konfrontacja stwierdzonych zmian z klinicznym zespołem chorobowym.

### MATERIAŁ I METODY

Materiał pochodzi ze zbiorów Zakładu Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego i obejmuje 33 przypadki sekcyjne, w których ogniska krwotoczne w pniu mózgu wystąpiły w przebiegu nadnamiotowego rozmiękania.

Do badania histopatologicznego pobrano wycinki z opuszki, mostu i śródmózgowia, z okolic wklinowania zakrętu hipokampa i obręczy oraz z brzegu ogniska rozmiękania półkulowego. Wycinki pobierano w płaszczyźnie czołowej, utrwalano w formalinie, zatapiało w parafinie. Skrawki barwiono H—E, fioletem krezyłu, wg metody Weila, van Giesona i Kanzler-Arendta.

## WYNIKI

*Dane kliniczne*

Badana grupa obejmowała 24 kobiety i 9 mężczyzn w wieku 34—86 lat. Średnia wieku wynosiła 65 lat, mediana 69. W wywiadzie u 21 chorych występowało nadciśnienie tętnicze, 11 chorych przeżyło już uprzednio udar mózgu. W okresie przedudarowym 22 chorych uskarżało się na bóle i zawroty głowy, u 10 wystąpiło drętwienie kończyn, przelotne niedowłady (4 przyp.), bądź trudności w mówieniu. W chwili udaru dominującym objawem obok niedowładu czy bezwładu połowiczego była bądź całkowita utrata przytomności (26 przyp.), bądź też przymroczenie (7 przyp.). U 5 chorych obserwowano drgawki połowicze. W czasie pobytu w klinice stan chorych pogarszał się, pojawiały się objawy oponowe (6 przyp.), obrzęk tarczy nerwów wzrokowych (8 przyp.). Zajęcie nerwów czaszkowych stwierdzono w 20 przypadkach, przy czym najczęściej dotyczyło ono n. III i VI, rzadziej n. IV. Wzrost temperatury do 39°C notowano w 10 przypadkach. Część chorych (14 przyp.) ginęła w stanie odmóżdzeniowym. U 25 chorych wykonano nakłucie łądźwiowe, po którym u 18 osób wystąpiło wyraźne pogłębienie zaburzeń przytomności do pełnej śpiączki mózgowej. Czas przeżycia od chwili udaru wahał się od 6 godzin do 26 dni. W ciągu pierwszej doby od chwili pojawienia się udaru zmarło 10 chorych, do 48 godzin — 11, między 3 a 7 dobą — 9; w 2 przypadkach okres przeżycia wynosił do 2 tygodni, a tylko w 1 — powyżej 3 tygodni (26 dni).

Klinicznie rozpoznawano najczęściej rozmiękanie mózgu na tle zatoru lub zakrzepu (w 20 przyp.). Drugim co do częstości rozpoznaniem był krwotok mózgowy nielokalizowany jednak w pniu (11 przyp.). U pozostałych 2 chorych rozpoznano nowotwór mózgu bądź ognisko rozmiękania w pniu mózgu. W żadnym z badanych przypadków nie podejrzewano krwotoków wtórnych do pnia mózgu jako przyczyny zejścia śmiertelnego.

Badanie sekcyjne 28 przypadków wykazało w 5 świeży zawał mięśnia sercowego, w 2 — zakrzep w przedsionku serca, w 1 — w odcinku brzuszonym aorty i w 1 — zator tętnicy nerkowej.

*Badanie makroskopowe mózgu*

Ognisko rozmiękania w półkulach mózgu w 18 przypadkach miało cechy świeżego zawału ukrwotocznionego. Rozmiękanie tkanki w 11 przypadkach było bardzo rozległe i obejmowało cały obszar unaczynienia t. szyjnej wewn., a w 1 przekraczało nawet jej zasięg i uszkadzało dodatkowo korę i istotę białą zaopatrywaną przez t. mózgu przednią po stronie przeciwnej. W 21 przypadkach rozmiękanie umiejscowione było w obszarze unaczynionym przez t. środkową mózgu, a tylko w 1 w zakresie t. tylnej mózgu. W 12 przypadkach stwierdzono zakrzep w śródczaszkowym odcinku t. szyjnej wewn.

trznej i/lub t. środkowej mózgu. W 9 przypadkach obserwowano ponadto korowo-podkorowe zmiany bliznowate i/lub jamki w zwojach podstawy.

Miażdżycza naczyń podstawy obecna była w 19 przypadkach z przewagą zmian I i II stopnia (15 przyp.) nad zmianami III i IV stopnia (4 przyp.).

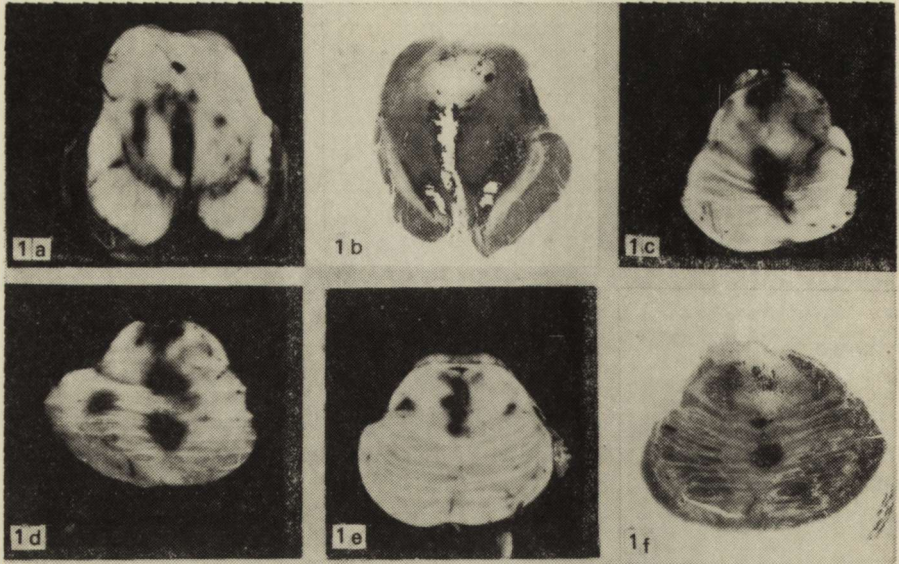
We wszystkich przypadkach obserwowano cechy obrzęku mózgu. Przepuklinę zakrętu obręczy po stronie ogniska rozmiękania stwierdzono w 22 przypadkach, wklinowanie haka zakrętu hipokampa po stronie ogniska w 11, a obustronnie w 13 przypadkach. W 20 przypadkach obecne było wgłobienie migdałków mózdzku. Bardzo często (25 przyp.) układ komorowy był zaciśnięty po stronie ogniska półkulowego, a komora III przesunięta poza linię środkową.

Pień mózgu był powiększony, zniekształcony: spłaszczony w wymiarze dwubocznym, a wydłużony w wymiarze grzbietowo-brzusznym; blaszka czworacza i część nakrywkowa mostu były najczęściej uwypuklone ku stronie grzbietowej, wodociąg i komora IV spłaszczone i zdeformowane. Ogniska krwotoczne rozciągały się od rostralnego odcinka śródmózgowia do środkowej części mostu zmniejszając się ku dołowi. W dolnej części mostu oraz w opuszczeniu nie znaleziono ich w badaniu makroskopowym w żadnym przypadku. Krwotoki obserwowano równocześnie w śródmózgowiu i moście (25 przyp.), bądź wyłącznie w śródmózgowiu (3 przyp.) lub w moście (5 przyp.).

Wtórne ogniska krwotoczne w pniu mózgu były zazwyczaj bardzo liczne, różnokształtne — od punkcikowatych wybroczyn obserwowanych pod lupą do widocznych gołym okiem kulistych, owalnych, szczelinowatych lub smugowatych wynaczynień, zlewających się często w ogniska o nieregularnych zarysach. Usystematyzowane w pewien sposób ich rozmieszczenie pozwala podzielić je według 3 schematów.

1) W 13 przypadkach szczelinowate lub owalne ogniska zlokalizowane były w linii środkowej śródmózgowia lub śródmózgowia i mostu, a w 5 przypadkach wyłącznie mostu. Rozprzestrzeniały się one od wyściółki wodociągu lub komory IV do dołu międzykonarowego lub powierzchni brzusznej mostu. W moście towarzyszyły im różnej wielkości wybroczyny i krwotoczki podwyściółkowe. Często ogniska krwotoczne rozchodziły się poprzecznie bądź na pograniczu części nakrywkowej i podstawnej mostu, bądź wzdłuż istoty czarnej (ryc. 1a, b, c, d, e, f).

2) W 12 przypadkach liczne krwotoki były rozsiane bezładnie głównie albo wyłącznie w części nakrywkowej pnia mózgu. W 5 z nich krwotoki zlokalizowane były tylko w jednej połowie śródmózgowia i/lub mostu po stronie ogniska rozmiękania w półkuli mózgu. Największe zagęszczenie wynaczynień obserwowano pod wyściółką w pobliżu wodociągu Sylwiusza lub komory IV, przy czym mało ono w kierunku brzuszonym (ryc. 2). W niektórych przypadkach wybroczyny spostrzegano również we wzgórkach czworaczych,



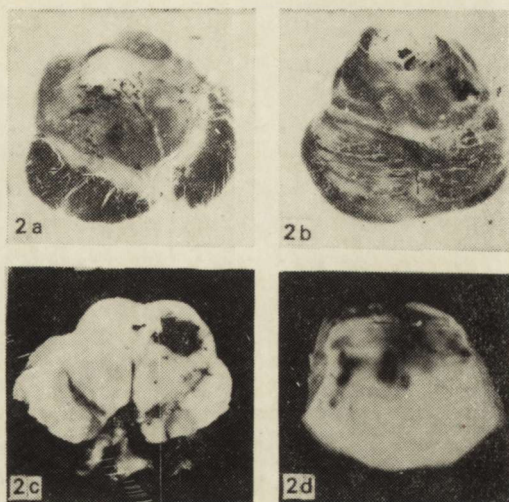
*Ryc. 1.* Najczęstsze umiejscowienie wtórnych krwotoków do pnia mózgu w postaci szczelinowatych lub kulistych ognisk w linii środkowej: a) w linii środkowej śródmózgowia, b) w linii środkowej śródmózgowia z rozchodzeniem się krwotoku od dołu międzykonarowego wzdłuż istoty czarnej; drobne wybroczyny w istocie szarej środkowej i pokrywie, c) i d) kuliste ogniska krwotoczne w części nakrywkowej i podstawnej w górnej 1/3 mostu układające się głównie w linii środkowej, e) szereg zlewających się drobniejszych ognisk w linii środkowej mostu, dochodzących do wyściółki komory IV i drobne symetryczne wybroczyny w bocznych częściach nakrywki; podstawa mostu wolna od zmian krwotocznych, f) 1/3 górna mostu — kuliste ogniska krwotoczne w części podstawnej mostu i bardzo liczne rozsiane wybroczyny pod dnem komory IV. (1a, c, d, e — preparaty makroskopowe; 1b, f — Weil. pow. lupowe).

*Fig. 1.* Most frequent location of secondary hemorrhages in the brain stem under the form of round or cleft foci in the midline: a) in the midbrain midline, b) in the midbrain midline spreading from the interpeduncular fossa along substantia nigra; minute extravasations in the central gray matter of midbrain and tectum, c) and d) round hemorrhages in the tegment and basal part of 1/3 upper part of pons located mainly in the midline, e) a number of coalescent small foci in the midbrain midline reaching the fourth ventricle ependyma and minute, symmetrical extravasations in lateral parts of tegment; intact basal pontine part, f) 1/3 of pons — round hemorrhagic foci in the basal part of the pons and very numerous dispersed extravasations under the fourth ventricle bottom. (1a, c, d, e — macroscopic slides; 1b, f — Weil, glass magnification).

3) w 3 przypadkach występowały pojedyncze duże ogniska krwotoczne, umiejscowione głównie na pograniczu części nakrywkowej i podstawnej śródmózgowia i mostu (1 przyp.), bądź tylko mostu (2 przyp.). Drobne wybroczyny towarzyszące tym zmianom były rozsiane w moście głównie na jego obwodzie (ryc. 3).

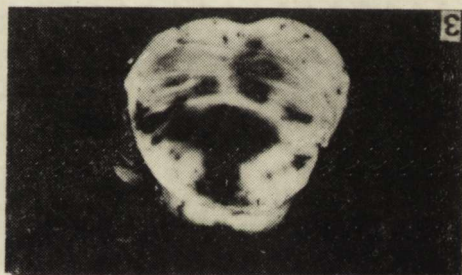
#### *Badanie mikroskopowe mózgu*

Ocena mikroskopowa wykazała, że nasilenie wynaczyń w pniu w większości przypadków (23 na 28 ze zmianami obustronnymi) było większe po stronie ogniska rozmiękania w półkuli mózgu. Po tej stronie częściej obser-



*Ryc. 2.* Ogniska krwotoczne w pniu roziane głównie w części nakrywkowej pnia mózgu: a), b) i c) — wyraźna przewaga krwotoków i wybroczyn po stronie ogniska rozmiękania półkulego, d) część grzbietowa mostu usiana ogniskami krwotocznymi, nieliczne wybroczyny przechodzą na część podstawną w jej bocznej części (2a, b — Weil, pow. lupowe; 2c, d — preparaty makroskopowe).

*Fig. 2.* Hemorrhagic foci dispersed mainly in the tegment part of pons: a), b) and c) — distinct predominance of hemorrhages and extravasations on the side of encephalomalacia focus in the cerebral hemisphere, d) dorsal part of pons sprinkled with hemorrhagic foci, a few extravasations went to the lateral basal part (2a, b — Weil, glass magnification; 2c, d — macroscopic slides).

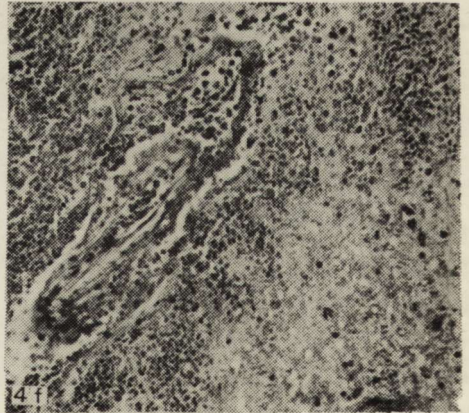
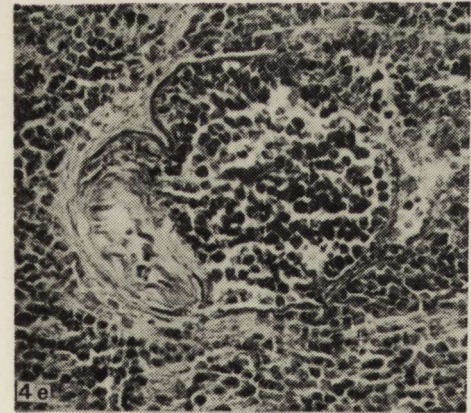
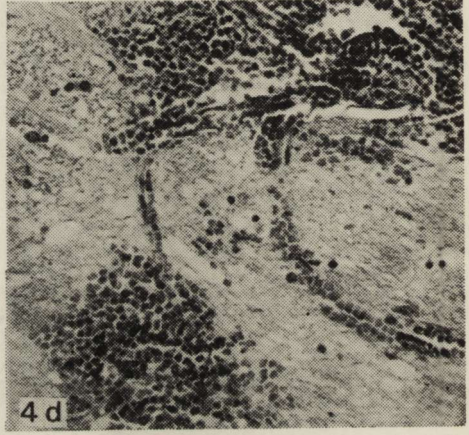
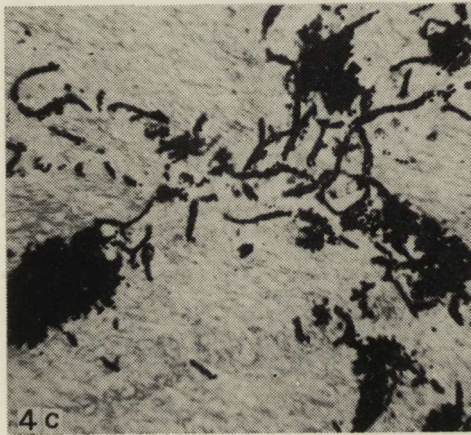
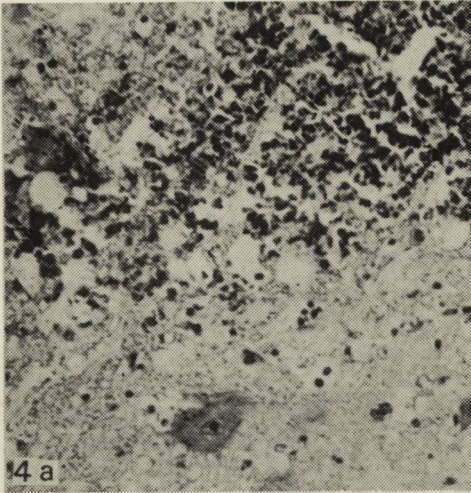


*Ryc. 3.* Duże ognisko krwotoczne głównie na pograniczu części podstawnej i nakrywkowej. Preparat makroskopowy.

*Fig. 3.* Large hemorrhagic focus mainly on the border of basal and tegment part. Macroscopic slide

wowano wybroczyny na obwodzie mostu oraz bardzo znaczne przepełnienie żył i włóściczków w części podstawnej pnia.

Morfologia ognisk krwotocznych zależała w dużej mierze od ich wielkości: duże krwotoki głównie w linii środkowej i w nakrywce miały brzegi nierówne, a wśród mas krwi widoczne były fragmenty porozrywanej tkanki niekiedy z zachowanymi komórkami nerwowymi (ryc. 4a). Czasami drobne krwotoki



układały się wzdłuż naczyń w postaci smug lub pasm rozsuwając tkankę bez jej zniszczenia (ryc. 4b).

Trzeci typ ognisk miał charakter wybroczyn, często bardzo licznych i zlewających się, ale wyraźnie związanych z naczyniami najmniejszego kalibru (ryc. 4c, d). Przy bardzo znacznym zastoju żylnym uwidaczniały się wtedy ampulkowato rozdęte „cieknące” włósniczki. Wybroczyny te umiejscowione były zwykle w istocie szarej środkowej śródmózgowia i mostu oraz na obwodzie pnia.

W wielu przypadkach, wskutek wypadania naczyń wraz z masami krwi w czasie obróbki technicznej materiału, ustalenie źródła krwawienia było utrudnione, a nawet wręcz niemożliwe. Rzadko udawało się uchwycić fragmenty krwawiącego naczynia ze zmienioną martwiczo ścianą (ryc. 4e). Nie można było jednak ustalić czy jest to naczynie żyłne czy tętnicze. Niekiedy jednak widywano naczynia wykazujące wyraźne zmiany w ścianie: rysunek ich był zatarty, były one bądź obrzękłe, bądź też martwiczo zmienione, często ich ściana była nasączona barwikiem krwi lub rozwarstwiona przez leukocyty, krwinki czerwone i włóknik (ryc. 4f). Czasami na pograniczu z krwotokiem lub w obrębie mniejszych ognisk obserwowano kłęбки naczyniowe lub konglomeraty, odpowiadające mikronaczyniakom (ryc. 5).

Najczęściej ulegały całkowitemu lub częściowemu zniszczeniu: twór siatkowaty pnia mózgu, wstęga przyśrodkowa, korzenie i pola jądrowe n. III, IV, VI, bardzo rzadko n. VII i VIII, istota czarna, jądra własne mostu, drogi mostowo-mózdkowe, konary mózgu i mózdku środkowe i górne oraz istota szara blaszki czworaczej.

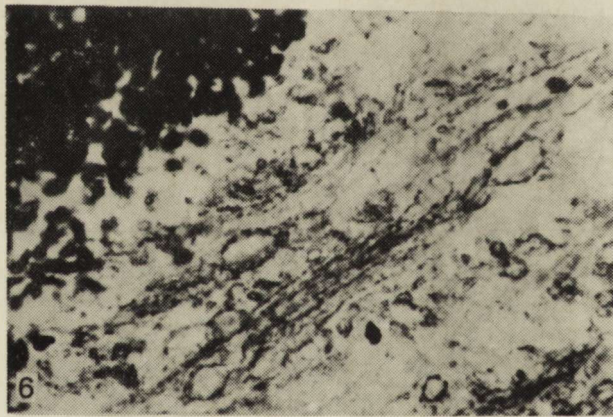
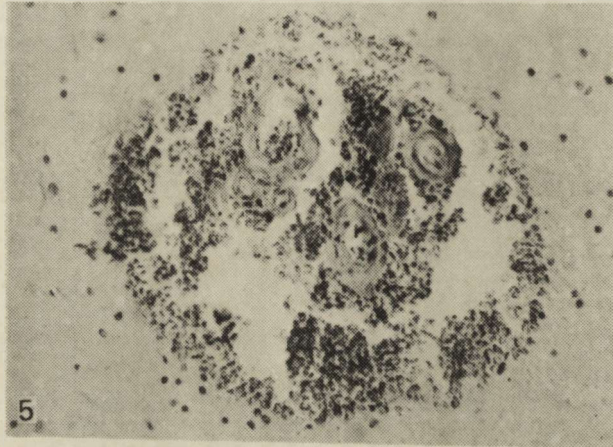
W opuszcze, w pojedynczych przypadkach, obserwowano nieliczne drobne wybroczyny pod dnem komory IV (6 przyp.), uszkadzające pole jądrowe

*Ryc. 4:* a) Ognisko krwotoczne o nierównych brzegach, rozrywające tkanki; obrzęk tkanki otaczającej; w pobliżu ogniska widoczne zachowane neurony. H-E. Pow. 200×, b) krwotok rozpychający tkankę — zhemolizowana krew w przestrzeni okołonaczyniowej; w wynaczynionej krwi widoczne są leukocyty. H-E. Pow. 100×, c) i d) maksymalne wypełnienie włósniczek i wybroczyny wzdłuż ich przebiegu w części grzbietowej mostu; c — Weil, Pow. 100×, d — H-E. Pow. 200×, e) tętnica z uszkodzoną ścianą, rozwarstwiona, otoczona układającymi się warstwowo krwinkami czerwonymi. H-E. Pow. 400×, f) martwica ściany naczyniowej i jej rozwarstwienie w obrębie krwotoku; przechodzenie leukocytów przez ścianę naczynia. H-E. Pow. 200×.

*Fig. 4:* a) Hemorrhagic focus of irregular shape disrupting tissues; edema of surrounding tissue; preserved neurons at the vicinity of the focus. H-E. ×200, b) the hemorrhage distending tissue — hemolized blood in the perivascular space; leucocytes visible in the extravasated blood. H-E. ×100, c) and d) severe distension of capillaries and extravasations along them in the dorsal part of pons; c — Weil. ×100, d — H-E. ×200, e) an artery with damaged wall, delaminated, surrounded by laminary arranged erythrocytes. H-E. ×400, f) necrosis of the arterial wall and its delamination in the hemorrhage; passing of leucocytes through the vascular wall. H-E. ×200.

n. VIII lub XII, bądź też zlokalizowane we wnętrzu oliwek dolnych (4 przyp.), a w 1 przypadku w oliwce dodatkowej.

Otoczenie ognisk krwotocznych było najczęściej zgęszczane, nasączone barwikami krwi i masami płynu przesiąkowego. Osłonki mielinowe były często spłowiałe i obrzmiały (ryc. 6), komórki nerwowe były bądź dobrze zachowane, bądź też obserwowano różny stopień ich uszkodzenia: od centralnej tigliolizy — ostrego obrzęku do schorzenia ciężkiego i rozpadu neuronów. Im dalej od ogniska krwotoku tym zmiany były mniejsze.



*Ryc. 5.* Konglomerat naczyń w małym ognisku krwotocznym. Van Gieson. Pow. 200 ×.

*Fig. 5.* Vascular conglomeration in small hemorrhagic focus. Van Gieson. ×200.

*Ryc. 6.* Spęcznienie i różańcowate rozdzienie osłonek mielinowych i ich porozsuwanie w polu obrzęku otaczającym ognisko krwotoczne. Weil. Pow. 400 ×.

*Fig. 6.* Swelling and distension of myelin sheaths and their pushing about in the edematous area around the hemorrhagic focus. Weil. ×400.



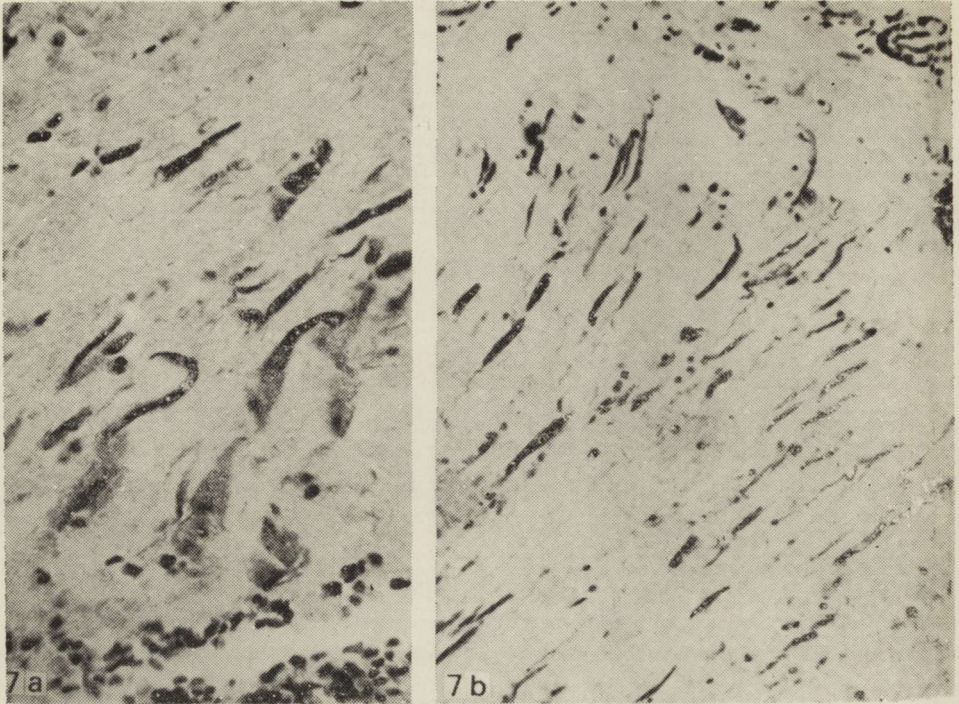
Odczyn resorpcyjny na brzegu ognisk krwotocznych był minimalny, rzadko obserwowano jedynie makrofagi występujące pojedynczo lub w skupieniach. W 2 przypadkach ogniska krwotoczne stwierdzono w obszarze rozmiękania znajdującego się w fazie rozbiórki makrofagowej.

Naczynia pnia, zwłaszcza włosniczki zarówno w polach wynaczynień jak i poza obrębem ognisk krwotocznych były bardzo znacznie poszerzone i wypełnione krwią. Obserwowano to najczęściej pod wyściółką, w linii środkowej i na obwodzie pnia z najmniejszym nasileniem w opuszcze. W świetle drobnych naczyń śródmiąższowych stwierdzono zakrzepy leukocytarne (6 przyp.), a w większych — zrekanalizowane skrzepliny (2 przyp.). Ściany naczyń były często zmienione: zwłókniałe w 8 przypadkach lub zeszkliwiałe w 14. W 10 przypadkach obserwowano w śródmózgowiu lub moście kłębki naczyniowe lub konglomeraty naczyń (5 przyp.).

Weryfikacja mikroskopowa pierwotnych ognisk rozmiękania w półkulach mózgu uwidoczniła różne fazy martwicy w poszczególnych przypadkach lub też w tym samym obszarze objętym procesem patologicznym: od obrazu bezodczynowej martwicy skrzepowej, poprzez zupełny rozpad tkanki z wybitnym obrzękiem, zastojem i wybroczynami okołonaczyniowymi, przechodzeniem krwinek białych i czerwonych *per diapedesim* do tkanki na obrzeżu martwicy, aż do inwazji makrofagów i proliferacji włosniczek u chorych, którzy przeżyli ponad 7 dni. W 18 przypadkach martwica błada uległa ukrwotocznieniu.

Badanie okolic narażonych na ucisk wykazało poza morfologicznymi wykładnikami obrzęku mózgu liczne wybroczyny na wypukłości zakrętów w zawoju obręczy i w zakręcie hipokampa wzdłuż bruzdy po wklonowaniu, gdzie w 8 przypadkach wybroczyny zlewały się w spore krwotoczki (ryc. 7a). Zmiany te obserwowano zazwyczaj w przypadkach z krótkim przeżyciem (nie dłużej niż 2 doby). W korze hipokampa na wysokości bruzdy po wklonowaniu komórki nerwowe uległy zniekształceniu, były bardzo wąskie, niemal przecinkowate, uciśnięte przez obrzęk. Neurony te były bardzo ciemne, struktura ich jądra i cytoplazmy była niewidoczna (ryc. 7a, b).

Ogniskom rozmiękania w 12 przypadkach towarzyszył odczyn nekrotosyczny z przewagą leukocytów w przestrzeni podpajęczynówkowej. W świetle naczyń oponowych, jak i śródmiąższowych (17 przyp.), stwierdzono skrzepliny w różnej fazie rozwoju; w 6 przypadkach skrzepliny uległy rekanalizacji. W t. szynnej wewnętrznej i/lub środkowej mózgu mikroskopowo stwierdzono (odpowiednio w 4 i 8 przyp.) zakrzepy lub materiał zatorowy podejrzewany makroskopowo. Nasilenie zmian mażdżycowych w naczyniach podstawy odpowiadało obserwacjom makroskopowym. Stopień zmian stwardnieniowych w naczyniach śródmiąższowych wahał się od II do IV stopnia w 28 przypadkach. Ubytki komórek nerwowych i nasilenie ich zwyrodnienia odpowiadały obrazowi morfologicznemu obserwowanemu zwykle w tym przedziale wieku.



Ryc. 7a) i b). Wybitne zmiany neuronalne w miejscu bruzdy po wklonowaniu zakretu hipokampa. Komórki zwojowe są uciśnięte, wąskie, ciemne, często ze spiralnie skręconym dendrytem. Ukierunkowanie ich jest nieprawidłowe (wzdłuż bruzdy). W tkance widoczne są liczne wybroczyny. Fiolet krezyłu. a — Pow. 400×; b — Pow. 200×.

Fig. 7a) and b). Outstanding neuronal changes in the place after hippocampus invagination. Neurons are compressed, narrow, dark, often with spiral twisted dendrite, their course (along fissure) is abnormal, there are numerous extravasations in the tissue. Cresyl violet. a — ×400; b — ×200.

#### OMÓWIENIE

W obrazie klinicznym badanych przez nas przypadków dominował na ogół nagły początek choroby z bezwładem połowicznym, któremu od początku towarzyszyły zaburzenia przytomności o różnym nasileniu. Przebieg choroby był postępujący, nasilały się objawy pniowe, pojawiała się głęboka śpiączka mózgową, a część chorych ginęła w krótkim czasie wśród objawów stanu odmóżdzeniowego. W żadnym z przypadków, nawet przy dłuższym czasie przeżycia, nie udało się w pełni uchwycić w przebiegu choroby kolejności zespołów klinicznych wgłobienia i wtórnych wynaczynień z różnych poziomów pnia mózgu, jak w przypadkach pierwotnych krwotoków do mostu spostrzegał Környey (1939), a w procesach rozrostowych Ansari (1974).

Nagły początek i gwałtowny przebieg choroby stały się źródłem rozpoznania u części chorych krwotoku mózgowego z przebieciem do układu komorowego. Rozpoznając zaś proces rozmięknieniowy w półkulach mózgu, szybkie

bądź stale pogarszanie się stanu klinicznego wiązano raczej z powikłaniami natury internistycznej, mając na uwadze wiek chorych, przebyte zawały serca i współistniejące nadciśnienie tętnicze. W rozważaniach na temat przyczyny zejścia śmiertelnego w żadnym przypadku nie wzięto pod uwagę możliwości istnienia wtórnych krwotoków do pnia mózgu.

Znanym z piśmiennictwa neuropatologicznego zjawiskiem jest pojawienie się i narastanie obrzęku mózgu w przebiegu niedokrwienia i procesu rozmięknieniowego (Gänshirt 1958; Dymecki 1967; Klatzo 1975). Nie bez znaczenia dla jego rozwoju może być obecność produktów rozmiękania tkanki, które prowokują reakcję zapalną na tle immunologicznym, nazywaną przez klasycznych neuropatologów symptomatyczną (Spielmeyer 1922). Pierwszym jej elementem jest dalsze uszkodzenie bariery naczyniowo-mózgowej i wystąpienie obrzęku.

W naszym materiale we wszystkich przypadkach rozległemu rozmiękaniu półkulowemu, obejmującemu często obszar unaczynienia t. szyjnej wewnętrznej towarzyszył obrzęk mózgu, szczególnie nasilony przy rozległych zawałach ukrwotoczonych. Szybkie narastanie ciśnienia śródczaszkowego, o czym świadczył zarówno obraz kliniczny jak i czas trwania choroby, doprowadzało do gwałtownego przemieszczania zajętej półkuli mózgu. Sprasowanie zakrętów, zaciśnięcie rowków na sklepiściach, zaciśnięcie komory bocznej po stronie rozmiękania, przesunięcie komory III wraz ze strukturami centralnymi poza linię środkową, przepuklina zakrętu obręczy i zakrętu hipokampa były oczywistymi dowodami obrzęku i zarazem przyczyną wzmożonego ucisku nadnamiotowej części mózgu na namiot mózdzku i na pień. Śródmózgowie i most wykazywały w wielu przypadkach typowe zniekształcenie (spłaszczenie w wymiarze dwubocznym, wydłużenie i skręcenie). Deformacja ta opisywana była przez Johnsona i Yatesa (1955, 1956) oraz Yatesa (1976) jako przyczyna krwotoków wtórnych do pnia mózgu.

Patomechanizm krwotoku wtórnego do śródmózgowia i mostu nie jest w pełni wyjaśniony.

Badania doświadczalne nad hemodynamiką tylnej jamy czaszkowej, zarówno dawne jak i pochodzące z lat ostatnich (Dill, Isenhour 1939; Finney, Walker 1962; Klintworth 1965; Goodman, Becker 1973) oraz obserwacje kliniczno-morfologiczne, poczynwszy od publikacji Attwatera w 1911 r. (cyt. za Ansari 1974), wskazują na decydujący wpływ wzrostu nadnamiotowego ciśnienia śródczaszkowego na pojawienie się wtórnych wynaczynień do pnia mózgu. Cohen i Aronson (1968) oraz Klintworth (1965) podkreślają, że im szybsze i większe jest narastanie nadnamiotowej masy śródczaszkowej tym większe jest ryzyko wtórnego krwawienia do mózgu i śródmózgowia. Ucisk nadnamiotowej części mózgu na namiot mózdzku i na pień powoduje jego zniekształcenie i przemieszczenie ku tyłowi i w dół wzdłuż stoku Blumenbacha, wywołując zakłócenia w odpływie krwi żyłnej z tego obszaru (Cannon

1951; Bromowicz 1953); wgłobienie haka zakrętu hipokampa do wcięcia namiotu, nasilające zniekształcenie pnia, powoduje według Lindenerga (1955) bezpośredni ucisk tętnic przez krawędź namiotu i zwięźnienie dołu międzykonarowego, co utrudnia, a czasem uniemożliwia, przepływ krwi tętniczej. Jako skutek przemieszczeń pnia podaje się również zmianę kąta odejścia naczyń paramedialnych od tętnicy podstawnej, co prowadzi do ich naciągania, naprężania, a następnie pękania. Uciśnięcie naczyń tętniczych może z kolei powodować martwicę ścian tętnic średniego i małego kalibru (Friede, Roesmann 1966). Równocześnie też zostają odcięte plynowe przestrzenie podnamiotowe od nadnamiotowych — narasta dysproporcja między wysokim ciśnieniem żylnym w śródmózgowiu i moście, a niskim ciśnieniem w przestrzeni plynowej. W tym czasie mogą pojawiać się w tkankach pnia mózgu objawy niedokrwienia i obrzęku, spowodowanego zarówno zaburzeniami hemodynamicznymi, jak i zwiększoną przepuszczalnością naczyń. Niektórzy autorzy (Klintworth 1968; Stehbens 1972; Kreindler i wsp. 1974) zwracają uwagę na sprzyjającą rolę nadciśnienia tętniczego oraz stanu łożyska naczyniowego w powstawaniu wtórnych krwotoków do pnia mózgu. Wspomina się również niekorzystny wpływ niektórych badań diagnostycznych, m.in. pneumoencefalografii, wentrikulografii i nakłucia łądźwiowego (Loeb, Meyer 1952; Poppen i wsp. 1952; Bromowicz 1953; Finney, Walker 1962) w okresie rozwijającego się obrzęku niedokrwienego, co potwierdziło się również w naszym materiale. Upust płynu mózgowo-rdzeniowego, pogłębiając różnice ciśnień między przestrzenią nad- i podnamiotową, wyzwała bądź nasila krwotoki w pniu mózgu. Podobnie uciśnięcie żył szyjnych (Finney, Walker 1962) może zwiększyć wklinowanie podnamiotowe i przyspieszyć krwotok wtórny do pnia.

Przytoczony przegląd piśmiennictwa wskazuje na złożony patomechanizm wtórnych krwotoków do pnia mózgu oraz trudności ustalenia kolejności rozwoju zmian. Podobnie trudne wydaje się wykrycie źródła wtórnego krwawienia w moście lub w śródmózgowiu. Niektórzy autorzy (Yates, Johnson 1955; Johnson, Yates 1956; Blackwood i wsp. cyt. za Klinthworth 1965) utrzymują, że wynaczynienia są spowodowane pękaniem tętnic. Inna grupa badaczy uważa, że są one skutkiem uszkodzenia żył (Cannon 1951; Pia cyt. za Klinthworth 1965), tętniczek, włósniczek i żył, albo tętnic i żył (Dill, Isenhour 1939; Poppen i wsp. 1952; Lindenberg 1955; Zülch 1968, Ansari 1974). Inni wreszcie wyrażają pogląd, że charakteru naczynia będącego źródłem krwawienia nie da się zidentyfikować i że dla obrazu i wielkości wynaczynień ma znaczenie jedynie kaliber uszkodzonych naczyń (Goodman, Becker 1973).

Pamiętając o mechanizmie patogenetycznym wtórnych krwotoków do pnia, każde z wymienionych źródeł krwawienia jest teoretycznie do przyjęcia, każda grupa autorów reprezentujących odpowiednie poglądy może więc przytoczyć i przytacza przekonujące argumenty poparte wynikami prac doś-

wiadczalnych. Lokalizacja i wielkość wtórnych ognisk krwotocznych mogłaby mieć rozstrzygające znaczenie, ale jak wynika z badań Hasslera (1967) złożona i stosunkowo mało poznana angioarchitektonika żylna i zasięg drenażu żylnego pnia dodatkowo utrudnia rozstrzygnięcie, jakie zmiany są pochodzenia żylnego. W piśmiennictwie spotyka się pogląd, że krwotoki umiejscowione w okolicy nakrywkowej są pochodzenia żylnego (Kulczycki 1964; Scheinker cyt. za Yates 1976), a występujące w linii środkowej związane są z włosniczkami i tętniczkami (Moore, Stern cyt. za Yates 1976).

W naszym materiale lokalizacja krwotoków wtórnych towarzyszących nadnamiotowym ogniskom rozmiękania nie różniła się od opisywanej w piśmiennictwie w innych procesach nadnamiotowego uszkodzenia mózgu. Przekraczała ona jednak w większości przypadków nakrywkę śródmózgowia i mostu i często odpowiadała umiejscowieniu przyjmowanemu za typowe dla pierwotnych ognisk krwotocznych do pnia (Kulczycki 1964). Wielkość i ilość wynaczynień była przeważnie większa po stronie półkulowego ogniska rozmiękania. Również w naszym materiale, w większości przypadków nie udało się ustalić źródła krwawienia, wydaje się jednak, że wszystkie rodzaje naczyń biorą udział w powstawaniu wtórnych ognisk krwotocznych do pnia mózgu. Sprzyja mu dość często obecność zeszkliwienia i zwłóknienia naczyń śródmiąższowych pnia mózgu oraz nierzadkie występowanie nieprawidłowości naczyńiowych (klębków i mikronaczyniaków).

Odrębny drenaż żylny i odmienne unaczynienie opuszki mogą tłumaczyć rzadkość występowania w niej wybroczyn i wyraźne zmniejszanie się przekrwienia żylnego i obrzęku w tej okolicy w porównaniu z wyższymi poziomami pnia.

#### WNIOSKI

1. Wtórne ogniska krwotoczne w pniu mózgu występują w przebiegu procesu rozmięknieniowego toczącego się nadnamiotowo. Ich rozmiary i liczebność są większe po stronie zajętej półkuli mózgu. Wydaje się, że wystąpieniu ich sprzyja rozległość nadnamiotowego ogniska rozmiękania i jego ukrwotoczenie oraz obrzęk mózgu, powodujące szybki wzrost ciśnienia wewnątrzczaszkowego.

2. W większości omawianych przypadków przebieg kliniczny jest szybki i z reguły zakończony zgonem, co często sugeruje błędne rozpoznanie krwotoku półkulowego.

3. Ogniska wtórne są mnogie, często symetryczne i układają się według 3 schematów rozmieszczenia: 1) w linii środkowej pnia, 2) z przewagą w części nakrywkowej, 3) głównie na pograniczu części nakrywkowej i podstawnej śródmózgowia i mostu.

4. Wtórne ogniska krwotoczne występują na ogół w tkance niezmienionej (w 30 na 33 przyp.) i nie towarzyszy im odczyn resorpcyjny.

5. Źródłem krwawienia mogą być wszystkie rodzaje naczyń: tętnice, żyły i włosniczki.

6. Wydaje się, że przyczyną wtórnych krwotoków do pnia może być zarówno utrudniony odpływ żylny i uszkodzenie włosniczek, jak i martwica ścian tętnic, spowodowane uciskiem i zniekształceniem pnia w przebiegu obrzęku mózgu.

E. Tarnowska-Dziduszko, D. Ostrowska

#### КЛИНИЧЕСКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВТОРИЧНЫХ КРОВОТЕЧЕНИЙ ДО СТВОЛА МОЗГА В ТЕЧЕНИИ СУПРАТЕНТОРИАЛЬНЫХ ОЧАГОВ МАЛАЦИИ

##### Резюме

Проведено клинический и морфологический анализ 33 секционных случаев, в которых в течении супратенториальных очагов малайии появились вторичные кровотечения до ствола мозга, которые не наблюдались прижизненно.

В большинстве случаев в клиническом течении болезни преобладали: внезапное начало болезни, односторонний паралич и расстройства сознания. Время выжития не превышало 48 часов у 21 из 33 больных. Момент наступления стволовых синдромов и симптомов внедрения не смогли обнаружить.

Вторичные кровотечения до ствола мозга были параллельными с протяжённостью очагов малайии, которые охватывали весь участок васкуляризации артерий мозга. Авторы обсуждают что наступлению этих кровотечений содействуют геморагии в области инфоркта которые вызывают быстрое повышение внутричерепного давления.

Вторичные кровотечения до ствола мозга настпывали: 1) в центральной линии ствола; 2) в основном в покрышковой части ствола; в пределах между покрышковой и базальной частями среднего мозга и варолиева моста.

Плотность и размеры кровотёчных участков отмечались преимущественно в среднем мозгу и в верхней части варолиева моста, в основном со стороны супратенториального очага. Морфологическая картина и локализация вторичных очагов кровотечения в стволе мозга свидетельствует о том что источником геморагии могут быть все типы сосудов. Кровотечение не считается с резорбционной реакцией. Авторы не нашли в стволе мозга вокруг геморагии некротических изменений.

Исходя из данных литературы авторы сопоставляют своё мнение о патогенетических механизмах вторичных очагов кровотечения в стволе мозга.

E. Tarnowska-Dziduszko, D. Ostrowska

#### CLINICAL AND MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF SECONDARY HEMORRHAGES TO BRAIN STEM ACCOMPANYING SUPRATENTORIAL MALACIA

##### Summary

Clinical and morphological analysis comprised 33 autopsy cases, in which in the course of supratentorial foci of malacia, secondary hemorrhages to the stem occurred but were not diagnosed in the life time. In a majority of cases, the clinical course was rapid with a sudden

onset, with hemiparesis and disturbances of conscience as predominating symptoms. The survival time was in 21 cases less than 48 hrs. The moment of occurrence of brain stem syndromes and symptoms of invagination remained undistinguished. Secondary hemorrhages to the brainstem usually accompany widespread foci of malacia, comprising the whole region supplied by internal carotid artery or middle cerebral artery. Occurrence of the hemorrhages appears to be facilitated by bleeding into the infarct, leading to a rapid increase of intracranial pressure. Secondary hemorrhages were localized in: 1) midline of the brain stem, 2) mainly or exclusively in the tegmental part of the brain stem, and 3) in the borderline between the tegmental and basal part of midbrain and pons, being most abundant and of largest size in mesencephalon and in the rostral part of pons, in particular on the side of the supratentorial focus. The morphological picture and location of secondary hemorrhagic foci suggest that all types of vessels may be source of bleeding. Hemorrhages are not accompanied by resorptive reaction. Necrotic changes were observed in the vicinity of extravasations. The pathogenetic mechanisms of secondary hemorrhagic foci are discussed with reference to literature data.

## PIŚMIENICTWO

1. Ansari K.: Les hémorrhagies secondaires du tronc cérébral. Schweiz. Arch. Neurol. Neurochir. Psychiat. 1974, 114, 1—28.
2. Bromowicz J.: Podnamiotowe wglóbiecie w przebiegu guzów mózgu. Neurol. Neurochir. Pol. 1953, 2, 137—146.
3. Cannon B. W.: Acute vascular lesions of the brain stem. A complication of supratentorial space occupying lesions. Arch. Neurol. Psychiat. 1951, 66, 687—696.
4. Cohen S. J., Aronson S. M.: Secondary brain stem hemorrhages. Predisposing and modifying factors. Arch. Neurol. 1968, 19, 257—263.
5. Dill L. V., Isenhour C. E.: Etiologic factors in experimentally produced pontile hemorrhages. Arch. Neurol. Psychiat. 1939, 41, 1146—1152.
6. Dymecki J.: Zaburzenia krążenia mózgowego w następstwie wglóbień do otworu w namiocie móżdżku. Neurol. Neurochir. Pol. 1967, 1, 310—318.
7. Finney L. A., Walker A. E.: Transtentorial herniation. Ch. C. Thomas, Springfield 1962, 43—77.
8. Friede R. L., Roessmann U.: The pathogenesis of secondary mid-brain hemorrhages. Neurology 1966, 16, 1210—1216.
9. Gänshirt H.: Die Störung der Sauerstoffversorgung des Gehirns im Hirndruck. Nervenarzt. 1958, 29, 127—132.
10. Goodman S. J., Becker D. P.: Vascular pathology of the brain stem due to experimentally increased intracranial pressure: changes noted in the micro- and macrocirculation. J. Neurosurg. 1973, 39, 601—609.
11. Hassler O.: Venous anatomy of human hindbrain. Arch. Neurol. 1967, 16, 404—409.
12. Johnson R. T., Yates P. O.: Tentorial herniation and mid-brain deformity. A clinico-pathological study. Proc. II Intern. Congress Neuropath. London 1955, I, 329—332.
13. Johnson R. T., Yates P. O.: Brain stem haemorrhages in expanding supratentorial conditions. Acta Radiol. 1956, 46, 250—255.
14. Klatzo I.: Pathophysiologic aspects of cerebral ischemia. W: The nervous system. Red. D. B. Tower. Raven Press, New York 1975, vol. 1, 313—322.
15. Klintworth G. K.: The pathogenesis of secondary brainstem hemorrhages as studied in an experimental model. Amer. J. Pathol. 1965, 47, 525—536.
16. Környey S.: Rapidly fatal pontile hemorrhage. Clinical and anatomic report. Arch. Neurol. Psychiat. 1939, 41, 793—799.

17. Kreindler A., Appel E., Damsa T.: The role of vascular bed alteration in the production of brain stem hemorrhages. Clinico-anatomic, morphometric and biorheologic data. *Rev. Roum. Méd.* 1974, 12, 51—58.
18. Kulczycki J.: Typy i analiza morfologiczna pierwotnych i wtórnych krwotoków do pnia mózgu. *Neuropat. Pol.* 1964, 2, 35—54.
19. Lindenberg R.: Compression of brain arteries as pathogenetic factor for tissue necroses and their areas of predilection. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 1955, 14, 223—243.
20. Loeb C., Meyer J. S.: Pontine syndromes. W: *Handbook of clinical neurology*. Red. P. J. Vinken, G. W. Bruyn. North-Holland, Amsterdam 1969, II, 238—271.
21. Peters G.: *Klinische Neuropathologie*. Thieme, Stuttgart 1970, 137—185.
22. Poppen J. L., Kendrick J. F., Hicks S. F.: Brain stem hemorrhages secondary to supratentorial space-taking lesions. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 1952, 11, 267—279.
23. Spielmeier W.: *Histopathologie des Nervensystems*. Springer, Berlin 1922, 424—434.
24. Stehbens W. E.: *Pathology of the cerebral blood vessels*. Mosby, St. Louis 1972, 329—334.
25. Yates P. O., Johnson R. T.: Secondary haemorrhagic lesions of mid-brain and pons. *Proc. II Intern. Congr. Neuropath.* London 1955, I, 333—335.
26. Yates P. O.: Vascular lesions associated with supratentorial space-occupying lesions. W: *Greenfield's Neuropathology*. Red. W. Blackwood, J. A. N. Corsellis, E. Arnold, Edinburgh 1976, 121—124.
27. Zülch K. J.: Hemorrhage, thrombosis, embolism. W: *Pathology of the nervous system*. Red. J. Minckler, McGraw Hill, New York 1968, vol. II, 1503—1504.

Adres autorek: Instytut Psychoneurologiczny, Al. Sobieskiego 1/9, 02-957 Warszawa.



RYSZARD PLUTA

## ZMIANY $pO_2$ , $pCO_2$ i pH W TĘTNICZEJ KRWI KRÓLIKA W CAŁKOWITYM 30-MINUTOWYM NIEDOKRWIENIU MÓZGOWIA

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

Zmiany zachodzące w mózgowiu w wyniku całkowitego niedokrwienia dotyczą zarówno jego metabolizmu, czynności bioelektrycznej i struktury. Procesy patologiczne są następstwem naruszenia oddechowej, odżywczej, perfuzyjnej oraz buforowej funkcji krążenia w obrębie mózgowia. W wyniku całkowitego długotrwałego niedokrwienia dochodzi do zakwaszenia tkanek mózgowia (Hossmann, Zimmermann 1974) i płynu mózgowo-rdzeniowego (Zaks 1976). Wiąże się to ze zniesieniem możliwości wypłukiwania przez krew kwaśnych produktów metabolicznych, głównie kwasu mlekowego (Lindenberg 1963; Hossmann, Sato 1970; Kleihues i wsp. 1975).

Zaobserwowano, że w grupie zwierząt o takim samym okresie niedokrwienia nie zawsze stwierdza się powrót czynności bioelektrycznej mózgowia (Hossmann, Kleihues 1973; Pluta, Kapuściński 1980; Pluta i wsp. 1980). Wydaje się, że zakwaszenie oraz zaburzenia procesów metabolicznych mózgowia (Müller i wsp. 1970; Kleihues i wsp. 1975) i płynu mózgowo-rdzeniowego mogą w istotny sposób wpływać na wyżej wymienione funkcje także w krążeniu układowym, zarówno w czasie niedokrwienia, jak i w okresie poniedokrwinnym. Dodatkowym czynnikiem pogłębiającym powyższy stan w okresie poniedokrwinnym może być brak powrotu czynności bioelektrycznej mózgowia, a w szczególności ośrodków naczynioruchowych. Stosunkowo mało wiadomo o zależnościach pomiędzy tymi zmianami, a jeszcze mniej odnośnie możliwości zapobiegania im, bądź wykorzystania w celu przewidywania rokowania w okresie poniedokrwinnym.

Celem pracy była analiza zmian  $pO_2$ ,  $pCO_2$  i pH tętniczej krwi u zwierząt, u których zarówno dochodziło, jak i nie dochodziło do powrotu czynności bioelektrycznej mózgowia po jego całkowitym 30 min. niedokrwieniu.

### MATERIAŁ I METODY

Doświadczenia wykonano na 20 królikach, samcach, o masie ciała 2,6—3,4 kg, u których dojściem nadmostkowym bez wykonywania torakotomii wy-

wolowano całkowite niedokrwienie mózgowia, przez wewnątrzkratkowe zamknięcie pnia ramiennogłowego, lewej tętnicy podobojczykowej oraz obu tętnic piersiowych wewnętrznych. W celu uniknięcia obocznego napływu krwi do mózgowia zmniejszono obwodowe ciśnienie tętnicze do 70—50 mm Hg, metodą kontrolowanego skrwawiania przez tętnicę udową do kompensatora ciśnienia (Pluta, Kapuściński 1980).

Zwierzęta były usypiane pentobarbitalem (Nembutal, 30—40 mg/kg masy ciała) podawanym dożylnie, następnie wykonywano tracheotomię i po unieruchomieniu Tricuraniem (3—4 mg/kg dożylnie) były one sztucznie wentylowane powietrzem. W razie potrzeby podczas trwania doświadczenia podawano dodatkowe dawki Nembutalu i Tricuranu. Jedna tętnica i jedna żyła udowa były cewnikowane w celu pomiaru ciśnienia krwi i podawania leków. Następnie odsłaniano kości czaszki na poziomie szwu strzałkowego i wieńcowego w celu umocowania elektrod do zapisu elektrokortykogramu (ECoG). W czaszce wiercono trzy otwory o średnicy około 2 mm nad lewą półkulą mózgu w okolicy ciemieniowo-potylicznej, czołowo-ciemieniowej oraz zatoki czołowej nie uszkadzając opony twardej. Do otworów wprowadzano srebrne elektrody igłowe, uzyskując kontakt z oponą twardą. Elektrody rejestrujące znajdowały się w odległości 1—5 cm od siebie, w zależności od wielkości czaszki. Stosowano jedno odprowadzenie dwubiegunowe oraz dwa odprowadzenia jednobiegunowe.

Przed rozpoczęciem niedokrwienia mózgowia ustalano parametry sztucznej wentylacji tak, aby zawartość  $\text{CO}_2$  w powietrzu wydechowym oraz  $\text{pO}_2$  i  $\text{pCO}_2$  w krwi tętniczej wahała się w takich samych granicach jak u zwierząt oddychających samoistnie po uspieniu pentobarbitalem. Poziom  $\text{pO}_2$ ,  $\text{pCO}_2$  i pH oznaczano w próbkach krwi pobieranych z tętnicy udowej w 15 i 30 min. niedokrwienia oraz w 30, 60, 90, 120, 150, 180 min. po niedokrwieniu przy pomocy aparatu Astrupa (BMS<sub>3</sub>-Radiometer). Zawartość  $\text{CO}_2$  w powietrzu wydechowym rejestrowano przy użyciu kapnografu (Medical Gas Analyzer LB-2, Beckman).

W czasie niedokrwienia mózgowia i po niedokrwieniu, ciśnienie tętnicze krwi utrzymywane było przy pomocy retransfuzji własnej krwi zwierzęcia oraz dożylniej kroplówki noradrenaliny (1 mg noradrenaliny na 100 ml 0,9% NaCl). Zwierzęta były obserwowane przez okres co najmniej 3 godzin po niedokrwieniu. Powrót czynności ośrodków naczynioruchowych oceniano na podstawie czasu, od którego zwierzę było w stanie samo utrzymać ciśnienie tętnicze krwi. Jako powrót czynności ośrodków oddechowych przyjmowano natomiast pojawienie się własnego oddechu zwierzęcia po niedokrwieniu, bądź w końcu doświadczenia, gdy przestawały działać środki zwiotczające mięśnie.

W doświadczeniach rejestrowano następujące dane, posługując się 8-kanalowym aparatem EEG (Accutrace-8, Beckman): ECoG, EKG za pomocą

dwóch igłowych elektrod umocowanych w przedniej prawej i tylnej lewej kończynie (odprowadzenie II), układowe ciśnienie tętnicze. Kontrolowano również termoelektrodą (Elektrolaboriet Ellab-A/S) ciepłotę ciała zwierząt w *rectum*, utrzymując ją po niedokrwieniu na poziomie 36—38°C. Czas przygotowania doświadczenia zamykał się w granicach 1—1,5 godz. U wszystkich zwierząt przeprowadzono badanie sekcyjne.

Obliczenia  $\text{HCO}_3^-$  i całkowitego  $\text{CO}_2$  ( $\text{TCO}_2$ ) dokonano w oparciu o tablice Sigaard-Andersena (1964). Znamienność statystyczną uzyskanych wyników oceniano przy zastosowaniu testu *t*-Studenta.

#### WYNIKI

Zamknięcie naczyń doprowadzających krew do mózgowia wywoływało reakcję wazopresyjną w postaci gwałtownego podwyższenia ciśnienia tętniczego krwi, osiągającego w ciągu kilku sekund wartość około 160 mm Hg przy średnim wyjściowym poziomie ciśnienia wahającym się w granicach od 75 do 100 mm Hg. Okres ten trwał około 1 min., po czym przez kontrolowane skrwawianie zwierzęcia, obniżano ciśnienie krwi do 70—50 mm Hg w celu uniknięcia obocznego napływu krwi do mózgowia. W wyniku powyższego postępowania do kompensatora ciśnienia wypływało w przybliżeniu 70 ml krwi w ciągu 3—4 min. Po 3—6 min. od początku niedokrwienia mózgowia, ciśnienie tętnicze wykazywało wyraźną tendencję spadkową poniżej 50 mm Hg. W celu jego podtrzymania dokonywano zwrotnego przetoczenia krwi z kompensatora ciśnienia, a gdy to nie było skuteczne, podawano dożylnie wlewy kroplowe noradrenaliny. Czas powrotu krwi z kompensatora ciśnienia do układu naczyniowego zwierzęcia nie przekraczał 12 min. od początku niedokrwienia. W czasie odnowy krążenia krwi w mózgowiu, ciśnienie tętnicze wahało się w granicach od 65 do 100 mm Hg.

Przed okresem niedokrwienia mózgowia kontrolowano w krwi tętniczej poziom  $\text{pO}_2$ ,  $\text{pCO}_2$  i pH. Prężność tlenu we krwi wahała się od  $79,8 \pm 5,5$  do  $84,5 \pm 4,3$  mm Hg, natomiast  $\text{pCO}_2$  od  $28,9 \pm 4,6$  do  $36,9 \pm 1,3$  mm Hg. Wartości pH zawierały się w granicach od  $7,416 \pm 0,028$  do  $7,424 \pm 0,028$ . Natomiast poziom  $\text{HCO}_3^-$  od  $18,8 \pm 2,9$  do  $23,5 \pm 1,7$  mEq/l, a  $\text{TCO}_2$  od  $19,6 \pm 2,9$  do  $24,6 \pm 1,7$  mMol/l. Zawartość  $\text{CO}_2$  w powietrzu wydechowym wynosiła od 3 do 4,5%.

W tabeli 1 przedstawiono zmiany prężności gazów i pH w krwi tętniczej 6 królików, które podczas całego doświadczenia wentylowane były powietrzem. W czasie niedokrwienia mózgowia nie obserwowano istotnych zmian w prężności tlenu we krwi, natomiast w 30 min. po przywróceniu krążenia dochodziło do spadku prężności tlenu w obwodowej krwi tętniczej z  $84,5 \pm 4,3$  mm Hg w kontroli do  $51,3 \pm 7,2$  mm Hg ( $p < 0,001$ ). Prężność  $\text{CO}_2$  w końcowym okresie niedokrwienia obniżała się z  $36,9 \pm 1,3$  do  $32,2 \pm 1,3$  mm Hg

Tabela 1. Zmiany prężności gazów i pH w tętniczej krwi królików sztucznie wentylowanych powietrzem podczas niedokrwienia i po całkowitym 30 min niedokrwieniu mózgowia

Table 1. Changes of gases tension and pH in arterial blood of rabbits artificially ventilated with air during ischemia and after complete 30 min cerebral ischemia

Badane parametry Investigated parameters	Kontrola Control	Niedokrwienie Ischemia		Okres po niedokrwieniu Period after ischemia
		15 min	30 min	30 min
pO <sub>2</sub> mm Hg	84,5 ± 4,3*	82,0 ± 5,0	82,4 ± 4,0	51,3 ± 7,2 p < 0,001
pCO <sub>2</sub> mm Hg	36,9 ± 1,3	32,8 ± 3,2 p < 0,02	32,2 ± 1,3 p < 0,001	47,3 ± 1,8 p < 0,001
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mEq/l	23,5 ± 1,7	15,3 ± 1,0 p < 0,001	15,0 ± 0,8 p < 0,001	11,5 ± 0,5 p < 0,001
TCO <sub>2</sub> mMol/l	24,6 ± 1,7	16,4 ± 1,1 p < 0,001	16,0 ± 0,8 p < 0,001	12,8 ± 0,5 p < 0,001
pH	7,416 ± 0,028	7,290 ± 0,037 p < 0,001	7,279 ± 0,023 p < 0,001	7,010 ± 0,033 p < 0,001

\* — Wartości średnie ± odchylenie standardowe  
Mean values ± S.D.

p — prawdopodobieństwo  
probability

Każda grupa doświadczalna obejmowała 6 zwierząt  
Each experimental group included 6 animals

(p < 0,001). W 30 min. po wznowieniu krążenia w mózgowiu obserwowano wzrost prężności CO<sub>2</sub> we krwi dochodzący do 47,3 ± 1,8 mm Hg (p < 0,001). Podobny przebieg zmian w okresie niedokrwienia zaobserwowano w poziomie HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> i TCO<sub>2</sub>, jednakże spadek tych wartości był większy i pogłębiał się nadal po przywróceniu krążenia mózgowego. W 30 min. niedokrwienia pH

Tabela 2. Zmiany prężności gazów i pH w tętniczej krwi królików z Po niedokrwieniu mózgowia wen

Table 2. Changes of gases tension and pH in arterial blood of rabbits After cerebral ischemia ventilation

Badane parametry Investigated parameters	Kontrola Control	Niedokrwienie	Ischemia	Okres po
		15 min	30 min	30 min
pO <sub>2</sub> mm Hg	79,8 ± 5,5*	83,1 ± 8,5	84,4 ± 8,5	110,7 ± 25,5 <sup>x</sup>
pCO <sub>2</sub> mm Hg	28,9 ± 4,6	28,5 ± 6,2	28,0 ± 3,1	34,2 ± 6,4
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mEq/l	18,8 ± 2,9	13,9 ± 3,5 <sup>x</sup>	13,6 ± 2,2 <sup>x</sup>	14,7 ± 3,1 <sup>x</sup>
TCO <sub>2</sub> mMol/l	19,6 ± 2,9	14,9 ± 3,4 <sup>x</sup>	14,5 ± 2,1 <sup>x</sup>	15,7 ± 3,1 <sup>x</sup>
pH	7,424 ± 0,028	7,302 ± 0,127 <sup>x</sup>	7,299 ± 0,096 <sup>x</sup>	7,250 ± 0,13 <sup>x</sup>

<sup>x</sup> — Wartości średnie ± odchylenie standardowe  
Mean values ± SD

p — prawdopodobieństwo, <sup>x</sup> — p < 0,05  
probability

Każda grupa doświadczalna obejmowała 6 zwierząt  
Each experimental group included 6 animals

krwi tętniczej obniżało się z  $7,416 \pm 0,028$  w kontroli do  $7,279 \pm 0,023$  ( $p < 0,001$ ). Zakwaszenie krwi w 30 min. po niedokrwieniu zwiększało się dochodząc do pH  $7,010 \pm 0,033$  ( $p < 0,001$ ).

W tabeli 2 przedstawiono zmiany prężności gazów i pH w krwi tętniczej królików, u których po całkowitym 30 min. niedokrwieniu powracała czynność mózgowia. Zwierzęta te w okresie odnowy krążenia w mózgowiu, wentylowane były mieszaniną powietrza z tlenem o szybkości przepływu tlenu do  $0,25$  l/min. W tej grupie doświadczalnej u wszystkich zwierząt stwierdzono powrót czynności ośrodków naczynioruchowych i ośrodków oddechowych; u 5 zwierząt rejestrowano pierwsze objawy powrotu ECoG oraz ciągłą aktywność bioelektryczną. Tylko w jednym przypadku nie stwierdzono powrotu czynności ECoG. Wiązało się to, jak wykazało badanie sekcyjne, ze zniszczeniem kory mózgu przez masywne wylewy krwi. W czasie niedokrwienia obserwowano nieznamienisty wzrost prężności tlenu we krwi. Po niedokrwieniu przez cały okres obserwacji, prężność tlenu była znamienicie podwyższona, osiągając najwyższą wartość  $119,9 \pm 20,1$  mm Hg w 60 min. odnowy krążenia. Prężność  $CO_2$  w okresie zatrzymania krążenia mózgowego praktycznie nie zmieniała się. Natomiast w okresie odnowy krążenia prężność  $CO_2$  była nieznamienicie podwyższona, a najwyższą wartość  $34,5 \pm 7,2$  mm Hg osiągała w 60 min. W dalszych przedziałach czasowych utrzymywała się ona w granicach kontrolnych. Dwuwęglany i  $TCO_2$  obniżały się w sposób postępujący przez cały okres doświadczenia. W 30 min. niedokrwienia obserwowano spadek pH z  $7,424 \pm 0,028$  w kontroli do  $7,299 \pm 0,096$  ( $p < 0,05$ ). Zakwaszenie krwi pogłębiało się w okresie poniedokrwiennym osiągając w 60 min. najniższą wartość pH —  $7,173 \pm 0,130$ , natomiast od 90 min. następował

powrotem czynności mózgowia po całkowitym 30-min niedokrwieniu.

tylacja mieszaniną powietrza z tlenem

with recovery of cerebral function after 30-min complete ischemia.

with air and oxygen mixture

niedokrwieniu	Period after ischemia				
	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
119,9 ± 20,1 <sup>x</sup>	110,3 ± 30,0 <sup>x</sup>	93,4 ± 9,8 <sup>x</sup>	97,1 ± 21,7	99,8 ± 11,6 <sup>x</sup>	
34,5 ± 7,2	30,3 ± 3,1	30,7 ± 4,5	30,6 ± 5,0	28,2 ± 5,1	
12,3 ± 2,6 <sup>x</sup>	12,1 ± 2,8 <sup>x</sup>	12,3 ± 3,3 <sup>x</sup>	12,9 ± 3,9 <sup>x</sup>	12,0 ± 3,9 <sup>x</sup>	
13,4 ± 2,6 <sup>x</sup>	13,1 ± 2,7 <sup>x</sup>	13,4 ± 3,3 <sup>x</sup>	13,9 ± 3,9 <sup>x</sup>	12,9 ± 3,9 <sup>x</sup>	
7,173 ± 0,130 <sup>x</sup>	7,214 ± 0,093 <sup>x</sup>	7,214 ± 0,097 <sup>x</sup>	7,234 ± 0,106 <sup>x</sup>	7,232 ± 0,111 <sup>x</sup>	

Tabela 3. Zmiany prężności gazów i pH w tętniczej krwi królików bez  
Po niedokrwieniu mózgowia wenty  
Table 3. Changes of gases tension and pH in arteriol blood of rabbits  
After cerebral ischemia ventilation

Badane parametry Investigated parameters	Kontrola Control	Niedokrwienie	Ischemia	Okres po
		15 min	30 min	30 min
pO <sub>2</sub> mm Hg	80,0±4,3* (8)	76,7±7,8 (8)	76,2±10,8 (8)	105,0±23,9 (7)
pCO <sub>2</sub> mm Hg	31,8±4,4 (8)	29,4±5,9 (8)	29,2±5,8 (8)	35,9±13,2 (7)
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mEq/l	20,5±2,3 (8)	14,4±2,7 <sup>x</sup> (8)	12,9±3,3 <sup>x</sup> (8)	9,5±3,6 <sup>x</sup> (7)
TCO <sub>2</sub> mMol/l	21,5±2,4 (8)	15,4±2,7 <sup>x</sup> (8)	13,9±3,4 <sup>x</sup> (8)	10,7±3,7 <sup>x</sup> (7)
pH	7,422±0,029 (8)	7,309±0,115 <sup>x</sup> (8)	7,253±0,121 <sup>x</sup> (8)	7,049±0,139 <sup>x</sup> (7)

<sup>x</sup> wartości średnie ± odchylenie standardowe  
mean values ± SD

p – prawdopodobieństwo x – p < 0,05  
probability

W nawiasach liczba zwierząt  
In parentheses number of animals

powolny wzrost pH osiągający wartość 7,234±0,106 w 150 min. W trzech obserwowanych przypadkach pH wzrastało do 7,317 w 180 min. odnowy krążenia mózgowego.

Wszystkie zwierzęta z tej grupy doświadczałnej po zakończeniu doświadczenia były uśmiercane.

Tabela 3 przedstawia zmiany w prężności gazów i pH krwi tętniczej zwierząt, u których nie nastąpił powrót czynności mózgowia, bądź też obserwowano jedynie krótkotrwały przejściowy powrót pojedynczych czynności. W 3 przypadkach stwierdzono krótkotrwały powrót czynności naczynioruchowej z następczym jej wtórnym nieodwracalnym zanikiem. W żadnym badanym przypadku nie stwierdzono powrotu czynności ośrodków oddechowych. Pierwsze objawy powrotu czynności ECoG rejestrowano u 3 zwierząt, po czym u 2 z nich czynność bioelektryczna kory wtórnie zanikła. Powrót ciągłej aktywności bioelektrycznej kory mózgu zarejestrowano w jednym przypadku, jednakże mimo to królik padł w 180 min. doświadczenia. Przyczyną śmierci był postępujący spadek ciśnienia krwi i pogłębiające się nawodnienie związane ze stosowaniem wlewów z noradrenaliną.

W czasie niedokrwienia mózgowia uwidocznił się nieznamienny spadek prężności tlenu we krwi z 80,0±4,3 w kontroli do 76,2±10,8 mm Hg. Wentylacja zwierząt mieszaniną powietrza z tlenem w czasie odnowy krążenia mózgowego pozwalała na utrzymanie prężności tlenu we krwi w granicach od 86,3±32,9 do 111,1±30,9 mm Hg. Prężność CO<sub>2</sub> we krwi w tej grupie

powrotu czynności mózgowia po całkowitym 30-min niedokrwieniu.  
 lacja mieszaniną powietrza z tlenem  
 without recovery of cerebral function after 30-min complete ischemia.  
 with air and oxygen mixture

niedokrwieniu		Period after ischemia		
60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
111,1 ± 30,9 <sup>x</sup> (8)	108,9 ± 31,2 <sup>x</sup> (7)	105,8 ± 21,4 <sup>x</sup> (8)	108,9 ± 36,8 <sup>x</sup> (7)	86,3 ± 32,9 (6)
40,0 ± 18,4 (8)	34,3 ± 12,1 (7)	32,1 ± 10,7 (8)	31,8 ± 10,4 (7)	33,9 ± 12,3 (6)
8,7 ± 4,2 <sup>x</sup> (8)	7,7 ± 2,8 <sup>x</sup> (6)	7,5 ± 3,1 <sup>x</sup> (7)	6,7 ± 2,6 <sup>x</sup> (7)	6,2 ± 1,9 <sup>x</sup> (5)
9,9 ± 4,5 <sup>x</sup> (8)	8,9 ± 3,0 <sup>x</sup> (6)	8,7 ± 3,3 <sup>x</sup> (7)	7,8 ± 2,7 <sup>x</sup> (7)	7,5 ± 2,0 <sup>x</sup> (5)
6,964 ± 0,124 <sup>x</sup> (8)	6,912 ± 0,120 <sup>x</sup> (7)	6,926 ± 0,144 <sup>x</sup> (8)	6,937 ± 0,128 <sup>x</sup> (7)	6,844 ± 0,127 <sup>x</sup> (6)

zwierząt w czasie niedokrwienia mózgowia obniżała się nieznamiennie z  $31,8 \pm 4,4$  do  $29,2 \pm 5,8$  mm Hg, natomiast w okresie poniedokrwiennym w 60 min. osiągała najwyższą wartość  $40,0 \pm 18,4$  mm Hg. Dwuwęglany i  $\text{TCO}_2$  wykazywały postępującą tendencję spadkową przez cały czas trwania doświadczenia. Podobnie jak u zwierząt z powrotem czynności mózgowia i w tej grupie doświadczalnej odnotowano znamieny spadek pH z  $7,422 \pm 0,029$  do  $7,253 \pm 0,121$  ( $p < 0,05$ ) w końcu okresu niedokrwienia. Stopień zakwaszenia krwi pogłębiał się drastycznie w okresie odnowy krążenia mózgowego, osiągając w 60 min. wartość  $6,964 \pm 0,124$ . Od tego czasu obserwowano powolne obniżanie się pH, którego wartość w 180 min. wynosiła  $6,844 \pm 0,127$ . Wszystkie zwierzęta w tej grupie doświadczalnej padły w trakcie doświadczenia.

#### OMÓWIENIE

Jest znanym, faktem, że skład płynu mózgowo-rdzeniowego odzwierciedla stan metabolizmu mózgowia, a zawartość mleczanów w płynie (Zaks 1973) oraz pH kory (Hossmann, Zimmermann 1974) są czułym wykładnikiem uszkodzenia mózgowia. Z drugiej strony wydaje się, że kierunek zmian zachodzących we krwi obwodowej jest podobny do zmian w tkankach mózgu. Dotyczy to szczególnie obniżenia stężenia jonów wodorowych w czasie niedokrwienia, a także poziomu dwuwęglanów oraz całkowitego  $\text{CO}_2$ . Zakwaszenie krwi tętniczej w czasie całkowitego zatrzymania krążenia mózgowego

należy wiązać, między innymi, z powrotem zakwaszonej krwi z kompensatora ciśnienia do układu krążenia organizmu oraz z możliwością wymiany metabolicznej pomiędzy płynem mózgowo-rdzeniowym, znajdującym się w kanale kręgowym, a naczyniami otaczającymi kanał. Nie można wykluczyć również, przynajmniej okresowej możliwości zasysania z naczyń żylnych mózgowia resztek zakwaszonej krwi poprzez ruchy oddechowe klatki piersiowej. Hossmann i wsp. (1980) przypisują istotną rolę w tym okresie między innymi koagulacji wewnątrznaczyniowej. Według nich koagulacja wewnątrznaczyniowa działa na pozamózgowe narządy silniej niż na sam mózg. Jest to zatem dodatkowy czynnik stresowy, który może być przyczyną dodatkowych powikłań. Wyniki przedstawionych badań są zgodne ze spostrzeżeniami Kawakami i Hossmanna (1977), ale odbiegają od spostrzeżeń innych autorów w podobnym modelu doświadczalnym (Hossmann, Zimmermann 1974; Kolata 1979; Pulsinelli, Brierley 1979). Różnice w wynikach mogą być spowodowane między innymi tym, że Hossmann i Zimmermann (1974) dokonywali w czasie niedokrwienia mózgowia zmian parametrów pompy wentylacyjnej oraz podawali związki buforowe celem wyrównania zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej. Kolata (1979) w czasie niedokrwienia mózgowia wentylował zwierzęta mieszaniną tlenu z halotanem, i podobnie jak Pulsinelli i Brierley (1979), nie stosował upustu krwi.

Tkanki mózgu charakteryzujące się bardzo wysokim wskaźnikiem zużycia tlenu i przemiany materii posiadają znikome rezerwy energetyczne i są całkowicie uzależnione od stałego dopływu tlenu i substratów energetycznych. Niedokrwienie mózgowia powoduje wstrzymanie dopływu zarówno tlenu jak i substratów energetycznych oraz uniemożliwia odprowadzanie dwutlenku węgla i innych produktów metabolizmu. Przywrócenie krążenia mózgowego powoduje zatem zwiększone zapotrzebowanie na tlen, czego potwierdzeniem są wyniki uzyskane przy wentylacji zwierząt powietrzem po okresie niedokrwienia. Przy takim sposobie wentylacji dochodziło do obniżenia prężności tlenu w krwi tętniczej do  $51,3 \pm 7,2$  mm Hg, a to z kolei powodowało wzrost  $\text{CO}_2$  do  $47,3 \pm 1,8$  mm Hg oraz dużego stopnia spadek pH do  $7,010 \pm 0,033$ . Obserwacje te wskazują na to, iż wentylację zwierząt w okresie odnowy krążenia mózgowego należy prowadzić mieszaniną powietrza z tlenem o szybkości przepływu tlenu 0,25 l/min. Prowadzenie w taki sposób wentylacji w grupie zwierząt, u których następował powrót czynności mózgowia, jak i u tych, u których go nie stwierdzono, pozwalało na utrzymanie prężności tlenu w krwi tętniczej w granicach zbliżonych do 100 mm Hg. Taki sposób postępowania miał także istotny wpływ na prężność  $\text{CO}_2$  w czasie odnowy krążenia mózgowego. Odmiennie jednak kształtował się poziom pH w obu grupach. U zwierząt z powrotem czynności mózgowia w 30 min. odnowy krążenia mózgowego pH obniżało się do  $7,250 \pm 0,130$ , a w grupie bez powrotu czynności aż do  $7,049 \pm 0,139$ .



Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że 60 minuta po niedokrwieniu jest krytycznym okresem. W tym czasie dochodzi do najgłębszego obniżenia pH odpowiednio w grupach — do  $7,173 \pm 0,130$  i do  $6,964 \pm 0,124$ . W grupie bez powrotu czynności mózgowia w tym czasie obserwowano wzrost prężności  $\text{CO}_2$  we krwi tętniczej dochodzący do  $40,0 \pm 18,4$  mm Hg. Powyższy stan, szczególnie w drugiej grupie doświadczalnej, należy wiązać z nieodwracalnymi uszkodzeniami mózgowia, gdyż jak wykazano w poprzednich doświadczeniach (Pluta, Kapuściński 1980), w przedziale czasu od 30 min. do 60 min. po niedokrwieniu zaczynają zazwyczaj powracać kolejno funkcje ośrodków naczyńoruchowych i oddechowych oraz czynność bioelektryczna kory mózgowej. Powrotowi tych funkcji towarzyszy wzrost pH, natomiast brak powrotu związany jest z obniżeniem pH aż do  $6,844 \pm 0,127$ . Z przeprowadzonych badań wynika, że w całkowitym długotrwałym niedokrwieniu mózgowia występują bardzo silne zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej obwodowej krwi. Charakter przedstawionych zmian w okresie odnowy krążenia mózgowego jest zbliżony do zmian obserwowanych w innych modelach niedokrwienia mózgowia (Hossmann, Zimmermann 1974; Snyder i wsp. 1975; Kawakami, Hossmann 1977; Kapuściński 1978).

Jak wspomniano poprzednio, skład płynu mózgowo-rdzeniowego odzwierciedla stan metabolizmu mózgowia, a zawartość mleczanów w płynie jest wskaźnikiem patologicznych zmian w mózgowiu. Normalizacja zawartości mleczanu oraz pH płynu mózgowo-rdzeniowego odpowiada takim samym zmianom we krwi (Zaks 1976). Przy braku oznaczeń równowagi kwasowo-zasadowej w płynie mózgowo-rdzeniowym, zmiany pH obwodowej krwi tętniczej mogą, jak się wydaje, spełniać funkcję takiego samego wskaźnika w przypadkach niedokrwienia mózgowia. Po zatrzymaniu krążenia mózgowego dynamika zmian pH we krwi obwodowej oraz stopień jego obniżenia może mieć prognostyczne znaczenie podczas resuscytacji. Wydaje się bowiem, że o ciężkości niedokrwienia mózgowia w późniejszych okresach resuscytacji można sądzić na podstawie wartości pH w układowej krwi tętniczej.

#### WNIOSKI

1. Po 30 min. całkowitym niedokrwieniu mózgowia przedział czasowy pomiędzy 30 a 60 min. odnowy mózgowego krążenia krwi jest okresem krytycznym i decyduje o dalszym losie zwierząt.
2. Przy braku oznaczeń równowagi kwasowo-zasadowej w płynie mózgowo-rdzeniowym po całkowitym niedokrwieniu mózgowia w warunkach doświadczalnych, prognostyczne znaczenie w okresie odnowy mózgowego przepływu krwi ma dynamika postępującego obniżenia pH układowej krwi tętniczej.
3. Po długotrwałym całkowitym niedokrwieniu mózgowia zwierzęta należy wentylować mieszaniną powietrza z tlenem.

Autor serdecznie dziękuje Kierownikowi Zespołu Neurofizjologii CMDiK PAN prof. W. Karcezewskiemu za udostępnienie aparatury do oznaczeń prężności gazów i pH w próbkach krwi, Pani T. Warnawin za wykonanie powyższych oznaczeń oraz Panu S. Januszewskiemu za pomoc techniczną przy wykonywaniu doświadczeń.

Р. Плута

### ИЗМЕНЕНИЯ $pO_2$ , $pCO_2$ И pH АРТЕРИАЛЬНОЙ КРОВИ КРОЛИКА В ПОЛНОЙ 30-МИНУТНОЙ ИСХЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Резюме

У 20 кроликов во время 30-минутной полной ишемии мозга и в период 180 мин. после ишемии определялось  $pO_2$ ,  $pCO_2$ ,  $HCO_3^-$ ,  $TCO_2$  и pH системной артериальной крови. Ишемия мозга вызывалась посредством пережатия плечевого ствола, левой субключичной артерии и обеих внутренних грудных артерий с одновременным снижением системного давления крови до 70—50 мм Hg контролируемым кровопусканием.

Полученные результаты указывают, что при постоянной контролируемой вентиляции во время остановки мозгового кровообращения имеет место достоверное снижение pH и  $HCO_3^-$  и  $TCO_2$  в системной артериальной крови. Парциальное же давление кислорода и углекислого газа колеблется в границах контрольных величин. Удержание парциального давления кислорода в крови в границах 100 мм Hg во время возобновления кровообращения мозга требует искусственной вентиляции животных смесью воздуха с кислородом при скорости протекания кислорода около 0,25 л/мин. Возобновление кровообращения в мозге вызывает дальнейшее падение pH и величин  $HCO_3^-$  и  $TCO_2$ . 30—60 мин. после ишемии у 6 животных наблюдалось возвращение активности мозга, а у 8 этого не наблюдалось. Критический период для снижения pH в обеих опытных группах — это 60 мин. возвращения мозгового кровообращения. У животных с возвращением активности мозга pH в это время снижается до  $7,173 \pm 0,130$ , а к 90 мин. обнаруживает медленный рост величины. У животных без возвращения активности мозга pH снижается до  $6,964 \pm 0,124$  и впоследствии кислотность периферической крови углубляется достигая к 180 мин. величину  $6,844 \pm 0,127$ .

R. Pluta

### CHANGES OF $pO_2$ , $pCO_2$ AND pH IN THE ARTERIAL BLOOD OF RABBIT IN 30-MINUTE COMPLETE CEREBRAL ISCHEMIA

Summary

The  $pO_2$ ,  $pCO_2$ ,  $HCO_3^-$ ,  $TCO_2$  and pH values in the systemic arterial blood were determined in 20 rabbits in the period of 30-min complete cerebral ischemia and in the postischemic period up to 180 min. Ischemia was produced by occlusion of brachiocephalic trunk, left subclavian artery and both internal carotid arteries with concomitant lowering of the peripheral blood pressure by controlled bleeding down to 70—50 mm Hg. The results indicate that, under controlled ventilation, complete arrest of the cerebral blood flow is accompanied by a significant decrease of the pH,  $HCO_3^-$  and  $TCO_2$  values in the systemic arterial blood, while the  $pO_2$  and

pCO<sub>2</sub> values remain in the control range. Maintenance of pO<sub>2</sub> close to 100 mm Hg in the period of restitution of cerebral circulation, requires artificial ventilation of the animal with a mixture of oxygen and air, at the rate of 0.25 l/min.

Restitution of cerebral circulation leads to the further decrease of pH, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> and TCO<sub>2</sub> values. In the period of 30—60 min after ischemia, a recovery of cerebral function was observed to occur in 6 animals but was not apparent in 8 animals. The period of 60 min of restitution of cerebral circulation was critical for blood pH decrease in both groups of rabbits. In animals with cerebral recovery, pH reaches at that time  $7.173 \pm 0.130$ , showing a gradual increase in the period beyond 90 min. In animals without recovery, pH levels of to  $6.964 \pm 0.127$  after 60 min and further to  $6.844 \pm 0.127$  after 180 min.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Hossmann K. A., Sato K.: The effect of ischemia on sensorimotor cortex of cat. Electrophysiological, biochemical and electronmicroscopical observations. *Z. Neurol.* 1970, 198, 33—45.
2. Hossmann K. A., Kleihues P.: Reversibility of ischemic brain damage. *Arch. Neurol.* 1973, 29, 375—384.
3. Hossmann K. A., Zimmermann V.: Resuscitation of the monkey brain after 1 h complete ischemia. I. Physiological and morphological observations. *Brain Res.* 1974, 81, 59—74.
4. Hossmann V., Hossmann K. A., Takagi S.: Effect of intravascular platelet aggregation on blood recirculation following prolonged ischemia of the cat brain. *J. Neurol.* 1980, 222, 159—170.
5. Kapuściński A.: Blood gases and pH in the controlled brain ischemia. *Bull. Acad. Pol. Sci.* 1978, 26, 649—654.
6. Kawakami S., Hossmann K. A.: Electrophysiological recovery after compression ischemia of the rat brain. *J. Neurol.* 1977, 217, 31—42.
7. Kleihues P., Hossmann K. A., Pegg A. E., Kobayashi K., Zimmermann V.: Resuscitation of the monkey brain after one hour complete ischemia. III. Indications of metabolic recovery. *Brain Res.* 1975, 95, 61—73.
8. Kolata R. J.: Survival of rabbits after prolonged cerebral ischemia. *Strok* 1979, 10, 272—277.
9. Lindenberg R.: A third factor essential for the development of cerebral lesions in acute hypoxemias and a reappraisal of the significance of pathocllisis. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1963, 22, 318.
10. Müller U., Isselhard W., Hinzen D. H., Geppert E.: Electrocticogram und regionaler Energiestoffwechsel des Kaninchengehirns in der postischämischen Erholung. *Pflügers Arch.* 1970, 320, 181—194.
11. Pluta R., Kapuściński A.: Całkowite niedokrwienie mózgu a czynność bioelektryczna. *Neuropat. Pol.* 1980, 18, 41—52.
12. Pluta R., Tołowa S. W., Kapuściński A.: Całkowite niedokrwienie mózgowia u królika w wyniku ostrego nadeięnienia wewnątrzczaszkowego. *Neuropat. Pol.* 1980, 18, 365—384.
13. Pulsinelli W. A., Brierley J. B.: A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. *Stroke* 1979, 10, 267—272.
14. Siggaard-Andersen O.: The acid-base status of the blood. Munksgaard, Copenhagen 1964.
15. Snyder J. V., Nemoto E. M., Carroll R. G., Safar P.: Global ischemia in dogs: intracranial pressures, brain blood flow and metabolism. *Stroke* 1975, 6, 21—27.

16. Zaks I. O.: Laktacidemia i prognoz pri reanimacii poslie ostanowki krowoobraszczenia w eksperimencie. Biull. eksper. biol. 1973, 6, 53—55.
17. Zaks I. O.: Kislotno-szezielocznoj balans spinno-mozgowej zhidkosti w postreanimacjonnom pieriodie. Biull. eksper. Biol. 1976, 11, 1303—1305.

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

KRYSTYNA RENKAWEK

## LOKALIZACJA ULTRASTRUKTURALNA ENZYMÓW NUKLEOTYDOWYCH W HODOWLI ORGANOTYPOWEJ MÓZDŻKU W WARUNKACH PRAWDŁOWYCH I W NIEDOTLENIENIU

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej  
i Klinicznej PAN

Kierownik Zespołu: prof. dr M. J. Mossakowski

Występowanie enzymów nukleotyдовых w błonach komórkowych jest cechą wspólną dla wielu tkanek i narządów. W większości bowiem błon ma miejsce czynny transport substancji, dla którego energia uzyskiwana jest głównie z wysokoenergetycznych metabolitów fosforanowych. W ośrodkowym układzie nerwowym istnieją szczególne warunki strukturalne regulujące wymianę płynów i substancji między naczyniami a tkanką. Z dotychczasowych prac prowadzonych *in vivo* i *in vitro* wynika, że naczynia mózgu stanowią „barierę” dla wielu związków przechodzących z krwi do tkanki w wyniku odmiennych od naczyń innych narządów nie tylko właściwości strukturalnych, ale również „wyposażenia” enzymatycznego (Joó i wsp. 1967; Van Gelder 1968; Orłowski i wsp. 1974; Renkawek i wsp. 1976; Djuric i wsp. 1978). Między innymi brak enzymów hydrolizujących fosforany nukleotyдове w śródbłonku naczyń większości obszaru mózgu przy jednoczesnym ich występowaniu w naczyniach „bezbarierowych” (Torack, Barnett 1964) uważany jest za swoistą właściwość naczyń ośrodkowego układu nerwowego, związaną z tymi właśnie funkcjami transportowymi. Ponadto ograniczona do 10–15 nm przestrzeń międzykomórkowa w mózgu pozwala sądzić, że glej pełni w nim funkcję „przestrzeni” między naczyniami i neuronami, przez którą znaczna ilość substancji przechodzi z krwi do tkanki na drodze aktywnego transportu przez komórki glejowe do neuronów.

Celem pracy było określenie, czy aktywność enzymów nukleotyдовых jest związana z określonym stopniem dojrzałości naczyń jak również ustalenie wpływu pełnego niedotlenienia na lokalizację aktywności enzymatycznej. Dodatkowo określono umiejscowienie enzymów w komórkach glejowych i nerwowych w procesie ich dojrzewania i różnicowania *in vitro* zarówno w warunkach prawidłowych jak i patologicznych.

## MATERIAŁ I METODY

Hodowle organotypowe mózdzku prowadzono we flaszkiach Carrela do 55 dnia *in vitro* (DIV). W mikroskopie świetlnym prowadzono obserwacje naczyń wyrastających z eksplantatów hodowli mózdzku. W odstępach cotygodniowych wybrane hodowle poddawano 3 i 30—minutowej anoksji poprzez ich utrzymywanie w atmosferze czystego azotu w zmodyfikowanych flaszkiach Carrela. Czas przeżycia po niedotlenieniu wynosił 48—72 godziny dla każdej grupy doświadczalnej hodowli (DIV). W hodowlach z każdej grupy doświadczalnej przeprowadzono reakcje histoenzymatyczne dla ujawnienia aktywności następujących enzymów: guanozynotrójfosfatazy (GTP-azy), cytozynotrójfosfatazy (CTP-azy), inozynodwufosfatazy (IDP-azy) i adenozyotrójfosfatazy (ATP-azy). Hodowle utrwalano w formalinie Beckera (5 min) do mikroskopu świetlnego i w 2% glutaraldehydzie (30 min) do mikroskopu elektronowego. Następnie hodowle zanurzano w roztworach inkubacyjnych zawierających poszczególne substraty dla ujawnienia aktywności odpowiednich enzymów w temperaturze 37°C i w temperaturze pokojowej przez 20—30 min. Roztwory inkubacyjne przygotowano wg metody Wachsteina i Meisela (1957). Hodowle przeznaczone do oglądania w mikroskopie elektronowym płukano w buforze, zanurzano na kilka sekund w czterotlenku osmu i zatapiano w Eponie. Skrawki oglądano w mikroskopie JEM 7A i TESLA 500 BS.

## WYNIKI

*Obserwacje w mikroskopie świetlnym*

W mikroskopie świetlnym hydroliza substratów nukleotydowych uwidacznia się w pojedynczych naczyniach włosowatych, w komórkach glejowych i nerwowych eksplantatów i w otaczającym neurony neuropilu. Znacznie nasilony stopień reakcji enzymatycznej występuje w nisko zróżnicowanych komórkach glejowych wyrastających z eksplantatów do strefy wzrostu hodowli i w nowotworzących się naczyniach w hodowlach jednodniowych (ryc. 1). W hodowlach 30—55-dniowych wysoka aktywność enzymatyczna charakteryzuje wszystkie typy komórek glejowych rosnących w odległej strefie wzrostu hodowli oraz niektóre naczynia włosowate. Aktywność poszczególnych enzymów dla wszystkich substratów wykazuje podobne umiejscowienie i nasilenie reakcji. Najniższa aktywność enzymatyczna dotyczy ATP-azy w naczyniach w strefie wzrostu przy jednocześnie nasilonym odczynie w komórkach glejowych. Aktywność ATP-azy występuje zarówno w astrogleju jak i oligodendrogleju, zwłaszcza w eksplantatach hodowli. W strefie wzrostu najwyższą aktywność obserwuje się w nisko zróżnicowanych skąpowypustkowych komórkach glejowych i w astrocytach.

Spośród pozostałych 3 enzymów najbardziej nasiloną reakcją enzymatyczną w komórkach glejowych i niektórych naczyniach włosowatych dotyczy GTP-azy.

Aktywność tych samych enzymów w anoksji ma podobne nasilenie i to samo umiejscowienie jak w warunkach standardowej normy (ryc. 2).

#### *Obserwacje w mikroskopie elektronowym*

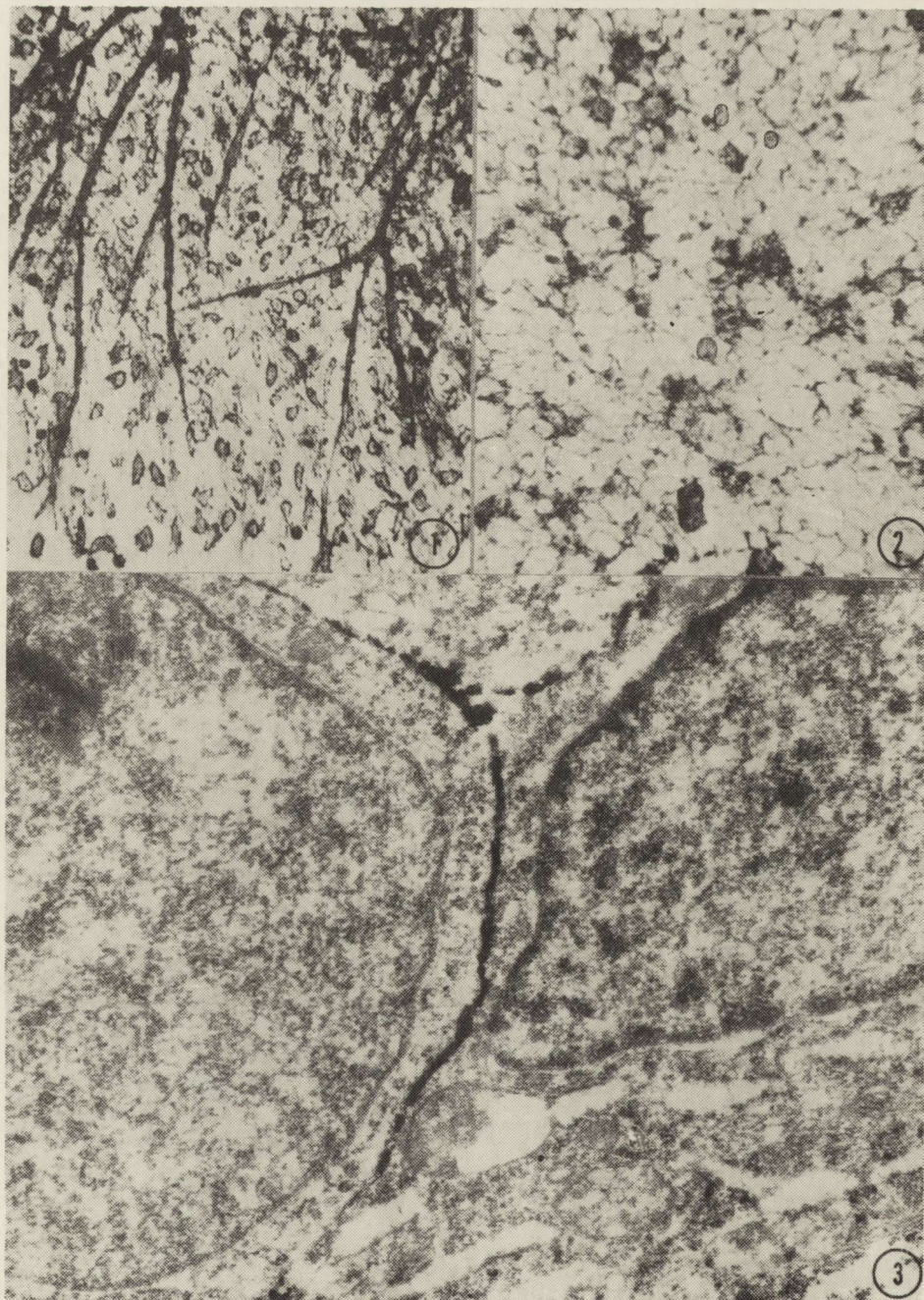
Aktywność poszczególnych enzymów zlokalizowana jest w błonach komórkowych gleju zarówno w eksplantacie, w nisko zróżnicowanych komórkach glejowych w strefie wzrostu hodowli (11—14 DIV), jak i w luźno rosnących komórkach w odległej strefie wzrostu w hodowlach 30—55 DIV. Szczególnie intensywne nagromadzenie elektronowo-gęstego produktu reakcji występuje po hydrolizie substratu dla GTP-azy. Produkt reakcji enzymatycznej nagromadzony jest w błonach sąsiadujących komórek glejowych i nerwowych, w wypustkach glejowych, dendrytach i niektórych aksonach (ryc. 3, 4).

Pozostałe enzymy (CTP-aza, IDP-aza) mają podobną lokalizację; rzadziej występują w wypustkach glejowych i nerwowych, częściej natomiast w błonach perikarialnych przylegających do siebie komórek. Szczególnie wysoką aktywność wypustek glejowych obserwuje się w badaniu ATP-azy. Różnice w stopniu aktywności poszczególnych hydrolaz są niewielkie i widoczne jedynie w eksplantatach hodowli między 3—7 DIV. W niedojrzałych komórkach glejowych produkt reakcji enzymatycznej występuje niekiedy na całej powierzchni błony perikarialnej komórek glejowych (ryc. 5). Najniższą aktywność enzymatyczną widoczną sporadycznie w błonach sąsiadujących komórek glejowych i neuronów wykazuje IDP-aza.

W kolejnych tygodniach obserwacji hodowli *in vitro* lokalizacja i stopień nasilenia reakcji enzymatycznych nie ulega istotnym zmianom. Najwyższą aktywność wykazują: GTP-aza, CTP-aza, najniższą IDP-aza. W strefie wzrostu hodowli najbardziej intensywne nagromadzenie produktów reakcji enzymatycznych występuje w przylegających błonach perikarialnych komórek i w stykających się ze sobą wypustkach glejowych. Znaczne nagromadzenie elektronowo-gęstych produktów reakcji stwierdza się również w ściśle przylegających błonach komórek wyściółki (ryc. 6).

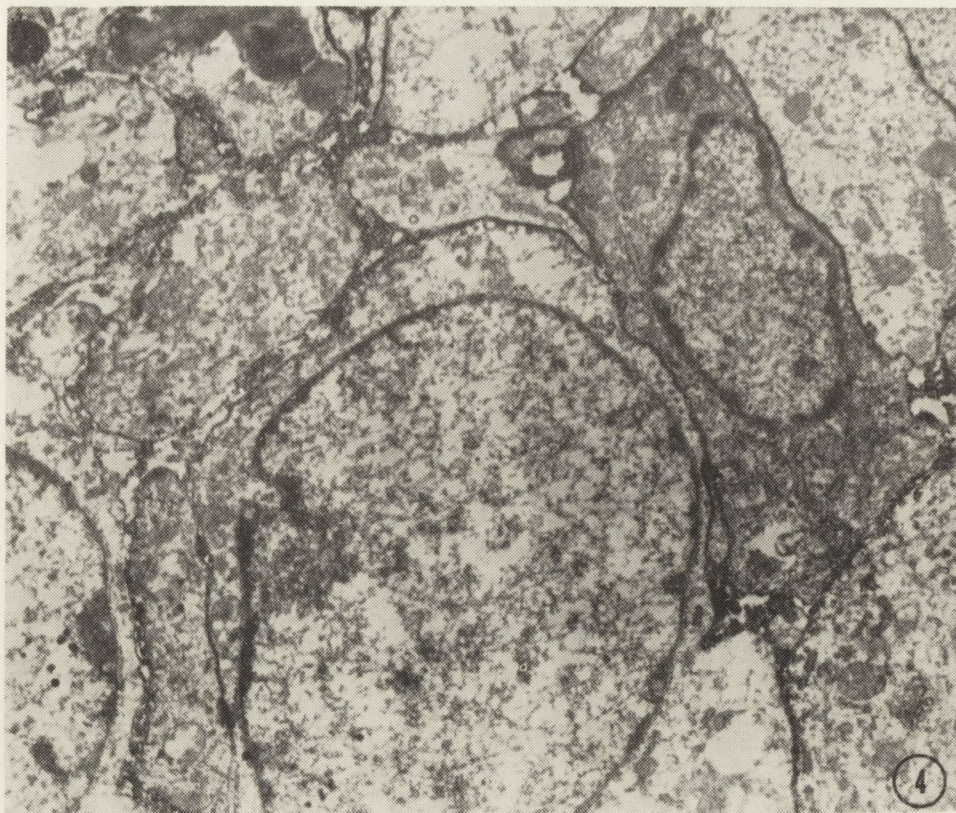
Aktywność żadnego z badanych enzymów nie występuje w cytoplazmie perikarialnej i wypustkowej komórek glejowych i neuronów. Niekiedy produkt reakcji o różnym stopniu zagęszczenia widoczny jest w pęcherzykach pino-cytarnych wpuklonych do cytoplazmy perikarialnej i wypustkowej komórek glejowych (ryc. 7, 8).

Aktywność enzymów nie występuje w śródbłonku naczyń włosowatych eksplantatów i nie pojawia się w nowotworzących się i dojrzewających naczyniach w strefie wzrostu. Produkt reakcji enzymatycznych umiejscowiony jest sporadycznie w błonie podstawnej naczyń, stale natomiast widoczny jest w błonach komórek glejowych otaczających naczynie oraz w błonach wypustek astroglajowych przylegających bezpośrednio do błony podstawnej naczyń (ryc. 9).



*Ryc. 1.* Hodowla 7 DIV. Aktywność GTP-azy w wyrastających z eksplantatu naczyniach włosowatych mózdzku. Wysoka aktywność w komórkach glejowych w strefie wzrostu. Pow.  $60\times$ .  
*Fig. 1.* 7 DIV culture. GTPase activity in capillaries growing from the explant. High activity in glia cells in outgrowth zone.  $\times 60$ .





*Ryc. 4.* Hodowla 11 DIV. Aktywność GTP-azy w błonach komórkowych gleju, neuronów i wypustkach komórkowych. Pow. 9 000 ×.

*Fig. 4.* 11 DIV culture. GTPase activity in the membranes of glia, neurons and their processes. × 9 000.

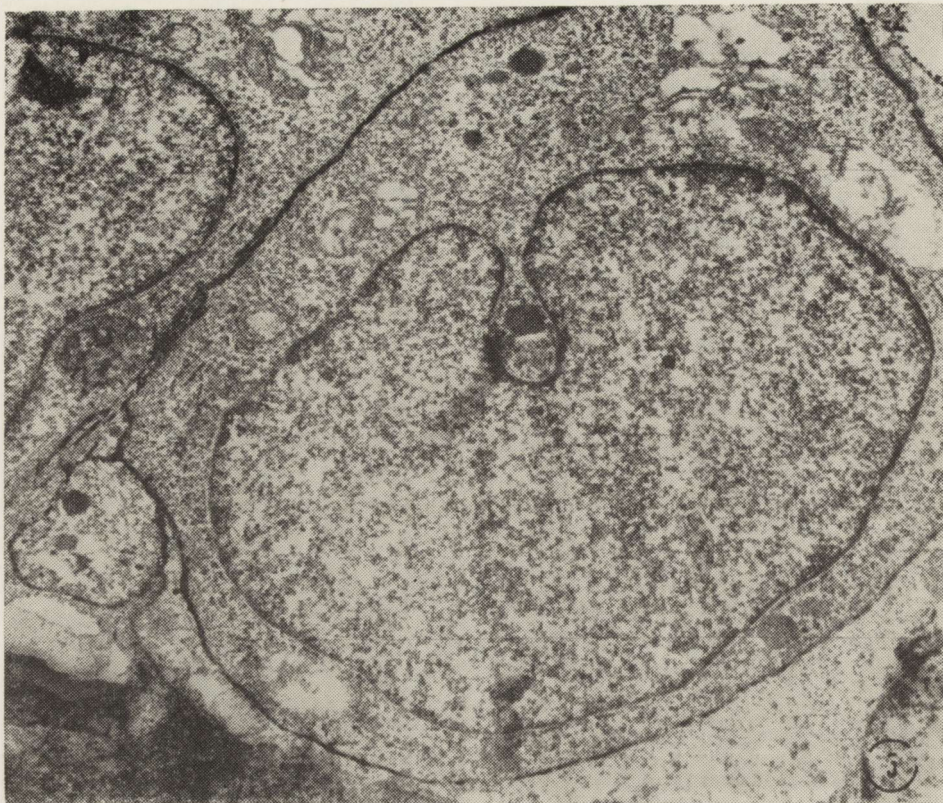
W warunkach niedotlenienia, po 2—3 dniach przeżycia hodowli po doświadczeniu, występuje uszkodzenie elementów strukturalnych komórek nerwowych i glejowych. Obserwuje się rozrzedzenie struktury cytoplazmy astrocytów i ich wypustek. Ponadto zarówno w neuronach jak i w komórkach glejowych mitochondria są obrzmiałe, rozdęte, z zanikającymi i uszkodzonymi

*Ryc. 2.* Hodowla 15 DIV. Aktywność CTP-azy w komórkach nerwowych, glejowych i ich wypustkach w eksplantacie. Anoksja 3 min. Pow. 100 ×.

*Fig. 2.* 15 DIV culture. CTPase activity in neurons, glial cells and their processes situated in the explant, 3 min anoxia. × 100.

*Ryc. 3.* Hodowla 5 DIV. Aktywność GTP-azy w błonach komórek wzajemnie do siebie przylegających. Pow. 22 000 ×.

*Fig. 3.* 5 DIV culture. GTPase activity in the membranes of adhering cells. × 22 000.



*Ryc. 5.* Hodowla 11 DIV. Aktywność GTP-azy w błonie komórkowej niedojrzałej komórki glicyjowej. Pow. 9 000 ×.

*Fig. 5.* 11 DIV culture. GTPase activity in the membrane of immature glial cell. × 9 000.

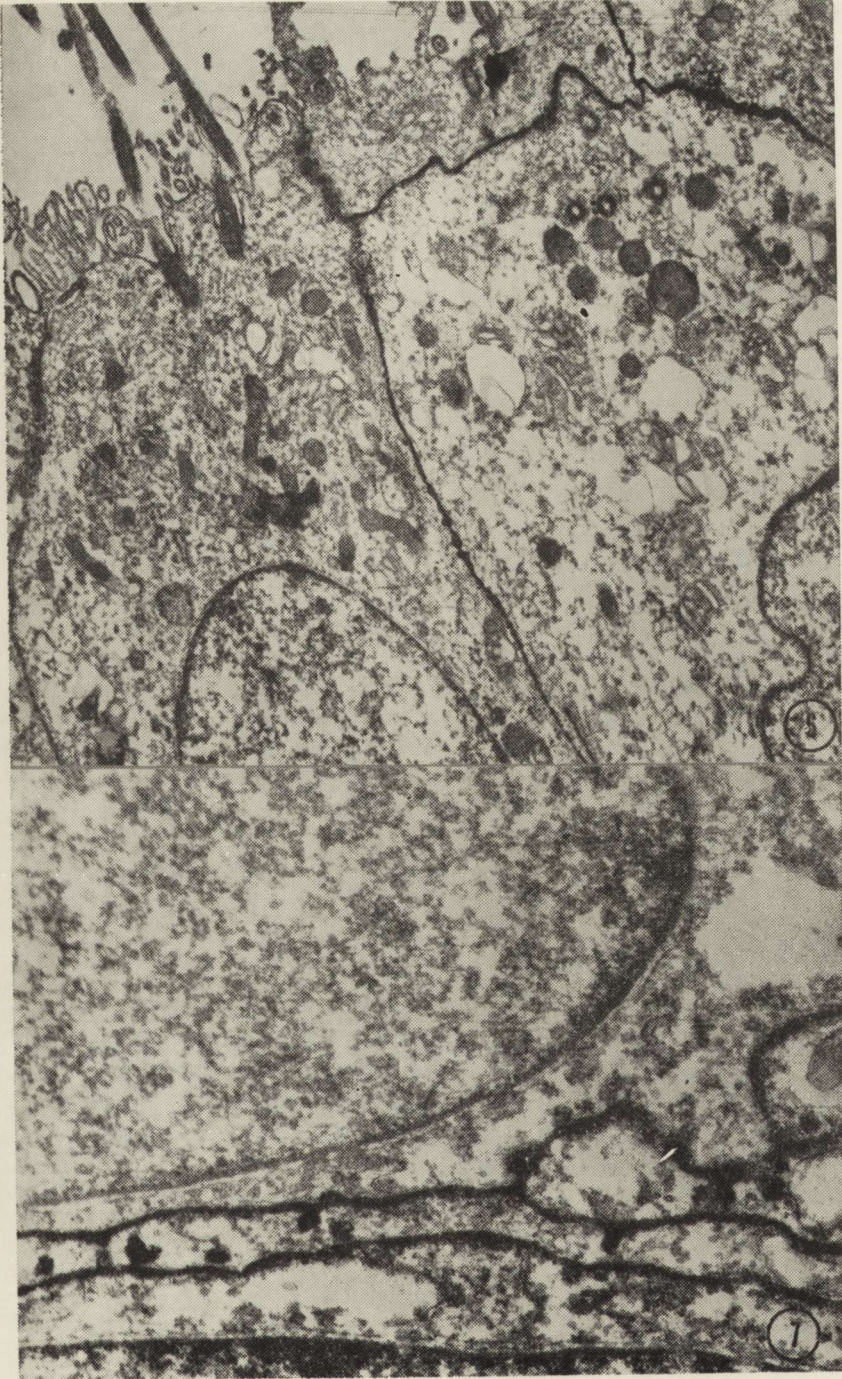
grzebieniami. Pojawia się znaczna ilość pęcherzyków pinocytarnych, wakuoli, rozdętych kanałów siatki śródplazmatycznej. Zmianom morfologicznym towarzyszy wzrost aktywności hydrolaz nukleotydowych. Znaczne nagromadzenie produktów końcowych reakcji enzymatycznych występuje w miejscu styków błon komórkowych i wzajemnie przeplatających się wypustek glicjo-

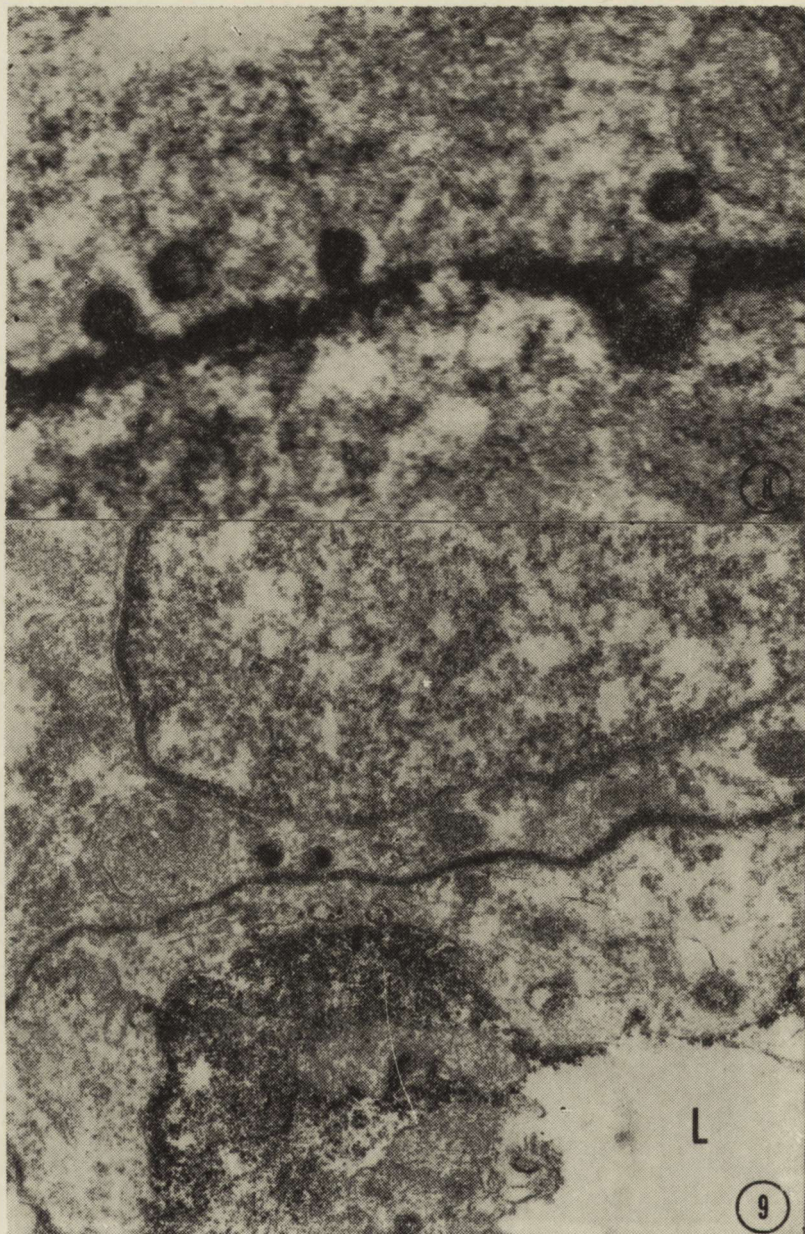
*Ryc. 6.* Hodowla 11 DIV. Aktywność GTP-azy w błonach komórkowych wyściółki okolicy okołokomorowej. Pow. 6 000 ×.

*Fig. 6.* 11 DIV culture. GTPase activity in the membranes of ependymal cells of periventricular area. × 6 000.

*Ryc. 7.* Hodowla 11 DIV. Aktywność CTP-azy. Liczne pęcherzyki pinocytarne i błony sąsiadujących komórek z wysoką aktywnością enzymu. Pow. 8 000 ×.

*Fig. 7.* 11 DIV culture. CTPase activity. Numerous pinocytotic vesicles and adhering cell membranes with high activity. × 8 000.





*Ryc. 8.* Hodowla 11 DIV. Nagromadzenie produktu reakcji enzymatycznej CTP-azy w pęcherzykach pinocytarnych. Pow. 12 000 $\times$ .

*Fig. 8.* 11 DIV culture. Accumulation of the product of enzymatic reaction of CTPase in pinocytic vesicles.  $\times 12\ 000$ .

*Ryc. 9.* Hodowla 11 DIV. Aktywność CTP-azy w pęcherzykach pinocytarnych i błonie komórkowej astrocytu przylegającego do naczynia. L — światło naczynia. Pow. 8 000 $\times$ .

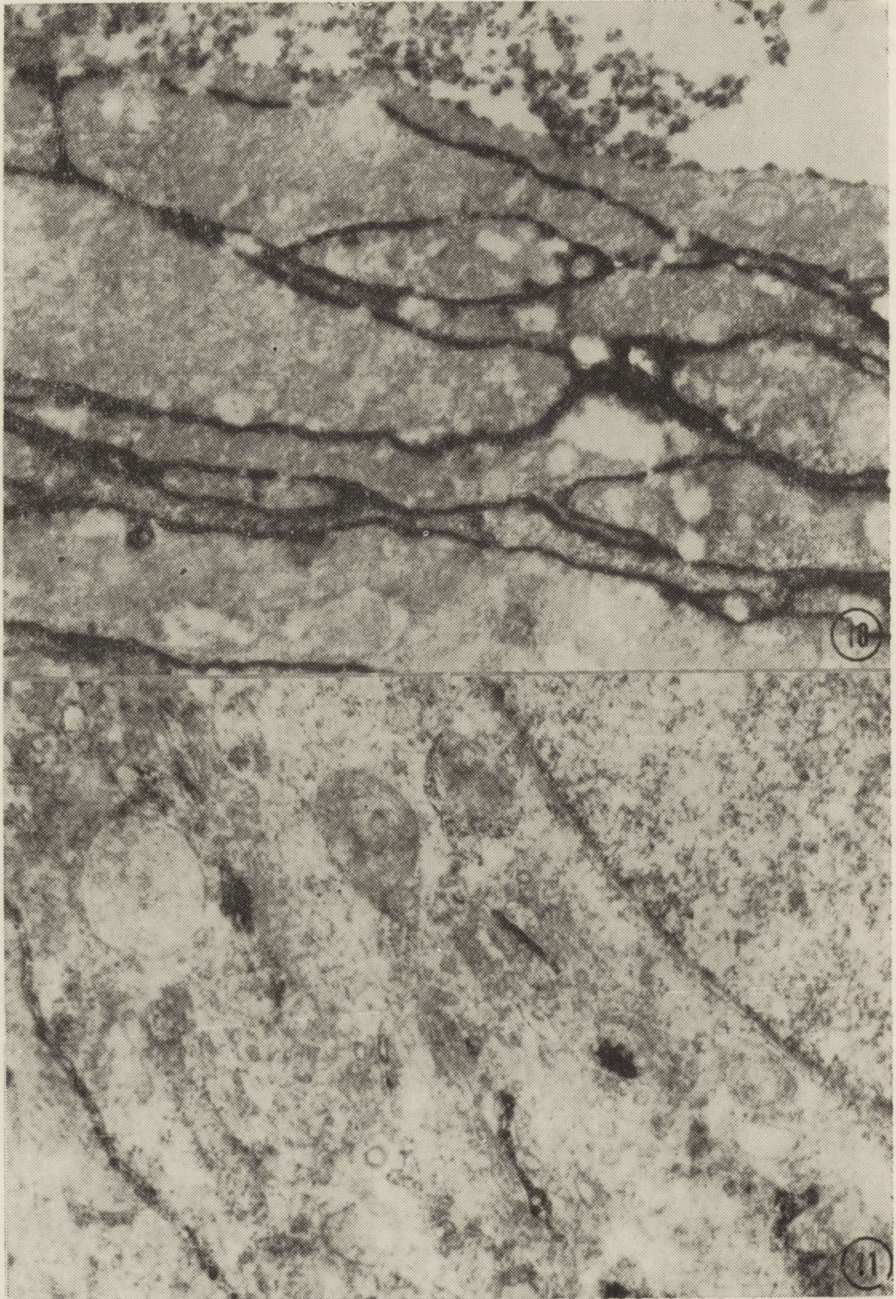
*Fig. 9.* 11 DIV culture. CTPase activity in pinocytic vesicles and in the membrane of astrocyte adhering to the vessel. L — lumen of the vessel.  $\times 8\ 000$ .

wych rosnących w strefie wzrostu hodowli (ryc. 10). Lokalizacja ATP-azy, GTP-azy, CTP-azy w warunkach niedotlenienia jest taka sama jaką opisano powyżej w warunkach standardowej normy. Aktywność enzymów oprócz umiejscowienia w błonach pojawia się również w błoniastych strukturach śródplazmatycznych neuronów i gleju głównie w pęcherzykach i kanalikach aparatu Golgiego (ryc. 11). Aktywność ATP-azy wykazuje intensywne nasilenie w błonach komórkowych i w wypustkach astrocytów nawet wówczas gdy występuje znacznie nasilone ich obrzmienie. Wokół niektórych komórek występuje paciorkowate, nieciągłe nagromadzenie produktów reakcji w sąsiadujących błonach komórek glejowych i neuronów.

#### OMÓWIENIE

Aktywność badanych fosfataz nukleotydowych jest charakterystyczną i stałą cechą metaboliczną błon komórkowych obydwu typów komórek glejowych i neuronów, a szczególnie ich wypustek. W całym okresie obserwacji hodowli (4—55 DIV) przy wysokiej aktywności gleju, naczynia włosowate charakteryzują się brakiem aktywności wszystkich badanych enzymów w komórkach śródbłonka. Aktywności enzymatycznej nie obserwuje się w naczyniach o różnym stopniu dojrzałości obecnych zarówno w eksplantach jak i w strefie wzrostu. Nie pojawia się ona również w żadnej strukturze naczyń (błona podstawna, cytoplazma i błona komórkowa śródbłonek) w warunkach niedotlenienia hodowli, kiedy stwierdza się wysoką aktywność w błonach komórek glejowych. Jedynie sporadycznie występują grube, elektronowo gęste ziarna produktu reakcji enzymatycznej w błonie podstawnej niektórych naczyń o szerokim świetle utworzonym przez dwie lub kilka komórek śródbłonka. Rzadkie i sporadyczne występowanie aktywności enzymatycznej w naczyniach w hodowli wiązać się może ze stopniem wykształcenia się błony podstawnej, która jak wynika z poprzednich badań, rozwija się znacznie później niż formowanie światła nowopowstającego naczynia włosowatego (Renkawek 1979). Należy jednak podkreślić fakt, że mimo wykształcenia się ciągłej i szerokiej błony podstawnej o cechach ultrastrukturalnych świadczących o jej całkowitej dojrzałości (Bär, Wolff 1972), aktywność nukleotydaz występuje rzadko. Wydaje się więc, że przynajmniej w warunkach hodowli pozaustrojowej obecność lub brak aktywności tych enzymów w błonie podstawnej nie decyduje o „barierowych” właściwościach naczyń włosowatych.

Aktywność badanych fosfataz jest cechą metaboliczną błon komórek tkanki nerwowej. Śródbłonki naczyniowe tej właściwości nie mają, co stanowi jeszcze jedną dodatkową i prawdopodobnie istotną cechę różnicującą w kształtowaniu i różnicowaniu funkcji naczyń włosowatych w ośrodkowym układzie nerwowym. Brak aktywności enzymatycznej w naczyniach stanowić może o ich „ochronnej” funkcji dla tkanki nerwowej w procesie przechodzenia



*Ryc. 10.* Hodowla 11 DIV. Anoksja 30-min, 2 godz. po anoksji. Wysoka aktywność ATP-azy w błonach wypustek komórkowych w strefie wzrostu hodowli. Pow. 7 000 $\times$ .

*Fig. 10.* 11 DIV culture. 30-min of anoxia, 2 hrs after anoxia. High activity of ATPase in the membranes of cellular processes in the outgrowth zone.  $\times 7\ 000$ .

substancji z krwi poprzez ścianę naczyń włosowatych. W świetle spostrzeżeń Toracka i Barnetta (1964) oraz Gabryela (1973) brak aktywności badanych hydrolaz w ścianie naczyniowej lub obniżenie ich aktywności w błonie podstawnej stanowi wskaźnik upośledzonego przeznaczeniowego transportu substancji. Dodatkowym argumentem przemawiającym za powiązaniem obecności enzymów z „barierowymi” właściwościami naczyń mózgu jest ich obecność w naczyniach włosowatych tzw. obszarów „bezbarierowych” mózgu tzn. w polu ostatnim, szyszynce, splocie naczyniówkowym (Torack, Barnett 1963). Hipotezę o braku tej grupy swoistych fosfataz w naczyniach mózgu, świadczącym o właściwościach ochronnych naczyń potwierdzają również prace doświadczalne prowadzone w warunkach zatruc i niedotlenienia. W zaburzeniach hemodynamicznych w okresie uogólnionego niedokrwienia ośrodkowego układu nerwowego dochodzi do zmian w lokalizacji i nasileniu odczynów histoenzymatycznych, powiązanych ze stopniem uszkodzenia „bariery” krew-mózg (Arsenio-Nunes i wsp. 1973; Baramidze, Zelman 1974; Ostenda i wsp. 1978). W obręku naczyniopochodnym, w zatruciu CO, w niedotlenieniu i po naświetleniu promieniami jonizującymi, wczesne zmiany w przepuszczalności naczyń wyrażają się zanikiem aktywności enzymatycznej w błonie podstawnej naczyń mózgu, pojawieniem się jej w śródbłonku naczyń, a zwłaszcza wzrostem aktywności w miejscu złącza naczyniowo-glejowego (Szumańska 1973; Szumańska i wsp. 1976; Ostenda, Szumańska 1979). Odrębności obrazów histoenzymatycznych stwierdzone w badaniach różnych autorów należy wiązać zapewne z szeregiem czynników, takich jak mechanizm patogenetyczny niedotlenienia, okresy badania tkanki po niedotlenieniu i różnice gatunkowe zwierząt doświadczalnych. Najgłębsze zmiany w aktywności enzymatycznej naczyń w warunkach niedotlenienia i zatrucia tlenkiem węgla związane były z tą fazą nieprawidłowości mikrokrążenia mózgowego, w której ogniskowe zaburzenia ukrwienia nakładały się na cechy uogólnionego przekrwienia (Mossakowski 1975). Różnice w enzymatycznym wyposażeniu naczyń w stanach prawidłowych i patologicznych mogą być więc związane z całym kompleksem czynników hemodynamicznych, oddziałujących bezpośrednio na właściwości metaboliczne komórek śródbłonka. Odrębność obrazu histochemicznego naczyń w hodowli może być następstwem ich wyizolowania spod wpływu złożonego mechanizmu krążenia.

Odrębności obrazów histochemicznych komórek glejowych i komórek śródbłonka, występujące zarówno w warunkach normy, jak i w niedotlenieniu, mogą świadczyć o różnicach w ich właściwościach transportowych.

---

*Ryc. 11.* Hodowle 15 DIV. Anoksja 3-min, 72 godz. po anoksji. Aktywność GTP-azy w błonach komórkowych i w aparacie Golgiego. Pow. 14 000 ×.

*Fig. 11.* 15 DIV culture. 3-min of anoxia, 72 hrs after anoxia. GTPase activity in the cellular membranes and Golgi apparatus. × 14 000.

Istotną rolę w transporcie czynnym substancji z krwi do tkanki odgrywają nie tylko śródbłonki, ale również inne elementy złącza naczyniowo-tkankowego. Charakterystyczną i niezmienną cechą tkanki nerwowej jest występowanie aktywności enzymatycznej w miejscu przylegania błon komórkowych i wypustek astrocytów do ściany naczyń włosowatych. W hodowli tkankowej, okołonaczyniowe wypustki astrocytów otaczają komórki śródbłonka, tworzące światło naczynia w tej fazie gdy nie są one jeszcze otoczone błoną podstawną. Wszystkie badane fosfatazy nukleotydowe wykazują wysoką aktywność wokół nowotworzących się i dojrzewających naczyń. Można więc sądzić, że połączenie glej-naczynie jest miejscem aktywnego transportu tych substancji, które prawdopodobnie przechodzą przez błony komórkowe śródbłonka drogą dyfuzji lub innych mechanizmów nie wymagających dostarczenia energii. Wysoka aktywność enzymatyczna błon komórkowych i wypustek komórek glejowych i neuronów jak również pojawienie się aktywności enzymów w pęcherzykach i kanalikach śródplazmatycznych w warunkach niedotlenienia, świadczy o nasilonym aktywnym procesie transportu.

Umieszczenie aktywności fosfataz nukleotydowych w błonach komórkowych i wypustkach glejowych wskazuje na miejsce źródła energii dla transportu czynnego. W poprzedniej pracy, prowadzonej na hodowli organotypowej mózdzku, wykazano istnienie transportu czynnego dla węglowodanów w błonach komórek glejowych (Renkawek i wsp. 1978).

Badane enzymy z wyjątkiem ATP-azy uczestniczą w wielu procesach metabolicznych, między innymi w syntezie lecytyny, kefaliny i sfingomielin oraz w przemianach węglowodanów (Szczeklik 1974). Udowodniony jest również udział GTP-azy w biosyntezie białek w etapie przenoszenia aminokwasu związanego z niskocząsteczkowym RNA na łańcuch peptydowy. Wysoka aktywność badanych enzymów w błonach gleju jest więc wyrazem ich ciągłego, aktywnego udziału w transporcie substancji.

Stwierdzone cechy histochemiczne tkanki glejowej wskazują, że *in vitro* spełnia ona te same złożone funkcje metaboliczne jakie obserwowane są *in situ*.

Odmienną funkcję od pozostałych enzymów pełni ATP-aza zależna od jonów  $\text{Na}^+$  i  $\text{K}^+$ . Dokładna lokalizacja enzymu nie jest znana, wiadomo natomiast, że odgrywa ona zasadniczą rolę w utrzymaniu prawidłowego rozmieszczenia elektrolitów wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych w warunkach prawidłowych i patologicznych (Torack, Barnett 1963; Schiffer 1973). ATP-aza występuje głównie w błonach komórkowych astrocytów, a zablokowanie jej czynności przez ouabainę prowadzi w efekcie do wybiórczego obrzmienia astrogleju *in vitro* (Renkawek i wsp. 1970). Szczególnie wysoka aktywność ATP-azy, pojawiająca się w hodowli w warunkach niedotlenienia, może być wyrazem nieprawidłowości w przemianie elektrolitowej w niedotlenionych



komórkach. Wydaje się, że w niedotlenieniu dochodzić może do wzmożonej wymiany jonów i ich przemieszczenia między komórkami.

Aktywność ATP-azy w hodowli jest szczególnie wysoka w błonach komórkowych, w wypustkach glejowych, w aksonach i dendrytach. Należy jednak podkreślić znacznie wyższą i częściej spotykaną aktywność w komórkach i wypustkach glejowych niż w wypustkach komórek nerwowych. Może to być związane z aktywnym uczestnictwem komórek glejowych w gospodarce wodno-elektrolitowej.

Uzyskane wyniki są odmienne od tych, które otrzymali Stahl i Broderson (1976); obserwowali oni znacznie niższą aktywność histochemiczną ATP-azy w komórkach glejowych niż w wypustkach neuronów. Aktywność ATP-azy w hodowli była szczególnie wysoka w obrzmiałych wypustkach komórkowych w warunkach niedotlenienia. Wydaje się więc, że obrzmienie komórek w warunkach *in vitro* może być katalizowane enzymatycznie, tak jak to ma prawdopodobnie miejsce w doświadczalnym obrzęku mózgu *in situ*.

W badanym materiale nie obserwowano istotnych różnic w nasileniu odczynu enzymatycznego między 3- i 30-minutowym niedotlenieniem. Prawdopodobnie tylko znaczny niedostatek tlenu wpływa istotnie na aktywny transport jonów.

Mimo braku bezpośrednich dowodów na swoistość enzymu, obecność ATP-azy w błonach komórek gleju, jej szczególnie wysoka aktywność w wypustkach komórkowych, świadczy o niewątpliwym udziale tego enzymu w regulacji gospodarki wodno-elektrolitowej. Aktywność badanych enzymów potwierdza proponowaną hipotezę o istotnej roli komórek glejowych w transporcie substancji między naczyniami a komórkami nerwowymi oraz pomiędzy sąsiadującymi komórkami i wypustkami. Odczyny histochemiczne poszczególnych badanych enzymów, a zwłaszcza ATP-azy, wyznaczają prawdopodobne miejsce działania mechanizmów transportu czynnego.

#### WNIOSKI

1. Aktywność badanych enzymów nukleotydowych obecna w błonach komórkowych gleju, neuronów i w wypustkach komórkowych jest wyrazem aktywnych przemian i transportu międzykomórkowego.

2. Wysoka aktywność ATP-azy, zależnej od  $\text{Na}^+$  i  $\text{K}^+$  przemawia za udziałem gleju w gospodarce wodno-elektrolitowej.

3. Nasilenie aktywności enzymatycznej w niedotlenieniu wynika z wzmożonego metabolizmu tkankowego, głównie astrogleju i zwiększonej wymiany substancji między glejem i neuronami.

4. Brak aktywności enzymów w naczyniach włosowatych mózgu można wiązać z „ochronnymi” właściwościami naczyń oraz z odmiennymi właściwościami metabolicznymi i transportowymi błon komórkowych śródbłonna, gleju i neuronów *in vitro*.

K. Ренкавек

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ НУКЛЕОТИДНЫХ ЭНЗИМОВ  
В ОРГАНОТИПОВОЙ КУЛЬТУРЕ МОЗЖЕЧКА В НОРМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ  
И ВО ВРЕМЯ ГИПОКСИИ

## Резюме

Проводились ультраструктурные исследования локализацией гидролитических энзимов в ткани мозжечка, выращиваемого *in vitro*. Активность энзимов была локализована в мембранах глиальных и нервных клеток. В условиях аноксии кроме активности в мембранах обнаруживалось ее наличие в Гольджи-вом аппарате. Не обнаруживалась активность энзимов в клетках эндотелия капилляров, находящихся в культуре; имела она место лишь, в месте соприкосновения выпячиваний астроглии к стенке сосудов.

K. Renkawek

ULTRASTRUCTURAL LOCALIZATION OF NUCLEOTIDE ENZYMES IN ORGANOTYPIC  
CEREBELLAR CULTURE IN CONDITIONS OF NORMOXIA  
AND ANOXIA

## Summary

Enzymes hydrolizing various nucleoside phosphatases in glial and neuronal membranous structures have been localized in tissue culture by means of electron microscopy. The activity was present in the interspace between the plasma membranes of glia, neurons and their processes. After anoxia the enzymatic activity was prominent on the membranous structures and was also found in the Golgi apparatus of neurons and glia, but was absent in endothelial cells of cerebellar capillaries *in vitro*. The nucleoside phosphatases were located in close vicinity of the endothelial cells, in the plasma membrane of glial end-feet abutting against the vessel.

## PIŚMIENNICTWO

1. Arsenio-Nunes N. L., Hossmann K. A., Farkas-Bargeton E.: Ultrastructural and histochemical investigation of the cerebral cortex of cat during and after complete ischemia. *Acta neuropath. (Berl.)* 1973, 26, 329—344.
2. Baramidze D., Zelman I. B.: Histochemical study on nucleoside phosphatase activity in rabbit following circulatory hypoxia. *Neuropat. Pol.* 1974, 12, 617—624.
3. Bär Th., Wolff J. R.: The formation of capillary basement membrane during internal vascularisation of the rat's cerebral cortex. *Z. Zelforsch.* 1972, 133, 231—248.
4. Djurčić B. M., Rogac L., Spatz M., Rakic L. M., Mrsulja B. B.: Brain microvessels. I. Enzymatic activities. *Advances in Neurology*. Raven Press, New York 1978, 20, 197—205.
5. Gabryel P.: Bariera krew-mózg. *Struktura i funkcja*. *Pat. Pol.* 1973, 24, 218—235.
6. Gelder, van N. M.: A possible enzyme barrier for  $\gamma$ -aminobutyric acid in the central nervous system. *Brain barrier system*. Elsevier, New York 1968, 259—268.
7. Joó F., Varkonyi T., Csillik B.: Developmental alterations in the histochemical structures of brain capillaries: a histochemical contribution to the problem of the blood-brain barrier. *Histochemie* 1967, 9, 140—148.

8. Mossakowski M. J.: Zaburzenia ukrwienia mózgu w ostrym zatruciu tlenkiem węgla u szczurów. *Neuropat. Pol.* 1975, 13, 241—250.
9. Ostenda M., Szumańska G., Gadamski R.: Specific hydrolase activity in blood vessels of rabbit brain after circulatory hypoxia. *Proc. Inter. Symp. Cerebral ischemia and arterial hypertension.* PZWL, Warszawa 1978, 60—66.
10. Ostenda M., Szumańska G.: The gliovascular interphase in irradiated brain tissue. *Acta Physiol.* 1979, 4, 469—478.
11. Orłowski M., Sessa G., Green J. P.: Gamma-glutamyl transpeptidase in brain capillaries: possible site of a blood-brain barrier for amino acids. *Science* 1974, 184, 66—68.
12. Renkawek K.: Właściwości morfologiczne, histoenzymatyczne i ultrastrukturalne śródbłonek naczyń włosowatych mózgu w organotypowej hodowli pozaustrojowej. *Neuropat. Pol.* 1979, 17, 487—499.
13. Renkawek K., Palladini G., Ieradi L. A.: Morphology of glia cultured in vitro in presence of ouabain. *Brain Res.* 1970, 18, 363—367.
14. Renkawek K., Murray M. R., Spatz M., Klatzo I.: Distinctive histochemical characteristics of brain capillaries in organotypic culture. *Exp. Neurol.* 1976, 50, 194—206.
15. Renkawek K., Spatz M., Murray M. R., Klatzo I.: Uptake of radiolabelled glucose analogues by organotypic cerebellar cultures. *J. Neurobiol.* 1978, 9, 111—119.
16. Schiffer D.: Histochemical study of TPP-ase and ADP-ase in the human nervous tissue with particular reference to glia cells. *Histochemie* 1973, 53, 53—60.
17. Stahl W. L., Broderson S. H.: Localization of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  ATP-ase in brain. *Fed. Proc.* 1976, 35, 1200—1265.
18. Szczeklik F.: *Enzymologia kliniczna.* PZWL, Warszawa 1974.
19. Szumańska G.: Obraz histochemiczny mózgu szczura w ostrym zatruciu tlenkiem węgla. *Neuropat. Pol.* 1973, 11, 301—314.
20. Szumańska G., Ostenda M., Mossakowski M. J.: Aktywność nukleozydo- dwu- i trójfosfataz w mózgu szczura w ostrym zatruciu tlenkiem węgla. *Neuropat. Pol.* 1976, 14, 197—207.
21. Torack R. M., Barnett R. J.: Nucleoside phosphatase activity in membranous fine structures of neurons and glia. *J. Histochem. Cytochem.* 1963, 2, 763—772.
22. Torack R. M., Barnett R. J.: The fine structural localization of nucleoside phosphatase activity in the blood-brain barrier. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1964, 20, 46—59.
23. Wachstein M., Meisel E.: Histochemistry of hepatic phosphatases of physiologic pH. *J. Clin. Path.* 1957, 27, 13—23.

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

## SPRAWOZDANIE Z VII ZJAZDU STOWARZYSZENIA NEUROPATOLOGII NRD (22—24. kwietnia 1981, Magdeburg)

Kolejny zjazd Stowarzyszenie Neuropatologii NRD został zorganizowany przez Zakład Patologii Akademii Medycznej w Magdeburgu (dr M. Becher) oraz Szpital Nueropsychiatryczny w Uchtspringe (dr hab. H. Schumann). Główna tematyka kongresu określona jako paidoneuropatologia obejmowała anatomię rozwojową mózgu, zaburzenia rozwojowe ośrodkowego układu nerwowego, nieprawidłowości przemiany, zapalenia mózgu i guzy ośrodkowego układu nerwowego wieku dziecięcego. Ponadto zorganizowana została sesja preparatowa z pokazem interesujących przypadków z całego zakresu neuropatologii. W kongresie wzięło udział ponad 100 neuropatologów i neurologów z NRD, Polski, Węgier, Czechosłowacji, RFN, ZSRR, Belgii, Szwajcarii i Danii, co nadało zjazdowi prawdziwie międzynarodowy charakter.

Po wstępnym wykładzie historycznym Schierhorna z Magdeburga na temat dziejów neuropatologii w rejonie berlińskim, wprowadzeniem do tematu konferencji były dwa referaty główne: Wendera (Poznań) na temat wpływu czynników zewnętrznych na rozwój ośrodkowej mieliny oraz Hauga (Lubecka) o rozwoju i dojrzewaniu kory wzrokowej. Interesujący fragment tego ostatniego referatu stanowiło stwierdzenie oparte na wynikach badań wykonanych metodami morfometrycznymi o wpływie deprywacji wzrokowej na rozwój kory wzrokowej kota.

Z dalszych doniesień wygłoszonych na pierwszej sesji naukowej duże zainteresowanie wzbudziła praca Ullricha i Dietzmanna (Magdeburg) na temat zaburzeń dojrzewania kory mózgowej u szczurów w aspekcie topochemicznym u matek poddanych działaniu alkoholu. Badania rozwoju mózgu u dzieci z zespołem Downa oparte o duży materiał 60 przypadków przedstawiła Schmidt-Sidor z Instytutu Psychoneurologicznego w Warszawie. Również obszerny materiał (44 przypadki) stanowił podstawę do analizy neuropatologicznej zespołu holoprosencefalii — arhinoencefalii, przedstawionego przez Jellingera, Grossa i Grisolda (Wiedeń).

W następnej sesji pierwszego dnia obrad Kozik i Sowińska-Wigowska (Poznań) przedstawili morfologiczne i histochemiczne zmiany w mózgu w rozległej przepuklinie oponowej okolicy potylicznej. Interesującą próbę wyjaśnienia w oparciu o badania angioarchitektoniczne rozwijającego się mózgu, różnego typu okołoporodowych uszkodzeń niedokrwienych ośrodkowego układu nerwowego przedstawił De Reuck (Gandawa). Na podstawie tych badań autor wysunął koncepcje dotyczące patomechanizmu ośrodkowej krwotocznej encefalopatii, izolowanych krwotoków podpajęczynówkowych, torbielowatego stwardnienia ośrodka półowalnego, korowej martwicy torbielowatej oraz stanu marmurkowatego.

Podobnie duże zainteresowanie wzbudziło doniesienie Goertchen z Bernburga na temat zastosowania metod morfometrycznych do badania wpływu okołoporodowego niedotlenienia na stan struktur komórkowych pnia mózgu.

W czasie drugiego dnia obrad szeroką dyskusję wzbudziła praca Ullricha z Bazylei na temat leukodystrofii. Autor stoi na stanowisku, że oprócz dwóch głównych typów leukodystrofii to jest dizosomalnej choroby spichrzeniowej (sulfatydo-

(C.d. na str. 368)

WOJCIECH HILGIER

## ZAWARTOŚĆ AMONIAKU ORAZ AKTYWNOŚĆ SYNTETAZY GLUTAMINOWEJ I GLUTAMINAZY W MÓZGU W DOŚWIADCZALNEJ ENCEFALOPATII WĄTROBOWEJ

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

W wielu przypadkach nieswoistych uszkodzeń wątroby dochodzi do wzrostu poziomu amoniaku w surowicy krwi. Amoniak przedostaje się z łożyska naczyniowego do ośrodkowego układu nerwowego i tu podlega dalszemu metabolizmowi. W przeciwieństwie do innych tkanek, amoniak w mózgu wiązany jest głównie przez  $\alpha$ -ketoglutaran z wytworzeniem glutaminianu, w związku z czym miernikiem jego detoksykacji jest poziom syntezy i dalszego metabolizmu glutaminianu (Bessman, Bessman 1955; Mc Ilwain, Bachelard 1971; Duffy i wsp. 1974). Dotychczasowe badania pozwoliły ocenić większość etapów tego procesu, czego dokonano mierząc, zarówno poziom jego poszczególnych substratów i produktów ( $\alpha$ -ketoglutaranu, glutaminianu, glutaminy), jak i aktywności biorących w nim udział enzymów (transaminazy glutaminy i glutaminazy) w modelach chemicznego uszkodzenia wątroby oraz zespolenia wrotno-układowego (Hilgier, Mossakowski 1979; Hilgier 1980, 1981).

W niniejszych badaniach przeprowadzono analizę zawartości amoniaku w tkankach ośrodkowego układu nerwowego oraz aktywności syntetazy glutaminowej i glutaminazy w dwu modelach doświadczalnej encefalopatii wątrobowej, związanej z toksycznym uszkodzeniem wątroby i pozawątrobowym przepływem krwi wrotnej.

### MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 198 szczurach, samicach, rasy Wistar, o ciężarze 180—220 g.

Zastosowano dwa układy doświadczalne: model zespolenia żyły wrotnej z żyłą główną dolną (Lee, Fischer 1961); model chemicznego uszkodzenia wątroby wywołanego podawaniem czterochlorku węgla (Georgijew i wsp. 1968; Hilgier 1981).

Materiał do badań (półkule mózgu) pobierano w następujących czasach: w modelu 1 — po 3, 5, 10, 14 i 21 dniach od założenia zespoleń; w modelu 2 — po 2, 4 i 6 miesiącach od rozpoczęcia iniekcji czterochlorku węgla.

Aktywność syntetazy glutaminowej (ligaza L-glutaminian: amoniak (ADP)), E.C.6.3.1.2. oznaczano według metody Rowe i wsp. (1970). Do badań używano 5% homogenaty mózgowe w 0,25 M sacharozie ochłodzonej do temperatury ok. 0°C. Homogenat w ilości 0,2 ml dodawano do mieszaniny inkubacyjnej, która w końcowej objętości 0,9 ml zawierała 50  $\mu$ moles buforu imidazol-HCl (pH 7,2), 20  $\mu$ moles 2-merkaptetanolu, 50  $\mu$ moles glutaminianu sodu, 10  $\mu$ moles hydroksylaminy, 20  $\mu$ moles chlorku magnezu i 10  $\mu$ moles ATP. Próba ślepa zamiast glutaminianu sodu zawierała wodę redestylowaną. Inkubację prowadzono przez 15 min. w temp. 37°C. Reakcję przerywano przez dodanie 1,6 ml roztworu chlorku żelazowego (0,37 M  $\text{FeCl}_3$ ; 0,67 N HCl i 0,2 M kwas trójchlorooctowy (TCA)), a następnie próby wirowano przy  $2.000 \times g$  max. Gęstość optyczną nadsącza oznaczano w fotokolorymetrze Spekol przy długości fali 520 nm. Aktywność enzymu wyrażano w  $\mu$ molach powstałego  $\gamma$ -glutamylhydroksaminianu/g tkanki/godz.

Aktywność glutaminazy (amidohydrolaza L-glutaminy, EC.3.5.1.2.) oznaczano w homogenatach mózgowych w 0,32 M sacharozie według metody Mardaszewa i wsp. (1967) i Tweit'a i wsp. (1970). Mieszanina inkubacyjna w objętości 1 ml zawierała: 20 mM glutaminy, 50 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0,2 EDTA (pH 8,0) i ok. 1 mg białka. Inkubację prowadzono w temp. 37°C przez okres 30 min. Reakcję przerywano przez dodanie 0,5 ml 10% TCA oziębionego do temp. ok. 0°C. Próby wirowano przez 10 min. przy  $2.000 \times g$  max. Następnie zbierano 0,25 ml nadsącza, dodawano 4,75 ml wody redestylowanej i 0,5 ml odczynnika Nesslera. Gęstość optyczną roztworu oznaczano w fotokolorymetrze Spekol przy długości fali 420 nm. Aktywność enzymu wyrażano w  $\mu$ molach uwolnionego amoniaku/mg białka/godz.

Poziom amoniaku oznaczano metodą Sadasivudu i wsp. (1977). Sporządzono 1% homogenaty w 10% TCA oziębionym do temp. ok. 0°C. Próby wirowano przez 10 min. przy  $2.000 \times g$  max. Do 1 ml uzyskanego nadsącza dodawano odczynnik Nesslera i odczytywano gęstość optyczną w fotokolorymetrze Spekol przy długości fali 420 nm. Poziom amoniaku wyrażano w  $\mu$ molach amoniaku/kg tkanki.

#### WYNIKI

Poziom amoniaku i aktywność syntetazy glutaminowej w mózgach zwierząt kontrolnych i doświadczalnych z wszystkich grup doświadczalnych przedstawiono w tabelach 1 i 2.

Z uzyskanych danych wynika, że w modelu chemicznego uszkodzenia wątroby po dwumiesięcznym okresie podawania czterochlorku węgla nie

Tabela 1. Zawartość amoniaku oraz aktywność syntetazy glutaminowej w mózgu szczura w następstwie przewlekłego zatrucia czterochlorkiem węgla

Table 1. The ammonia content and glutamine synthetase activity in the rat brain following chronic intoxication with carbon tetrachloride

Okres zatruwania (miesiące) Intoxication period (months)	Amoniak ( $\mu\text{mole/kg}$ tkanki) Ammonia ( $\mu\text{moles/kg}$ tissue)			Synteza glutaminowa ( $\mu\text{mole } \gamma\text{-glutamylhydroksaminianu/}$ $/\text{g tkanki/godz.}$ ) Glutamine synthetase ( $\mu\text{moles } \gamma\text{-glutamylhydroxamate/g}$ tissue/h)		
	Kontrola Control	$\text{CCl}_4$	p	Kontrola Control	$\text{CCl}_4$	p
2	$0,22 \pm 0,03^*$ (12)	$0,22 \pm 0,02$ (12)	nz	$54,7 \pm 7,98$ (12)	$60,10 \pm 5,39$ (12)	$< 0,05$
4	$0,22 \pm 0,02$ (12)	$0,36 \pm 0,03$ (13)	$< 0,01$	$59,8 \pm 7,13$ (12)	$71,60 \pm 6,56$ (12)	$< 0,01$
6	$0,22 \pm 0,03$ (12)	$0,46 \pm 0,03$ (12)	$< 0,01$	$56,6 \pm 8,61$ (12)	$50,50 \pm 6,25$ (12)	nz

\* średnia arytmetyczna  $\pm$  SD  
arithmetic mean  $\pm$  SD

p— prawdopodobieństwo  
probability

nz— różnica statystycznie nieznamienna  
difference statistically insignificant  
W nawiasach liczba zwierząt  
In parentheses number of animals

Tabela 2. Zawartość amoniaku oraz aktywność syntetazy glutaminowej w mózgu szczura w następstwie zespolenia wrotno—układowego  
 Table 2. The ammonia content and glutamine synthetase activity in the rat brain following porto—caval shunt

Okres trwania zespolenia (dni) Duration of shunt (days)	Amoniak ( $\mu$ mole/kg tkanki) Ammonia ( $\mu$ moles/kg tissue)			Syntetaza glutaminowa ( $\mu$ mole $\gamma$ -glutamylhydroksaminianu/g tkanki/godz.) Glutamine synthetase ( $\mu$ moles $\gamma$ -glutamylhydroxamate/g tissue/h)		
	Kontrola Control	Zespolenie Shunt	P	Kontrola Control	Zespolenie Shunt	P
3	0,24 $\pm$ 0,03* (6)	0,23 $\pm$ 0,03 (7)	nz	53,90 $\pm$ 7,59 (6)	53,80 $\pm$ 6,51 (7)	nz
5	0,21 $\pm$ 0,02 (6)	0,24 $\pm$ 0,02 (7)	< 0,01	51,50 $\pm$ 6,10 (6)	60,50 $\pm$ 3,74 (7)	< 0,01
10	0,25 $\pm$ 0,01 (6)	0,32 $\pm$ 0,2 (6)	< 0,01	50,50 $\pm$ 5,71 (6)	61,00 $\pm$ 2,35 (7)	< 0,05
14	0,30 $\pm$ 0,02 (6)	0,43 $\pm$ 0,01 (8)	< 0,01	51,00 $\pm$ 6,35 (6)	66,40 $\pm$ 5,65 (7)	< 0,01
21	0,27 $\pm$ 0,04 (6)	0,57 $\pm$ 0,03 (8)	< 0,01	54,90 $\pm$ 4,80 (6)	61,40 $\pm$ 9,23 (8)	nz

\* średnia arytmetyczna  $\pm$  SD  
 arithmetic mean  $\pm$  SD

p—prawdopodobieństwo  
 probability

nz—różnica statystycznie nieznamienna  
 difference statistically insignificant  
 W nawiasach liczba zwierząt  
 In parentheses number of animals



dochodzi do zmian w zawartości amoniaku w stosunku do wartości kontrolnych. Natomiast w następnych przedziałach czasowych, tj. po 4 i 6 miesiącach, następuje wyraźny wzrost poziomu tego związku, który wynosi odpowiednio 64 i 110%. W tym samym modelu doświadczalnym, po 2 i 4 miesiącach trwania doświadczenia, obserwuje się odpowiednio ok. 10 i 20% wzrost aktywności syntetazy glutaminowej natomiast po 6 miesiącach jej nieznaczne, nieznamienne obniżenie.

W modelu zespolenia wrotno-układowego w pierwszym etapie doświadczenia, tj. po 3 dniach od wykonania zabiegu chirurgicznego, nie stwierdza się zmian w zawartości amoniaku. Natomiast w pozostałych przedziałach czasowych, tj. po 5, 10, 14 i 21 dniach od założenia zespolenia, obserwuje się systematyczny, statystycznie znamieny wzrost zawartości amoniaku, który wynosi odpowiednio: 14, 28, 43 i 111%.

Również w tym samym modelu doświadczalnym, w 3 dniu zespolenia, nie stwierdza się różnic w aktywności syntetazy glutaminowej w stosunku do wartości kontrolnych. Po 5, 10 i 14 dniach trwania zespolenia dochodzi do wzrostu aktywności enzymu, który wynosi odpowiednio ok. 18, 31 i 30%. W 21 dniu doświadczenia aktywność enzymu jest wyższa od wartości kontrolnych, ale różnica jest statystycznie nieznamienna.

Tabela 3. Aktywność glutaminazy ( $\mu\text{mole NHs/mg białka/godz.}$ ) w mózgu szczura w następstwie zespolenia wrotno—układowego

Table 3. The glutaminase activity ( $\mu\text{moles NHs/mg protein/h}$ ) in the rat brain following porto—caval shunt

Okres trwania zespolenia (dni) Duration of shunt (days)	Kontrola Control	Zespolenie Shunt	P
3	3,32 $\pm$ 0,91* (5)	3,48 $\pm$ 0,63 (7)	nz
5	3,65 $\pm$ 0,71 (5)	3,75 $\pm$ 1,06 (6)	nz
10	3,35 $\pm$ 0,75 (5)	3,46 $\pm$ 0,92 (5)	nz
14	3,23 $\pm$ 0,49 (5)	2,93 $\pm$ 1,06 (8)	nz
21	3,95 $\pm$ 0,39 (5)	3,44 $\pm$ 0,36 (7)	nz

\* — średnia arytmetyczna  $\pm$  SD  
arithmetic mean  $\pm$  SD  
probability

p — prawdopodobieństwo

nz — różnica statystycznie nieznamienna  
difference statistically insignificant

W nawiasach liczba zwierząt

In parentheses number of animals

Aktywność glutaminazy w modelu zespolenia wrotno układowego przedstawiono w tabeli 3, a dla porównania, odpowiednie wartości, uzyskane w modelu chemicznego uszkodzenia wątroby (tab. 4) zacytowano z poprzedniej pracy (Hilgier, Mossakowski 1979). Podczas, gdy w modelu zespolenia ak-

Tabela 4. Aktywność glutaminazy ( $\mu\text{mole NH}_3/\text{mg białka}/\text{godz.}$ ) w mózgu szczura w następstwie przewlekłego zatrucia czterochlorkiem węgla<sup>+</sup>)

Table 4. The glutaminase activity ( $\mu\text{moles NH}_3/\text{mg protein}/\text{h}$ ) in the rat brain following chronic intoxication with carbon tetrachloride<sup>+</sup>)

Okres trwania za- truwania (miesiące) Intoxication period (months)	Kontrola Control	CCl <sub>4</sub>	P
2	2,26 ± 0,04* (4)	2,38 ± 0,09 (4)	nz
4	2,81 ± 0,23 (5)	4,02 ± 0,26 (6)	< 0,01
6	2,96 ± 0,18 (5)	5,94 ± 0,13 (7)	< 0,01

\* — średnia arytmetyczna ± SD  
arithmetic mean ± SD

p — prawdopodobieństwo  
probability

nz — różnica statystycznie nieznamien-  
na — difference statistically insignificant  
W nawiasach liczba zwierząt  
In parentheses number of animals

\* Z pracy Hilgier W., Mossakowski M.J.: Aktywność l-glutamino-amido-hydrolazy w mózgu szczurów w doświadczalnej encefalopatii wątrobowej.

\* From the paper Hilgier W., Mossakowski M.J.: „The glutamineamido-hydrolase activity in rat brain in experimental hepatic encephalopathy.

tywność ta utrzymuje się niezmiennie na poziomie wartości kontrolnych, w modelu uszkodzenia chemicznego stwierdza się brak zmian aktywności enzymu po 2 miesiącach, a następnie 43% wzrost po 4 miesiącach oraz 2-krotny wzrost po 6 miesiącach podawania czterochlorku węgla.

#### OMÓWIENIE

W niniejszej pracy wykazano stały wzrost poziomu amoniaku w obu modelach doświadczalnych, zbieżny w czasie ze stwierdzonym w poprzednich badaniach wzrostem stężenia glutaminy (Hilgier 1981). Tendencja ta jest potwierdzeniem spostrzeżeń Duffy'ego i wsp. (1974), którzy wykazali, że stężenie glutaminy w mózgu jest funkcją zawartości amoniaku i wzrasta proporcjonalnie do podwyższenia jego poziomu. Zwraca uwagę zbieżność zachowania się badanych etapów cyklu detoksykacji amoniaku w obu modelach we wczesnej ich fazie. Wzrostowi poziomu amoniaku i glutaminy w modelu zespolenia wrotno-układowego nie towarzyszy wzrost aktywności glutaminazy, co może świadczyć o powolnym metabolizmie glutaminy na szlaku jej rozkładu do glutaminianu, w reakcji katalizowanej przez ten enzym. Również w modelu chemicznego uszkodzenia wątroby mamy do czynienia ze stosunkowo powolnym metabolizmem glutaminy na tej drodze, chociaż dochodzi tutaj do niewielkiego wzrostu aktywności glutaminazy. Warto zaznaczyć, że uprzednio wykazano wystąpienie na tym etapie (w obu mode-

lach) znacznego wzrostu aktywności transaminazy glutaminy, co przypuszczalnie prowadzi do gromadzenia się innego neurotoksycznego produktu metabolizmu glutaminy —  $\alpha$ -ketoglutaraminianu. Zjawisko to nie odgrywa jednak zasadniczej roli w ogólnym bilansie glutaminy (Hilgier 1981).

W wyniku dłużej trwającego doświadczenia, w obu modelach zarysowały się różnice pomiędzy skutkami zespolenia, a chemicznego uszkodzenia wąтробы. Późny okres w modelu zespoleniowym charakteryzuje się nadal powolnym metabolizmem glutaminy, co można tłumaczyć m.in. hamującym wpływem wysokiego poziomu amoniaku na aktywność glutaminazy (Cremer i wsp. 1975; Matheson, Van den Berg 1975). Sytuacja ta prowadzi w konsekwencji do znacznego przeciążenia amoniakiem układu detoksykacyjnego. W przypadku энцефалопатии токсycznej, на этом этапе dochodzi do szybkiego metabolizmu glutaminy, związanego ze znacznym wzrostem aktywności, glutaminazy, przy czym uwalniany w reakcji glutaminazowej amoniak dodatkowo obciąża cykl detoksykacyjny. Obserwowany на skutek długotrwałego działania czynnika uszkodzającego wzrost aktywności enzymu może odzwierciedlać jego wzmożoną, adaptacyjną syntezę *de novo*. Hipoteza ta wymaga potwierdzenia doświadczalnego.

Interesujący jest fakt, że zmiany w poziomie glutaminy zachodzą przy niezmienionej lub nieznacznie zmienionej aktywności syntetazy glutaminowej. Należy jednak zaznaczyć, że taki wynik oznaczenia *in vitro* nie wyklucza wcześniejszych zmian aktywności enzymu *in vivo*, które nie były uchwytne w warunkach oznaczeń *in vitro*.

В. Хильгер

СОДЕРЖАНИЕ АММИАКА И АКТИВНОСТЬ ГЛУТАМИНАТСИНТЕТАЗЫ  
И ГЛУТАМИНАЗЫ В МОЗГЕ  
В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ

Резюме

Были проведены исследования содержания аммиака и активности глутаматсинтетазы и глутаминазы в мозгах крыс в модели химического повреждения печени четыреххлористым углем и в модели анастомоза нижней главной вены с воротной веной.

Наблюдала общий для обеих моделей увеличивающийся во времени рост содержания аммиака, который в конечной фазе составлял около 110% контрольных величин. Обнаружены небольшие приращения активности глутаматсинтетазы в обоих моделях в начальной фазе и отсутствие изменений в активности этого энзима в конечной фазе опыта. Активность глутаминазы возрастала в модели химического повреждения и оставалась не измененной в модели с анастомозом, что указывает на то, что только в первом случае увеличенное разложение глутаминa является одним из источников чрезмерного нагромождения аммиака в мозге.

W. Hilgier

THE AMMONIA CONTENT AND GLUTAMINE SYNTHETASE AND GLUTAMINASE  
ACTIVITY IN BRAIN IN EXPERIMENTAL HEPATIC ENCEPHALOPATHY

## S u m m a r y

The ammonia content and glutamine synthetase and glutaminase activities were investigated in the brains of rats subjected to carbon tetrachloride treatment (induction of liver cirrhosis) and to porto-caval shunting. An observation common to both models was that of a gradual increase of ammonia content, reaching in the final stage about 200% of control value.

In both models, a slight increase of the glutamine synthetase activity was observed in the early but not the late phase of the experiment. The glutaminase activity rose in the chemical model, remaining unchanged after shunting which indicates that, in the former case, enhanced glutamine degradation may be one of the sources of ammonia excess in the brain.

## PIŚMIENICTWO

1. Bessman S. P., Bessman A. N.: Cerebral and peripheral uptake of ammonia in liver disease with hypothesis for mechanisms of hepatic coma. *J. Clin. Inv.* 1955, 36, 622—628.
2. Cremer J. E., Heath D. F., Teal H. M., Woods M. S., Cavanagh J. S.: Some dynamic aspects of brain metabolism in rats given a portocaval anastomosis. *Neuropath. appl. Neurobiol.* 1975, 3, 293.
3. Duffy T. E., Vergara F., Plum F.: Alfa-ketoglutarate in hepatic encephalopathy. W: *Brain dysfunction in metabolic disorders*. Red. F. Plum, Res. Publ. Assoc. nerv. Ment. Dis., Raven Press, New York 1974, vol. 53, 39—52.
4. Georgijew A., Koleczak M., Węgiel J.: Niektóre obserwacje dotyczące wpływu CCl<sub>4</sub> na wątrobę prawidłową i regenerującą. *Pat. Pol.* 1968, 19, 179—187.
5. Hilgier W.: Zawartość  $\alpha$ -ketoglutaranu i glutaminianu w mózgu szczurów w doświadczalnej encefalopatii wątrobowej. *Neuropat. Pol.* 1980, 18, 121—126.
6. Hilgier W.: Zawartość glutaminy oraz aktywność aminotransferazy glutaminowej w mózgu w doświadczalnej encefalopatii wątrobowej. *Neuropat. Pol.* 1981, 19, 000—000.
7. Hilgier W., Mossakowski M. J.: Aktywność l-glutamino-amidohydrolazy w mózgu szczurów w doświadczalnej encefalopatii wątrobowej. *Neuropat. Pol.* 1979, 17, 287—293.
8. McIlwain H., Bachelard H. S.: *Biochemistry and the central nervous system*. Williams, Wilkins. Baltimore 1971, 197—192.
9. Lee S. H., Fisher B.: Portocaval shunt in the rat. *Surgery* 1961, 50, 668—672.
10. Mardaszew S. R., Nikolajew A., Ewisieju A. P.: Indukcja asparginaznej i glutaminaznej aktywności u *Pseudomonas sp. asparginowej* i glutaminowej kwasami. *Biochemija* 1967, 32, 1093—1098.
11. Matheson D. F., Van den Berg C. J.: Ammonia and brain glutamine. Inhibition of glutamine degradation. *Biochem. Soc. Trans.* 1975, 3, 525.
12. Rowe W. B., Ronzio R. A., Weller V. P., Meister A.: Glutamine synthetase (sheep brain). W: *Methods in enzymology*. Red. H. Tabor, C. W. Tabor. Academic Press, 1970, vol. 17, 900—910.
13. Sadasivudu B., Indira Rao T., Radhakrishna Murthy C.: Acute metabolic effects of ammonia in mouse brain. *Neurochem. Res.* 1977, 2, 639—655.
14. Tweit B., Svenneby G. S., Kvame E.: Kinetic properties of glutaminase from pig renal cortex. *Eur. J. Bioch.* 1970, 14, 337—344.

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

EWA MATYJA, KRYSZYNA RENKAWEK, MIECZYSLAW ŚMIALEK,  
MIROSLAW J. MOSSAKOWSKI

## PRZYPADEK ENCEFALOPATII WĄTROBOWEJ O OBRAZIE NEUROPATOLOGICZNYM CHOROBY WILSONA

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

Obraz neuropatologiczny rozwiniętej encefalopatii wątrobowej stanowiący następstwo nieswoistego uszkodzenia wątroby lub nieprawidłowego przepływu krwi wrotnej, pomijającego krążenie wątrobowe, jest podobny do zmian występujących w chorobie Wilsona, stanowiącej ściśle zdefiniowaną rodzinno-dziedziczną chorobę metaboliczną (Mossakowski 1966). Mimo znacznych podobieństw uszkodzeń strukturalnych mózgu, szczególnie zaznaczonych w niektórych przypadkach, stanowiących przedmiot odrębnych opisów kazuistycznych (Baltazan i wsp. 1957; Mossakowski, Szymchel-Paluszkiwicz 1964) — istnieje zespół charakterystycznych zmian tkankowych, do których należy między innymi umiejscowienie procesu chorobowego, typ i nasilenie gliopatii, pozwalające na prawidłowe rozpoznanie morfologiczne. Istotnym czynnikiem rozstrzygającym jest również obraz i przebieg kliniczny oraz wyniki badań biochemicznych. Istnieją jednak przypadki, w których zarówno dane kliniczne, wyniki badań biochemicznych, jak i obraz patomorfologiczny ośrodkowego układu nerwowego nie pozwalają na postawienie jednoznacznego rozpoznania. Ilustracją tego jest przedstawiony poniżej przypadek, który łączy obraz klinicznej encefalopatii wątrobowej z morfologicznymi i biochemicznymi wykładnikami zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego.

### OPIS PRZYPADKU

Chory, A. J., lat 15, uczeń, został przyjęty do I Kliniki Chirurgicznej AM w Krakowie, z powodu ogólnego osłabienia, nagłego zasłabnięcia oraz masywnych, powtarzających się od kilku tygodni krwotoków z żyłaków przelyku. Z wywiadu od chorego i od rodziny wiadomo, że przed 6 laty przebył on zapalenie wątroby o ciężkim przebiegu z trzykrotnym nawrotem objawów żółtaczkowych. Innych chorób nie przechodził. Wywiad rodzinny bez znaczenia.

W czasie pobytu w Klinice Chirurgicznej w Krakowie choremu kilkakrotnie przetaczano krew grupy jednoimiennej, do uzyskania prawidłowego obrazu morfologicznego krwi. Następnie wykonano operacyjne zespolenie żyły śledzionowej z żyłą nerkową. Stan chorego po zabiegu operacyjnym pogarszał się. Kilkakrotnie wystąpił stan śpiączkowy. W 4 miesiące po zabiegu operacyjnym, w stanie narastającej śpiączki wątrobowej, został on przeniesiony do I Kliniki Chirurgicznej AM w Warszawie, gdzie wykonano perfuzję krwi przez wątrobę heterogenną. Po zabiegu chory, nie odzyskując przytomności, zmarł wśród objawów głębokiej śpiączki wątrobowej.

Z badań dodatkowych stwierdzono: poziom bilirubiny we krwi 13,7 mg%, mocznika 16 mg%, cukru 80 mg%. Oznaczeń poziomu miedzi i aktywności ceruloplazminy we krwi nie wykonano. Chory nigdy nie był badany przez neurologa i okulistę.

Rozpoznanie kliniczne: Śpiączka wątrobowa. Marskość wątroby. Stan po wykonaniu zespolenia śledzionowo-nerkowego. Perfuzja krwi przez heterogenną wątrobę.

Na sekcji ogólnej, z istotnych nieprawidłowości, stwierdzono czynną marskość wątroby, żółtaczkę, krwawiące żyłaki przelyku, stan po zespoleniu śledzionowo-nerkowym, wodobrzusze.

W badaniu makroskopowym stwierdzono mózg duży, o ciężarze 1600 g, symetryczny, z wyraźnym spłaszczeniem zakrętów kory i zaciśnięciem rowków. Na przekrojach przez półkule mózgu widoczne było symetryczne rozrzedzenie utkania obu jąder soczewkowatych.

Do badania mikroskopowego pobrano wycinki kory i istoty białej z reprezentatywnych okolic półkuli mózgu, zwojów podstawy, śródmózgowia, mostu, opuszki, mózdzku oraz rdzenia kręgowego. Formalinowe bloki tkankowe przeprowadzano do parafiny, a skrawki parafinowe barwiono hematoxyliną-eozyną, fioletem krezyłu oraz wg metod van Giesona, Heidenhaina i Kanzler-Arendta. Wykonano także odczyn PAS wg metody McMagnusa.

Formalinowe bloki tkankowe z kory i istoty białej płata czołowego, jądra ogoniastego, skorupy, galki bladej i wzgórza pobrano do oznaczeń zawartości miedzi, które wykonano wg metody Edena i Greena (1940) z użyciem dwuetylodwutiokarbaminianu sodu.

Badania mikroskopowe: Dominującą nieprawidłowością w obrazie mikroskopowym były symetryczne ogniska martwicy, zlokalizowane w jądrach podstawy i najbardziej zaawansowane w części grzbietowo-bocznej skorupy oraz w głowie jądra ogoniastego (ryc. 1). Miały one charakter martwicy gąbczastej, bez reakcji ze strony komórek żernych i reparacyjnego, włóknistego odczynu glejowego (ryc. 2). Jedyne wokół nielicznych naczyń, zachowanych w ogniskach martwicy, stwierdzało się pojedyncze makrofagi wypełnione barwnikiem krwiopochodnym. Drugą nieprawidłowością obrazu neuropatologicznego był uogólniony rozplem astrocytów, występujący zarówno w sza-

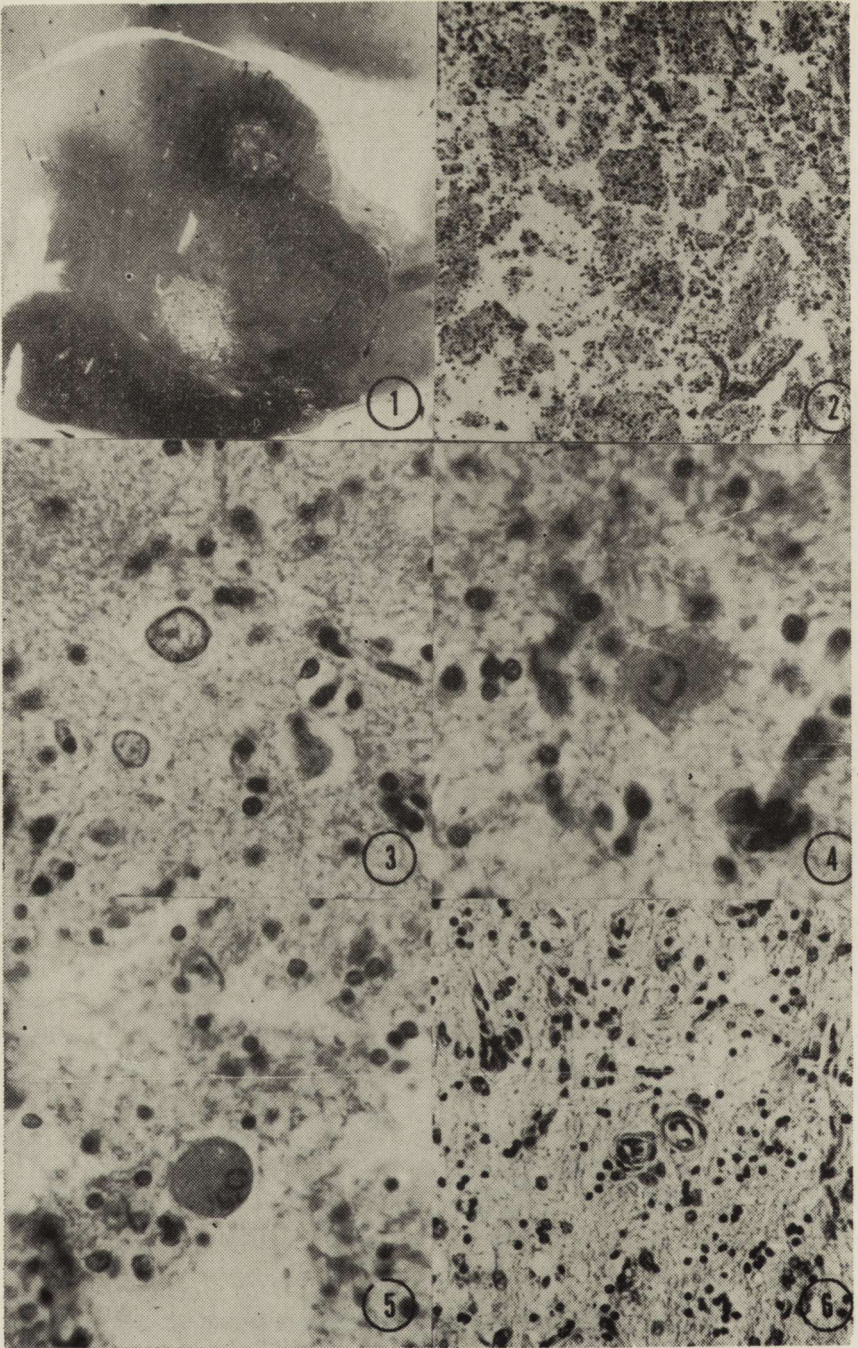
rych jak i białych strukturach mózgu z wyraźną predyleksją do jąder podstawy i pnia mózgu. Na tym tle występowały obficie typowe komórki Alzheimera typu II, najliczniejsze w skorupie i w jądrze ogoniastym, w otoczeniu znajdujących się tu ognisk martwicy oraz w istocie czarnej, w jądrach własnych mostu, a także w oliwie dolnej i ruchowych jądrach nn, czaszkowych opuszki (ryc. 3). W strukturach tych miały one wygląd typowych nagich jąder, dużych, o nieregularnych obrysach, wykazujących charakterystyczne pofalowanie błony jądrowej. Niekiedy zawierały pojedyncze grube ziarna chromatyny jądrowej, sprawiające wrażenie jąderek. Nie stwierdzono w nich natomiast PAS-dodatnich wtrętów śródjądrowych. Komórki Alzheimera typu II występowały również obficie w korze mózgu, wykazując tu stosunkowo równomierny rozkład w poszczególnych warstwach, bez zaznaczonej predyleksji do warstw głębszych. W korze mózgu, częściej niż w innych okolicach, spotykano tzw. postaci przejściowe komórek Alzheimera typu II. Nagie jądra nie występowały w ogóle w mózdzku i w korze zakrętu hipokampa.

Stwierdzono również występowanie komórek Alzheimera typu I (ryc. 4) i komórek Opalskiego (ryc. 5). Były one najobfitsze w otoczeniu ognisk martwicy w skorupie i w jądrze ogoniastym. Komórki Alzheimera typu I wyróżniały się obfitą, nieregularnie obrysowaną cytoplazmą, a komórki Opalskiego obecnością PAS-dodatnich ziarnistości w cytoplazmie.

Kolejną nieprawidłowością obrazu mikroskopowego mózgu były zmiany naczyniowe dotyczące zarówno włosniczek, jak i drobnych tętniczek (ryc. 6). Były one najbardziej zaawansowane w otoczeniu ognisk martwicy w zwojach podstawy, choć spostrzegano je również w innych okolicach mózgu. Zmiany naczyniowe wyrażały się rozplemem włosniczek w otoczeniu ognisk rozpadu tkanki i zaburzeniami w strukturze tętniczek. Większość z nich charakteryzowała się pogrubieniem i zwłóknieniem ścian. Niektóre wykazywały cechy zeszkliwienia. W części tętniczek występował przerost i rozplem komórek śródbłonna.

We wszystkich okolicach kory mózgu stwierdzano rozległe ubytki komórek nerwowych, prowadzące niekiedy do zatarcia jej warstwowej budowy. Zachowane komórki nerwowe kory wykazywały cechy nieswoistego zwyrodnienia, najczęściej pod postacią schorzenia ischemicznego i przewlekłego. Zwracało uwagę stosunkowo niewielkie w porównaniu z innymi okolicami kory mózgu, uszkodzenie neuronów kory amonalnej. Podobnie niewielkie uszkodzenia komórek nerwowych stwierdzono w mózdzku.

Na pograniczu korowo-podkorowym płatów czołowego i ciemieniowego występowało nieznaczne rozrzedzenie utkania, nie mające jednak cech zwyrodnienia gąbczastego. W korze wszystkich płatów, ze szczególnym zajęciem kory zakrętu hipokampa, obecne były drobne ogniska martwicy okołonaczyniowej. Obraz neuropatologiczny uzupełniało rozległe rozluźnienie tkanki





wokół układu komorowego, zwłaszcza w otoczeniu rogów czolowych komór bocznych.

Chemiczne oznaczenia zawartości miedzi w tkankach mózgu wykazały jej znaczny wzrost we wszystkich badanych strukturach (Tabela 1). Był on największy w skorupie i we wzgórzu.

*Tabela 1.* Topografia ilościowa miedzi w mózgu w przedstawionym przypadku w porównaniu z jej prawidłową zawartością

*Table 1.* Quantitative topography of copper content in the presented case compared to normal values

Struktura mózgu Brain structure	Zawartość Cu w mózgu chorego w $\mu\text{g/g}$ suchej tkanki Copper content in the brain of the presented case in $\mu\text{g/g}$ dry tissue	Prawidłowy poziom Cu w mózgu w $\mu\text{g/g}$ suchej tkanki Normal copper level in the brain in $\mu\text{g/g}$ of dry tissue
Istota biała płata czołowego White matter of the frontal lobe	293,4	19,1
Istota szara płata czołowego Grey matter of the frontal lobe	271,6	27,3
Jądro ogoniaste Caudate nucleus	382,00	34,4
Skorupa — Putamen	473,8	40,7
Galka bladea Globus pallidus	366,7	33,5
Wzgórze — Thalamus	411,5	25,6

*Ryc. 1.* Rozległa martwica w zwojach podstawy obejmująca skorupę i głowę jądra ogoniastego. Heidenhain. Pow. lupowe.

*Fig. 1.* Widespread necrosis in the basal ganglia confined to putamen and caudate nucleus. Heidenhain. Magn. glass.

*Ryc. 2.* Bezodezynowe ognisko martwicy w zwojach podstawy. H-E. Pow.  $60\times$ .

*Fig. 2.* Necrotic focus without glial reaction in the basal ganglia. H-E.  $\times 60$ .

*Ryc. 3.* Komórki Alzheimer'a typu II z ostro obrysowaną błoną jądrową i grubymi ziarnami chromatyny. H-E. Pow.  $400\times$ .

*Fig. 3.* Alzheimer cells type II with sharply delineated nuclear membrane and coarse granules of chromatin. H-E.  $\times 400$ .

*Ryc. 4.* Komórka Alzheimer'a typu I z obfitą cytoplazmą. H-E. Pow.  $400\times$ .

*Fig. 4.* Alzheimer cell, type I with abundant cytoplasm. H-E.  $\times 400$ .

*Ryc. 5.* Komórka Opalskiego z ciemnym jądrem położonym odśrodkowo oraz z obfitą drobnoziarnistą cytoplazmą. H-E. Pow.  $400\times$ .

*Fig. 5.* Opalski cell with excentric dark nucleus and abundant fine-granular cytoplasm. H-E.  $\times 400$ .

*Ryc. 6.* Rozplem drobnych naczyń w pobliżu ogniska martwicy w zwojach podstawy. H-E. Pow.  $200\times$ .

*Fig. 6.* Proliferation of small blood vessels in the vicinity of tissue necrosis. H-E.  $\times 200$ .

## OMÓWIENIE

Przedstawiony przypadek w całokształcie swojego obrazu kliniczno-morfologicznego nastęrcza istotne trudności diagnostyczne, których nie rozstrzygają uzupełniające badania zawartości miedzi w mózgu. Obraz kliniczny przypadku: przebyte wirusowe zapalenie wątroby, stanowiąca jego następstwo postępująca marskość, doprowadzająca do wykształcenia pozawątrobowego obocznego krążenia żylnego w postaci żyłaków przelyku, krwawienia z żyłaków, nawracające stany śpiączkowe, podwyższony poziom amoniaku we krwi i wreszcie zejście śmiertelne w stanie śpiączki wątrobowej — stanowią argumenty na rzecz klinicznego rozpoznania encefalopatii wątrobowej w następstwie nieswoistego uszkodzenia wątroby. Brak badania neurologicznego, okulistycznego oraz oznaczeń poziomu miedzi i aktywności ceruloplazminy we krwi ograniczają możliwości dyskusji co do rozpoznania choroby Wilsona.

Obraz morfologiczny mózgu, przy znanym podobieństwie uszkodzeń stanowiących podłoże zarówno nieswoistej encefalopatii wątrobowej jak i zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego, odpowiada zmianom charakterystycznym dla tego ostatniego procesu. Przemawia za tym charakter symetrycznych uszkodzeń prądkowia, stanowiących w istocie martwicę tkanki, a nie jej zwyrodnienie gąbczaste, znamienne dla encefalopatii wątrobowej i encefalopatii wrotno-układowej (Mossakowski, Szymchel-Paluszkiwicz 1964; Mossakowski 1966), nasilenie i cechy gliopatii oraz obecność uszkodzeń naczyńniowych. Gliopatia mająca charakter pierwotnego procesu patologicznego stanowi zjawisko wspólne dla obu zespołów chorobowych. W nieswoistej encefalopatii wątrobowej ma ona cechy uogólnionego rozplemu i przerostu astrocytów ze współtowarzyszącym ich zwyrodnieniem, na które nakłada się obecność charakterystycznych patologicznych postaci gleju, znanych pod nazwą komórek Alzheimera typu II. W znacznej liczbie przypadków zarówno w nagich jądrach jak i w jądrach niezmienionych astrocytów występują wtřęty glikogenowe. Komórki Opalskiego stanowią rzadkie zjawisko, a komórki Alzheimera typu I nie były dotychczas opisane w żadnym przypadku nieswoistej encefalopatii wątrobowej. Gliopatia Wilsonowska różni się obecnością zarówno komórek Alzheimera typu I jak i komórek Opalskiego oraz brakiem astrocytarnych glikogenowych wtřętów śródjądrowych. Wreszcie zmiany naczyniowe, w postaci zwłóknienia i zeszkliwienia oraz przerostów śródbłonkowych drobnych tętniczek, obecne w przedstawionym przypadku, są znamienne dla choroby Wilsona, a nietypowe dla nieswoistej encefalopatii wątrobowej. Za rozpoznaniem zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego przemawiają również wyniki oznaczeń zawartości miedzi w poszczególnych strukturach mózgu. Przewyższa ona około dziesięciokrotnie prawidłowy poziom

miedzi w mózgu i jest znacznie wyższa od stwierdzonej w przewlekłych (Wiśniewski i wsp. 1967; Wender, Kozik 1973) i ostrych (Śmiałek, Mossakowski 1974) przypadkach encefalopatii wątrobowej.

Wobec przedstawionych powyżej rozbieżności obrazu klinicznego i morfologiczno-biochemicznego interpretacja przypadku mogłaby pójść w dwóch podstawowych kierunkach.

Pierwszy z nich to przyjęcie, że mamy w istocie do czynienia z przypadkiem choroby Wilsona, w którym przebyte wirusowe zapalenie wątroby pogłębiło jej uszkodzenie i przyspieszyło oraz zaostrzyło kliniczny przebieg choroby, doprowadzając do śmierci w stanie śpiączki wątrobowej. Przeciwno tej koncepcji przemawia brak jakichkolwiek danych klinicznych i anamnestycznych, wskazujących na ewentualność zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowego. Trudno również przypuścić, żeby przy stwierdzonym zaawansowaniu procesu patologicznego w ośrodkowym układzie nerwowym, zespół chorobowy przebiegał bez symptomatologii neurologicznej, zauważalnej mimo braku specjalistycznego badania neurologicznego i okulistycznego.

Alternatywą przedstawionej koncepcji jest potraktowanie przypadku jako nieswoistej encefalopatii wątrobowej z wyjątkowo masywnym uszkodzeniem ośrodkowego układu nerwowego. W jego rozwoju istotną rolę mogłyby odegrać powtarzające się krwotoki z przewodu pokarmowego, stanowiące znany czynnik wyzwalający zespoły neurologiczne w przypadkach uszkodzenia wątroby i pogłębiający zespół nieprawidłowości strukturalnych w mózgu (Fischer 1974). Na ich rolę mogłyby wskazywać w naszym przypadku masywne ubytki komórek nerwowych i liczne rozsiane ogniska martwicy okołonaczyniowej.

Przypadki o podobnie ciężkich uszkodzeniach ośrodkowego układu nerwowego w przebiegu encefalopatii wątrobowej znane są w piśmiennictwie neuropatologicznym. Należy do nich między innymi przypadek Baltazana i wsp. (1957), opisany zresztą jako nietypowe zwyrodnienie wątrobowo-soczewkowe. Wydaje się, że masywność i „nietypowość” uszkodzeń tkankowych w naszym przypadku, należy rozpatrywać w kontekście wyjątkowo wysokiej zawartości miedzi w tkankach ośrodkowego układu nerwowego. Jej neurotoksyczne działanie zostało wykazane między innymi w badaniach doświadczalnych Wiśniewskiego i wsp. (1966). Spostrzeżenia Śmiałka i Mossakowskiego (1974), wskazują z kolei na zależność topograficzną uszkodzeń mózgu od stężenia miedzi w tkance. W badaniach prowadzonych na hodowli tkankowej stwierdzono, że miedź jest czynnikiem wywołującym nieprawidłowości strukturalne astrocytów, charakterystyczne zarówno dla choroby Wilsona, jak i encefalopatii wątrobowej, włącznie z pojawieniem się komórek Alzheimer'a typu II i I oraz komórek Opalskiego (Mossakowskiego i wsp. 1970a). Przechodzeniu miedzi z krwi do tkanek ośrodkowego układu nerwowego sprzyjają

zaburzenia mechanizmów bariery krew-mózg. W warunkach doświadczalnej marskości wątroby stwierdza się wzmożoną przepuszczalność naczyń mózgu dla metali ciężkich (Mossakowski i wsp. 1970b). Nie bez znaczenia dla stanu mechanizmów barierowych krew-mózg w przedstawionym przypadku, mogły być wspomniane uprzednio masywne krwawienia z żyłaków przelyku. Gromadząca się w tkance miedź mogła prowadzić również do uszkodzeń strukturalnych naczyń mózgowych. Ich zmieniona przepuszczalność sprzyjała dalszemu gromadzeniu się jej w tkance stwarzając mechanizm błędnego koła. Przedstawiony przypadek wydaje się ilustrować postulowaną uprzednio zależność intensywności i charakteru uszkodzeń tkanek ośrodkowego układu nerwowego od stopnia nagromadzenia miedzi (Baltazan i wsp. 1957; Śmiałek Mossakowski 1974), wskazującą, że obraz morfologiczny encefalopatii wątrobowej tym bardziej zbliża się do zmian charakterystycznych dla choroby Wilsona, im wyższe jest stężenie miedzi w tkankach mózgu.

E. Матыя, К. Ренкавек, М. Сьмялек, М. Я. Моссаковски

СЛУЧАЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ  
С НЕЙРОПАТОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНОЙ БОЛЕЗНИ УИЛЬСОНА

Резюме

Описан случай печеночной энцефалопатии, возникшей в результате цирроза печени, вызванного вирусным воспалением.

Картина нейропатологических изменений — почти идентична с такой в заболеванию Уильсона. В морфологической картине имеются обосторонние некрозы в базальных ядрах, диффузия и гиперплазия астроглии с наличием клеток Алзгеймера I и II типов, а также клеток Опальского и диффузия сосудов. Значительно повышенный уровень меди в структурах мозга кажется быть решающим фактором в картине морфологических изменений.

E. Matyja, K. Renkewek, M. Śmiałek, M. J. Mossakowski

A CASE OF HEPATOGENIC ENCEPHALOPATHY WITH NEUROPATHOLOGICAL  
FEATURES OF WILSON'S DISEASE

Summary

A case of hepatogenic encephalopathy due to liver cirrhosis following viral infection is described. Neuropathological picture closely resembled that being typical for Wilson's disease. It consisted of bilateral necrosis in basal ganglia, proliferation and hypertrophy of astroglia, occurrence of Alzheimer cells type I and II Opalski cells and vascular proliferation. Markedly enhanced copper level in the brain structures seems to be responsible for the development of morphological changes.

PIŚMIENNICTWO

1. Baltazan M. A., Olszewski J., Zerwas N.: Chronic porto-hepatic encephalopathy. J. Neuropath. exp. Neurol. 1957, 16, 410—421.

2. Eden A. H., Green H.: Microdetermination of copper in biological material. *Biochem. J.* 1940, 34, 1202—1209.
3. Fischer J. E.: Hepatic coma in cirrhoses, portal hypertension and following portocaval shunt. *Arch. Surg.* 1974, 108, 325—336.
4. Mossakowski M. J., Szymchel-Paluszkiwicz J.: Encephalopathia porto-systemica. *Neuropat. Pol.* 1964, 2, 179—192.
5. Mossakowski M. J.: Patomorfologia i histochemia spontanicznych i doświadczalnych encefalopatii pochodzenia wątrobowego. *Neuropat. Pol.* 1966, 4, 231—304.
6. Mossakowski M. J., Renkawek K., Kraśnicka Z., Śmiałek M., Pronaszko A.: Morphology and histochemistry of Wilsonian and hepatogenic gliopathy in tissue culture. *Acta neuropath. (Berl.)* 1970a, 16, 1—16.
7. Mossakowski M. J., Śmiałek M., Pronaszko A.: Zaburzenia przepuszczalności naczyń krwionośnych mózgu w doświadczalnej encefalopatii wątrobowej. *Neuropat. Pol.* 1970b, 8, 365—374.
8. Śmiałek M., Mossakowski M. J.: Morphological changes and quantitative topography of copper in the brain of patients with hepatic coma due to acute liver impairment. *Neuropat. Pol.* 1974, 12, 260—268.
9. Wender M., Kozik M.: Encefalopatia po zespoleniu żyły głównej dolnej z żyłą wrotną. *Obraz biochemiczny. Neurol. Neurochir. Pol.* 1973, 23, 177—181.
10. Wiśniewski H. M., Śmiałek M., Zalewska T., Szydłowska H., Rap Z.: Copper content in brains with blood-brain barrier damage by freezing, hemorrhage and encephalomalacia (experimental work). *Neuropat. Pol.* 1966, 4, 33—51.
11. Wiśniewski H. M., Śmiałek M., Szydłowska H., Zalewska T.: Quantitative topography of copper in Wilson's disease and in porto-systemic encephalopathy. *Neuropat. Pol.* 1967, 5, 91—103.

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

(dalszy ciąg ze str. 350)

zy i cerebrozydozy) oraz choroby Pelizaeusa-Merzbachera i podobnych, należy jeszcze wyodrębnić tak zwane adrenoleukodystrofie. Charakteryzują się one morfologicznie obecnością wtrętów cytoplazmatycznych w komórkach kory nadnerczy i ośrodkowego układu nerwowego, a chemicznie spichrzeniem złogów o bardzo długim łańcuchu kwasów tłuszczowych. Pomimo dużej rzadkości, uwarunkowanej być może trudnościami w rozpoznaniu przyżyciowym a nawet pośmiertnym podostrej zamartwiającej encefalopatii (Leigha), zespół ten omówiono aż w 4 doniesieniach, pochodzących z szeregu ośrodków neuropatologicznych (Diemer, Kopenhaga; Holzhausen i Gerlach, Halle; Cervós-Navarro, Berlin; Lahl, Halle). Wymienieni autorzy stoją na stanowisku, że zespół może występować nie tylko u małych dzieci, ale nawet w wieku młodzieńczym, przy czym istnieje możliwość zróżnicowania tego zespołu od encefalopatii dziecięcej typu Wernickego. Kilka doniesień (Elleder, Praga; Barz i współprac., Berlin; Majdecki, Warszawa) poświęconych było uogólnionej i ograniczonej do układu nerwowego ceroidolipofuscynozie.

Wśród prac dotyczących zapalenia mózgu wieku dziecięcego na uwagę zasługuje przede wszystkim ze względów epidemiologicznych, praca Rose (Magdeburg), dotycząca zapaleń mózgu i rdzenia u noworodków, wywołanych przez wirus Coxsackie — B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub> i B<sub>5</sub>.

Schreiber, Gerlach i Jänisch (Erfurt, Halle i Berlin) przedstawili dobrze udokumentowaną tezę, opartą o porównanie rozległego materiału sekcyjnego i wyniki badań doświadczalnych przy zastosowaniu karcinogennych substancji neurotropowych oraz wirusów neuroonkogennych, że duża część guzów ośrodkowego układu nerwowego wczesnego wieku dziecięcego jest wywołana przez czynniki egzogenne. Wyjaśnienie istoty tych czynników w patologii ludzkiej jest jednak jeszcze niedostateczne.

VII Kongres Neuropatologów NRD wykazał, podobnie jak poprzednie sympozja, duży postęp w zakresie neuropatologii klinicznej w Niemieckiej Republice Demokratycznej, przy czym jedynie jako metody pomocnicze stosuje się badania ultrastrukturalne, histochemiczne i biochemiczne. Jak dotychczas mało jest jeszcze badań, które możnaby określić jako patologiczną neurobiologię, stawiającą na rozwiązanie problemów patologii układu nerwowego na poziomie molekularnym.

*Mieczysław Wender*

URSZULA WYSMYK-CYBULA, JAN ALBRECHT

ZAWARTOŚĆ KWASU  $\gamma$ -AMINOMASŁOWEGO (GABA) ORAZ AKTYWNOŚĆ DEKARBOKSYLAZY GLUTAMINOWEJ (GAD) W MÓZGU SZCZURA W WARUNKACH DOŚWIADCZALNEJ HIPOGLIKEMIIZespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN  
Kierownik Zespołu: prof. dr M. J. Mossakowski

Hipoglikemii towarzyszy charakterystyczny zespół objawów klinicznych w postaci naprzemiennie występujących stanów śpiączkowych i drgawek. Od wielu lat prowadzone były badania, mające na celu wyjaśnienie biochemicznego podłoża tej dysfunkcji układu nerwowego. Opisane zmiany były przesłanką do podjęcia badań nad metabolizmem kwasu  $\gamma$ -aminomasłowego (GABA), związku o udowodnionej roli neurotransmitera hamującego (Baxter 1976). Na możliwość wystąpienia zaburzeń w metabolizmie GABA wskazywały dane, dotyczące jego bezpośredniego prekursora — kwasu glutaminowego. Już z wczesnego doniesienia Dawsona (1950) wynikało, że hipoglikemii towarzyszy spadek poziomu glutaminianu. Obserwacja ta znalazła pełne potwierdzenie w badaniach późniejszych (Agardh i wsp. 1978). Kilku autorów dokonało bezpośrednich pomiarów zawartości GABA w mózgu w warunkach ostrej hipoglikemii, stwierdzając zgodnie spadek poziomu tego związku (Tews i wsp. 1965; Norberg, Siesjo 1976; Agardh i wsp. 1978); badania te dotyczyły jednak wyłącznie półkul mózgowych. W niniejszej pracy uwzględniono dodatkowo inne okolice mózgu: prążkowie — strukturę o najwyższej zawartości GABA (Fahn 1976) oraz mózdzek. Równolegle w tych samych strukturach oznaczano aktywność dekarboksylazy glutaminowej (GAD) (E.C.4.1.1.15) — enzymu odpowiedzialnego za syntezę GABA. Przebadano dynamikę zmian w poziomie aminokwasu i enzymu w różnym czasie po podskórnym podaniu insuliny, co miało na celu dokonanie oceny korelacji z poziomem glukozy we krwi.

## MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto szczury rasy Wistar o ciężarze ciała 180—200 g. Zwierzętom, głodzonym przez 18 godzin, podawano podskórną insulinę w dawce 1 j/100 g wagi ciała (Albrecht i wsp. 1979). Każdej grupie zwierząt doświadczal-

nych odpowiadała grupa kontrolna, traktowana w ten sam sposób, z wyjątkiem podawania insuliny. Szczury dekapitowano w różnych odstępach czasu po podaniu insuliny (tab. 1 i 2).

Aktywność GAD oznaczano wg Baxtera (1972), w modyfikacji Morina i Westerlaina (1977), mierząc poziom  $^{14}\text{CO}_2$  uwolnionego w reakcji  $\frac{\text{GAD}}{\text{PLP}} \text{GABA} + \text{CO}_2$ . Poszczególne struktury: korę, prążkowie, mózdzek i pień pobierano z mózgu oziębionego w suchym lodzie. Mózgi homogenizowano w 10 objętościach oziębionego 0,1 M buforu fosforanowego pH 6,5, zawierającego  $1 \times 10^{-4}$  M fosforan pirydoksalu (PLP),  $1 \times 10^{-2}$  M zredukowany glutation oraz 0,25% Triton X-100. Mieszaninę zawierającą 0,05  $\mu\text{l}$  [ $1-^{14}\text{C}$ ] kwasu glutaminowego, 0,8  $\mu\text{mola}$  zimnego kwasu glutaminowego w objętości 10  $\mu\text{l}$  oraz 20  $\mu\text{l}$  homogenatu, inkubowano w warunkach beztlenowych przez 1 godz. w temp.  $37^\circ\text{C}$ , a produkt reakcji wchłaniał się do 1 ml NCS. Do prób dodawano następnie 20  $\mu\text{l}$  0,5 M  $\text{NaHCO}_3$  oraz 20  $\mu\text{l}$  6  $\text{NH}_2\text{SO}_4$  i inkubowano je przez noc w temp. pokojowej. Radioaktywność prób mierzono po dodaniu do fioletek scyntylacyjnych 2,5 ml toluenowego płynu scyntylacyjnego.

Poziom kwasu  $\gamma$ -aminomasłowego (GABA) oznaczano fluorymetrycznie, nieznacznie zmodyfikowaną metodą Grahama i Aprisona (1964). Mózgowie pobierano z głów szczurów zamrożonych w ciekłym azocie, bezpośrednio po dekapitacji i dzielono na: prążkowie, półkule mózgu bez prążkowie oraz mózdzek (bez pnia). GABA ekstrahowano 75% etanolem. Ekstrakty po wysuszeniu rozpuszczano w wodzie destylowanej. Do oznaczeń pobierano 25  $\mu\text{l}$  porcji wodnego roztworu GABA, które, po uprzednim odparowaniu, inkubowano w medium o składzie opisywanym przez autorów metody z tą różnicą, że 1 mM NADP zastąpiono 5 mM. Inkubację prowadzono w temp.  $38^\circ\text{C}$  przez 45 min., po czym reakcję przerywano, a następnie nadmiar NADP degradowano na drodze inkubacji w buforze fosforanowym o pH 11,4 przez 15 min. w temp.  $60^\circ\text{C}$ . Fluorescencję pochodnej NADP powstałej w wyniku 10-minutowej reakcji NADPH z 0,05%  $\text{H}_2\text{O}_2$  w temp.  $60^\circ\text{C}$ , mierzono w spektrofлуorymetrze Aminco Bowman, przy długości fali wzbudzenia 365 nm i emisji 465 nm. Wyniki wyrażono w  $\mu\text{molach}$  GABA na g świeżej tkanki.

#### WYNIKI

W tabeli 1 przedstawiono dynamikę zmian poziomu GABA po jednorazowym podaniu insuliny. W warunkach kontrolnych najwyższą zawartość GABA stwierdzono w prążkowie: wahała się ona w granicach 2,3—2,7  $\mu\text{moli}$  GABA na gram tkanki. W półkulach oraz mózdzku poziom aminokwasu mieścił się w zakresach: 1,28—1,76  $\mu\text{mola}$  oraz 0,9—1,52  $\mu\text{mola}$ . W 30 minucie po podaniu hormonu nie zaobserwowano zmian w zawartości GABA



w stosunku do wartości kontrolnych w żadnej z badanych struktur. Po 2 godz. od podania insuliny nastąpiło obniżenie poziomu GABA w prążkowie o 27% oraz wzrost w półkulach o ok. 30%, nie stwierdzono natomiast żadnych zmian w mózdzku. Po 3 godz. spadek zawartości aminokwasu w badanych okolicach mózgu zaznaczył się również, jednakże był mniejszy niż po 2 godz. Nadal nie notowano żadnych zmian w mózdzku. Po 6 godz. zaobserwowano wzrost zawartości GABA w mózdzku o ok. 14%, a w półkulach o 20%, podczas gdy poziom tego związku w prążkowie nie odbiegał od wartości kontrolnych. Po 24 godz. zanotowano powrót poziomu GABA do normy we wszystkich badanych strukturach.

Tabela 1. Poziom kwasu  $\gamma$ -aminomasłowego (GABA) w wybranych strukturach mózgu szczura w warunkach hipoglikemii

Table 1.  $\gamma$ -aminobutyric acid level (GABA) in selected structures of the rat brain in the conditions of experimental hypoglycemia

Czas po podaniu hormonu Time after hormone administration	Grupa Group	Poziom GABA ( $\mu$ mole/g świeżej tkanki) GABA level ( $\mu$ moles/g wet tissue)		
		mózdzek cerebellum	półkule mózdzku bez prążkowiea cerebral hemispheres without striatum	prążkowie striatum
30 min	K	1,52 $\pm$ 0,08 (4)	1,76 $\pm$ 0,10 (4)	2,75 $\pm$ 0,20 (5)
	D	1,41 $\pm$ 0,10 (4)*	1,52 $\pm$ 0,20 (5)*	2,73 $\pm$ 0,10 (5)
2 godz. hours	K	1,08 $\pm$ 0,05 (4)	1,38 $\pm$ 0,10 (5)	2,56 $\pm$ 0,20 (5)
	D	1,11 $\pm$ 0,10 (4)	0,95 $\pm$ 0,10 (4)	1,86 $\pm$ 0,10 (4)
3 godz. hours	K	0,9 $\pm$ 0,10 (5)	1,28 $\pm$ 0,16 (5)	2,40 $\pm$ 0,10 (4)
	D	1,0 $\pm$ 0,10 (5)*	0,90 $\pm$ 0,20 (4)	1,97 $\pm$ 0,10 (4)
6 godz. hours	K	1,01 $\pm$ 0,05 (3)	1,44 $\pm$ 0,07 (4)	2,32 $\pm$ 0,40 (4)
	D	1,16 $\pm$ 0,07 (5)	1,73 $\pm$ 0,05 (5)	2,04 $\pm$ 0,08 (5)*
24 godz. hours	K	1,06 $\pm$ 0,14 (4)	1,49 $\pm$ 0,04 (4)	2,47 $\pm$ 0,32 (4)
	D	1,07 $\pm$ 0,10 (2)*	1,37 $\pm$ 0,05 (2)*	2,31 $\pm$ 0,22 (2)*

— Wyniki przedstawiono jako wartości średnie  $\pm$  odchylenia standardowe; w nawiasach liczba doświadczeń

Results are mean  $\pm$  SD, with number of experiments in parentheses

— Z wyjątkiem pozycji oznaczonych „\*„ różnice pomiędzy wynikiem z grup kontrolnych i hipoglikemicznych były statystycznie znamienne ( $p < 0,05$ )

„\*„ — difference statistically insignificant ( $p < 0,05$ ). In the remaining groups differences statistically significant

— K — grupa kontrolna — control group

— D — grupa doświadczalna (insulina) — experimental group (insulin)

W tabeli 2 przedstawiono wyniki pomiarów aktywności GAD w różnych czasach po podaniu insuliny w trzech strukturach mózgu: korze, prążkowie oraz mózdzku. Podobnie jak w przypadku GABA, w warunkach kontrolnych najwyższą aktywność dekarboksylazy stwierdzono w prążkowie, a najniższą w mózdzku (odpowiednio 14 i 6,8  $\mu$ mola uwolnionego  $^{14}\text{CO}_2/\text{g}/\text{godz}$ ). W tabeli nie umieszczono danych dotyczących pnia mózgu, charakteryzującego się niższą aktywnością enzymu niż pozostałe struktury. Niewielki wzrost aktyw-

Tabela 2. Aktywność dekarboksylazy glutaminianowej (GAD) w wybranych strukturach mózgu szczura w warunkach doświadczalnej hipoglikemii

Table 2. Glutamic acid decarboxylase (GAD) in selected structures of the rat brain in the conditions of experimental hypoglycemia

Czas po podaniu hormonu Time after hormone administration	Grupa Group	Aktywność GAD ( $\mu\text{mole } ^{14}\text{CO}_2/\text{g}$ świeżej tkanki) GAD activity ( $\mu\text{moles } ^{14}\text{CO}_2/\text{g}$ wet tissue)		
		kora cortex	prążkowie striatum	móżdżek cerebellum
20 min	K	11,9 $\pm$ 1,7 (6)	11,7 $\pm$ 0,9 (6)	9,0 $\pm$ 1,1 (6)
	D	10,6 $\pm$ 2,2 (5)	13,5 $\pm$ 1,1 (6)*	8,1 $\pm$ 1,4 (6)
30 min	K	8,6 $\pm$ 0,2 (6)	10,0 $\pm$ 0,8 (5)	6,8 $\pm$ 0,8 (6)
	D	8,6 $\pm$ 0,8 (6)	10,3 $\pm$ 1,8 (6)	7,2 $\pm$ 0,5 (6)
1 godz. hours	K	15,0 $\pm$ 1,8 (10)	16,6 $\pm$ 3,8 (10)	11,7 $\pm$ 1,4 (6)
	D	14,5 $\pm$ 2,6 (10)	16,6 $\pm$ 2,6 (10)	11,9 $\pm$ 1,2 (6)
3 godz. hours	K	11,9 $\pm$ 2,7 (8)	14,1 $\pm$ 2,3 (8)	8,2 $\pm$ 1,6 (7)
	D	12,4 $\pm$ 2,5 (8)	14,8 $\pm$ 3,0 (7)	9,3 $\pm$ 2,0 (8)
6 godz. hours	K	8,6 $\pm$ 1,0 (4)	10,3 $\pm$ 1,3 (4)	6,8 $\pm$ 0,5 (4)
	D	7,6 $\pm$ 0,3 (4)	8,9 $\pm$ 1,7 (4)	6,4 $\pm$ 0,2 (4)

— Wyniki przedstawiono jako, wartości średnie  $\pm$  odchylenie standardowe; w nawiasach liczba doświadczeń

Results are mean  $\pm$  SD, with number of experiments in parentheses

— \* — różnice znamienne statystycznie ( $p < 0,05$ ); w pozostałych grupach różnice nieznamienne statystycznie  
difference statistically significant ( $p < 0,05$ ); in the remaining groups differences statistically insignificant

K — grupa kontrolna — control group

D — grupa doświadczalna (insulina) — experimental group (insulin)

ności enzymu zaobserwowano w prążkowie w 20 min. W pozostałych czasach: w 30 min. oraz w 1, 3, 6 i 24 godz. po podaniu insuliny nie stwierdzono zmian w żadnej ze struktur.

#### OMÓWIENIE

Oznaczeń poziomu kwasu  $\gamma$ -aminomasłowego oraz aktywności dekarboksylazy glutaminowej dokonano w takich czasach po podaniu insuliny, które wydawały się ważne w obserwowanym narastaniu objawów hipoglikemii. Okres 20 i 30 minut po podaniu hormonu charakteryzuje się jedynie niewielkim spadkiem poziomu glukozy we krwi (Albrecht i wsp. 1979), w związku z czym można założyć, że jeszcze na tym etapie ujawnia się bezpośredni wpływ insuliny na transport i metabolizm glukozy w mózgu (Mellerup, Ra-faelson 1963; Prassannan 1972). W 2 i 3 godz. po podaniu insuliny obserwuje się najwyższy (70%) spadek poziomu glukozy we krwi, co jest zbieżne z pojawieniem się najostrejszych objawów klinicznych hipoglikemii (Albrecht i wsp. 1979). W 6 godz. po podaniu hormonu poziom glukozy we krwi zbliża się do wartości kontrolnej, czemu jednakże nie towarzyszy ustępowanie objawów śpiączki.

Do oznaczeń wybrano te struktury mózgu, które charakteryzują się dużą zawartością GABA i wysoką aktywnością enzymu. Z zestawienia danych z literatury opublikowanych przez Fahna (1976) wynika, że najwyższą aktywnością GAD charakteryzują się: gałka biała, substancja czarna i wzgórki górne, natomiast strukturami o najwyższym poziomie GABA są: substancja czarna, gałka biała, podwzgórze, wzgórki dolne oraz jądro zębate mózdzku. Substancji czarnej nie pobierano ze względu na trudności związane z jej powtarzalnym izolowaniem, a ograniczono się do prążkowiec oraz kory w przypadku oznaczeń GAD oraz całych półkul bez prążkowiec do oznaczeń GABA. Mózdzek uwzględniono, opierając się na doniesieniach o roli GABA jako neurotransmitera hamującego, występującego w synapsach zakończeń aksonalnych komórek Purkinjego na komórkach jąder Deitersa (Obata 1976).

Spadek poziomu GABA w prążkowiec oraz półkulach był zbieżny zarówno z największym obniżeniem poziomu glukozy we krwi, jak i z wystąpieniem najostrejszych objawów patofizjologicznych. Obserwacje te są zgodne ze spostrzeżeniami innych autorów, którzy wykazali niewielki spadek poziomu tego aminokwasu w półkulach mózgu w głębokiej śpiączce przy izoelektrycznym EEG (Levis i wsp. 1974; Norberg, Siesjö 1976; Agardh i wsp. 1978). Tak jak stwierdzili ci autorzy, zmiany te są prawdopodobnie bezpośrednim następstwem spadku poziomu glukozy — kluczowego substratu w syntezie glutaminianu i GABA w mózgu (Ferrendelli, Chang 1973). Po upływie 6 godz. od podania hormonu pojawiła się pierwsza istotna zmiana poziomu glukozy w mózdzku — wzrost o 14%. Zaobserwowano również podwyższenie poziomu GABA w półkulach, przy braku zmian w prążkowiec. Zaobserwowany wzrost zawartości aminokwasu w omawianych strukturach można wiązać ze stwierdzonym w 6 godz. powrotem poziomu glukozy we krwi do wartości bliskich normie (Albrecht i wsp. 1979), a tym samym ze zwiększeniem ilości substratu. Zmiana ta może mieć charakter kompensacyjny. Nie ujawnienie się takiego efektu w prążkowiec możnaby tłumaczyć, między innymi, wzmożonym transportem nowosyntetyzowanego GABA do zakończeń nerwowych na szlaku prążkowiec-substancja czarna (Okada 1976). Przyjęcie takiej interpretacji wyjaśniałoby również obserwowany wzrost zawartości GABA w półkulach. Powstaje pytanie czy objawy towarzyszące hipoglikemii można wiązać z zaobserwowanymi zmianami w poziomie GABA. W stosunku do okresu głębokiej hipoglikemii (tzn. 2—3 godz. po podaniu insuliny) należałoby dać odpowiedź negatywną. Stwierdzony w tym czasie spadek poziomu neuromediatora hamującego odpowiadałby raczej za wystąpienie stanów drgawkowych niż śpiączki. Łatwiej natomiast byłoby powiązać stan śpiączki, towarzyszący okresowi pohenoglikemicznemu (6 godz.), ze wzrostem poziomu GABA w mózdzku i w półkulach, choć przy obecnym stanie wiedzy trudno ocenić znaczenie tych zmian w układzie GABA-ergicznym. Interpretację patologiczną utrudnia brak danych na temat zachowania się innych neuro-

transmitterów w warunkach hipoglikemii. Warto nadmienić, że Ferrendelli i Chang (1973) wiązali objawy śpiączki z ogólnym spowolnieniem metabolizmu energetycznego mózgu, wynikającym ze spadku poziomu glukozy. Niezależnie od roli zmian w poziomie GABA, towarzyszących hipoglikemii, z niniejszej pracy wnioskować można, że nie są one następstwem zaburzeń w poziomie aktywności GAD — enzymu bezpośrednio odpowiedzialnego za jego syntezę. Nie wydaje się, aby nieznaczny wzrost aktywności enzymu w próżkowiu w 20 min. po podaniu insuliny pozostawał w jakimkolwiek związku przyczynowym z późniejszymi wahaniami w poziomie GABA.

У. Высмык-Дибуля, Я. Альбрехт

СОДЕРЖАНИЕ АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ (GABA)  
И АКТИВНОСТЬ ГЛУТАМАТДЕКАРБОКСИЛАЗЫ (GAD) В МОЗГЕ КРЫСЫ  
В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПОГЛИКЕМИИ

Резюме

В работе проводились измерения уровня аминокислотной кислоты (GABA) и активности глутаматдекарбоксилазы (GAD) в мозге крысы в условиях гипогликемии, вызванной однократной подкожной инъекцией инсулина в дозе 1 е/100 г веса тела. Исследования проводились в разное время после подачи гормона. Среди мозговых структур учитывались полосатое тело, характеризующееся самым высоким содержанием GABA и мозговые полушария, а также мозжечок. В начальный период после подачи гормона (20 и 30 мин.), при небольшом падении глюкозы в крови, наблюдалось лишь незначительное увеличение активности GAD в полосатом теле, не сопровождающиеся однако изменениями в уровне GABA ни в одной из исследованных структур. В период самой глубокой гликемии (2—3 часа после подачи инсулина) имело место падение уровня GABA в коре и полосатом теле. Во время прохождения гипогликемии, т.е. спустя 6 часов после подачи гормона, наблюдалось увеличение содержания GABA в мозжечке и больших полушариях одновременно с его снижением к контрольной величине в полосатом теле. С упомянутым исключением активность GAD оставалась не измененной за все время опыта во всех структурах, что указывает на то, что изменения в уровне GABA связаны в основном с колебаниями глюкозы как субстрата для ее синтеза. Полученные результаты указывают на возможность определенного участия нарушений метаболизма GABA в патомеханизме гипогликемических изменений в мозге.

U. Wysmyk-Cybula, J. Albrecht

THE  $\gamma$ -AMINOBUTYRIC ACID (GABA) CONTENT AND GLUTAMIC ACID DECARBOXYLASE (GAD) ACTIVITY IN RAT IN THE CONDITIONS OF EXPERIMENTAL HYPOGLYCEMIA

Summary

The  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) level and glutamic acid decarboxylase (GAD) activity were determined in the brains of the rats in which hypoglycemia was induced by one subcutaneous injection of insulin in a 1  $\mu$ /100 g body weight dose. The assays were performed at various

times after hormone administration and the brain structures under investigation included: striatum, normally characterized by the highest GABA content, cerebral hemispheres and cerebellum. In the initial period (20 and 30 minutes), characterized by a moderate drop of blood glucose, only a slight decrease of GAD activity in striatum was observed, not accompanied by changes in the GABA level in either of the structures. In the period of most severe hypoglycemia (2—3 hrs after hormone administration) a decrease of GABA level became manifested in the cortex and striatum. With receding hypoglycemia (6th hour after insulin injection) the GABA content increased above control level in the cerebral hemispheres and cerebellum and returned to control in the striatum. With the exception mentioned, the GAD activity remained unchanged in all the structures throughout, indicating that the changes in GABA level are mainly related to the fluctuations of glucose availability as a substrate. The results in general point at the possibility of the participation of disturbances of GABA metabolism in the pathomechanism of hypoglycemic changes in the brain.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Agardh C. D., Folbergova J., Siesjö B. K.: Cerebral metabolic changes in profound, insulin-induced hypoglycemia, and in the recovery period following glucose administration. *J. Neurochem.* 1978, 31, 1135—1142.
2. Albrecht J., Hilgier W., Sikorska M., Mossakowski M. J.: Wpływ doświadczalnej hipoglikemii na zawartość glikogenu i aktywność enzymów metabolizujących glikogen w mózgu szczura. *Neuropat. Pol.* 1979, 18, 521—532.
3. Baxter C. T.: Assay of  $\gamma$ -aminobutyric acid and enzymes involved in its metabolism. W: *Methods of Neurochemistry*. Red. R. Fried, M. Dekker, New York 1972, 1—61.
4. Baxter C. F.: Some recent advances in studies of GABA metabolism and compartmentation. W: *GABA in Nervous System Function*. Red. E. Roberts, T. N. Chase, D. B. Tower. Raven Press, New York 1976, 61—81.
5. Dawson R. M. C.: Studies on the glutamine and glutamic acid content of the rat brain during insulin hypoglycemia. *Biochem. J.* 1950, 47, 386—395.
6. Fahn S.: Regional distribution studies of GABA and other putative neurotransmitters and their enzymes. W: *GABA in nervous system function*. Red. E. Roberts, T. N. Chase, D. B. Tower. Raven Press, New York 1976, 169—186.
7. Ferrendelli A. J., Chang M. M.: Brain metabolism during hypoglycemia. *Arch. Neurol.* 1973, 28, 173—177.
8. Graham L. T., Aprison M. H.: Fluorometric determination of aspartate, glutamate, and  $\gamma$ -aminobutyrate in nerve tissue using enzymic methods. *Anal. Biochem.* 1966, 15, 487—497.
9. Levis L. D., Ljunggren K., Norberg K., Siesjö B. K.: Changes in carbohydrate substrates, amino acids and ammonia in the brain during insulin induced hypoglycemia. *J. Neurochem.* 1974, 23, 659—671.
10. Møllerup E. T., Rafaelsen O. J.: Brain glycogen after intracisternal insulin injection. *J. Neurochem.* 1969, 16, 777—781.
11. Morin A. H., Westerlain C. G.: Stoichiometry of GABA and CO<sub>2</sub> formation in glutamate decarboxylase assays: alteration by an impurity L-U-(<sup>14</sup>C) glutamate. *J. Neurochem.* 1978, 31, 371—373.
12. Norberg J., Siesjö K. B.: Oxidative metabolism of the cerebral cortex of the rat in severe insulin-induced hypoglycaemia. *J. Neurochem.* 1976, 26, 345—352.
13. Obata K.: Association of GABA with cerebellar Purkinje cells: single cell analysis. W: *GABA in Nervous System Function*. Red. E. Roberts, T. N. Chase, D. B. Tower, Raven Press, New York 1976, 217—222.

14. Okada Y.: Role of GABA in substantia nigra. W: GABA in Nervous System Function. Red. E. Roberts, T. N. Chase, D. B. Tower, Raven Press, New York 1976, 235—243.
15. Prassannan K. G.: Effect of insulin on glucose metabolism in cerebral cortex slice under aerobic and anaerobic conditions. *J. Neurochem.* 1972, 19, 1825—1828.
16. Tews J. K., Carter S. H., Stone W. E.: Chemical changes in the brain during insulin hypoglycemia and recovery. *J. Neurochem.* 1965, 12, 679—693.

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

MIECZYSLAW ŚMIAŁEK, MIROSLAW J. MOSSAKOWSKI

## PATOMORFOLOGIA OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO SZCZURÓW W ZATRUCIU ZWIĄZKAMI MANGANU

DONIESIENIE WSTĘPNE

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

Zatrucie związkami manganu u ludzi, spotykane w warunkach przemysłowej długotrwałej ekspozycji na ich działanie, prowadzi do uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego, wyrażającego się zespołem psychoorganicznym oraz objawami pozapiramidowymi łączącymi cechy zwyrodnienia wątrobowo-soczewkowatego i zespołu parkinsonowskiego (Mena i wsp. 1967). Dokumentacja neuropatologiczna, nielicznych zresztą przypadków poddanych dokładnemu badaniu histopatologicznemu, potwierdza na ogół lokalizację najbardziej zaawansowanych uszkodzeń tkankowych w zwojach podstawy (Meyer 1963). Ponadto mniej nasilone zmiany, przede wszystkim o cechach ubytków i zwyrodnień komórkowych, z towarzyszącą reakcją glejową i uszkodzeniem drobnych naczyń, opisywano również w innych okolicach ośrodkowego układu nerwowego, a także w obwodowym układzie nerwowym i w mięśniach (Aboudaram i wsp. 1958; Kircher i wsp. 1960; Kircher, Ritter 1961; Mena i wsp. 1967). Fakt równoczesnego uszkodzenia nerek, a zwłaszcza wątroby, skłaniał Pentschewa (1964) do przyjęcia koncepcji o wtórnym charakterze zmian mózgowych, związanych z pierwotną patologią tych właśnie narządów wewnętrznych, stanowiących główną drogę wydalania metalu z organizmu.

Liczne badania doświadczalne, podejmowane bądź w celu wyjaśnienia mechanizmów patogenetycznych zatrucia związkami manganu, bądź też dla uzyskania zwierzęcego modelu zwyrodnieniowych chorób ośrodkowego układu nerwowego, takich jak choroba Wilsona lub choroba Parkinsona, wskazują na stałe zajęcie ośrodkowego układu nerwowego, jakkolwiek rzadko udawało się uzyskać charakterystyczny zespół objawów neurologicznych (van Bogaert, Dallemagne 1946; Makarczenko 1956; Szabor 1957; Pentschew i wsp. 1964; Jonderko 1970). Zwraca przy tym uwagę ogromne różnicowanie zmian neuropatologicznych przypisywane zazwyczaj odmiennościom gatunkowym zwierząt doświadczalnych, różnym drogom podawania środka uszkadzającego, jak i wreszcie różnym związkom manganu (Meyer 1963).

Przedstawione w niniejszej pracy badania stanowiły kolejną próbę stworzenia zwierzęcego modelu uszkodzenia układu pozapiramidowego, naśladującego zespół parkinsonowski.

#### MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 12 szczurach, samcach szczepu Wistar w wieku 6 tygodni na początku doświadczenia (ciężar ciała ok. 150 g), którym siedmiokrotnie w okresie 4 tygodni podano dożylnie chlorek manganawy ( $MnCl_2$ ) w roztworze fizjologicznym chlorku sodowego. Dwie pierwsze dawki wynoszące w przeliczeniu na  $Mn^{++}$  20 mg/kg ciężaru ciała zwierzęcia podawano w odstępach jednodniowym. Kolejne 3 zwiększone do 40 mg  $Mn^{++}$ /kg ciężaru ciała podano w równych odstępach czasu w ciągu jednego tygodnia. Następną po upływie dalszego tygodnia, a ostatnią po 2 tygodniach. Po ostatniej iniekcji chlorku manganawego zwierzęta pozostawiono w obserwacji klinicznej na okres 4 tygodni. Bezpośrednio po pierwszym podaniu środka toksycznego obserwowano się krótkotrwałe pobudzenie zwierząt, po którym następowało spowolnienie ruchowe oraz sinica. Występowało zwolnienie oddechów z 80/min do 30/min, a następnie ich przyspieszenie do ok. 100/min. Sinica zanikała po upływie ok. 10 min, a spowolnienie ruchowe po godzinie. Kolejne iniekcje wywoływały jedynie 1-godzinne obniżenie ruchliwości zwierząt. W czasie trwania doświadczeń zginęło 7 zwierząt. Padły one zazwyczaj w czasie lub bezpośrednio po podaniu chlorku manganawego. Przeżyło doświadczenie 5 zwierząt, które w okresie 4-tygodniowej obserwacji zachowywały się normalnie. Nie stwierdzono u nich żadnych objawów neurologicznych. Jedynie w końcowym okresie życia były nieco mniej ruchliwe i miały nieco gorszy apetyt. Ich sierść stała się matowa.

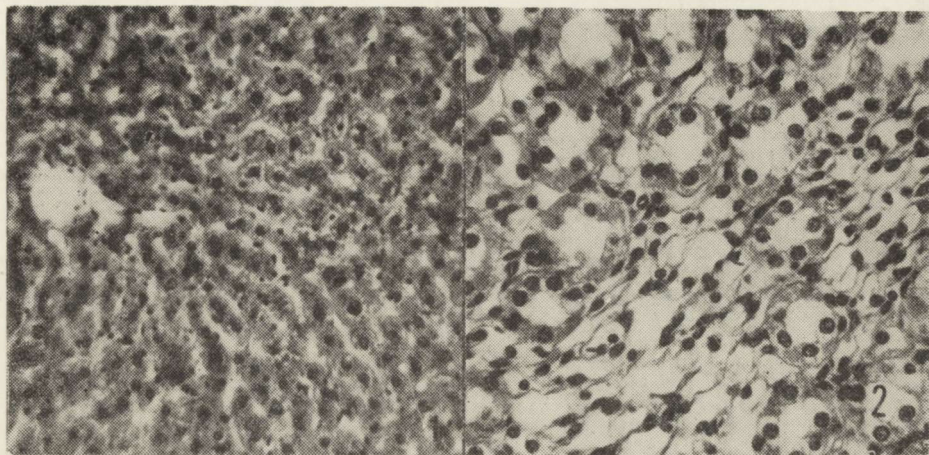
Zwierzęta uśmiercano przez otwarcie klatki piersiowej i wykonanie przezsercowej perfuzji zubożonym do pH 7,2 10% roztworem formaliny. Perfuzję przeprowadzano pod ciśnieniem 90—100 mm Hg. Do badania pobierano mózgowie, nerki i wątrobę. Mózgowie po wyjęciu z jamy czaszki krojono w płaszczyźnie czołowej na bloki o grubości ok. 2 mm. Do badania pobierano skrawki z poziomu przednich i w pełni rozwiniętych jąder podstawy, śródmózgowia, mostu z mózdzkiem, opuszki i górnego odcinka szyjnego rdzenia kręgowego. Formalinowe bloki tkankowe przeprowadzano w sposób rutynowy do parafiny. Skrawki z mózgowia barwiono hematoksyliną i eozyną oraz wg metody Klüver-Barrery i Kanzler-Arendta. W przypadku narządów wewnętrznych ograniczono się do barwienia hematoksyliną i eozyną.

#### WYNIKI

W badaniu makroskopowym zarówno mózg, jak i narządy wewnętrzne nie wykazywały odchyień od stanu prawidłowego.



W obrazie mikroskopowym wątroby zwracała uwagę obecność gruboziarnistej zawartości w cytoplazmie hepatocytów, rozluźnienie układów beleczek, zatarcie obrysów poszczególnych komórek oraz zróżnicowanie wielkości jąder komórek wątrobowych (ryc. 1). W nerkach stwierdzono obecność dyskretnych śródmiąższowych nacieków limfocytarnych w korze, oraz cechy uszkodzenia i zluszczenia komórek nabłonkowych kanalików zbiorczych w części rdzennej (ryc. 2).



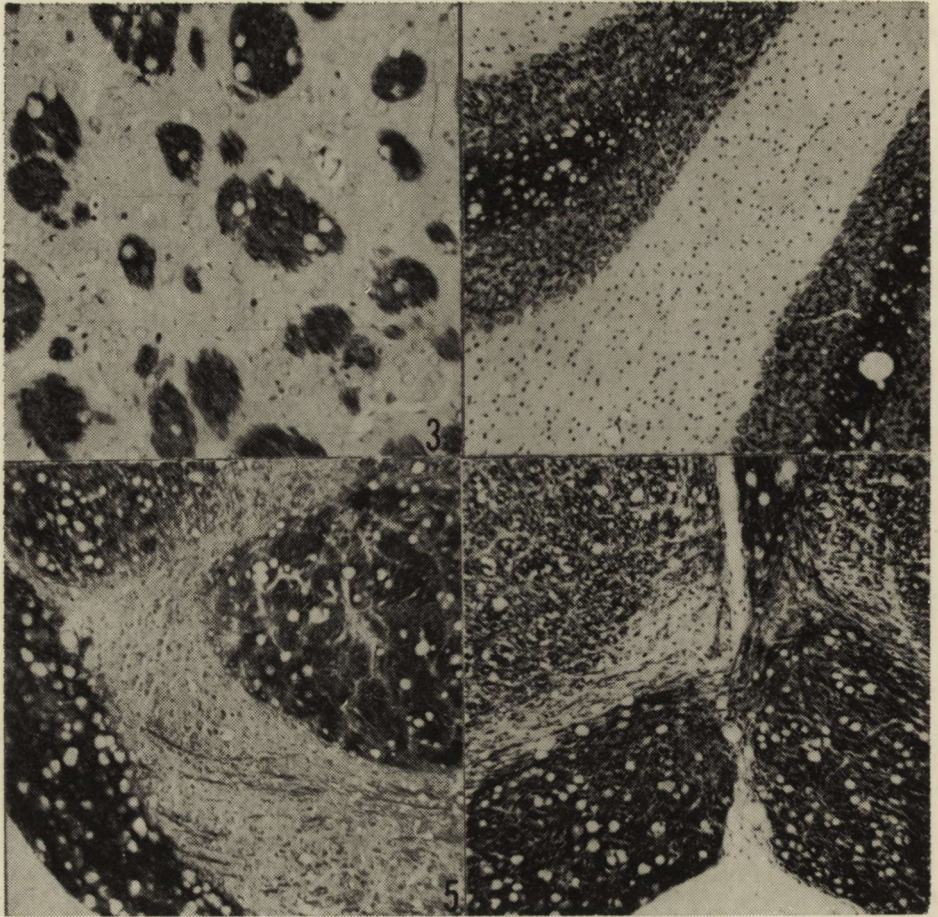
Ryc. 1. Wątroba. Rozluźnienie beleczkowego układu, zróżnicowanie rozmiarów jąder. H-E. Pow. 200×.

Fig. 1. Liver. Slight loosening of the trabecular arrangement. Different size of cell nuclei. H-E. ×200.

Ryc. 2. Część rdzenna nerki. Uszkodzenie i zluszczenie nabłonków kanalików zbiorczych. H-E. Pow. 400×.

Fig. 2. Medullary portion of kidney. Endothelial abnormalities in collective canaliculi. H-E. ×400.

W obrazie mikroskopowym mózgu dominowały nieprawidłowości istoty białej. Polegały one na obecności licznych lub bardzo licznych jamek o różnym stopniu zagęszczenia, których nagromadzenie składało się na obraz zgęszczenia struktur włóknistych mózgu. Występowały one praktycznie w całej istocie białej mózgowia. Szczególnie wyraźne były w spidle wielkim, w pęczkach strio-palidarnych zwojów podstawy (ryc. 3), w istocie rdzennej mózdzku (ryc. 4), w strukturach białych mostu (ryc. 5) i rdzenia kręgowego (ryc. 6). Występowały one również, acz mniej obficie i w sposób mniej uogólniony w formacjach szarych mózgowia, wykazując tu wyraźne zróżnicowanie w poszczególnych strukturach. W korze mózgu obecne były wyłącznie w głębszych warstwach zaoszczędzając niemal całkowicie jej warstwy powierzchniowe. Nie występowały w ogóle w istocie szarej prążkowie, wykazując stosunkowo duże nasilenie we wzgórzu (ryc. 7). Były również obfite w jądrze oliwy dolnej



*Ryc. 3.* Skupienia jamek w pęczkach strio-pallidarnych skorupy. Klüver-Barrera.  
Pow. 200×.

*Fig. 3.* Accumulation of vacuoles in strio-pallidal bundles of the putamen. Klüver-Barrera.  
× 200.

*Ryc. 4.* Zmiany gąbczaste blaszek istoty białej mózdzku przy niezmienionym obrazie kory.  
Klüver-Barrera. Pow. 100×.

*Fig. 4.* Spongiosis of the cerebellar white matter with completely unchanged cortical structure.  
Klüver-Barrera. × 100.

*Ryc. 5.* Zmiany gąbczaste w piramidzie i włóknach lukowatych mostu. Klüver-Barrera. Pow.  
100×.

*Fig. 5.* Spongy abnormalities in the cortico-spinal tract and in arcuate fibres of the pons. Klüver-Barrera.  
× 100.

*Ryc. 6.* Zmiany gąbczaste w podopuszkowej części rdzenia szyjnego. Najsilniej zajęte pasma  
piramid. Klüver-Barrera. Pow. 100×.

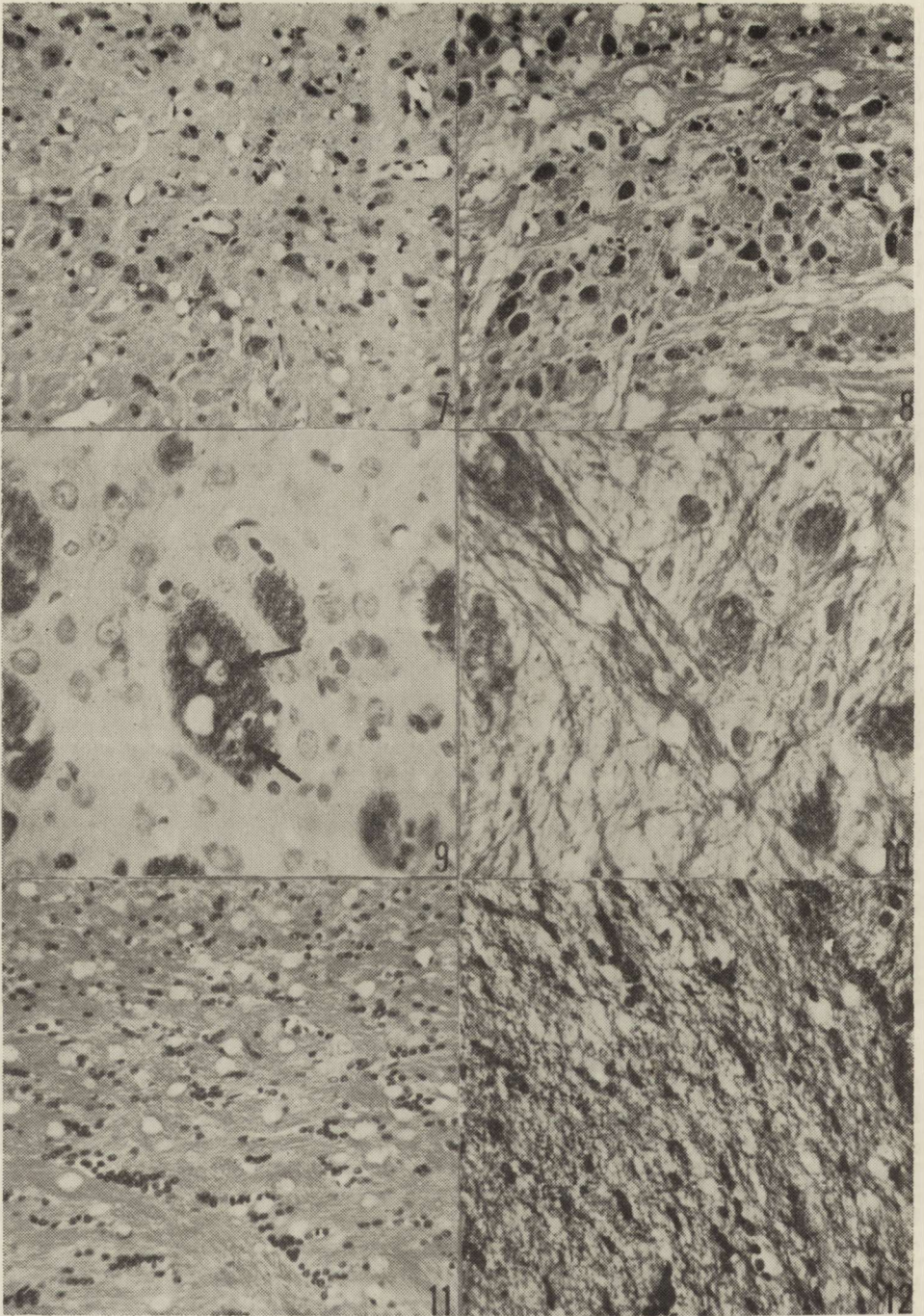
*Fig. 6.* Spongy abnormalities in the white matter of the subbulbar portion of the spinal cord.  
Most severe changes seen in the pyramidal tracts. Klüver-Barrera. × 100.

(ryc. 8) oraz w rogach przednich rdzenia, co kontrastowało z niezmiennymi rogami tylnymi. Nie występowały w ogóle w zawoju hipokampa, korze mózdzku i jądrach własnych mostu.

Jamki, składające się na obraz stanu gąbczastego, wykazywały stosunkowo małe zróżnicowanie wielkości, jakkolwiek zdarzały się również większe położone wśród populacji drobnych. Na ogół odnosiło się wrażenie, że jamki występujące w pniu mózgu i w rdzeniu kręgowym były większe niż w strukturach półkul mózgu, jąder podstawy i mózdzku. Zwraçało uwagę dobre zachowanie barwliwości osłonek mielinowych w otoczeniu jamek. W pojedynczych spośród nich udało się wykazać obecność położonych centralnie lub obwodowo jasnych, kulistych tworów, które mogą odpowiadać bądź jądrum komórek glejowych bądź też poprzecznie przeciętym włóknom osiowym (ryc. 9). Na przekrojach podłużnych pęczków włókien nerwowych udało się wykazać, że jamki bądź rozsuwają pojedyncze włókna nerwowe, bądź też przerywają ich ciągłość (ryc. 10). W niektórych strukturach mózgu, takich np. jak spoidło wielkie lub istota biała półkul stanowi gąbczastemu towarzyszył rozplem komórek glejowych (ryc. 11) oraz wzmożona produkcja włókien gleju (ryc. 12).

Uszkodzenia komórek nerwowych stanowiły na ogół rzadsze zjawisko. Występowały one stale w nowej korze w postaci pojedynczych, rozsianych, ciemnych, obkurczonych neuronów. Zmiany tego typu dotyczyły głównie komórek piramidowych, zwłaszcza dużych (ryc. 13). Widoczne były również w korowych strukturach wężomózgowia, przy zupełnie prawidłowym obrazie komórkowym zwojów podstawy, wzgórza, większości jąder pnia mózgu oraz kory mózdzku. Ciemne, obkurczone neurony występowały często w jądrach oliwy dolnej. Miejszem powtarzalnych uszkodzeń komórkowych była warstwa komórek dwupiramidowych rogu Amona. Występowały tu obficie neurony z cechami zwyrodnienia kwasochłonnego (ryc. 14) oraz ubytki komórkowe położone na granicy sektorów  $H_2$  i  $H_3$ .

Specjalną pozycję zajmowały symetryczne uszkodzenia istoty czarnej. Wyrażały się one zmniejszeniem populacji komórek nerwowych oraz zwyrodnieniem części zachowanych neuronów. Stwierdzane tu nieprawidłowości komórkowe miały przede wszystkim charakter „schorzenia przewlekłego” rzadziej tigrolizy (ryc. 15). Zwraçał przy tym uwagę prawidłowy obraz morfologiczny części spośród zachowanych komórek nerwowych. Przebiegające pośród nich zmielinizowane włókna wykazywały nierówne zarysy, związane z odcinkowym obrzmieniem osłonki. Stwierdzało się ponadto skupienia drobnoziarnistego materiału, wybarwiającego się trwałym błękitem alcjanu tak samo jak prawidłowe osłonki mielinowe (ryc. 16). W barwieniu wg Kanzler-Arendta uwidoczniło się zwiększenie włókienek glejowych.



## OMÓWIENIE

Spostrzegane nieprawidłowości strukturalne różnią się w istotny sposób od większości znanych opisów encefalopatii manganowej, zarówno u ludzi jak i u zwierząt doświadczalnych. Dominującym elementem obrazu neuropatologicznego są bowiem w naszym przypadku zmiany w istocie białej wykazujące cechy jej zwyrodnienia gąbczastego z towarzyszącym komórkowym i włóknistym odczynem glejowym, przy niezmienionym na ogół obrazie osłonek mielinowych. Uderza przy tym nikłość uszkodzeń komórek nerwowych, ograniczonych wyłącznie do kory mózgu, zwłaszcza zakrętu hipokampa i niektórych tylko formacji pnia. Zwyrodnienia komórkowe o różnym zresztą nasileniu i umiejscowieniu dominują w obrazie mózgu w doświadczalnej encefalopatii manganowej (van Bogaert, Dallemagne 1946; Makarczenko 1956; Pentschew i wsp. 1964; Jonderko 1970). Brak również w naszym materiale nieprawidłowości w strukturze naczyń, opisywanych jako charakterystyczne zarówno w zatruciach u ludzi (Kircher, Ritter 1961), jak i u zwierząt doświadczalnych (Makarczenko 1956). Zwraça w nim natomiast uwagę niemal wybiórcze uszkodzenie istoty czarnej, dotyczące zarówno jej populacji komórkowej, jak i włókien nerwowych. Zasluguje ono na szczególne podkreślenie wobec całkowicie prawidłowego obrazu komórkowego zwojów podstawy. Odnotować również warto brak uszkodzeń kory mózdzku, a zwłaszcza komórek Purkinjego, których zwyrodnienie stanowi istotny element doświad-

*Ryc. 7.* Zmiany gąbczaste we wzgórzu wśród prawidłowo zachowanych komórek nerwowych. H-E. Pow. 200×.

*Fig. 7.* Thalamus. Vacuoles surrounded by unchanged nerve cells. H-E. ×200.

*Ryc. 8.* Zwyrodnienie komórek oliwy dolnej, w której części komórek nerwowych wykazuje cechy ciemnych neuronów. H-E. Pow. 200×.

*Fig. 8.* Inferior olive. Part of neurons with features of the so-called dark neurons. H-E. ×200.

*Ryc. 9.* Pęczek striopallidarny w *striatum* w otoczeniu prawidłowo zachowanych komórek nerwowych. W jamkach widoczne są jasne, okrągłe, ostro obrysowane struktury (strzałki). Klüver-Barrera. Pow. 400×.

*Fig. 9.* Strio-pallidal bundle surrounded by unchanged nerve cells. Light, round, sharply delineated structures (arrows) within the vacuoles. Klüver-Barrera. ×400.

*Ryc. 10.* Pęczki włókien nerwowych w rogu przednim rdzenia kręgowego. Na ich przebiegu drobne jamki przerywające ich ciągłość lub rozsuwające poszczególne włókna. Klüver-Barrera. Pow. 400×.

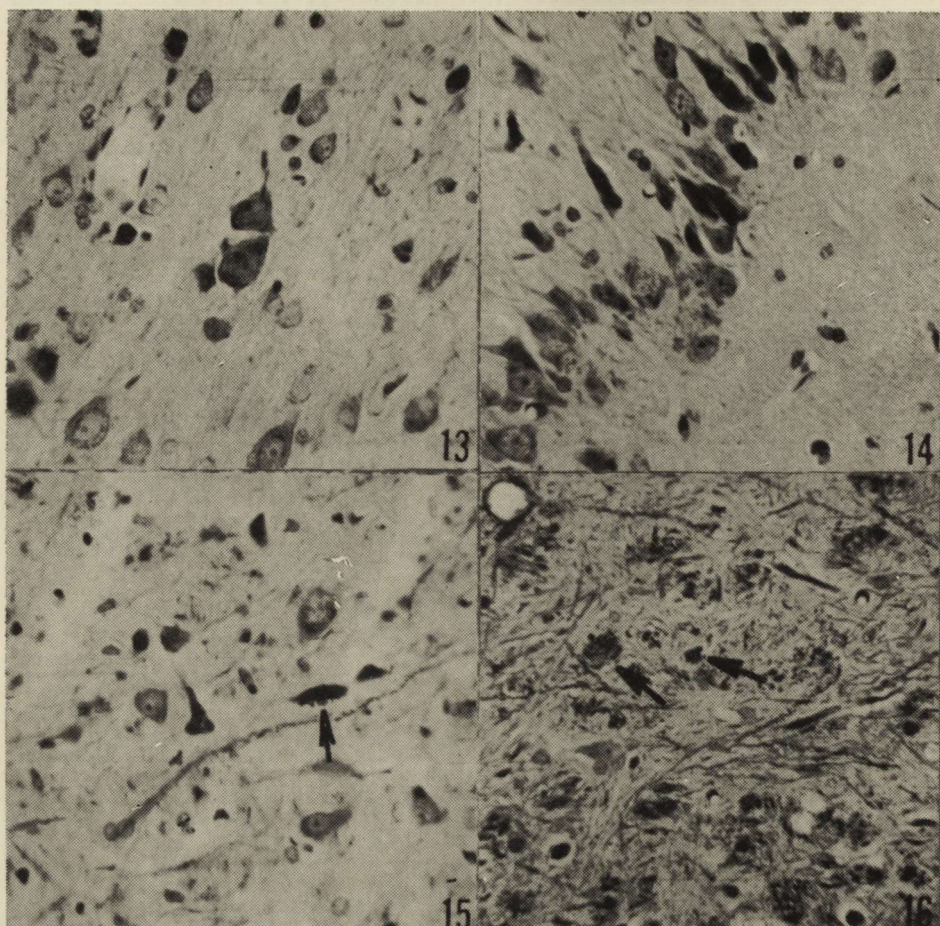
*Fig. 10.* Bundles of the nerve fibers passing the anterior spinal cord. Small holes disrupting their continuity or separating particular fibers are seen. Klüver-Barrera. ×400.

*Ryc. 11.* Spoidio wielkie mózgu. Wśród jamek składających się na obraz zgąbczenia widoczny rozplem komórek glejowych. H-E. Pow. 200×.

*Fig. 11.* Corpus callosum. Proliferation of glial nuclei between holes leading to spongy appearance of the tissue. H-E. ×200.

*Ryc. 12.* Fibroglejoza w istocie białej półkuli mózgu. Kanzler-Arendt. Pow. 400×.

*Fig. 12.* Fibrogliosis of the cerebral white matter. Kanzler-Arendt. ×400.



*Ryc. 13.* Duże komórki piramidowe kory mózgu z cechami zwyrodnienia. Klüver-Barrera. Pow. 400 ×.

*Fig. 13.* Degenerated large pyramidal cells in the cerebral cortex. Klüver-Barrera. × 400.

*Ryc. 14.* Kwasochłonne zwyrodnienie komórek piramidowych rogu Amona. H-E. Pow. 400 ×.

*Fig. 14.* Eosinophilic degeneration of the pyramidal Ammon's horn neurons. H-E. × 400.

*Ryc. 15.* Istota czarna. Zmniejszenie populacji komórek nerwowych, schorzenie przewlekłe części neuronów z widocznymi ziarnistościami zewnętrznej sieci Golgiego (strzałka), położonych wśród komórek o prawidłowej strukturze. Nieregularne obrysy włókien nerwowych. Klüver-Barrera. Pow. 400 ×.

*Fig. 15.* Substantia nigra. Reduced neuronal population, „chronic changes” with perineuronal granulations (arrow) of some neurons Laying between unchanged cells, irregular outlines of some nerve fibers. Klüver-Barrera. × 400.

*Ryc. 16.* Istota czarna. Skupienie ziarnistego materiału o barwliwości identycznej z osłonkami mielinowymi (strzałki). Nieregularne obrysy zachowanych włókien nerwowych. Klüver-Barrera. Pow. 400 ×.

*Fig. 16.* Substantia nigra. Aggregations of a granular material with myelin like staining properties (arrows). Irregular outlines of the remaining nerve fibers. Klüver-Barrera. × 400.

czalnej encefalopatii manganowej (van Bogaert, Dallemagne 1946; Jonderko 1970).

W poszukiwaniu podobieństw do już opisanych nieprawidłowości strukturalnych stanowiących następstwo zatrucia związkami manganu, przypomnieć należy, że Jonderko (1970) wspomina w swoich badaniach o możliwości wystąpienia stanu gąbczastego w istocie białej z towarzyszącym żywym odczynem mikroglejowym. Porównanie dokumentacji mikroskopowej pozwala na stwierdzenie całkowitej odrębności procesu patologicznego w jego materiale i w naszym. Obserwowane przez nas zmiany w istocie białej w swoim podstawowym wzorcu histopatologicznym przypominają nieprawidłowości występujące w zatruciu cyjankami (Wender i wsp. 1972) oraz dichlorofosem, fosforo-organicznym preparatem owadobójczym (Zelman 1977). Te ostatnie w badaniach mikroskopowo-elektronowych okazały się wykładnikami uszkodzenia włókien osiowych komórek nerwowych i wewnętrznych blaszek osłonek mielinowych (Zelman, Majdecki 1979).

Zarówno zmiany towarzyszące zatruciu cyjankami, jak i fosforo-organicznymi pestycydami stanowią morfologiczne odpowiedniki określonej odmiany obrzęku cytotoksycznego mózgu, przebiegającego bez uszkodzenia mechanizmów barierowych, w którym nieprawidłowe nagromadzenie płynu obrzękowego występuje w strukturach zmielinizowanego włókna osiowego. Przez analogię do nich wydaje się możliwe zaliczenie obserwowanych przez nas nieprawidłowości do tej samej kategorii zjawisk. O prawdziwości tego przypuszczenia rozstrzygną badania mikroskopowo-elektronowe.

Zagadnieniem otwartym pozostaje mechanizm odrębności strukturalnych uszkodzeń stwierdzonych w naszym materiale w stosunku do innych znanych doświadczalnych modeli encefalopatii manganowej. W próbie ich wyjaśnienia należy, jak się wydaje, brać pod uwagę swoistości gatunkowe zwierząt, drogę podania substancji toksycznej, jej dawkę, a także sam schemat doświadczenia. Wszystkie te czynniki mogą w sposób istotny modyfikować zarówno charakter jak i intensywność nieprawidłowości tkankowych.

Mimo szczupłości przedstawionego materiału i ograniczenia badań do histopatologicznej analizy wyłącznie jednej grupy zwierząt, uniemożliwiającego próbę patogenetycznej oceny zmian, wydawało się celowe jego przedstawienie ze względu na unikalność obrazu neuropatologicznego.

М. Сьялек, М. Я. Моссаковски

#### ПАТОМОРФОЛОГИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС В ОТРАВЛЕНИИ СОЕДИНЕНИЯМИ МАНГАНА

##### Резюме

В нахождении экспериментальной модели синдрома Паркинсона были проведены исследования на 12 крысах, отравленных хлористым марганцем в общей дозе 240 мг/кг веса животного в пересчете на  $Mn^{++}$ , вводимой в 7 внутривен-

ных инъекциях в течение 4 недель. После последнего отравления животных содержали в течение дальнейших 4 недель без применения экспериментальных мероприятий.

Предметом патоморфологической оценки были мозги, печени и почки животных. Обращающим на себя внимание структурным нарушением в центральной нервной системе был обобщенный спонгиоз белого вещества внушающий картину цитотоксического отека мозга. Этим изменениям сопутствовал незначительный, регионально дифференцированный фиброзный и клеточный глейоз. Спонгиозные изменения в серых образованиях были менее выражены и ограничивались к глубоким слоям мозговой коры, таламуса, нижней оливы и передних рогов спинного мозга.

Повреждения нервных клеток были незначительны и обнаруживались в новой коре и Аммоновой коре. Кроме того было обнаружено симметрическое повреждение черного вещества с отсутствием нервных клеток, их дегенерацией, набуханием и распадом миелиновых оболочек.

M. Śmiałek, M. J. Mossakowski

#### NEUROPATHOLOGY OF MANGANESE INTOXICATION IN RATS PRELIMINARY COMMUNICATION

##### Summary

In search for an experimental model of Parkinsonian syndrom pathomorphological studies were carried out on 12 rats subjected to manganese intoxication. Manganous chloride (in total dosis of 240 mg/kg of body weight, counted of  $Mn^{++}$ ) was intravenously injected in 7 doses during the period of 4 weeks. For following 4 weeks animals were not subjected to any experimental treatment. The animals were sacrificed by intracardiac perfusion with neutral 10% formaline. Brains, livers and kidneys were studied histologically.

The most striking neuropathological finding consisted in generalized vacuolization of the white matter, suggesting the features of the cytotoxic brain edema. The above mentioned abnormalities were accompanied by slight cellular and fibrous gliosis of regionally different intensity. In the grey matter spongy changes were less intensive and limited to some structures such as deep layers of the neocortex, thalamus, inferior olives and anterior horns of the spinal cord. Slight neuronal abnormalities were found in the cerebral cortex and Ammons horn. Bilateral symmetrical changes were present in substantia nigra. They consisted in neuronal loss and degeneration, as well as in swelling and breakdown of myelin sheaths.

Very slight abnormalities of both liver and kidneys suggest the primary nature of the brain lesions.

##### PIŚMIENICTWO

1. Aboudaram V., Bluche V., Ritter V.: Depistage précoce du manganisme. *Maroc. Med.* 1958, 37, 463—471.
2. Bogaert van L., Dallemagne M. J.: Approches expérimentales des troubles nerveux du manganisme. *Msch. Psych. Neurol.* 1946, 111, 60—73.
3. Jonderko G.: Badania mechanizmów patogenetycznych przewlekłego zatrucia manganem. *Śląska Akademia Medyczna*, 1970, 3—59.



4. Kircher J. P., Ritter J.: Lésions corticales dans l'intoxications par le manganese. *Rev. Neurol.* 1961, 104, 362—365.
5. Kircher I. P., Ritter J., Marti Feced C., Belaquane T.: Frequence des lésions corticales dans le manganisme. *Arch. Mal. Profess.* 1960, 21, 736—739.
6. Makaiczenko A. F.: Izmeneniya nierwnoj sistiemy pri intoksikacii mangancem. A.N.U. ZSRR, Kijów 1956, 211—272.
7. Mena I., Marin O., Fuenzalida A., Cortiaz G. C.: Chronic manganese poisoning. Clinical picture and manganese turnover. *Neurology* 1967, 17, 128—136.
8. Meyer A.: W: *Neuropathology*. Red. W. Blackwood, W. McMenemey, A. Meyer, R. M. Norman. D. S. Russell. Arnold, London 1963, 261.
9. Pentschew A.: Contribution of experimental manganese encephalopathy to neurology and neuropathology. *Rev. Neuro-Psiq.* 1964, 27, 405—421.
10. Pentschew A., Ebner F. F., Kowatch R. M.: Experimental manganese encephalopathy in monkeys. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1964, 22, 488—496.
11. Szabor A.: Contribution à la question du manganisme. *Psych. Neurol.* 1957, 133, 221—236.
12. Wender M., Kozik M., Wajgt A.: Histoenzymology of experimental cyanide encephalopathy. *Acta histochem.* 1972, 43, 361—371.
13. Zelman I. B.: Patomorfologia mózgu szczura w doświadczalnym zatruciu fosforoorganicznym pestycydem dichlorfosem (DDVP). *Neuropat. Pol.* 1977, 15, 516—522.
14. Zelman I. B., Majdecki T.: Zmiany ultrastrukturalne w mózгах szczurów po zatruciu fosforoorganicznym insektycydem dichlorfosem (DDVP). *Neuropat. Pol.* 1979, 17, 443—453.

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

ADRESY KSIĘGARŃ „DOMU KSIĄŻKI”,

w których można kupić lub zamówić za zaliczeniem  
pocztowym wydawnictwa PZWL:

- 15-062 Białystok — ul. Warszawska 39
- 85-005 Bydgoszcz — ul. 1 Maja 5
- 41-902 Bytom — Pl. Kościuszki 10
- 42-200 Częstochowa — Al. N.M.P. 27
- 80-239 Gdańsk-Wrzeszcz — ul. Miszewskiego 16
- 44-100 Gliwice — ul. Zwycięstwa 47
- 40-009 Katowice — ul. Warszawska 11
- 25-005 Kielce — ul. Sienkiewicza 37
- 75-007 Koszalin — Pl. Bojowników PPR 1
- 31-027 Kraków — ul. Mikołajska 3
- 20-076 Lublin — ul. Krakowskie Przedmieście 62
- 90-004 Łódź — ul. Piotrkowska 102a
- 10-102 Olsztyn — Pl. Wolności 2/3
- 45-020 Opole — Rynek 19/20
- 05-400 Otwock — ul. Warszawska 27
- 61-805 Poznań — ul. Czerwonej Armii 26
- 05-800 Pruszków — ul. Kościuszki 42
- 26-600 Radom — ul. 1 Maja 28
- 35-030 Rzeszów — ul. 3 Maja 2/II
- 27-600 Sandomierz — Rynek 16/17
- 76-200 Słupsk — Pl. Zwycięstwa 11
- 70-414 Szczecin — Pl. Lotników SDM
- 87-100 Toruń — Rynek Staromiejski 30
- 58-300 Wałbrzych — ul. Słowackiego 1
- 00-762 Warszawa — ul. Belwederska 20/22
- 00-068 Warszawa — ul. Krakowskie Przedmieście 7
- 01-882 Warszawa — ul. Żeromskiego 81
- 50-068 Wrocław — Księgarnia Centralna, ul. Świdnicka 28
- 50-369 Wrocław — ul. C. Skłodowskiej 39
- 41-800 Zabrze — ul. Wolności 288
- 65-066 Zielona Góra — ul. Żeromskiego 16
- 68-200 Żary — ul. Rosenbergów 1

Ośrodek Rozpowszechniania Wydawnictw Naukowych PAN  
00-110 Warszawa Pałac Kultury i Nauki

ANTONI GODLEWSKI

## ZMIANY MORFOLOGICZNE I HISTOENZYMATYCZNE NEUROGLEJU W MÓZGU SZCZURA POD WPLYWEM WYSOKICH DAWEK CYNKOTOXU

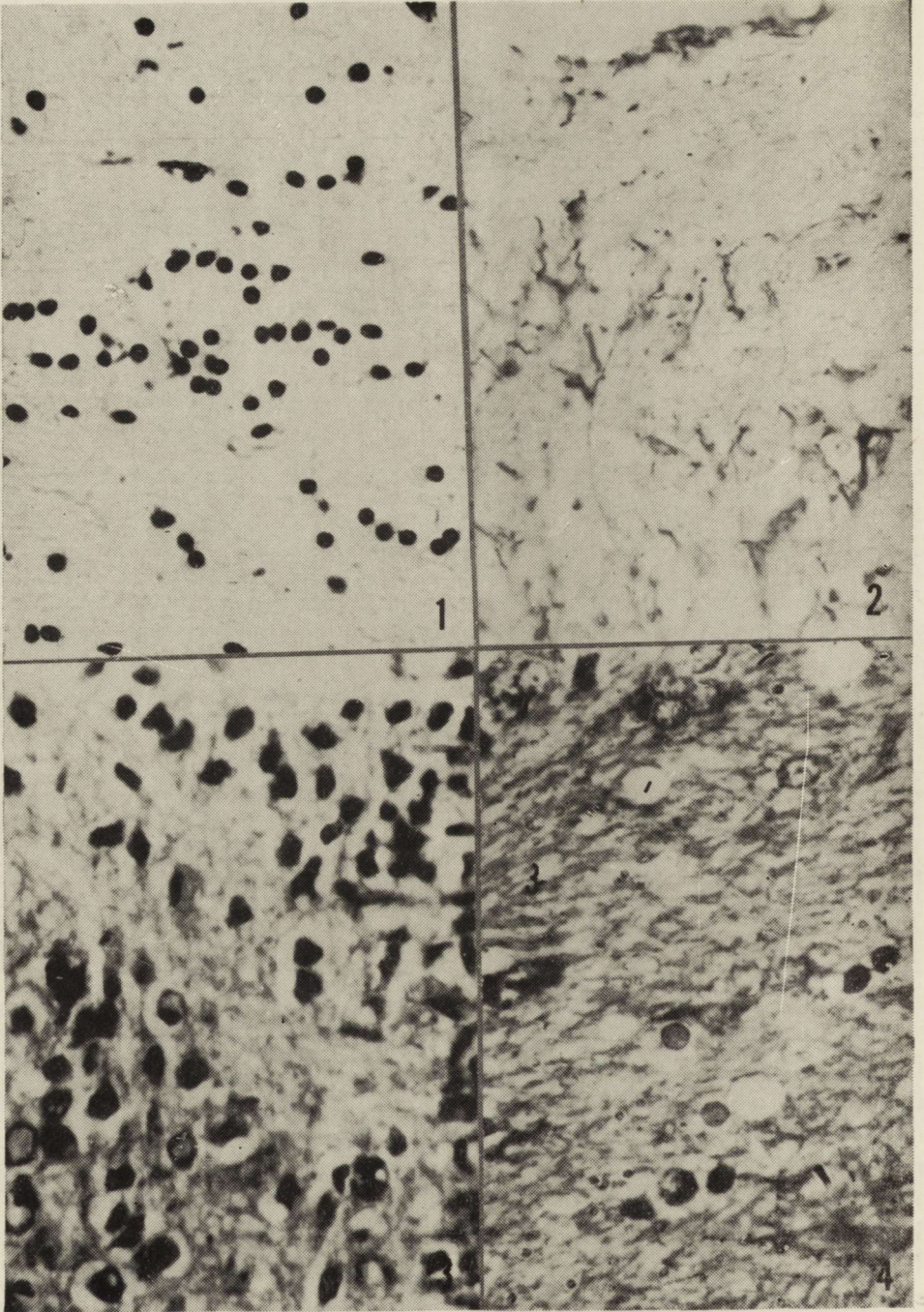
Zakład Neuropatologii AM, Poznań  
Kierownik: prof. dr M. B. Kozik

Cynkotox jest szeroko stosowanym środkiem grzybobójczym, zawierającym 65% etyleno-dwutiokarbaminianu cynku jako substancję czynną. Związek ten może być toksyczny dla ludzi i zwierząt (Rusiecki 1973). Jako preparat stosowany w rolnictwie, ogrodnictwie i sadownictwie może przenikać do organizmu człowieka, bądź podczas prac przy opryskiwaniu upraw rolnych, bądź też w wyniku spożycia zebranych w okresie karencji warzyw i owoców.

Z dotychczasowych badań wynika, że w następstwie zatrucia cynkotoxem dochodzi do rozległych zmian w ośrodkowym układzie nerwowym z wyraźnym dotknięciem elementów glejowych (Kozik 1980). Skłoniło to do szczegółowej analizy wpływu wysokich dawek cynkotoxu na morfologię i aktywność enzymatyczną neurogleju w mózgu szczura. Wydawało się to tym bardziej celowe, ponieważ zmiany glejowe są jedną z charakterystycznych cech neuropatologicznego obrazu zatrucia różnymi związkami cynku (Kozik i wsp. — 1980).

### MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 18 dojrzałych płciowo szczurach rasy Wistar, obu płci, o ciężarze ciała 160—180 g, którym przez 10 kolejnych dni podawano dożołądkowo po 1 g cynkotoxu w postaci wodnej zawiesiny. Po zakończeniu doświadczenia zwierzęta uśmiercano w narkozie eterowej przez przecięcie serca i wykrwawienie. Materiał przeznaczony do badań morfologicznych utrwalano w temp. pokojowej w płynie Bakera i zatapiano w parafinie. Skrawki barwiono hematoksyliną i eozyną, fioletem krezyłu oraz wg metody Kanzer-Arendta oraz wg metody PAS. Materiał przeznaczony do badań enzymatycznych utrwalano w temp. 4°C przez 16 godz. również w płynie Bakera, skrawki cięto na mikrotomie mrozeniowym i oznaczano w nich aktywność następujących enzymów: pyrofosfatazy tiaminowej (TPPazy) — E.L.



2.5.1.3.\*, wg metody Novikoffa i Goldfischera (1961). Inkubacja w temp. pokojowej przez 30 min.: esterazy nieswoistej (NsE) — E.L.3.1.1.1., wg metody Nachlasy i Seligmanna (1949). Inkubacja w temp. 37°C przez 15 min.; acetylocholinesterazy (AChE) — E.L.3.1.1.7., wg metody Gerebtzoffa (1953). Inkubacja w temp. 37°C przez 120 dni; butyrylotiocholinoesterazy (BuTJ) — E.L.3.1.1.8., wg metody Gerebtzoffa (1953). Inkubacja w temp. 37°C przez 180 min.; fosfatazy zasadowej (FZ) — E.L.3.1.3.1., wg metody Gomoriego (1953). Inkubacja w temp. 37°C przez 30 min.; fosfatazy kwaśnej (FK) — E.L.3.1.3.2., wg metody Gomoriego. Inkubacja w temp. 37°C przez 50 min.: adenzynotrójfosfatazy (ATPazy) — E.L.3.6.1.3., wg metody Wachsteina i Meisela (1957). Inkubacja w temp. 37°C przez 45 min.

Grupę kontrolną stanowiło 6 szczurów, którym wprowadzano dożołądkowo po 2 ml wody destylowanej przez 10 kolejnych dni. Tok postępowania z materiałem kontrolnym był taki sam, jak w przypadku zwierząt doświadczalnych.

#### WYNIKI

##### *Zmiany morfologiczne*

W całym mózgowiu obserwuje się rozplam komórek glejowych, a zwłaszcza oligodendrocytów. Rozplam oligodendrogleju manifestuje się najwyraźniej w korze mózgowej i spoidle wielkim (ryc. 1). W innych okolicach mózgu rozrost oligodendrogleju widoczny jest również, ale głównie jako proces towarzyszący zmianom zwyrodnieniowym neurocytów. Sytuacja taka ma miejsce w niektórych jądrach wzgórza, w korze amonalnej i w moście. W jądrach kresomózgowia i w korze mózdzku rozrost oligodendrogleju jest

\* Numer międzynarodowej klasyfikacji enzymów (Florkin, Stotz 1973).

*Ryc. 1.* Spoidło wielkie. Rozrost oligodendrogleju, niektóre oligodendrocyty skupiają się po kilka w małe grupy. Fiolet krezyłu. Pow. 510×.

*Fig. 1.* Corpus callosum. Proliferation of oligodendrocytes. Some oligodendrocytes grouped in small clusters. Cresyl violet. ×510.

*Ryc. 2.* Okolica podwysięiółkowa komory bocznej. Umiarkowana glejoza włóknista. Met. Kanzler-Arendta. Pow. 510×.

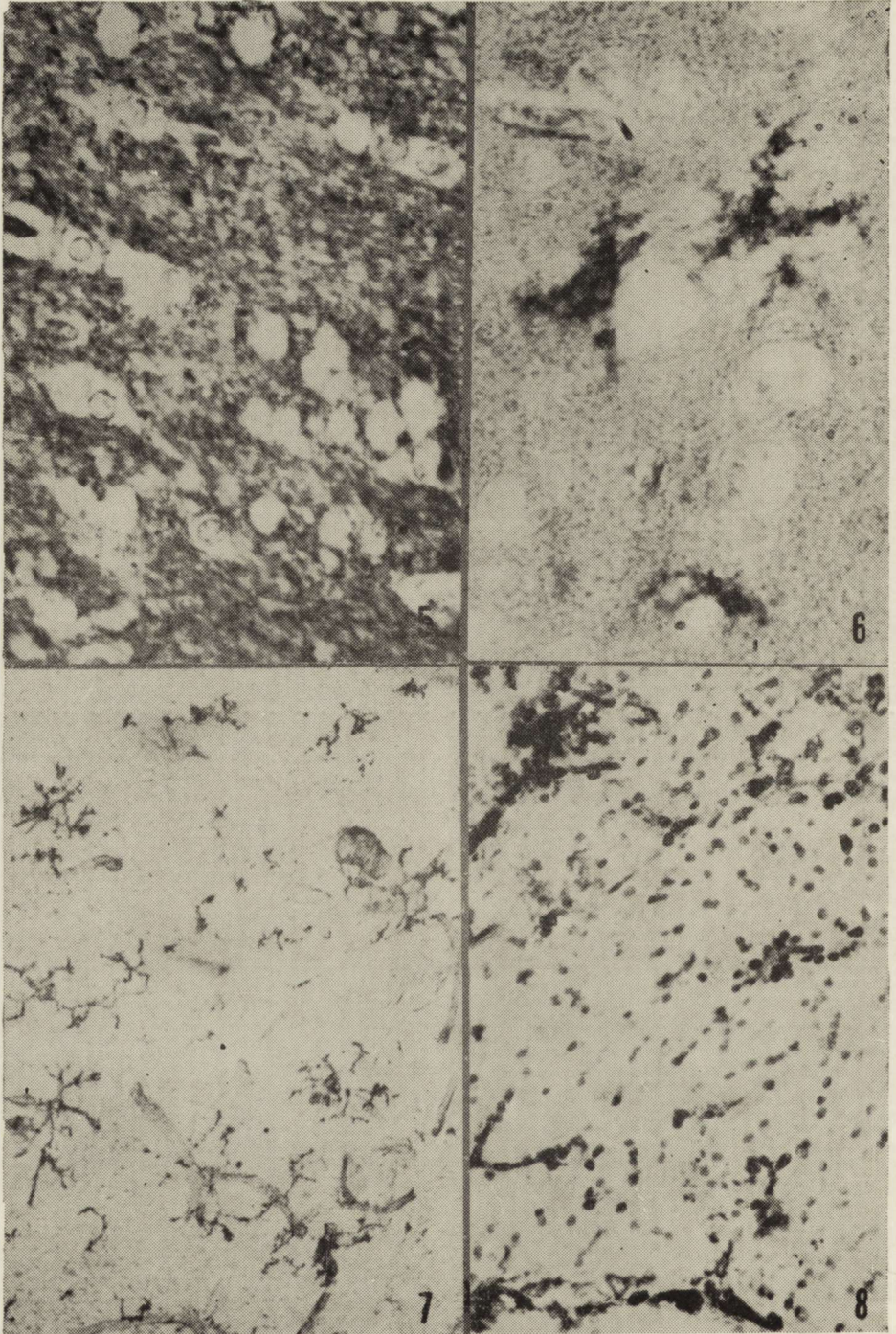
*Fig. 2.* Subependymal region of lateral ventricle. Moderate fibrous gliosis. Kanzler-Arendt. ×510.

*Ryc. 3.* Okolica podwysięiółkowa komory bocznej. Wyraźny rozplam gleju niezróżnicowanego. H-E. Pow. 510×.

*Fig. 3.* Subependymal region of lateral ventricle. Distinct proliferation of indifferiated glia. H-E. ×510.

*Ryc. 4.* Spoidło wielkie. Grupa doświadczalna. Odczyn PAS-dodatni w rozrastającym się oligodendrogleju. Pow. 760×.

*Fig. 4.* Corpus callosum. Experimental group. PAS-positive reaction in proliferating oligodendroglial cells. ×760.



niewielki. Obok rozplemu oligodendrocytów miejscami dochodzi do przerostu astrogleju. Najczęściej widuje się zmiany przerostowe astrocytów w moście i wzgórzu w postaci typowych gemistocytów. Jedynie pod wyściółką komór bocznych widoczna jest umiarkowana glejoza włóknista (ryc. 2). Komórki mikrogleju słabo reagują na zatrucie cynkotoxem, dochodzi jedynie do pojawiania się niewielkiej liczby komórek pałeczkowatych w korze mózgu i w jądrach kresomózgowia. W korze mózdzku zwraca uwagę intensywny rozrost gleju Bergmanna. Ponadto bardzo wyraźnie rozrasta się niezróżnicowany glej pod wyściółką komór bocznych (ryc. 3).

#### *Zmiany histochemiczne i histoenzymatyczne*

Reakcja PAS. Stwierdzone zmiany polegają głównie na pojawieniu się reakcji PAS w wielu oligodendrocytach (ryc. 4). Są to przeważnie komórki z pyknotycznym jądrem, znajdujące się w okresie poprzedzającym podział mitotyczny lub bezpośrednio po jego dokonaniu. Inne oligodendrocyty, zarówno w grupie doświadczalnej, jak i kontrolnej (ryc. 5) nie wykazują dodatniej reakcji PAS. W niektórych przerośniętych astrocytach protoplazmatycznych we wzgórzu i korze amonalnej pojawia się dość silny odczyn PAS (ryc. 6).

Pyrofosfataza tiaminowa (TPPaza). W grupie kontrolnej aktywność enzymatyczną TPPazy przejawiają tylko wypustki niektórych przynaczeniowo położonych astrocytów protoplazmatycznych. Pod wpływem zatrucia dochodzi do wzrostu aktywności TPPazy. Obserwuje się silny odczyn histoenzymatyczny w licznych, przynaczeniowo położonych astrocytach, zwłaszcza w prążkowi, spoidle wielkim (ryc. 7), moście i korze amonalnej. Aktywność enzymatyczna TPPazy pojawia się też w wielu oligodendrocytach, szczególnie w obrębie sklepienia (ryc. 8).

Esteraza nieswoista. (NsE). W porównaniu z grupą kontrolną dochodzi do wzrostu aktywności enzymatycznej w komórkach glejowych. Dodatni odczyn histochemiczny obserwuje się w licznych oligodendrocytach spoidła

*Ryc. 5.* Spoidło wielkie. Grupa kontrolna. Oligodendrocyty nie wykazują reakcji PAS. Pow. 760 ×.

*Fig. 5.* Corpus callosum. Control group. Absence of PAS reaction in oligodendrocytes. × 760.

*Ryc. 6.* Kora amonalna. Przerośnięte astrocyty PAS-dodatnie. Pow. 510 ×.

*Fig. 6.* Ammon's horn. PAS-positive hypertrophied astrocytes. × 760.

*Ryc. 7.* Spoidło wielkie. Aktywność TPPazy w gleju. Pow. 510 ×.

*Fig. 7.* Corpus callosum. TPP-ase activity in astroglia. × 510.

*Ryc. 8.* Sklepienie. Wyraźna aktywność TPPazy w oligodendrocytach i częściowo w ścianach naczyń krwionośnych. Pow. 240 ×.

*Fig. 8.* Fornix. Strong TPP-ase activity in oligodendrocytes and partly in blood vessel walls. × 240.

wielkiego, sklepienia oraz istoty białej mózdzku. Aktywność enzymatyczną wykazują również liczne astrocyty w rogu Ammona i moście, a także rozrastający się niezróżnicowany glej podwyściółkowy.

Acetylocholinesteraza (AChE). Nie obserwuje się aktywności enzymatycznej AChE w komórkach glejowych zarówno w mózgu szczurów kontrolnych jak i doświadczalnych.

Butyrylotiocholinoesteraza (BuTJ). Aktywność enzymatyczna występuje głównie w ścianach naczyń i w niektórych neurocytach jąder wzgórza. Komórki glejowe w grupie kontrolnej i w grupie doświadczalnej nie wykazują aktywności BuTJ.

Fosfataza zasadowa (FZ). Komórki glejowe w warunkach prawidłowych i po zatruciu nie wykazują odczynu histochemicznego, ujawniającego aktywność FZ.

Fosfataza kwaśna (FK). Po zatruciu cynkotoxem dochodzi do niewielkiego wzrostu odczynu wykazującego aktywność enzymatyczną FK w neurogleju. Wzrasta odczyn enzymatyczny w niektórych oligodendrocytach sklepienia, pojawia się w wielu komórkach glejowych w moście oraz w rozrastającym się gleju Bergmanna w korze mózdzku. Niewielki dyfuzyjny odczyn histochemiczny daje się zauważyć także w niezróżnicowanym gleju podwyściółkowym.

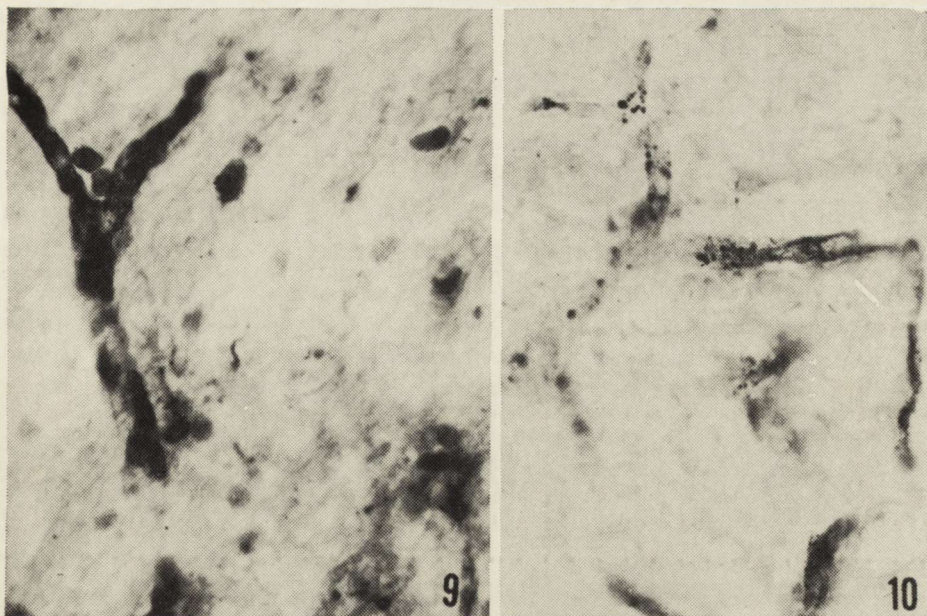
Adenozynotrójfosfataza (ATPaza). W grupie kontrolnej aktywność enzymatyczną ATPazy obserwuje się w licznych przynaczyniowych wypustkach astrocytów protoplazmatycznych (ryc. 9), zwłaszcza we wzgórzu i w korze amonalnej. Pod wpływem zatrucia dochodzi do spadku aktywności enzymatycznej ATPazy w neurogleju (ryc. 10). Tylko gdzieś obserwuje się słaby odczyn histochemiczny w niektórych przynaczyniowo położonych astrocytach.

#### OMÓWIENIE

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że stosowanie wysokich dawek cynkotoxu prowadzi do rozrostu oligodendrogleju oraz częściowo niezróżnicowanego gleju podwyściółkowego, a także do przerostu niektórych astrocytów protoplazmatycznych. Procesom tym towarzyszy szereg zmian aktywności enzymatycznej fosfataz i esteraz.

Na podstawie dotychczasowych obserwacji interpretacja tych zmian jest trudna. Znany jest fakt dużej roli cynku i jego soli w metabolizmie organizmu (Szmigielski, Litwin 1964). Związki cynku występują również w ośrodkowym układzie nerwowym. Szczególnie dużo tego pierwiastka zawiera kora amonalna (Fleischhauer, Horstmann 1957; Fjerdningstad i wsp. 1977). Jony cynku zawarte w podawanym szczurom cynkotoxie mogą być inhibitorem lub aktywatorem wielu enzymów, mogą też wypierać inne metale ciężkie z ich ważnych biologicznie połączeń z białkami.





Ryc. 9. Wzgórze. Grupa kontrolna. Słaba aktywność ATPazy w gleju przynaczyniowym oraz odczyn na ATPazę w ścianie naczynia. Pow. 510×.

Fig. 9. Thalamus. Experimental group. Weak ATP-ase activity in perivascular glia and in a vessel wall. × 510.

Ryc. 10. Wzgórze. Grupa doświadczalna. Spadek aktywności ATPazy w astrogleju i w ścianach naczyń. Pow. 510×.

Fig. 10. Thalamus. Experimental group. Decreased ATP-ase activity in astroglia and in vascular walls. × 510.

Penetracja jonów cynku do mózgu może być ułatwiona dzięki uszkodzeniu śródbłonek naczyń włosowatych, którego obecność wykazano w innych badaniach z tego samego cyklu (Kozik 1980; Kozik i wsp. 1980). Patologiczne działanie podawanych w nadmiarze związków cynku może być również potęgowane zaburzeniami w ukrwieniu mózgu, związanymi z tendencją do nadkrzepliwości krwi podczas zatrucia związkami cynku (Guja 1977).

We wszystkich skrawkach obserwowano rozplem komórek gleju niezróżnicowanego. Być może jest to spowodowane stymulującym wpływem cynkotoxu lub produktów jego rozpadu na podziały mitotyczne mało zróżnicowanych komórek glejowych. Warto tu wspomnieć, że produkty metabolizmu cynkotoxu, takie jak np. etylenotiomocznik, mogą być substancjami karcinogennymi (Kozik 1980).

Wzrost aktywności FK i NsE związany jest prawdopodobnie z czynnością lizosomalną. Enzymy te są bowiem biochemicznymi markerami tych struktur (Wachstein i wsp. 1961).

Wzrost aktywności TPPazy przemawia za uszkodzeniem aparatu Golgiego i występuje również w innych procesach patologicznych, np. w schorzeniu przewlekłym neuronu (Kozik 1969).

Spadek aktywności ATPazy w przynaczyniowych wypustkach astrocytów może być wykładnikiem upośledzenia transportu naczyniowo-mózgowego.

Wyraźnie widoczne w licznych komórkach glejowych złogi substancji PAS-dodatnich nie są odczynem swoistym. Do wzrostu zawartości substancji PAS w neurocytach i komórkach glejowych dochodzi w wielu stanach patologicznych spowodowanych przez różne czynniki takie między innymi, jak niedotlenienie, niedokrwienie, zatrucia, urazy, promieniowanie i inne (Mossakowski, Zelman 1979).

#### WNIOSKI

1. Dożołądkowe podawanie wysokich dawek cynkotoxu prowadzi do uogólnionych zmian rozplemowych neurogleju. Zjawisko to dotyczy zwłaszcza oligodendrogleju, a w mniejszym stopniu niezróżnicowanego gleju podwyściółkowego.

2. Obserwuje się topograficzne różnice w nasileniu patologicznych zmian glejowych. Szczególnie wyraźne są one we wzgórzu, moście i rogu Ammona oraz w spoidle wielkim.

3. Zatrucie cynkotoxem powoduje niewielki wzrost aktywności enzymatycznej TPPazy, FK i NsE w neurogleju oraz spadek aktywności enzymatycznej ATPazy w astrocytach protoplazmatycznych.

A. Godlewski

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОГЛИИ В МОЗГЕ КРЫСЫ, ВЫЗВАННЫЕ БОЛЬШИМИ ДОЗАМИ ЦИНКОТОКСА

#### Резюме

Проводились исследования влияния больших доз цинкотокса на морфологическую картину и энзиматическую активность некоторых фосфатаз и эстераз в нейроглии мозга крысы. Опыты ставились на 18 крысах породы Вистар, которым вводили в желудок в течение 10 очередных дней по 1 г цинкотокса.

Проведенные опыты обнаружили: гиперплазию олигодендроглии и недифференцированной субэпендимальной глии, гипертрофию протоплазматической астроглии, а также повышение активности ТФФазы, FK и НЭ в этих клетках с одновременным снижением активности АТФ-азы. Описана также топографическая разница выраженности и характера пролиферации нейроглии.

A. Godlewski

## MORPHOLOGICAL AND HISTOENZYMATIC CHANGES IN RAT BRAIN NEUROGLIA FOLLOWING HIGH DOSES OF „CYNKOTOX”

## Summary

The studies dealt with the effect of high doses of „Cynkotox” on the morphological picture and the activities of a number of phosphatases and esterases in rat brain neuroglia. The experiments were performed on 18 Wistar rats which were given intragastrically 1 g doses of „Cynkotox” during 10 consecutive days. The observations included proliferation of oligodendroglia and non-differentiated subependymal glia, hypertrophy of protoplasmic astroglia and increased TPP-ase, acid phosphatase and non-specific esterase activities in these cells, with a concomitant decrease of ATP-ase activity. The proliferative changes of neuroglia differed topographically both in their character and intensity.

## PIŚMIENNICTWO

1. Fjerdingstad E., Danscher G., Fjerdingstad E. J.: Changes in zinc and lead content of rat hippocampus and whole brain following intravital dithizone treatment as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. *Brain. Res.* 1977, 130, 369—373.
2. Fleischhauer K., Horstmann E.: Intravitale Dithizonfärbung Homologer Felder der Ammonsformation von Säugern. *Zeitschr. Zellforsch.* 1957, 46, 598—609.
3. Florin M., Stotz E. H.: Enzyme nomenclature. W: *Comprehensive Biochemistry*, t. 13, Elsevier, Amsterdam 1973.
4. Gerebtzoff M.: Recherches histochimiques sur les acetylcholine et choline esterases. *Acta Anat. (Basel)* 1953, 19, 366—379.
5. Gomori G.: *Microscopic histochemistry*. Univ. Press, Chicago 1953.
6. Guja A.: Urokinaza w moczu i aktywność fibrynolityczna krwi w doświadczalnym zatruciu cynkiem. *Pat. Pol.* 1977, 28, 201—209.
7. Kozik M.: Cytochemistry of chronic Nissl disease. *Acta Med. Pol.* 1969, 10, 401—403.
8. Kozik M. B.: Morfologia mikroskopowo-światlna i ultrastrukturalna mózgu w zatruciu chlorkiem cynku. *Neuropat. Pol.* 1980, 18, 431—445.
9. Kozik M. B.: The activity of some hydrolytic enzymes in the brain after administration of Cynkotox. *Acta neuropath. (Berl.) Suppl. VII* — in press.
10. Kozik M. B., Maziarz L., Godlewski A.: Morphological and histochemical changes occurring in the brain of rats fed large doses of zinc oxide. *Folia Histochem. Cytochem.* 1980, 18, 201—206.
11. Mossakowski M. J., Zelman I. B.: Glycogen deposition as an indicator of glucose metabolism disturbances in the brain due to various damaging factors. *Neuropat. Pol.* 1979, 17, 85—96.
12. Nachlas M., Seigmann A.: The histochemical demonstration of esterase. *J. Nat. Cancer Inst.* 1949, 9, 415—425.
13. Novikoff A., Goldfischer B. S.: Nucleoside diphosphatase activity in the Golgi apparatus and its usefulness for cytological studies. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1961, 9, 47—61.
14. Rusiecki W.: *Toksykologia środków ochrony roślin*. PZW, Warszawa 1973.

15. Szmigielski S., Litwin J.: Cynk w fizjologii i patologii człowieka. *Post. Hig. Med. Dośw.* 1964, 18, 613—635.
16. Wachstein M., Meisel E.: Histochemistry of hepatic phosphatases of a physiologic pH with special reference to the demonstration of bile canaliculi. *Amer. J. Clin. Path.* 1957, 27, 13—23.
17. Wachstein N., Meisel E., Falcon C.: Histochemistry of thiolacetic acid esterase: comparison with non-specific esterase with special regard to the effect of fixatives and inhibitors on intracellular localization. *J. Histochem. Cytochem.* 1961, 9, 325—339.

Adres autora: Zakład Neuropatologii AM, ul. Przybyszewskiego 49, 60—355 Poznań.

MAREK PIETRZAK

## WPLYW DŁUGOTRWAŁEGO PODAWANIA $ZnCl_2$ NA NEUROSEKRECJĘ UKŁADU PODWZGÓRZOWO-PRZYSADKOWEGO

Zakład Neuropatologii AM, Poznań  
Kierownik: prof. dr M. B. Kozik

Jony cynku ( $Zn^{++}$ ) pełnią ważną rolę w rozwoju i funkcji ośrodkowego układu nerwowego. Z opisów skutków niedoboru, a także nadmiernej podaży tego pierwiastka wynika, że mogą one spowodować zmiany patologiczne w różnych częściach mózgowia (Buell i wsp. 1977; Kozik 1979).

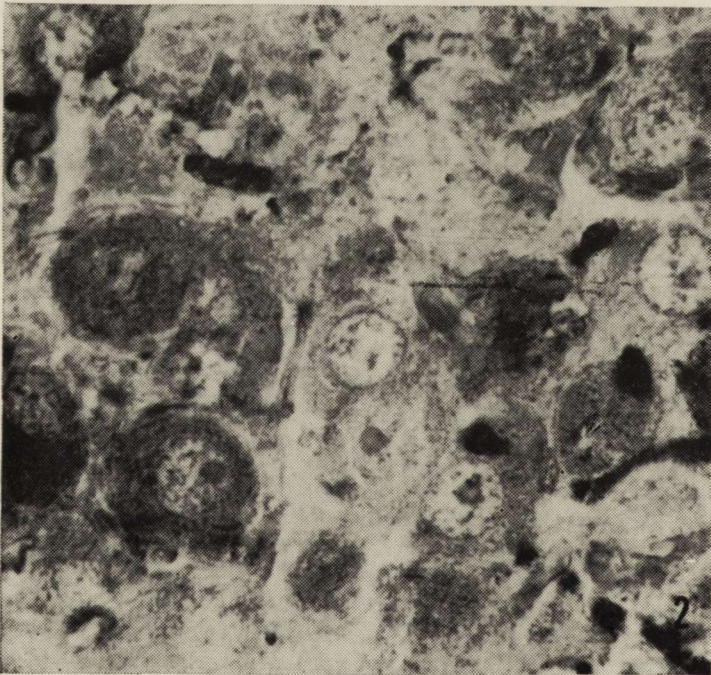
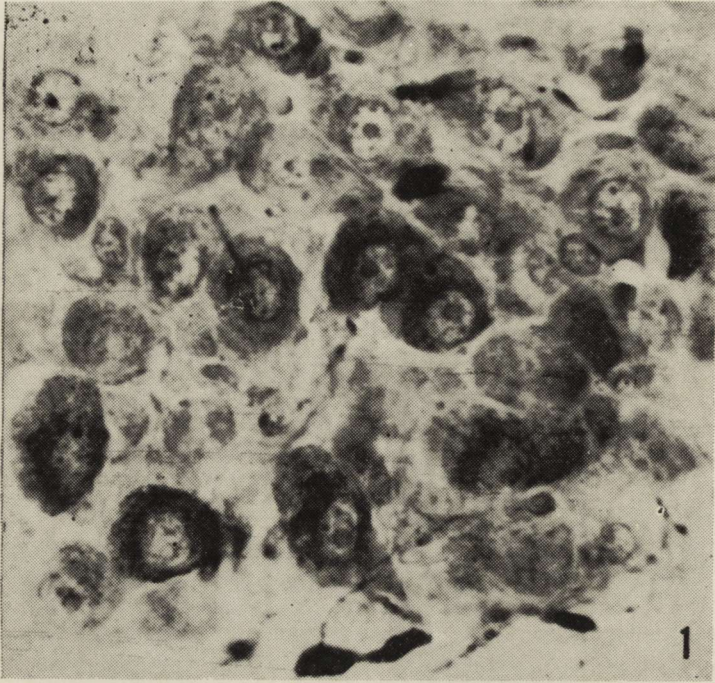
Jądra neurosekrecyjne podwzgórza stanowią integralną część centralnego układu nerwowego o wyspecjalizowanej funkcji wydzielania dokrewnego. Ze względu na brak w dostępnym piśmiennictwie opisu zmian w tych ważnych dla ustroju ośrodkach pod wpływem niedoboru lub nadmiaru jonów cynkowych, postanowiono zbadać wpływ przewlekłego podawania  $ZnCl_2$  na morfologię jąder nadwzrokowych i przykomorowych podwzgórza oraz części nerwowej przysadki mózgowej.

### MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 4 dojrzałych płciowo szczurach rasy Wistar, którym podawano dożołądkowo, za pomocą odpowiedniej sondy, przez 21 dni po 50 mg  $ZnCl_2$  w roztworze wodnym. Grupę kontrolną stanowiły 4 szczury, którym zamiast chlorku cynku podawano dożołądkowo po 1 ml wody destylowanej.

Po przeprowadzonym doświadczeniu zwierzęta obu grup uśmiercano przez przecięcie serca i wykrwawienie w narkozie eterowej. Pobierano mózgowia i przysadki mózgowe, które utrwalano w płynie Zenkera z 10% dodatkiem formaliny przez 1 godz., a następnie w płynie Zenkera przez 24 godz. Skrawki parafinowe grubości 7  $\mu m$  barwiono hematoksyliną chromową wg Gomoriego oraz fioletem krezylu. Wykonywano również reakcję PAS wg Mc Manus Hotchkissa.

Przedmiotem oceny histopatologicznej były jądra nadwzrokowe i przykomorowe podwzgórza oraz część nerwowa przysadki mózgowej. Dokonano



również pomiarów morfometrycznych powierzchni przekroju komórek i jąder komórkowych w jądrach nadwzrokowych i przykomorowych. Posłużono się

w tym celu wzorem  $\pi \frac{a \cdot b}{4}$ , gdzie a i b oznaczają dwie prostopadłe średnice.

Pomiarów tych dokonano w środkowych częściach jąder nadwzrokowych i przykomorowych. Średnie wyniki grupy doświadczalnej i kontrolnej oceniono statystycznie.

#### WYNIKI

##### Barwienie metodą Gomoriego

##### *Grupa kontrolna*

Cytoplazma neuronów jądra nadwzrokowego zawiera na ogół umiarkowane ilości substancji barwiących się metodą Gomoriego (ryc. 1). Zwraca jednak uwagę nierównomierne rozmieszczenie neurosekretu w poszczególnych neurocytach. Obok komórek, zawierających znikome ilości neurosekretu lub nie zawierających go wcale, widoczne są neurony, barwiące się intensywnie hematoksyliną chromową. W tych ostatnich, drobne ziarenka neurosekretu wypełniają równomiernie całą cytoplazmę lub układają się na obwodzie perikarionu w postaci półksiężycowatych pasm lub pierścieni. Nieco więcej substancji Gomoriego zawierają aksony komórek jądra nadwzrokowego, biegnące w drodze nadwzrokowo-przysadkowej. Neurosekret skupia się w nich w różnej wielkości pasma, grudki, a niekiedy w duże konglomeraty i tzw. kule Herringa.

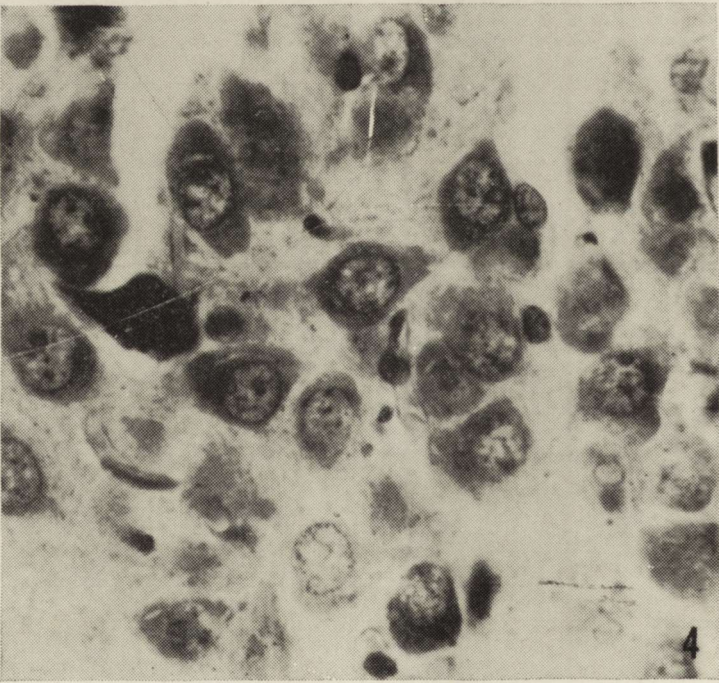
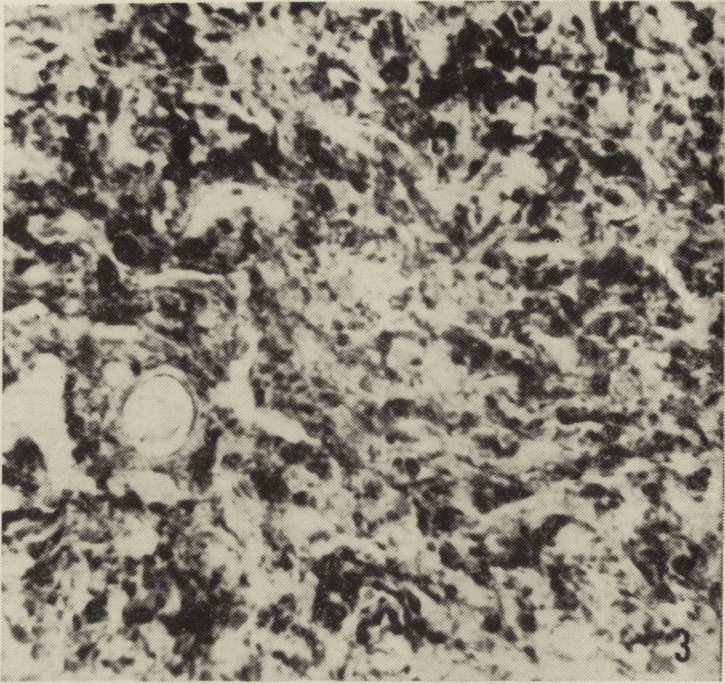
Neurocyty jądra przykomorowego zawierają również niewiele substancji barwiących się hematoksyliną chromową. Charakterystyczne jest duże zróżnicowanie zawartości neurosekretu w poszczególnych neuronach (ryc. 2). Spostrzega się zarówno komórki zawierające znikome ilości substancji Gomoriego, rozmieszczone na obwodzie cytoplazmy, jak i nieliczne komórki, w których drobne ziarenka neurosekretu wypełniają cały obszar perikarionu. Wypustki neuronów jądra przykomorowego zawierają różnej wielkości grudki, kule i pasemka neurosekretu.

*Ryc. 1.* Jądro nadwzrokowe. Grupa kontrolna. Umiarkowana zawartość ziaren neurosekrecyjnych w perikarionie i w wypustkach neuronalnych. Met. Gomoriego. Pow. 900×.

*Fig. 1.* Supraoptic nucleus. Control group. Moderate amount of neurosecretory granules in perikaryon and neuronal processes. Gomori. ×900.

*Ryc. 2.* Jądro przykomorowe. Grupa kontrolna. Zróżnicowana zawartość neurosekretu w cytoplazmie poszczególnych neuronów. Widoczna obecność neurosekretu w wypustkach aksonalnych. Met. Gomoriego. Pow. 1000×.

*Fig. 2.* Paraventricular nucleus. Control group. Varying amounts of neurosecret in cytoplasm of particular neurons. Neurosecret in axonal processes. Gomori. ×1000.





W nerwowej części przysadki widoczne są różnej wielkości ziarna, grudki i kule neurosekretu skupione na ogół wokół drobnych naczyń krwionośnych (ryc. 3).

#### *Grupa doświadczalna*

W wyniku 21-dniowego zatruwania chlorkiem cynku, w większości komórek jądra nadwzrokowego stwierdza się wyraźnie zwiększoną zawartość substancji Gomoriego. Cytoplazma wielu neuronów jest całkowicie wypełniona ziarnistościami intensywnie barwiącymi się hematoksyliną chromową (ryc. 4). Jednak obok takich komórek, zawierających bardzo dużo neurosekretu, widoczne są również komórki mniej liczne, w których neurosekret występuje w umiarkowanej ilości i skupia się na obwodzie perikarionu lub jest rozproszony w postaci „pyłku” w całej cytoplazmie oraz komórki całkowicie pozbawione substancji Gomoriego (ryc. 4). Wypustki neuronalne również zawierają więcej złogów neurosekretu niż w preparatach z grupy kontrolnej. Szczególnie w początkowym odcinku drogi nadwzrokowo-przysadkowej widoczne są liczne grudki, kule i pasma neurosekretu wyznaczające przebieg aksonów.

W cytoplazmie neurocytów jądra przykomorowego zawartość substancji Gomoriego jest również wyraźnie większa, w porównaniu z grupą kontrolną. Podobnie jak w jądrze nadwzrokowym ilości ziarenek neurosekretu, występujące w poszczególnych komórkach są bardzo zróżnicowane (ryc. 5). Większość neurocytów zawiera jednak duże ilości neurosekretu rozproszonego równomiernie w całej cytoplazmie, niekiedy z zagęszczeniami na obwodzie perikarionu. Przebiegające między komórkami jądra przykomorowego wypustki neuronów zawierają również dużo neurosekretu, wypełniającego niekiedy dłuższe ich odcinki lub układającego się w różnej wielkości grudki i kule (ryc. 5).

Aksony kończące się w tylnym płacie przysadki mózgowej zawierają bardzo dużo złogów neurosekretu. Cała część nerwowa przysadki wypełniona jest równomiernie różnej wielkości grudkami i kulami neurosekretu, zlewającymi się często w duże konglomeraty (ryc. 6).

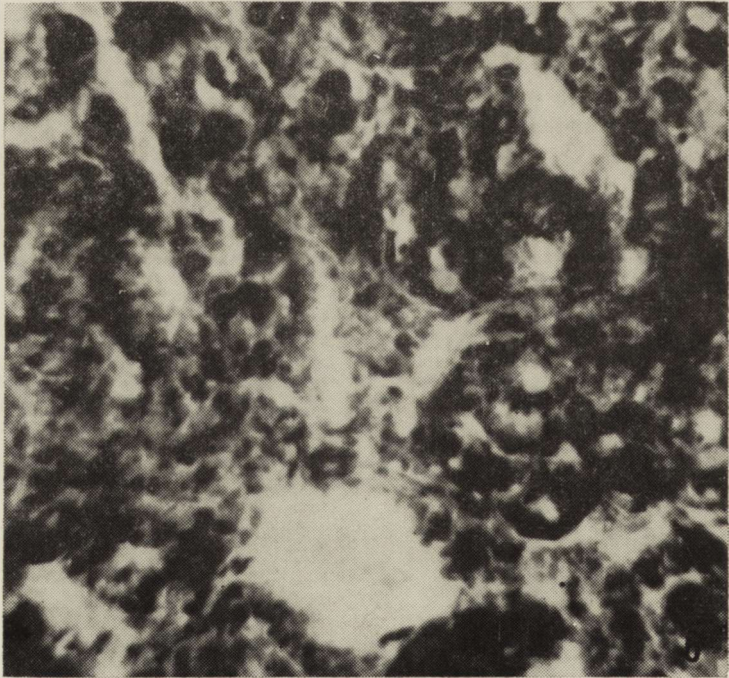
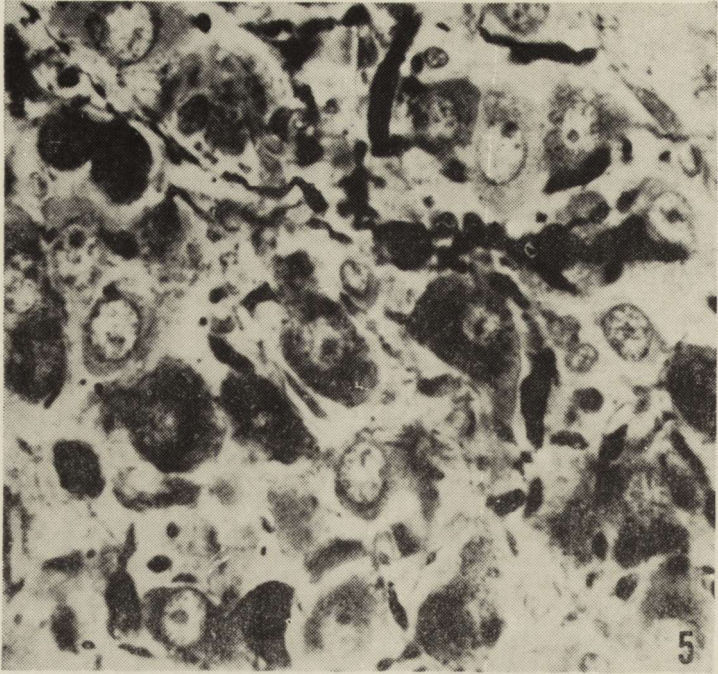
---

*Ryc. 3.* Część nerwowa przysadki. Grupa kontrolna. Różnej wielkości ziarna, grudki i kule neurosekretu. Met. Gomoriego. Pow. 600×.

*Fig. 3.* Neurohypophysis. Control group. Granules, grains and balls of neurosecret of different size. Gomori. ×600.

*Ryc. 4.* Jądro nadwzrokowe. Grupa doświadczalna. Nagromadzenie ziaren neurosekrecyjnych w cytoplazmie wielu neuronów. Met. Gomoriego. Pow. 900×.

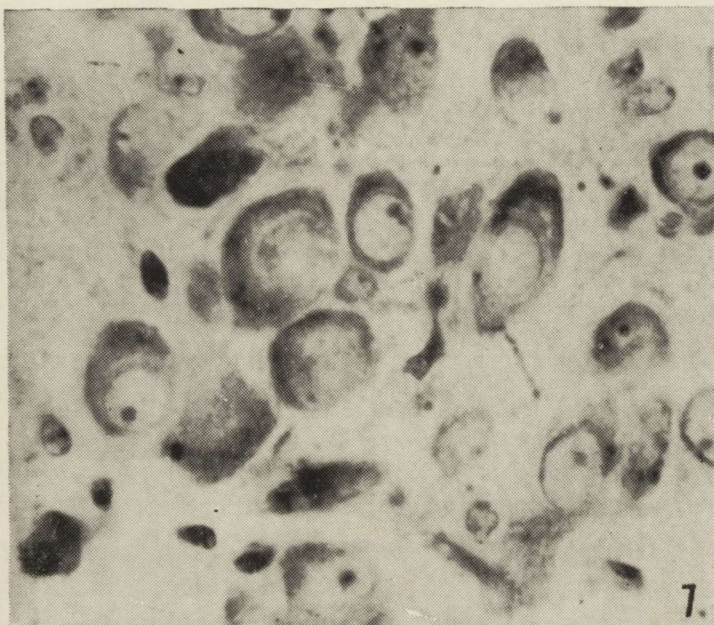
*Fig. 4.* Supraoptic nucleus. Experimental group. Accumulation of neurosecretory granules in cytoplasm of numerous neurons. Gomori. ×900.



## Barwienie fioletem krezyłu

*Grupa kontrolna*

W cytoplazmie neurocytów jądra nadwzrokowego i przykomorowego substancja Nissla układa się na ogół na obwodzie perikarionu, z pozostawieniem wolnej przestrzeni wokół jądra komórkowego (ryc. 7). Jąderko i przylegające do niego substancje przyjąderkowe barwią się intensywnie.



*Ryc. 7.* Jądro przykomorowe. Grupa kontrolna. Obwodowe rozmieszczenie homogennej substancji Nissla. Fiolet krezyłu. Pow. 1000 ×.

*Fig. 7.* Paraventricular nucleus. Control group. Peripheral location of homogeneous Nissl substance. Cresyl violet. ×1000.

*Grupa doświadczalna*

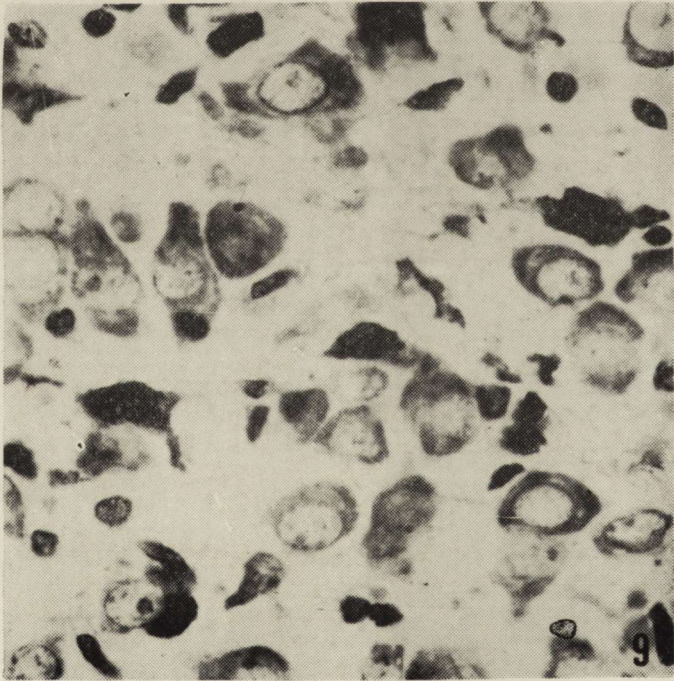
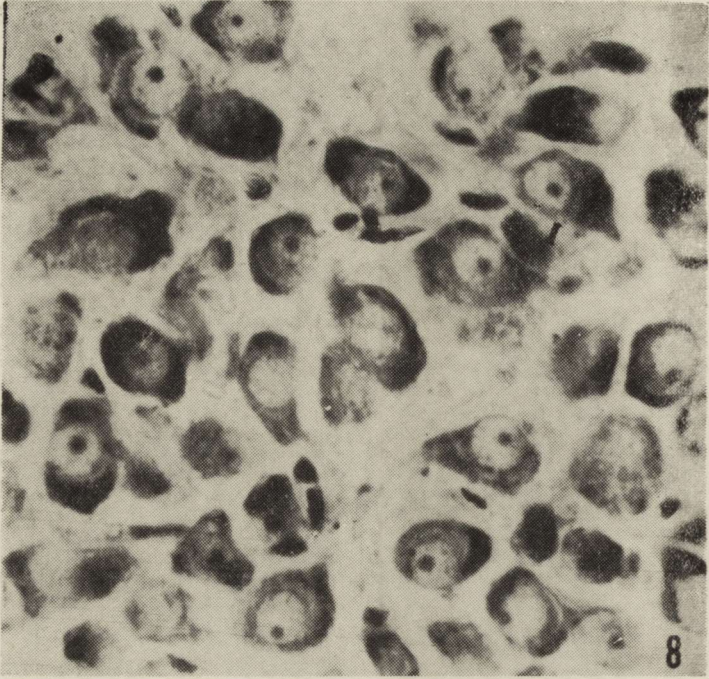
21-dniowe podawanie szczurom chlorku cynku prowadzi do zwiększenia zawartości substancji Nissla w cytoplazmie neuronów obu badanych jąder podwzgórza.

*Ryc. 5.* Jądro przykomorowe. Grupa doświadczalna. Wyraźny wzrost zawartości neurosekreту zarówno w perikarionie, jak i w wypustkach. Met. Gomoriego. Pow. 1000 ×.

*Fig. 5.* Paraventricular nucleus. Experimental group. Markedly increased number of neurosecret both in perikaryon and processes. Gomori. ×1000.

*Ryc. 6.* Część nerwowa przysadki. Grupa doświadczalna. Bardzo duże nagromadzenie neurosekreту. Met. Gomoriego. Pow. 600 ×.

*Fig. 6.* Neurohypophysis. Experimental group. Abundance of neurosecret. Gomori. ×600.



W komórkach jądra nadwzrokowego wzrost zawartości tigroidu jest umiarkowany i przejawia się nieco intensywniejszym zabarwieniem obwodowych części cytoplazmy oraz nieznacznym zmniejszeniem obszaru wokół jądra komórkowego, pozbawionego tigroidu.

Natomiast w jądrze przykomorowym cytoplazma większości neuronów barwi się bardzo intensywnie (ryc. 8). Substancja Nissla zajmuje prawie cały obszar perikarionu, z wyjątkiem wąskiego rąbka cytoplazmy wokół jądra komórkowego. W niektórych preparatach widoczne są zmiany degeneracyjne w neuronach jądra przykomorowego w postaci schorzenia przewlekłego Nissla (ryc. 9).

## Reakcja PAS

### *Grupa kontrolna*

W cytoplazmie neuronów jądra nadwzrokowego niewielkie ilości drobnych ziarnistości PAS-dodatnich widoczne są w bezpośrednim sąsiedztwie jądra komórkowego na obszarze pozbawionym na ogół substancji Nissla i neurosekretu (ryc. 10). Niekiedy słaba reakcja PAS widoczna jest również w jąderku i substancjach przyjąderkowych. Natomiast w wypustkach neuronalnych reakcja PAS jest dodatnia w tych miejscach, w których metodą Gomoriego wykazano obecność neurosekretu. Intensywny odczyn PAS stwierdza się w ścianach naczyń krwionośnych (ryc. 10).

Komórki jądra przykomorowego zawierają nieco więcej ziarnistości PAS-dodatnich niż w jądrze nadwzrokowym. Ziarnistości te skupione są również w pobliżu jądra komórkowego. W wypustkach neurocytów jądra przykomorowego widoczna jest dodatnia reakcja PAS, w tych miejscach, w których metodą Gomoriego wykazano obecność neurosekretu.

W nerwowej części przysadki reakcja PAS występuje również w obrębie neurosekretu.

### *Grupa doświadczalna*

W większości neuronów jądra nadwzrokowego reakcja PAS jest intensywniejsza niż u szczurów z grupy kontrolnej. Ziarnistości PAS-dodatnie skupione są na ogół w pobliżu jądra komórkowego (ryc. 11). Częściej jednak niż u zwierząt kontrolnych, widoczna jest dyfuzyjna reakcja PAS, obejmująca cały

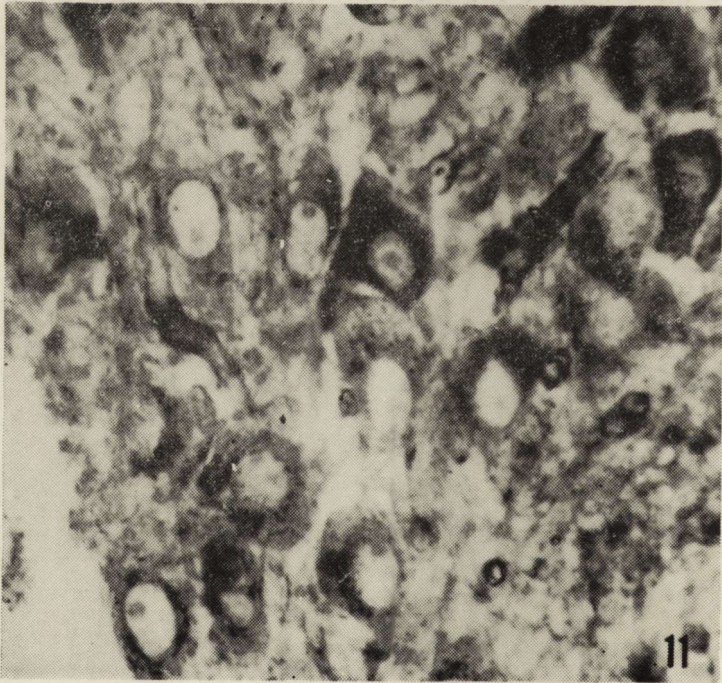
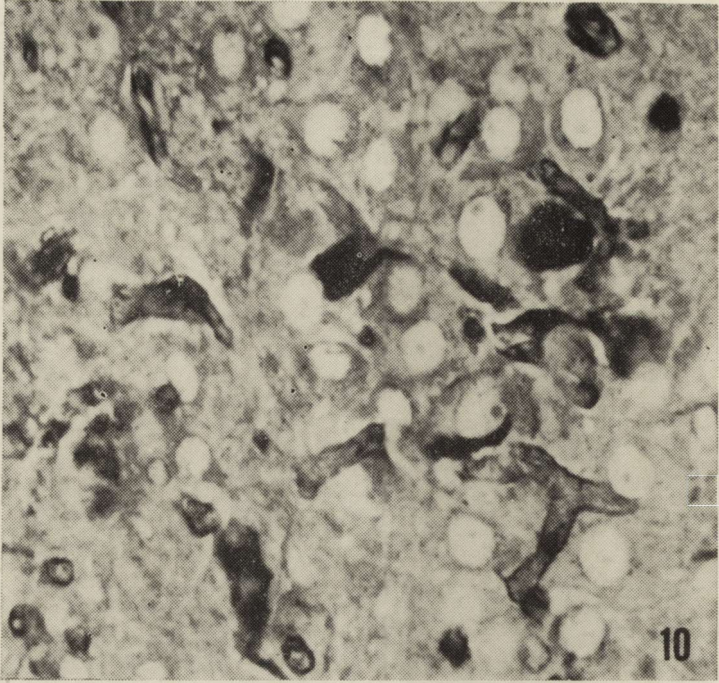
---

*Ryc. 8.* Jądro przykomorowe. Grupa doświadczalna. W większości komórek nerwowych widać znaczny wzrost zawartości substancji Nissla. Fiolet krezyłu. Pow. 1000×.

*Fig. 8.* Paraventricular nucleus. Experimental group. Increased amount of Nissl substance in most nerve cells. Cresyl violet. ×1000.

*Ryc. 9.* Jądro przykomorowe. Grupa doświadczalna. Intensywnie barwiące się obkurczone neurocyty oraz rozrost neurogleju. Fiolet krezyłu. Pow. 1000×.

*Fig. 9.* Paraventricular nucleus. Experimental group. Intensively stained shrunken neurons and proliferation of neuroglia. Cresyl violet. ×1000.



obszar perikarionu. Tylko nieliczne neurocyty wykazują całkowity brak ziarnistości PAS. Również w wypustkach stwierdza się więcej złożeń reagujących dodatnio z odczynnikiem Schiffa.

Zawartość substancji PAS-dodatnich w neuronach jądra przykomorowego ulega także zwiększeniu po 21-dniowym podawaniu  $ZnCl_2$ . Zwraca uwagę występowanie w większej liczbie komórek pozytywnej reakcji Mc Manus Hotchkissa na całym obszarze cytoplazmy. Rzadziej obserwuje się skupienia ziarnistości PAS-dodatnich wokół jądra komórkowego. W wypustkach neuronalnych na terenie jądra przykomorowego stwierdza się intensywny odczyn PAS w tych miejscach, w których barwieniem metodą Gomoriego wykazano obecność neurosekreту.

W nerwowej części przysadki obserwuje się wyraźne nagromadzenie substancji PAS-dodatnich (ryc. 12), równoległe do wzrostu zawartości złożeń neurosekreту.

#### Pomiary morfometryczne

W grupie kontrolnej wykonano 206 pomiarów powierzchni przekroju neurocytów i jąder komórkowych jądra nadwzrokowego oraz 213 pomiarów w jądrze przykomorowym. W grupie doświadczalnej liczba pomiarów powierzchni przekroju komórek i jąder komórkowych wynosiła w jądrze nadwzrokowym 170, a w jądrze przykomorowym 237. Wyniki pomiarów i opracowań statystycznych obu grup przedstawiono w tabelach 1 i 2.

Przeprowadzone pomiary wykazały, że 21-dniowe zatrucie szczurów  $ZnCl_2$  powoduje znaczne zmniejszenie komórek i jąder komórkowych, zarówno w jądrze nadwzrokowym, jak i w jądrze przykomorowym.

#### OMÓWIENIE

Długotrwałe podawanie szczurom  $ZnCl_2$  prowadzi do zwiększenia zawartości neurosekreту w perikarionach jądra nadwzrokowego i przykomorowego oraz w ich wypustkach, biegnących do tylnego płata przysadki. Obserwacje te nie pozwalają jednak na wyciągnięcie jednoznacznych wniosków o nasileniu czynności wydzielniczej neuronów jąder neurosekrecyjnych podwzgórza,

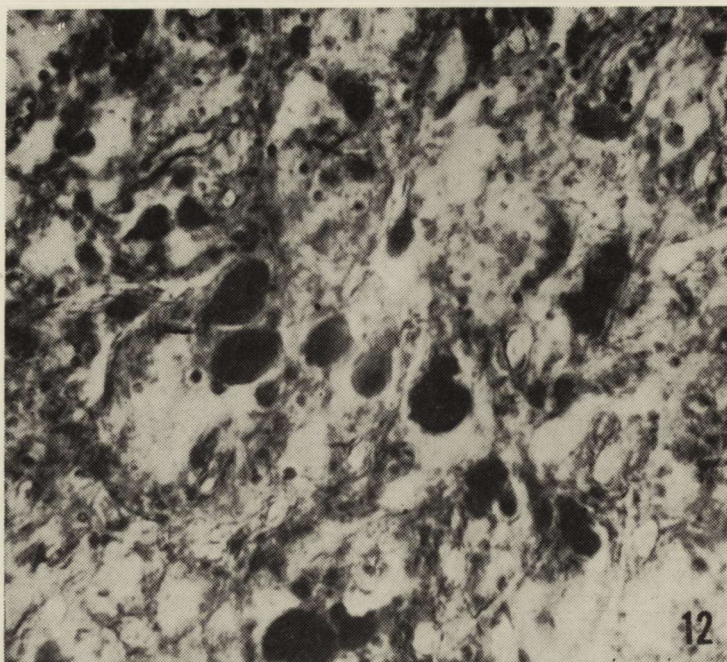
---

*Ryc. 10.* Jądro nadwzrokowe. Grupa kontrolna. Niewielkie ilości drobnych ziaren PAS w cytoplazmie pojedynczych neuronów oraz intensywna reakcja PAS w ścianach naczyń krwionośnych. Pow. 1000 ×.

*Fig. 10.* Supraoptic nucleus. Control group. Small amounts of fine PAS granules in cytoplasm of several neurons and intensive PAS reaction in vascular walls. ×1000.

*Ryc. 11.* Jądro nadwzrokowe. Grupa doświadczalna. W przeważającej liczbie komórek intensywny odczyn PAS w cytoplazmie. Pow. 1000 ×.

*Fig. 11.* Supraoptic nucleus. Experimental group. In most cells intensive cytoplasmic PAS reaction. ×1000.



Ryc. 12. Część nerwowa przysadki. Grupa doświadczalna. Nagromadzenie substancji PAS-dodatnich w postaci różnej wielkości ziaren, grudek i kropli. Pow. 600×.

Fig. 12. Neurohypophysis. Experimental group. Accumulation of PAS-positive substances in the form of granules, grains and drops of different size. × 600.

Tabela 1. Pomiary powierzchni przekroju komórek i jąder komórkowych jądra nadwzrokowego  
Table 1. Measurements of surface areas of cells and cell nuclei of supraoptic nucleus

Dane statystyczne Statistical data	Komórki Cells		Jądra komórkowe Cell nuclei	
	Grupa kontrol. Control group	Grupa doświadcz. Experim. group	Grupa kontrol. Control group	Grupa doświadcz. Experim. group
Liczba pomiarów Number of measurements	206	170	206	170
Średnia arytmetyczna $m$ ( $\mu\text{m}^2$ ) Arithmetic mean	217,87	160,41	63,63	50,55
Błąd standardowy średniej $\delta$ Standard error of the mean	4,81	3,46	1,33	0,88
Różnica średnich arytmetycznych $\Delta m$ Difference of arithmetic means		57,46		13,08
Błąd standardowy różnicy średnich $\delta\Delta m$ Standard error of the difference of the means		5,92		1,59
Prawdopodobieństwo $p$ Probability		0,01		0,01



Tabela 2. Pomiary powierzchni przekroju komórek i jąder komórkowych jądra przykomorowego  
 Table 2. Measurements of surface areas of cells and cell nuclei of paraventricular nucleus

Dane statystyczne Statistical data	Komórki Cells		Jądra komórkowe Cell nuclei	
	Grupa kontrol. Control group	Grupa doświadcz. Experim. group	Grupa kontrol. Control group	Grupa doświadcz. Experim. group
Liczba pomiarów Number of measurements	213	237	213	237
Średnia arytmetyczna $m(\mu\text{m}^2)$ Arithmetic mean	187,39	145,31	67,31	51,11
Błąd standardowy średniej $\delta$ Standard error of the mean	3,71	0,97	0,97	0,62
Różnica średnich arytmetycznych Difference of arithmetic means $\Delta m$		42,08		16,20
Błąd standardowy różnicy średnich $\delta\Delta m$ Standard error of the difference of the means		3,83		1,15
Prawdopodobieństwo $p$ Probability		0,01		0,01

ponieważ, jak wynika z wcześniejszych doniesień (Miętkiewski, Kozik 1961; Miętkiewski i wsp. 1974), stan taki może być wynikiem zarówno zwiększonej sekrecji neurowydzieliny, jak i zahamowania uwalniania neurosekreту z nerwowej części przysadki do krwioobiegu. Zdaniem niektórych autorów (Berkowitz 1965; Miśkowiak 1980) cennych informacji o stanie czynnościowym komórek mogą dostarczyć pomiary morfometryczne jąder, jąder komórkowych oraz całych komórek sekrecyjnych. Stwierdzone w wyniku przeprowadzonego doświadczenia, zmniejszenie wymiarów neuronów i jąder komórkowych wskazuje na zahamowanie wytwarzania neurosekreту.

Substancja Gomoriego w cytoplazmie neurocytów jąder nadwzrokowego i przykomorowego na ogół nie reaguje z odczynnikiem Schiffa, natomiast neurosekreт zgromadzony w wypustkach neuronalnych daje intensywną reakcję PAS. Jest to interpretowane w piśmiennictwie (Stahl i wsp. 1955; Miętkiewski, Kozik 1961) jako wynik zmian biochemicznych neurosekreту w czasie transportu z perikarionu do nerwowej części przysadki. Nagromadzenie substancji PAS-dodatnich w cytoplazmie neurocytów może wskazywać na to, że zahamowanie uwalniania neurosekreту z nerwowej części przysadki do krwioobiegu prowadzi do nagromadzenia „dojrzałego” neurosekreту również w cytoplazmie perikarionów.

Obok zaburzeń neurosekrecyjnych spotykano także zmiany degeneracyjne pojedynczych neurocytów jądra przykomorowego. Obserwowane uszkodzenia komórek są podobne do spotykanych w innych częściach mózgowia po długotrwałym podawaniu  $\text{ZnCl}_2$  (Kozik 1979), a także do zmian wywołanych zatruciem innymi metalami ciężkimi (Pietrzak 1979).

## PODSUMOWANIE

1. Długotrwałe podawanie szczurom  $ZnCl_2$  prowadzi do nagromadzenia neurosekretu w cytoplazmie neuronów jądra nadwzrokowego i przykomorowego oraz w nerwowej części przysadki.
2. Pomiary morfometryczne wykazały istotne statystycznie zmniejszenie wymiarów komórek i jąder komórkowych w jądrze nadwzrokowym i przykomorowym podwzgórza.
3. W wyniku przeprowadzonego doświadczenia stwierdzono zwiększenie zawartości tигroidu i substancji PAS w cytoplazmie neurocytów obu badanych jąder.
4. Poczynione obserwacje wskazują na zmniejszone wytwarzanie i uwalnianie hormonu antydiuretycznego.

M. Петшак

ВЛИЯНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОЙ ПОДАЧИ  $ZnCl_2$   
НА НЕЙРОСЕКРЕЦИЮ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНОЙ СИСТЕМЫ

## Резюме

Были проведены опыты касающиеся влияния  $ZnCl_2$  на функцию гипоталамо-гипофизарной системы крыс породы Вистар, которым вводил в желудок по 50 мг  $ZnCl_2$  в течение 21 дня.

В результате проведенного эксперимента наблюдалось нагромаждение нейросекрета в клетках супраоптического и перивентрикулярного ядер гипоталамуса, а также в нейрональных отростках нервной доли гипофиза. Одновременно проведенные морфометрические измерения обнаружили уменьшение клеточных ядер и целых нейроцитов, как в супраоптическом так и в перивентрикулярном ядрах. Обнаруживали также повышенное содержание тигроида и ПАСК-положительных веществ в цитоплазме нейронов.

Наблюдения эти могут указывать на торможение образования нейросекрета и уменьшение освобождения АДГ в кровообращение.

M. Pietrzak

EFFECT OF LONG-TERM ADMINISTRATION OF  $ZnCl_2$  ON NEUROSECRETION IN  
THE HYPOTHALAMO-HYPOPHYSEAL SYSTEM

## Summary

Studies were performed on Wistar rats which were given *per os* 50 mg  $ZnCl_2$  for 21 days. Neurosecret was observed to accumulate in the cells of the supraoptic and paraventricular nuclei and in neuronal processes of neurohypophysis. Morphometric measurements revealed a decrease in volume of cell nuclei and whole neurocytes in both the supraoptic and paraventricular nucleus. Beside, there was an increased amount of tигroid and PAS-positive substances in neuronal cytoplasm. The observations may be indicative of decreased neurosecret production and inhibition of release of ADH to blood.

## PIŚMIENNICTWO

1. Berkovitz A.: A comparison of selected morphological and chemical methods for measuring neuron activity in the supraoptic nucleus of dehydrated rats. *Anat. Rec.* 1965, 152, 231—243.
2. Buell S. J., Fasmira G. J., Ollerids D. A., Sandstead H.: Effects of postnatal zinc deficiency on cerebellar and hippocampal development in the rat. *Exp. Neurol.* 1977, 55, 199—210.
3. Kozik M. B.: The effect of  $ZnCl_2$  ingestion on the activity of various phosphatases and esterases of the rat brain. *Activ. nerv. sup. (Praha)* 1979, 21, 277—278.
4. Miętkiewski K., Kozik M.: Histochemia neurosekretu w układzie podwzgórzowo-przysadkowym świnki morskiej. *Endokrynol. Pol.* 1961, 12, 1—10.
5. Miętkiewski K., Kozik M. B., Warchoń J. B.: Histochemistry of neurosecretion in attempted eliciting of epileptic fits by water load in the rat. *Folia Histochem. Cytochem.* 1974, 12, 261—274.
6. Miśkowiak B.: Wpływ doświadczalnego odwodnienia na układ neurosekrecyjny podwzgórzowo-przysadkowy szczura. *Endokrynol. Pol.* 1980 31, 67—78.
7. Pietrzak M.: Obraz neurosekrecyjny jąder podwzgórza i nerwowej części przysadki w następstwie zatrucia cerasanem. *Endokrynol. Pol.* 1979, 30, 473—483.
8. Stahl A., Cotte G., Seite R.: Modification cytologiques et cytochimiques des cellules neurosecretrices de l'hypothalamus apres perturbation experimentale du metabolisme hydrique. *Compt. Rend. Assoc. Anat.* 1955, 85, 455—458.

Adres autora: Zakład Neuropatologii AM, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań.

# WYKAZ CZASOPISM

PAŃSTWOWEGO ZAKŁADU WYDAWNICTW LEKARSKICH NA ROK 1981

Lp.	Tytuł czasopisma	Rodzaj czaso- pisma	Cena prenumeraty			Cena poj. n-ru zł
			kwart. zł	półr. zł	roczna zł	
1	Acta Haematologica Polonica	kwart.	—	60.—	120.—	30.—
2	Acta Medica Polona	kwart.	—	50.—	100.—	25.—
3	Acta Physiologica Polonica	dwum.	—	75.—	150.—	25.—
4	Acta Poloniae Pharmaceutica	dwum.	—	105.—	210.—	35.—
5	Anestezja, Reanimacja, Intensywna Terapia	kwart.	—	100.—	200.—	50.—
6	Archiwum Historii Medycyny	kwart.	—	50.—	100.—	25.—
7	Archiwum Med. Sądowej i Kryminologii	kwart.	—	80.—	160.—	40.—
8	Bromatologia i Chemia Toksykologiczna	kwart.	—	90.—	180.—	45.—
9	Bulletin of the Inst. of Marit. and Trop. Med. in Gdynia	kwart.	—	—	—	—
10	Chirurgia Narządów Ruchu i Ortopedia Polska	dwum.	—	120.—	240.—	40.—
11	Czasopismo Stomatologiczne	mies.	90.—	180.—	360.—	30.—
12	Diagnostyka Laboratoryjna	dwum.	—	105.—	210.—	35.—
13	Dziennik Urzędowy Min. Zdrowia i Opieki Społecznej	dwutyg.	9.—	18.—	36.—	1.50
14	Endokrynologia Polska	dwum.	—	60.—	120.—	20.—
15	Farmacja Polska	mies.	75.—	150.—	300.—	25.—
16	Folia Morphologica	kwart.	—	40.—	80.—	20.—
17	Ginekologia Polska	mies.	75.—	150.—	300.—	25.—
18	Kardiologia Polska	mies.	90.—	180.—	360.—	30.—
19	Klinika Oczna	mies.	150.—	300.—	600.—	50.—
20	Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia	kwart.	—	60.—	120.—	30.—
21	Medycyna Pracy	dwum.	—	90.—	180.—	30.—
22	Medycyna Wiejska	kwart.	—	50.—	100.—	25.—
23	Neurologia i Neurochirurgia Polska	dwum.	—	150.—	300.—	50.—
24	Neuropatologia Polska	kwart.	—	50.—	100.—	25.—
25	Nowotwory	kwart.	—	60.—	120.—	30.—
26	Otolaryngologia Polska	dwum.	—	105.—	210.—	35.—
27	Opiekun Społeczny	kwart.	—	—	—	3.50
28	Patologia Polska	kwart.	—	40.—	80.—	20.—
29	Pediatrics Polska	mies.	90.—	180.—	360.—	30.—
30	Pneumonologia Polska	mies.	75.—	150.—	300.—	25.—
31	Pielęgniarka i Położna	mies.	15.—	30.—	60.—	5.—
32	Polish Journal of Pharmacology and Pharmacy	dwum.	—	60.—	120.—	20.—
33	Polski Przegląd Chirurgiczny	mies.	105.—	210.—	420.—	35.—
34	Polski Przegląd Radiologii i Medycyny Nuklearnej	dwum.	—	135.—	270.—	45.—
35	Polski Tygodnik Lekarski	tyg.	195.—	390.—	780.—	15.—
36	Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej	mies.	90.—	180.—	360.—	30.—
37	Postępy Fizyki Medycznej	kwart.	—	20.—	40.—	10.—
38	Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej	dwum.	—	75.—	150.—	25.—
39	Problemy Rodziny	dwum.	—	90.—	180.—	30.—
40	Problemy Techniki w Medycynie	kwart.	—	60.—	120.—	30.—
41	Problemy Szkolnictwa i Nauk Medycznych	kwart.	—	60.—	120.—	30.—
42	Protetyka Stomatologiczna	dwum.	—	90.—	180.—	30.—
43	Przegląd Dermatologiczny	dwum.	—	135.—	270.—	45.—
44	Przegląd Epidemiologiczny	kwart.	—	90.—	180.—	45.—
45	Przegląd Lekarski	mies.	90.—	180.—	360.—	30.—
46	Przegląd Pediatryczny	dwum.	—	75.—	150.—	25.—
47	Psychiatria Polska	dwum.	—	105.—	210.—	35.—
48	Reumatologia	kwart.	—	—	—	—
49	Roczniki PZH	dwum.	—	105.—	210.—	35.—
50	Służba Zdrowia	tyg.	26.—	52.—	104.—	2.—
51	Twoje Dziecko	mies.	12.—	24.—	48.—	4.—
52	Urologia Polska	kwart.	—	70.—	140.—	35.—
53	Wiadomości Lekarskie	dwutyg.	120.—	240.—	480.—	20.—
54	Zdrowie Publiczne	mies.	75.—	150.—	300.—	25.—
55	Zyjmy Dłużej	mies.	—	—	60.—	5.—
56	Zywnienie Gzlowieka	kwart.	—	60.—	120.—	30.—

LUBOMIRA DYDYK, JERZY BOROWICZ, MARIA KLONOWSKA,  
BOGNA SCHMIDT-SIDOR

## ULTRASTRUCTURE OF MEDULLOBLASTOMA IN CHILDREN\*

Laboratory of Ultrastructure of the Nervous System, Medical Research  
Centre, Polish Academy of Sciences, Warszawa  
Head: prof. dr J. Borowicz

Laboratory of Neuropathology, Psychoneurological Institute, Warszawa  
Head: prof. dr J. Dymecki

Medulloblastomas are the neoplasms of the cerebellum occurring mainly in children in the first decade of life and in adolescents up to the 14th year of life (Ringertz, Tola, 1950). They constitute about 7—8 per cent of all intracranial tumors of neuroepithelial origin (Russell, Rubinstein, 1977), and about 25 per cent of all intracranial tumors in children (Farwell et al., 1977). According to the concept of Stevenson and Echlin (1934), these tumors arise from the fetal granular layer of Obersteiner, the cells of which differentiate towards neurons of the granular internal layer and towards neuroglia of the cerebellar cortex (Kershman, 1938; Fujita, 1967). Further investigations concerning the origin of medulloblastomas suggest that they develop from cells of the internal granular layer (Zimmerman, 1969) and show no spongioblastic differentiation (Tola, 1951; Bailey, 1955; 1971).

The aim of the present electron-microscopic studies was an attempt to verify the hypothesis of Bailey and Cushing (1925), which evoked the discussion on the bipotential differentiation of medulloblastoma cells.

### MATERIAL AND METHODS

The study was based on the examination of 8 cases treated in the Clinic of Neurosurgery of the Institute of Mother and Child Care in Warszawa. Material for study in a light and electron microscope was collected intration. Sections for examination in the light microscope were fixed in 10 per cent formol, embedded in paraffin and stained with hematoxylin-eosin. The histopathological diagnosis was established in the Department of Neuropathology of the Psychoneurological Institute in Warszawa.

\* Work constituting part of project PR 6.15.

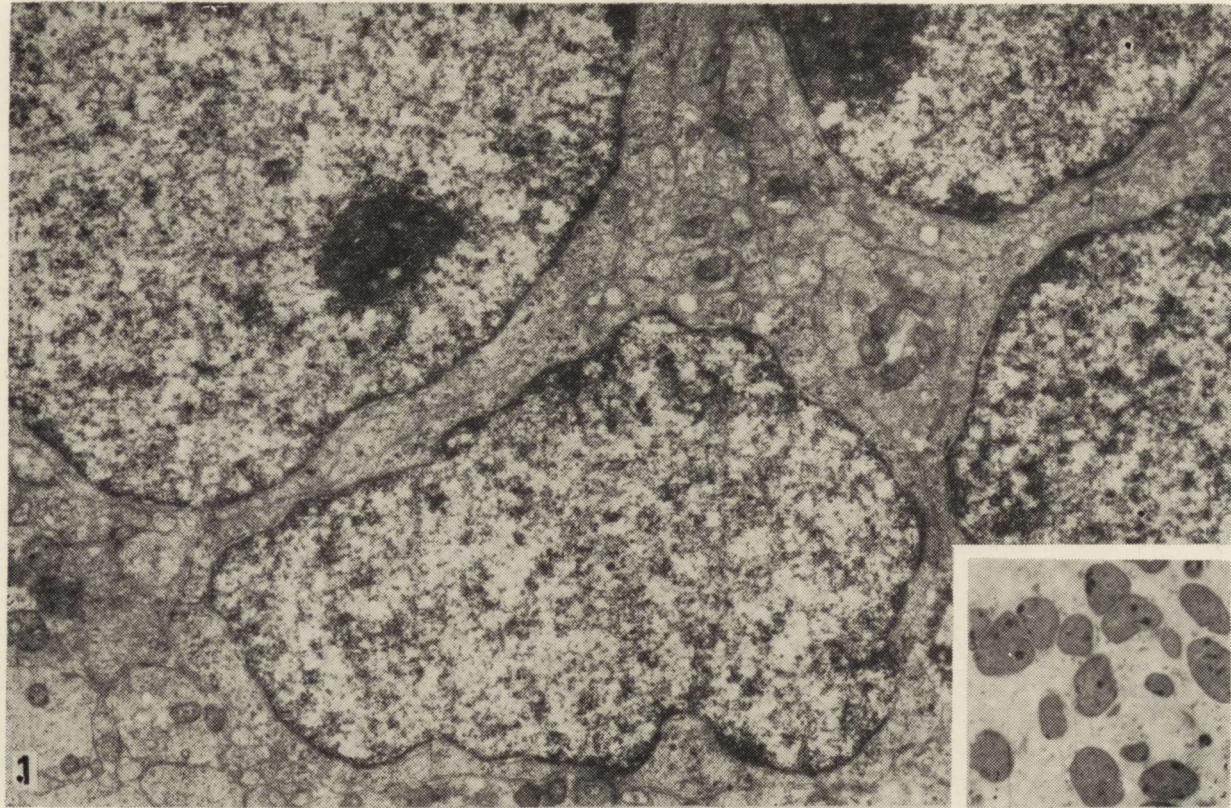
Table 1. List of cases examined

No.	Sex	Age	No. of histopathological examinations	Localisation	Histopathological diagnosis
1	boy G.A.	12 months	1879— —1881	cerebellar vermis	medulloblastoma
2	girl B.A.	2 years	1992— —1993	cerebellar vermis and 4th ventricle	medulloblastoma (glioma-like cells were also present)
3	girl	2 years	1988	vermis cerebellar hemispheres and brain stem	medulloblastoma (small foci with features of arachnoid sarcoma noted)
4	boy B.D.	2 years 5 months	1961	vermis, 4th ventricle, medulla oblongata and cervical medulla to C <sub>1</sub> level	medulloblastoma
5	boy B.P.	4 years 8 months	2155	vermis, cerebellar hemispheres and 4th ventricle	medulloblastoma
6	girl D.A.	7 years	2153	vermis and cerebellar hemispheres	medulloblastoma
7	girl K.I.	10 years	2278	4th ventricle cerebellar hemispheres and brain stem	medulloblastoma
8	boy W.G.	13 years	2021	vermis, cerebellar hemispheres and brain stem	medulloblastoma

For examination in the electron microscope the sections were fixed in 3 per cent glutaraldehyde solution in cacodylate buffer (pH 7.4) and in 1 per cent osmium tetroxide solution in the same buffer. They were dehydrated in alcohol gradient and embedded in Epon 812. Semithin sections from the Epon blocks were stained in 1 per cent methyl blue and 1 per cent borax, and then inspected and photographed in the light microscope. Ultrathin sections were contrasted with uranyl acetate and lead citrate, and then inspected and photographed in a JEM 7A electron microscope.

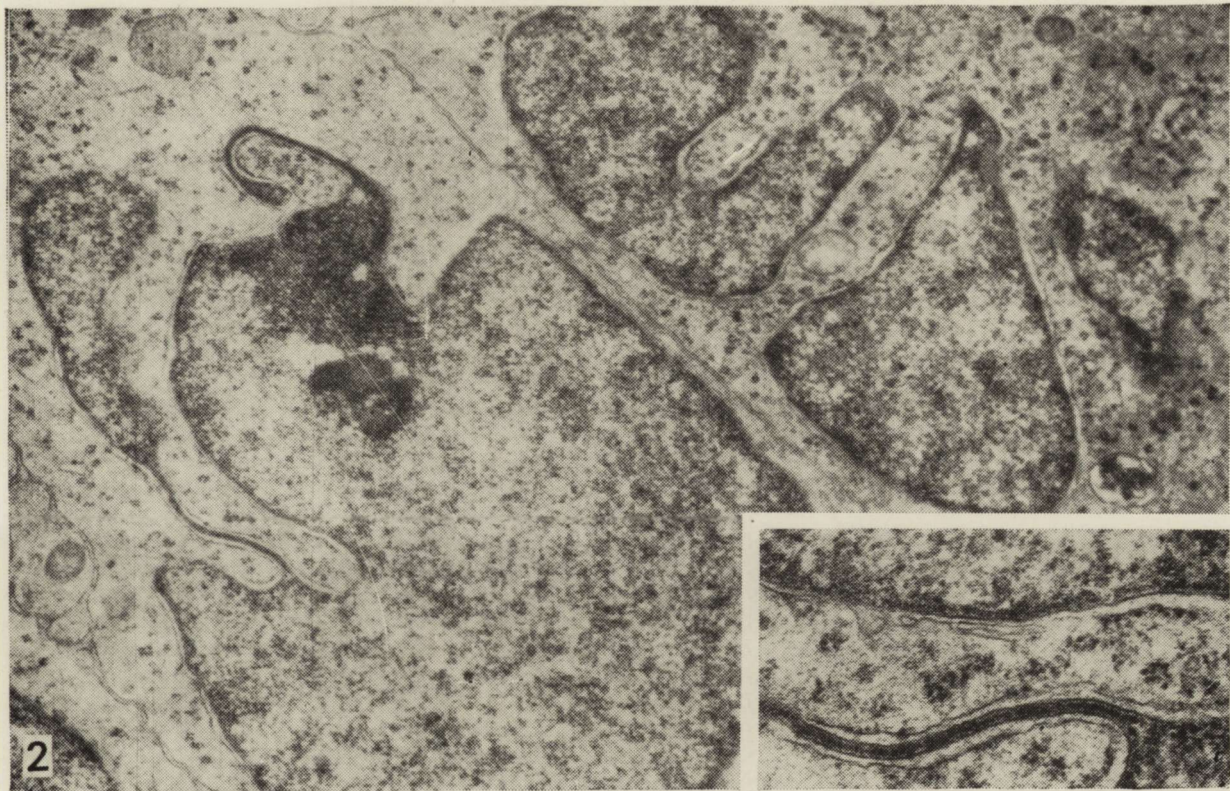
#### RESULTS

The electron-microscopic pictures showed an abundance of cells exhibiting morphological features of immaturity. Every field was packed with small cells containing a large round, oval or elongated nucleus and a narrow border of cytoplasm. These cells contained, moreover, few ribosomes, single mitochondria and canaliculi of granular endoplasmic reticulum. The nucleoli lying usually eccentrically were frequently present (Fig. 1). Cells with a huge monstrous nucleus were also observed. In the envelope of these monstrous nuclei structures corresponding to the „triple membrane” were visible. They formed long narrow peduncles joining the particular lobes of the nucleus (Fig. 2). Beside cells with scant cytoplasmic structures, appeared other cells with numerous condensed mitochondria. Some of these cells contained in the cytoplasm lipid droplets and formed short cytoplasmic processes (Fig. 3).



*Fig. 1.* Tumor cells with large nucleus and narrow edge of cytoplasm with few organelles. 8 100 $\times$ . Inset: The same cells. Semithin section, 1000 $\times$ .

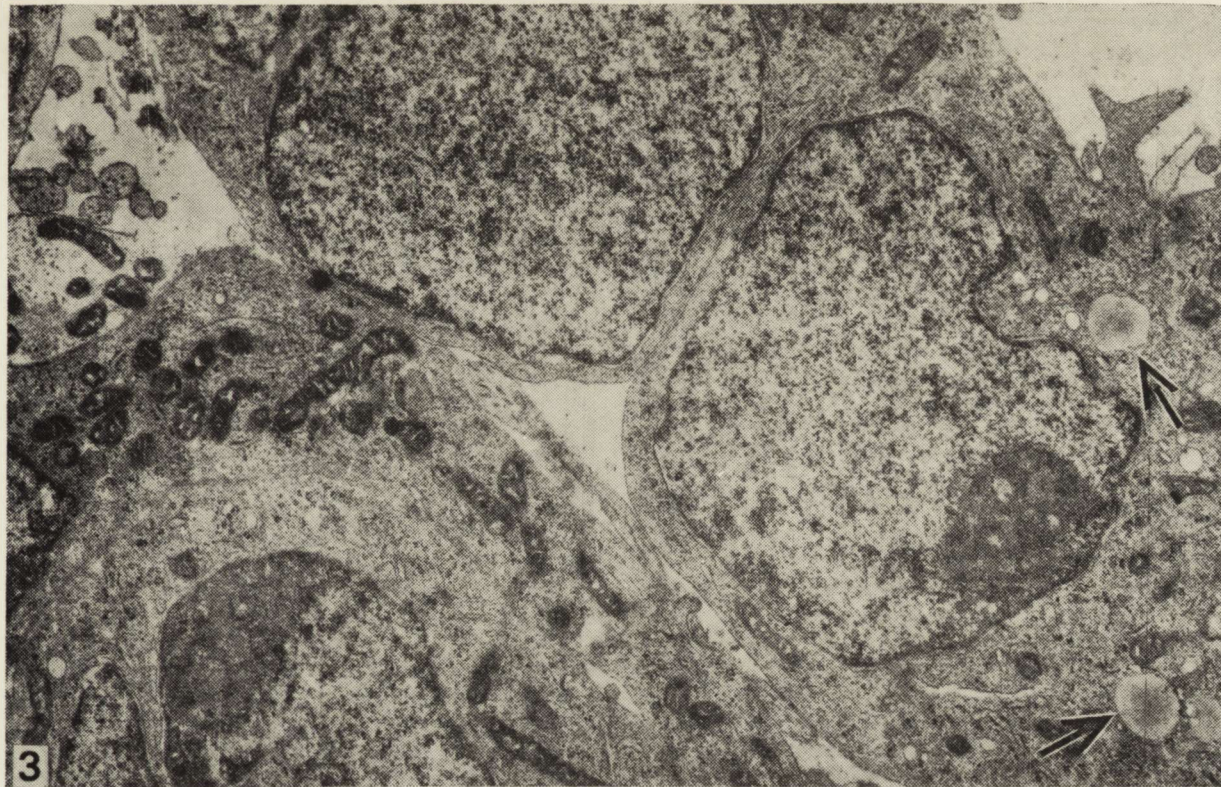
*Ryc. 1.* Komórki nowotworowe z dużym jądrem i wąskim rąbkim cytoplazmy ubogiej w organelle. Pow. 8 100 $\times$ . Wstawka: Te same komórki. Skrawek półcienki. Pow. 1000 $\times$ .



*Fig. 2.* Two tumor cells. One contains a monstrous nucleus,  $9\ 000\times$ . Inset: Peduncle of monstrous nucleus, consisting of „triple membrane” structure.  $32\ 700\times$ .

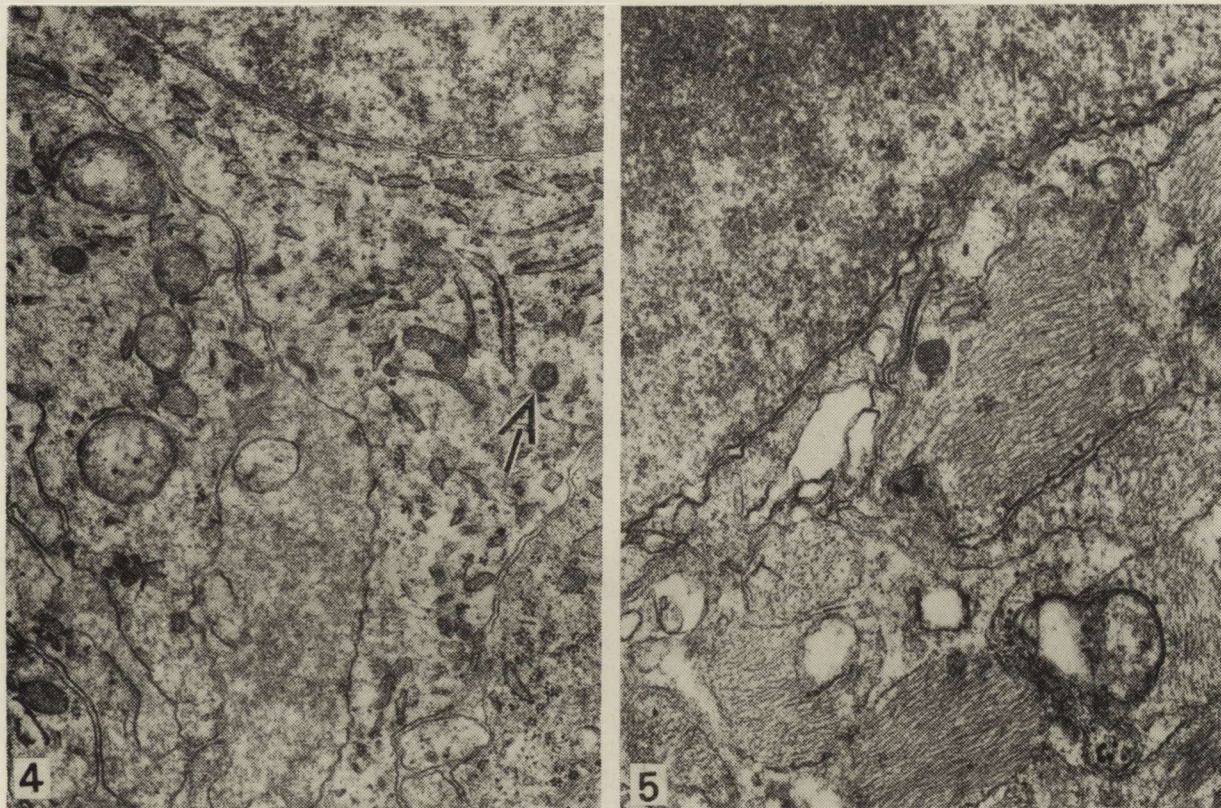
*Ryc. 2.* Dwie komórki nowotworowe. Jedna z nich zawiera duże wielopłatowe monstrualne jądro. Pow.  $9\ 000\times$ . Wstawka: Szypuła monstrualnego jądra utworzona przez struktury „potrójnej błony”. Pow.  $32\ 700\times$ .





*Fig. 3.* Tumor cells with condensed mitochondria. Cell on right side forms a short cytoplasmic process and contains lipid droplets in cytoplasm (arrows), 7 950 $\times$ .

*Ryc. 3.* Komórki nowotworowe z zagęszczonymi mitochondriami. Komórka leżąca w prawej części obrazu tworzy krótką wypustkę cytoplazmatyczną i zawiera w cytoplazmie kule lipidowe (strzałki). Pow. 7 950 $\times$ .



*Fig. 4.* Fragment of cell with axonal cone. In the cytoplasm a vesicle filled with electron-dense substance is visible (arrow). 3 950 $\times$ .

*Ryc. 4.* Fragment komórki ze stożkiem aksonalnym. W cytoplazmie widoczny jest pęcherzyk wypełniony substancją elektronowo gęstą (strzałka). Pow. 3 950 $\times$ .

*Fig. 5.* Bundles of fibrils filling the cytoplasmic processes of tumor cells. 32 700 $\times$ .

*Ryc. 5.* Pęczki włókienek, które wypełniają cytoplazmatyczne wypustki komórek nowotworowych. Pow. 32 700 $\times$ .

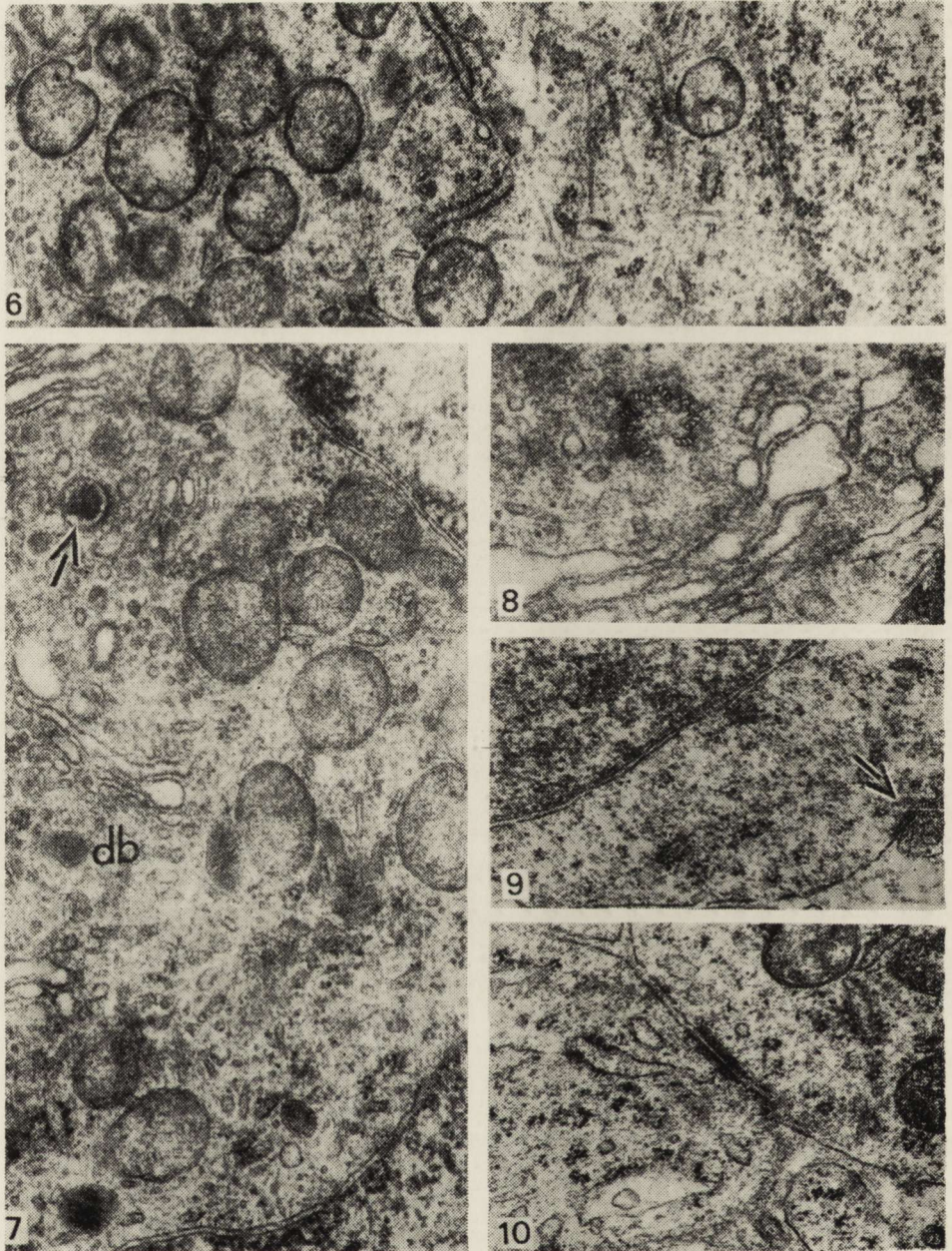
Sometimes the cells formed processes corresponding morphologically to axons. The single vesicles in these cells contained an electron-dense substance (Fig. 4). In the immediate neighbourhood of single cells numerous processes filled with bundles of filaments and fibrils were noted (Fig. 5). Some cells were also observed, in which beside numerous mitochondria, microtubules appeared in large numbers (Fig. 6). There appeared, also cells in which close to the structures of the Golgi system the presence of coarse vesicles corresponding to secretive ones was noted. In the cells containing vesicles, numerous dense bodies and mitochondria occurred (Fig. 7). In the neoplastic cells numerous mitoses and centrioles could be seen (Fig. 8). Immature axosomatic synapses were very seldom found. They exhibited an increased density of the cytoplasm on both sides of the synaptic cleft and contained single vesicles in the axonal endings (Fig. 9). The intercellular junctions of „zonula occludens” or „zonula adherens” type were frequently seen (Fig. 10).

There were no special architectural arrangements of the cells. They simply formed irregular agglomeration supported by a stroma of blood-vessels. Sometimes the tumor cells arranged in Wright's rosettes. In these rosettes the large cell nuclei laid on the periphery surrounding the rosette lumen which was filled with cytoplasmic processes. These processes contained numerous „condensed mitochondria” and filaments. Some cross-sections of these processes had a structure resembling an immature axonal ending with single vesicles (Fig. 11). Sometimes the distribution of the neoplastic cells was of palisade type. Nearly all cells forming palisade patterns contained single nucleoli and numerous mitochondria in the cytoplasm (Fig. 12).

#### DISCUSSION

In the described here electron-microscopic pictures some neoplastic cells exhibited features typical for nerve cells. To these belonged, above all, formation of axons and of axosomatic junctions. These observations confirm the description of Lumsden (1974) who studied a tissue culture of medulloblastoma and found in it cells forming axons. They are also in agreement with the findings of Ermel and Brucher (1974) who, in the electron-microscopic pictures of medulloblastoma cells detected single axosomatic synapses. A characteristic trait of nerve cells were also vesicles resembling secretive ones, and microtubules, which we observed in the perikarya of some tumor cells. Similar results demonstrating the presence of microtubules in the cytoplasm of medulloblastoma cells were reported by Escourolle and Poirier (1967) and by Matakas et al. (1970). Vesicles corresponding to secretive ones were found by Ermel and Brucher (1974) in studies carried out on the medulloblastoma cells.

The Wright's rosette patterns of medulloblastoma cells suggest their neuroblastic differentiation (Russell, Rubinstein, 1977). The present observations



*Fig. 6.* Numerous microtubules and mitochondria visible in cytoplasm of tumor cell. 42 300 ×.  
*Ryc. 6.* W cytoplazmie komórki nowotworowej widoczne liczne mikrotubule i liczne mitochondria.  
 Pow. 42 300 ×.

*Fig. 7.* Fragment of tumor cell. Close to Golgi structures a vesicle containing electron-dense substance is visible (arrow). Numerous mitochondria and dense bodies (db). 40 500 ×.

seem to confirm this suggestion since the presence of single cytoplasmic processes corresponding morphologically to immature axonal endings was demonstrated in the rosette lumen.

The formation of palisade patterns characteristic for spongioblasts may be considered as the feature of spongioblastic differentiation (Russell, Rubinstein, 1977). In the present material, cells forming the palisade arrangement did not, however, exhibit morphological traits of spongioblasts. The finding of nucleoli in the nucleus suggests that these might be nerve cells.

The occurrence in our material of cell processes filled with large bundles of filaments and fibrils seems to suggest that some spongioblasts underwent further differentiation to astrocytes. Such an interpretation should, however, be considered with circumspection, since differentiation of medulloblastoma cells towards astrocytes is a very rare phenomenon (Willis, 1967). Observation of medulloblastoma cells in tissue culture by Rubinstein et al. (1974) demonstrated, it is true, the presence of cells of spongioblast type in younger cultures and cells of the type of astrocytes in older ones, but, according to Russell and Rubinstein (1977), the filaments and fibrils detected in the cultures may be „stress fibrils” which occur in cultures on glass.

The presented results of studies performed on a small number of cases do not allow any opinion as to the correctness of the hypothesis concerning the bipotential differentiation of medulloblastoma cells. They are only a view voiced in the discussion which started in the twenties and continues to this day.

L. Dydyk J. Borowicz M. Klonowska B. Schmidt-Sidor

#### ULTRASTRUKTURA RDZENIAKA U DZIECI

##### Streszczenie

Celem pracy była próba wykazania bipotencjalnego różnicowania się komórek rdzeniaka. Prowadzono badania mikroskopowo-elektronowe rdzeniaków rozpoznanych histopatologicznie u ośmiorga dzieci w wieku od 12 miesięcy do 13 lat. Materiał do badań pobierano śródoperacyjnie.

---

*Ryc. 7.* Fragment komórki nowotworowej. W pobliżu struktur układu Golgiego widoczny pęcherzyk zawierający substancję elektronowo gęstą (strzałka). Liczne mitochondria i liczne ciała gęste (db). Pow. 40 500 ×.

*Fig. 8.* Centriola and Golgi apparatus in cytoplasm of tumor cell. 42 300 ×.

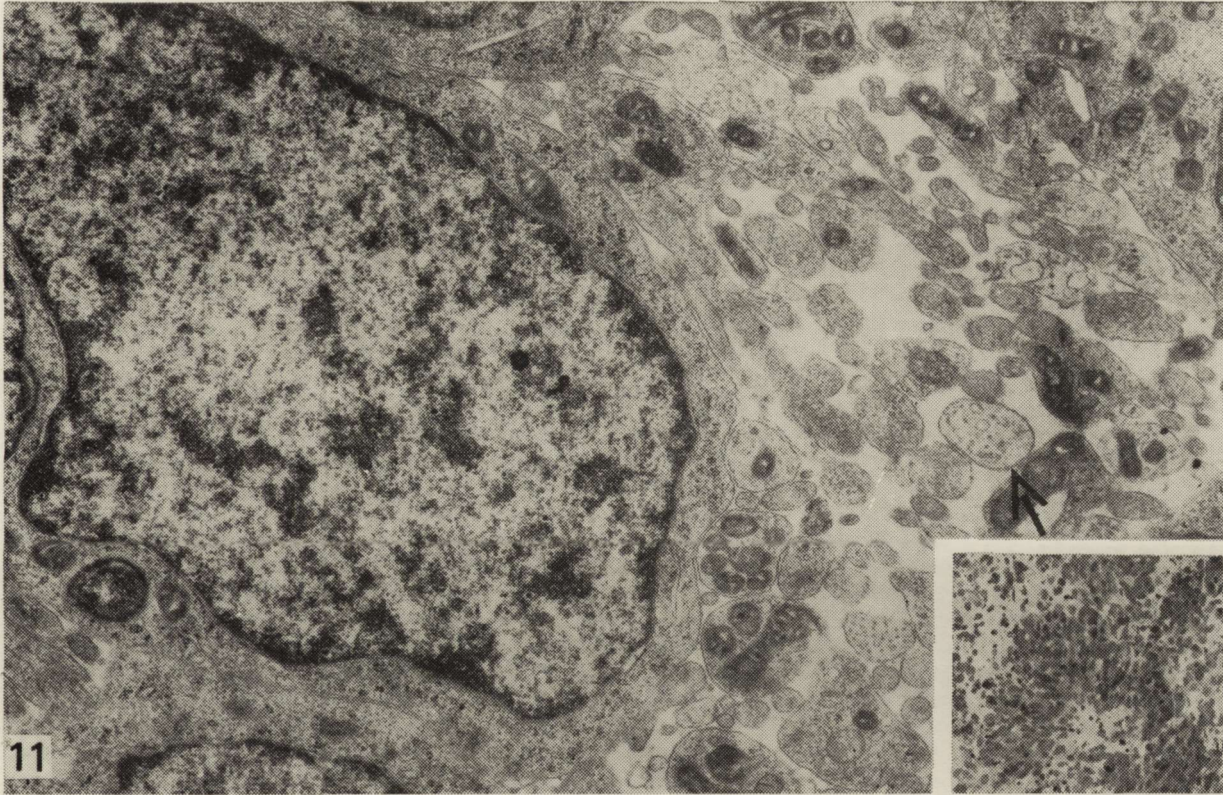
*Ryc. 8.* Centriola i układ Golgiego w cytoplazmie komórki nowotworowej. Pow. 42 300 ×.

*Fig. 9.* Early stage of axosomatic synapse development (arrow). 13 650 ×.

*Ryc. 9.* Wczesne stadium rozwoju synapsy aksosomatycznej (strzałka). Pow. 13 650 ×.

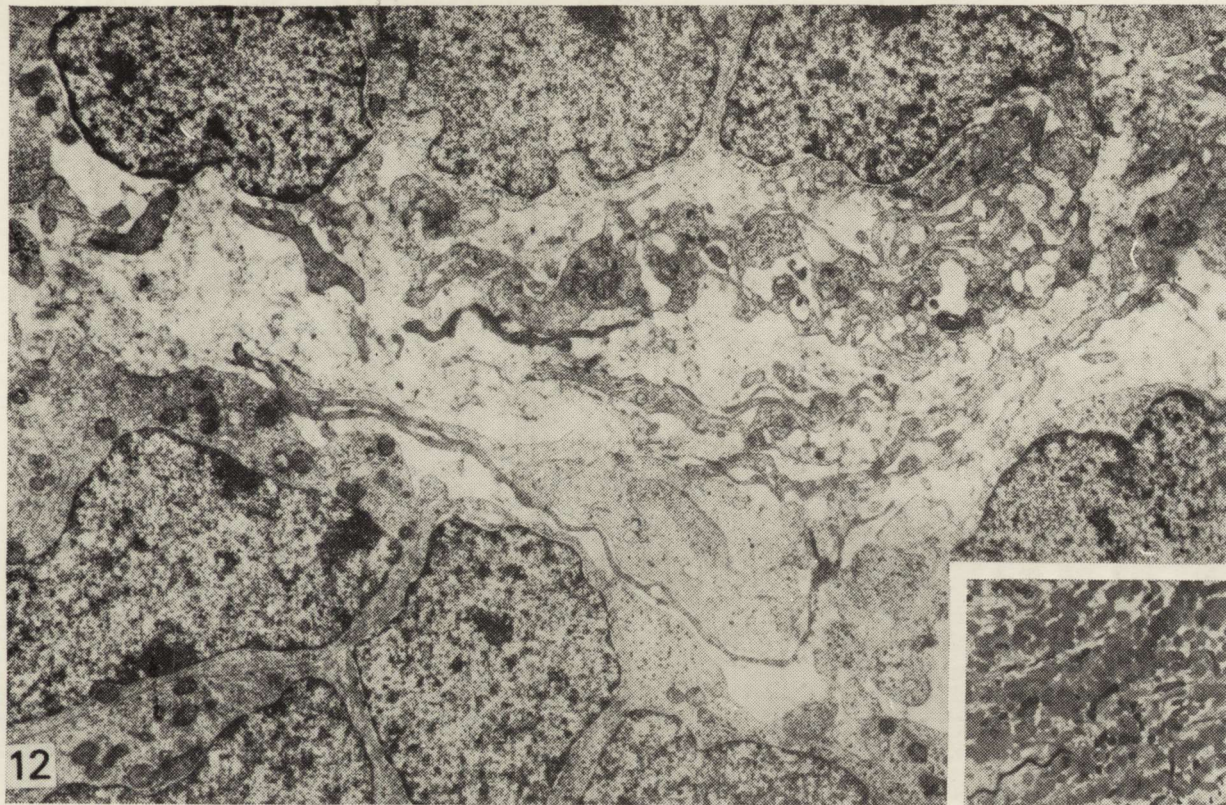
*Fig. 10.* Cellular junction of zonula adherens type. 34 500 ×.

*Ryc. 10.* Połączenie komórkowe typu zonula adherens. Pow. 34 500 ×.



*Fig. 11.* Rosette pattern of neoplastic cells with central accumulation of cytoplasmic processes. Among them processus corresponding morphologically to immature axonal ending (arrow). 11 850 $\times$ . Inset: Rosette pattern of tumor cells. Semithin section. 400 $\times$ .

*Ryc. 11.* Układ rozetowy komórek nowotworowych z centralnym gromadzeniem się wypustek cytoplazmatycznych. Wśród nich widoczna wypustka odpowiadająca morfologicznie niedojrzałemu zakończeniu aksonalnemu (strzałka). Pow. 11850 $\times$ . Wstawka: Układ rozetowy komórek nowotworowych. Skrawek półcienki. Pow. 400 $\times$ .



12

*Fig. 12.* Palisade patterns of tumor cells. 22 050 $\times$ . Inset: Palisade pattern of tumor cells. Semithin section. 400 $\times$ .

*Ryc. 12.* Układy palisadowe komórek nowotworowych. Pow. 22 050 $\times$ . Wstawka: Układy palisadowe komórek nowotworowych. Skrawek półcieńki. Pow. 400 $\times$ .

Stwierdzono dwukierunkowe różnicowanie się komórek rdzenia. Do cech typowych dla komórek nerwowych zaliczono tworzenie aksonów i synaps akсосomatycznych oraz występowanie mikrotubuli i pęcherzyków sekrecyjnych, które obserwowano w cytoplazmie pojedynczych komórek. Jako cechę sugerującą neuroblastyczne różnicowanie się komórek rdzenia uznano ich układanie się w rozety typu Wrighta. Komórkowe układy palisadowe wskazywały na spongioblastyczne różnicowanie się komórek, które jednakże nie wykazywały cech charakterystycznych dla spongioblastów. Wypustki komórkowe, które zawierały filamenty i fibryle układające się w duże pęczki, podpowiadały morfologicznie wypustkom astrocytów. Tak więc w ośmiu badanych przez nas przypadkach komórki rdzenia różnicowały się głównie w kierunku neuroblastycznym, ale stwierdzono również cechy wskazujące na możliwość różnicowania się w kierunku spongioblastycznym i astrocytarnym.

Л. Дыдык, Е. Борович, М. Клёновска, В. Шмидт-Сидор

### УЛЬТРАСТРУКТУРА МЕДУЛЛОБЛАСТОМЫ У ДЕТЕЙ

#### Резюме

Целью работы была попытка обнаружения биопотенциального способа дифференциации клеток медуллобластомы. Проводились электронномикроскопические исследования гистопатологически диагностированных медуллобластом у 8 детей возраста от 12 месяцев до 13 лет. Материал к исследованиям брали во время операции.

Было обнаружено дифференцирование клеток медуллобластом в двух направлениях. К типическим свойствам для нервных клеток были зачислены: образование аксонов и аксосинаптических синпасов, а также наличие микротубулей и секреторных пузырьков, которые наблюдали в цитоплазме отдельных клеток. В качестве свойства, указывающего на нейробластическую дифференциацию клеток медуллобластомы, принято их расположение в розеты типа Райта. Клеточные палисадные системы указывали на сponгиобластическую дифференциацию клеток, которые не обнаруживали свойств, характерных для сponгиобластов. Клеточные отростки, содержащие филаменты и фибриллы укладываемые в большие пучки, морфологически соответствовали отросткам астроцитов.

Следовательно, в 8 исследованных нами случаях клетки медуллобластомы дифференцировались главным образом в нейробластическом направлении. Обнаружено также, однако, свойства, указывающие на возможность дифференцирования в сponгиобластическом и астроцитарном направлении.

#### REFERENCES

1. Bailey O. T.: On the histogenesis of certain tumors of the medulloblastoma group. Proc. 2nd Inter. Congr. Neuropath., Excerpta Medica, Amsterdam 1955, part. I, p. 239—247.
2. Bailey O. T.: Medulloblastoma. In: Pathology of the Nervous System, Ed. J. Minckler, McGraw-Hill, New York 1971, vol. 2, p. 2071—2080.
3. Bailey P., Cushing H.: Medulloblastoma cerebelli, a common type of midcerebellar glioma of childhood. Arch. Neurol. Psychiatr. (Chic.) 1925, 14, 192—199.
4. Ermel A. E., Brucher J. M.: Arguments ultrastructuraux en faveur de l'appartenance du medulloblastome à la lignée neuronale. Acta Neurol. (Berl.) 1974, 74, 208—220.



5. Escourolle R., Poirier J.: L'ultrastructure du medulloblastome cerebelleux. *Ann. Anat. Path.* 1967, 12, 121—127.
6. Farwell J. R., Dohrmann G. J., Flannery J. T.: Central nervous system tumors in children. *Cancer* 1977, 40, 3123—3132.
7. Fujita S.: Quantitative analysis of cell proliferation and differentiation in the cortex of the postnatal mouse cerebellum. *J. Cell Biol.* 1967, 32, 277—287.
8. Kershman J.: The medulloblast and the medulloblastoma: a study of human embryos. *Arch. Neurol. Psychiat.* (Chic.) 1938, 40, 937—945.
9. Lumsden C. E.: Tissue culture of brain tumors. In: *Handbook of Clinical Neurology*. Ed. P. J. Vinken, G. W. Bruyn, North-Holland Publishing Co., Amsterdam 1974, vol. 17, p. 42—46.
10. Matakas F., Cervos-Navarro J., Gullotta F.: The ultrastructure of medulloblastomas. *Acta neuropath.* (Berl.) 1970, 16, 271—284.
11. Ringertz N., Tola J. H.: Medulloblastoma. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1950, 9, 354—361.
12. Rubinstein L. J., Herman M. M., Hanbery J. W.: The relationship between differentiating medulloblastoma and dedifferentiating diffuse cerebellar astrocytoma. Light, electron microscopic, tissue and organ culture observations. *Cancer* 1974, 33, 675—690.
13. Russell D. S., Rubinstein L. J.: *Pathology of tumors of the nervous system*. Ed. E. Arnold, London 1977, p. 244—255.
14. Stevenson L., Echlin P.: The nature and origin of some tumors of the cerebellum (medulloblastoma). *Arch. Neurol. Psychiat.* (Chic.) 1934, 31, 93—99.
15. Tola J. S.: The histopathological and biological characteristics of primary neoplasms of the cerebellum and the fourth ventricle, with some aspects of their clinical picture, diagnosis, and treatment (on the basis of 71 verified cases). *Acta Chir. Scand.* 1951, suppl. 2, 164—172.
16. Willis R. A.: *Pathology of tumors*. Butterworths, London 1967, p. 34—41.
17. Zimmerman H. M.: Brain tumors: their incidence and classification in man and their experimental production. In: *Research in the experimental and clinical aspects of brain tumors*, Ed. L. C. Scheinberg. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1969, 159, 337—343.

Authors' address: Laboratory of Ultrastructure of the Nervous System, Medical Research Centre, Polish Academy of Sciences, 3, Dworkowa str., 00-784 Warszawa.

SKRÓTY BIBLIOGRAFICZNE POLSKICH CZASOPISM LEKARSKICH

- Acta Haematologica Polonica = Acta Haemat. Pol.  
 Acta Medica Polona = Acta Med. Pol.  
 Acta Physiologica Polonica = Acta Physiol. Pol.  
 Acta Poloniae Pharmaceutica = Acta Polon. Pharm.  
 Anestezja i Reanimacja = Anest. Reanim.  
 Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis = Arch. Immun. Therap. Exp.  
 Archiwum Historii Medycyny = Arch. Hist. Med.  
 Archiwum Medycyny Sądowej, Psychiatrii Sądowej i Kryminalistyki = Arch. Med. Sąd.  
 Biuletyn Informacyjny „Cefarm” = Biul. Cefarm.  
 Biuletyn Informacyjny Optyka = Optyka.  
 Biuletyn Instytutu Medycyny Morskiej = Biul. Inst. Med. Morsk.  
 Biuletyn Wojskowej Akademii Medycznej = Biul. WAM.  
 Bromatologia i Chemia Toksykologiczna = Bromat. Chem. Toksykol.  
 Chirurgia Narządów Ruchu i Ortopedia Polska = Chir. Narz. Ruchu Ortcp. Pol.  
 Czasopismo Stomatologiczne = Czas. Stomat.  
 Diagnostyka Laboratoryjna = Diagn. Lab.  
 Dissertationes Pharmaceuticae et Pharmacologicae = Dissert. Pharm.  
 Endokrynologia Polska = Endokr. Pol.  
 Epidemiological Review = Epid. Rev.  
 Experimental Medicine and Microbiology = Exp. Med. Microbiol.  
 Farmacja Polska = Farm. Pol.  
 Folia Histochemica et Cytochemica = Folia Hist. Cytochem.  
 Folia Morphologica = Folia Morph. (Warsz.)  
 Ginekologia Polska = Gin. Pol.  
 Gruźlica i Choroby Płuc = Gruźlica  
 Kardiologia Polska = Kard. Pol.  
 Klinika Oczna = Klin. Oczna.  
 Lekarz Wojskowy = Lek. Wojsk.  
 Materia Medica Polona = Mat. Med. Pol.  
 Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia = Med. Dośw. Mikrobiol.  
 Medycyna Pracy = Med. Pracy.  
 Medycyna Wiejska = Med. Wiejska  
 Neurologia i Neurochirurgia Polska = Neur. Neurochir. Pol.  
 Neuropatologia Polska = Neuropat. Pol.  
 Nowotwory = Nowotwory  
 Otolaryngologia Polska = Otolaryng. Pol.  
 Patologia Polska = Pat. Pol.  
 Pediatria Polska = Ped. Pol.  
 Pneumonologia Polska = Pneum. Pol.  
 Polish Endocrinology = Pol. Endocr.  
 Polish Journal of Pharmacology and Pharmacy = Pol. J. Pharmacol. Pharm.  
 Polish Medical Journal = Pol. Med. J.  
 Polish Review of Radiology and Nuclear Medicine = Pol. Rev. Rad. Nucl. Med.  
 Polski Przegląd Chirurgiczny = Pol. Przeg. Chir.  
 Polski Przegląd Radiologii i Medycyny Nuklearnej = Pol. Przeg. Rad. Med. Nukl.  
 Polski Tygodnik Lekarski = Pol. Tyg. Lek.  
 Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej = Pol. Arch. Med. Wewn.  
 Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej = Post. Hig. Med. Dośw.  
 Postępy Okulistyki = Post. Okul.  
 Problemy Techniki w Medycynie = Probl. Techn. Med.  
 Protetyka Stomatologiczna = Prot. Stom.  
 Przegląd Dermatologiczny = Przeg. Derm.  
 Przegląd Epidemiologiczny = Przeg. Epid.  
 Przegląd Lekarski = Przeg. Lek.  
 Psychiatria Polska = Psychiat. Pol.  
 Reumatologia = Reumatologia  
 Roczniki Państwowego Zakładu Higieny = Roczn. PZH  
 Wiadomości Lekarskie = Wiad. Lek.  
 Wiadomości Parazytologiczne = Wiad. Parazyt.  
 Zdrowie Publiczne = Zdrowie Publ.

HALINA KROH

## MIELINA W SKAPODRZEWIAKACH MÓZGU MYSZY

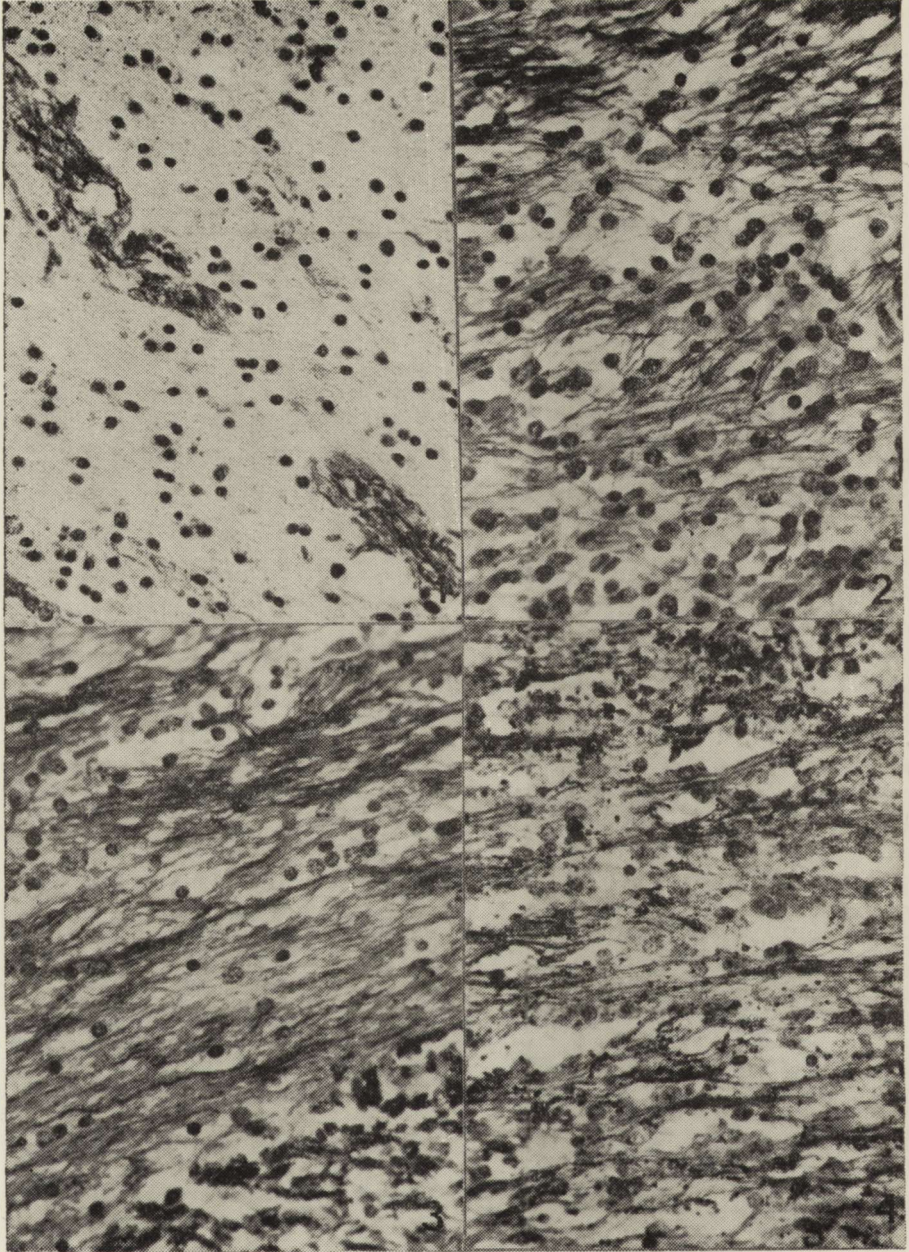
Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN  
Kierownik Zespołu: prof. dr M. J. Mossekowski

Przyrost masy nowotworu prowadzi do powstawania zmian wstecznych w obrębie zajętej tkanki. O ich rozwoju decyduje również sposób wzrostu oraz właściwości biologiczne nowotworu. Kształtowanie się tego procesu jest modyfikowane przez wiele pośrednich zjawisk występujących w dynamicznie rozwijającej się tkance, ale rolę zasadniczą odgrywa histologiczny typ guza, o czym świadczą zmiany wsteczne charakterystyczne dla poszczególnych typów glejaków. Zmienione relacje pomiędzy poszczególnymi elementami neuropilu zanim zostanie on całkowicie wciągnięty w obszar nowotworu, wyrażają się obrzękiem i postępującą dezintegracją elementów strukturalnych. Za jeden z czynników, kształtujących obraz zmian w podłożu, można hipotetycznie uważać zaburzenia między różnymi elementami morfologicznymi tworzącymi jeden układ, np. między mieliną i komórką oligodendrogleju w obszarze rozwijającego się skąpodrzewiaka. Można przypuszczać, że osłonka mielinowa winna być elementem łatwo ulegającym zniszczeniu w obrębie nowotworu tego typu i zjawisko to powinno być dostrzegalne już we wczesnym okresie nowotworzenia.

W celu wyjaśnienia czy uszkodzenie osłonek mielinowych w obrębie skąpodrzewiaków ma przyczyny pierwotne czy też wynika z procesu wstecznego dotyczącego całego podłoża, podjęto badania doświadczalnych skąpodrzewiaków mózgu myszy o różnych stopniach złośliwości.

## MATERIAŁ I METODA

Materiał obejmuje mózgi 10 myszy C3H, u których rozwinęły się skąpodrzewiaki OUN po implantacji metylocholantrenu wg uprzednio opisanej metody (Kroh 1969). Skrawki parafinowe barwiono rutynowo hematoksyliną i eozyną, fioletem krezyłu, wg metody Klüvera-Barrery, Gridleya, a mrożone wg Cajala, oraz dodatkowo mucykarminem.



*Ryc. 1.* Skąpodrzewiak z komórek izomorficznych. Uszkodzone pęczki włókien mielinowych w podłożu z rzadkokomórkowym naciekiem nowotworowym. Klüver-Barrera. Pow. 400×.

*Fig. 1.* Isomorphic oligodendroglioma. Partial destruction of myelin fibers in nervous tissue moderately infiltrated with tumor cells. Klüver-Barrera. ×400.

*Ryc. 2.* Skąpodrzewiak z przewagą komórek wielokształtnych. Naciek w spoidle wielkim. Grupy komórek w polach pozbawionych mieliny. Klüver-Barrera. Pow. 400×.

## WYNIKI

Przypadki wybrano spośród większej grupy skąpodrzewiaków. Wybór ograniczono do mózgow, w których nacieki nowotworowe nie spowodowały całkowitego zniszczenia tkanek podłoża, można było ustalić położenie guza w stosunku do struktur anatomicznych, a nowotwór zajmował istotę szarą i białą. Wielkość nowotworów podlegała znacznym wahaniom. Guzy zajmowały czasem jedynie korę i spoidło wielkie, czasem całą półkulę, przerastając przestrzenie płynowe mózgu. Najbardziej znamienne dla ustalenia rozpoznania były komórki małe, okrągłe o jasnej cytoplazmie, które występowały niekiedy w ograniczonych polach nowotworu. Strukturę plastra miodu obserwowano prawie we wszystkich przypadkach, ale obejmowała ona różnej wielkości obszary guza.

Tylko jeden nowotwór składał się z izomorficznych komórek z jasnym halo i typowej strukturze. Gęstość nacieku komórkowego była mierna i dobrze widoczny neuropil miał wygląd niezmienny z wyjątkiem wiązek włókien mielinowych. Wiązki te miały przebieg falisty, były rozluźnione i często w ich obrębie były widoczne małe, puste przestrzenie (ryc. 1). Włókna pęczków barwiły się nierówno, a na ich przebiegu widoczne były poszerzenia. W polach obserwowanych zmian w istocie białej liczba naczyń włosowatych była umiarkowana, a ich ściany i otoczenie niezmiennione. Niekiedy w pobliżu naczyń występowały drobne krwinkotoki.

Częstszą odmianę stanowiły skąpodrzewiaki o przewodzie komórek pleomorficznych, które bądź układały się w większe skupienia, bądź naprzemian z izomorficznymi komórkami nowotworowymi. W tych guzach, część podłoża utworzona przez istotę białą była dyskretnie nacieczona, włókna mielinowe zachowały układ równoległy i w większości pól były niezmiennione. Obserwowano także pola podłoża prawie pozbawione włókien z małymi grupami komórek (ryc. 2) lub puste, poszerzone przestrzenie międzypęczkowe z ciągami komórek (ryc. 3). Przestrzenie okołonaczyniowe w tych obszarach były miernie

---

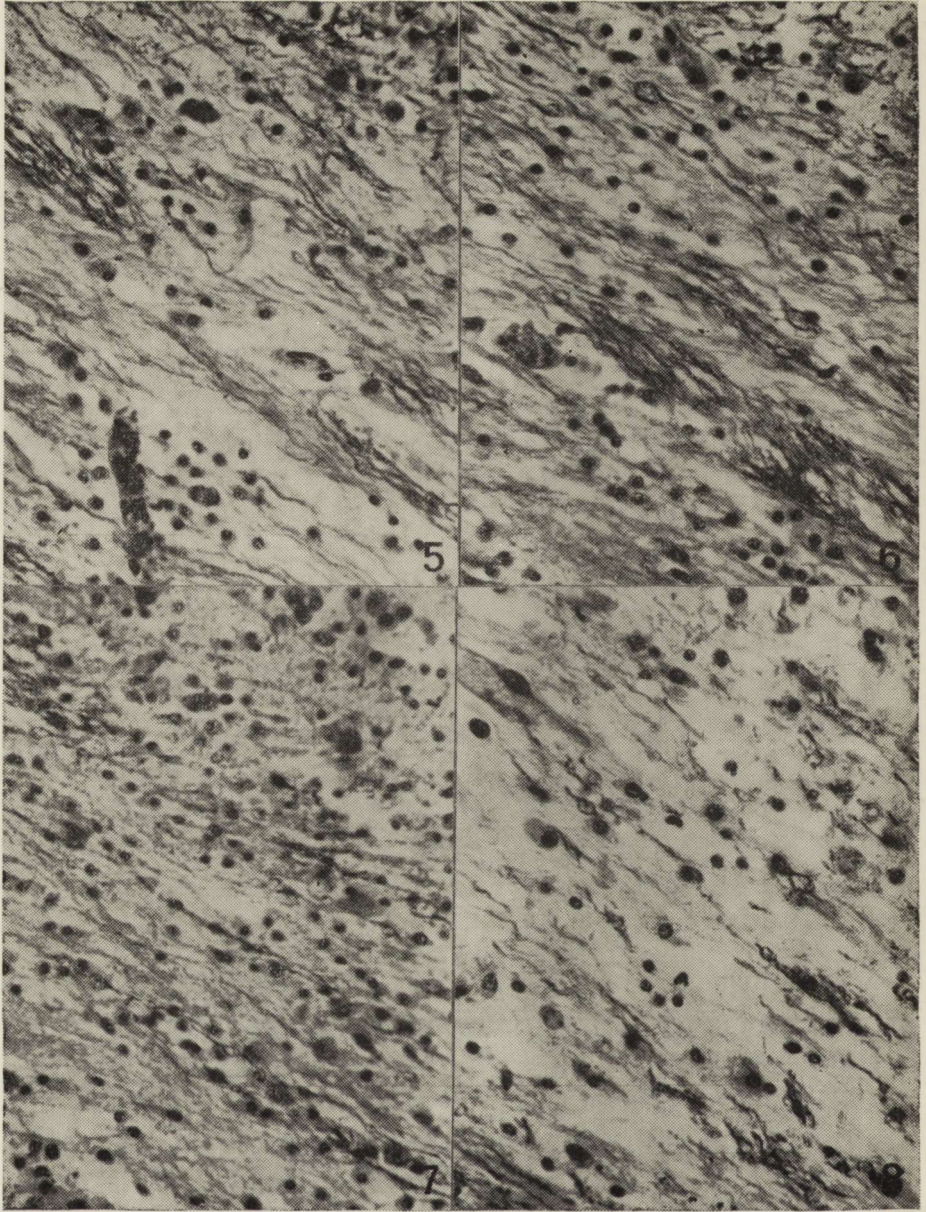
*Fig. 2.* Oligodendroglioma with predominance of polymorphic cells. Infiltration of corpus callosum. Nest of cells in the tissue deprived of myelin. Klüver-Barrera.  $\times 400$ .

*Ryc. 3.* Skąpodrzewiak z przewagą komórek wielokształtnych. Nacieki w spoidle wielkim. Komórki nowotworowe w przestrzeniach międzypęczkowych i na tle rozjaśnionej mieliny. Klüver-Barrera. Pow.  $400\times$ .

*Fig. 3.* Oligodendroglioma with predominance of polymorphic cells. Infiltration of corpus callosum. Neoplastic cells in interfascicular spaces and upon faded out myelin. Klüver-Barrera.  $\times 400$ .

*Ryc. 4.* Skąpodrzewiak z przewagą komórek wielokształtnych. Fragmentacja i dezintegracja włókien mielinowych spoidła wielkiego. Klüver-Barrera. Pow.  $400\times$ .

*Fig. 4.* Oligodendroglioma with predominance of polymorphic cells. Fragmentation and disintegration of myelin fibers of corpus callosum. Klüver-Barrera.  $\times 400$ .



*Ryc. 5.* Skąpodrzewiak z przewagą komórek globoidalnych. Naciek w spoidle wielkim ze zblednięciem, segmentacją i fragmentacją włókien mielinowych. Klüver-Barrera. Pow. 400×.

*Fig. 5.* Oligodendroglioma with predominance of globoid cells. Infiltration of corpus callosum. Fading out, segmentation and fragmentation of myelin fibers. Klüver-Barrera. ×400.

*Ryc. 6.* Skąpodrzewiak z przewagą komórek globoidalnych. Segmentacja i poszerzenia włókien mielinowych. Klüver-Barrera. Pow. 400×.

*Fig. 6.* Oligodendroglioma with predominance of globoid cells. Segmentation and distention of myelin fibers. Klüver-Barrera. ×400.

fragmentacja pojedynczych włókien mielinowych i plackowate ubytki w wiązках włókien były w niektórych przypadkach wyraźne, ale nie stanowiły reguły.

W pojedynczych guzach większość stanowiły komórki globoidalne o wyraźnej błonie komórkowej i eozynochłonnej, jednorodnej lub piankowatej cytoplazmie. Obwodowe nacieczenie nowotworowe istoty białej powodowało rozsuniecie i zblednięcie włókien mielinowych (ryc. 5). Zachowywały one swój równoległy układ, ale wykazywały odcinkowe, balonowate poszerzenia (ryc. 6). Ani w obwodowych, ani w centralnych częściach guza nie obserwowano poszerzenia przestrzeni okołonaczyniowych.

Inny charakter miały skąpodrzewiaki, w których przeważały komórki o drobnych ciemnych jądrach i niewidocznej cytoplazmie. Komórki te układały się przypadkowo lub na obwodzie nowotworu, a pomiędzy nimi widniały półka typu ortoplastycznego. W polach istoty białej nacieczonej przez komórki anaplastyczne, pojedyncze włókna mielinowe były segmentowane, balonowato zniekształcone (ryc. 7). natomiast inne wiązki włókien ulegały całkowitej dezintegracji (ryc. 8). Plackowate ubytki włókien w poprzecznych przeciętych wiązках występowały znacznie wyraźniej w otoczeniu nowotworu w półkuli zajętej niż przeciwległej do ogniska nowotworowego.

#### OMÓWIENIE

Zmiany patologiczne w obrębie tkanki nerwowej nacieczonej przez nowotwór dotyczą wszystkich elementów podłoża i powszechnie uważa się, że nasilenie tych zmian zależy w głównej mierze od stopnia zaawansowania procesu nowotworowego. Poza zmianami zachodzącymi w poszczególnych układach komórkowych (odczynowy astroglej) mało uwagi poświęcono udziałowi elementów morfologicznych wciągniętych w obszar nowotworzenia, lecz niezdolnych do czynnego udziału ani w procesie nowotworowym ani odczynowym. Te elementy, jak np. mielina skazane są na bierny udział i stopniowe uleganie zmianom wstecznym. Zülch (1965) na podstawie kilku przypadków ludzkich wyraził spostrzeżenie, że włókna osiowe w obrębie skąpodrzewiaków poszerzone. W polach o znacznie większym zagęszczeniu komórek nowotworowych pojedynczo leżące włókna barwiły się nierównomiernie. Na poprzecznych przekrojach pęczki włókien często wykazywały drobne, plackowate, puste przestrzenie. Po stronie przeciwnej, wolnej od nowotworu półkuli,

---

*Ryc. 7.* Skąpodrzewiak anaplastyczny. Wyrodnijące włókna mielinowe z odcinkowymi poszerzeniami. Klüver-Barrera. Pow. 400×.

*Fig. 7.* Anaplastic oligodendroglioma. Degenerating myelin fibers with segmental distentions. Klüver-Barrera. × 400.

*Ryc. 8.* Skąpodrzewiak anaplastyczny. Zniszczenie mieliny. Klüver-Barrera. Pow. 400×.

*Fig. 8.* Anaplastic oligodendroglioma. Disintegration of myelin. Klüver-Barrera. × 400.

wydają się być dłużej zachowane niż osłonki mielinowe, a ponadto, że resztki zwyrodniałych osłonek w głębi utkania tych guzów zanikają szybciej niż w gwiazdziakach. Osłonki mielinowe utrzymują się natomiast w częściach brzeżnych skąpodrzewiaków i tak jak w otoczeniu innych guzów wykazują zmiany charakterystyczne dla obrzmienia.

Za jedną z głównych przyczyn powstawania zmian wstecznych w nowotworach mózgu uważa się nieprawidłowo zbudowane ściany naczyń, które na skutek proliferacji, zmian wstecznych w ścianach i zaburzeń autoregulacji nie posiadają własności barierowych, co w konsekwencji prowadzi do ciągłego przenikania płynnych składników krwi do mięszu guza i otaczającej go tkanki mózgu. Najprostszym wykładnikiem tego stanu jest poszerzenie przestrzeni okołonaczyniowych i gromadzenie się płynu obrzękowego w neuropilu z tworzeniem jeziorek przynaczyniowych. Dalszym następstwem może być powstawanie zmian wstecznych w komórce nowotworowej, w przypadku skąpodrzewiaków pod postacią zwyrodnienia śluzowego, aż do śmierci komórki.

Również w glejakach doświadczalnych za przyczynę powstawania ognisk martwicy uważa się wadliwe ukształtowanie naczyń nowotworu, które powoduje zwolnienie przepływu aż do zamknięcia światła, pęknięcie ścian, wynaczynienia, wzrastające niedotlenienie tkanki. Przyczyny śmierci indywidualnych, rozproszonych komórek nowotworowych są bardziej złożone, a jedną z nich jest niedostateczne odżywienie (Lantos, Pilkington 1978).

W myśl poglądów (Zülch 1965), że zniszczenie tkanki postępuje gwałtowniej w nowotworach złośliwych niż w przebiegających bardziej umiarkowanie, poszukiwano w przedstawionym materiale oznak uszkodzenia osłonek mielinowych zależnie od stopnia złośliwości poszczególnych rodzajów skąpodrzewiaków. Ich charakter reprezentuje różne stopnie złośliwości i wg klasyfikacji Głuszcza (1972) można je zaliczyć zależnie od typu wzrostu do ortoplastycznych (z przewagą tendencji histofornatycznych), anoplastycznych (z przewagą proliferacji nad różnicowaniem komórek) i dysplastycznych (z przewagą aberantnego różnicowania i dojrzwania). We wszystkich przypadkach obserwowano zmiany, obrazujące różne stopnie uszkodzenia pęczków włókien mielinowych, od zblednięcia do fragmentacji osłonek. Zmiany te występowały tak w obrębie luźnego nacieku nowotworowego, jak i na obrzeżu guzów. Wydają się one oznakami obrzęku, chociaż nieznaczne poszerzenia przestrzeni okołonaczyniowych były niewspółmierne do obrazu mieliny. Według Raine i Schaumburga (1977) demielinizacja może występować na skutek bezpośredniego uszkodzenia osłonek lub też wytwarzających je komórek. W przypadku skąpodrzewiaków wywołanych wszczepionym karcinogenem istnieje pewność, że w zajętych przez nowotwór obszarze mózgu mielina była prawidłowo wytworzona. W poprzednich badaniach nie stwierdzono morfologicznych wykładników uszkadzającego działania karcinogenu na oligo-



dendroglej, poza obrzękiem istoty białej w pierwszych tygodniach po implantacji (Kroh 1969). Brak mieliny w głębokich częściach skąpodrzewiaków można tłumaczyć, poza obrzękiem, uszkodzeniem mechanicznym podłoża przez komórki guza. Komórki skąpodrzewiaków zwierzęcych posiadają tylko krótkie, poronne wypustki (Koestner i wsp. 1971; Kleihues i wsp. 1976) i wytwarzanie mieliny przez te komórki nie było obserwowane. W prawidłowych warunkach każda komórka oligodendrogleju, przy pomocy swoich licznych wypustek, mielinizuje szereg włókien nerwowych pozostając w małym oddaleniu (Raine 1977), a więc uszkodzenie przez obrzęk może dotyczyć również ciał nienowotworowych oligodendrocytów, pozostających jeszcze w obszarze nowotworu i w ten sposób powodować uszkodzenie mieliny.

W sferze spekulacji pozostanie pytanie, czy uszkodzenie mieliny w nowotworach pochodzenia oligodendroglejowego nie jest częściowo wynikiem transformacji nowotworowej oligodendrogleju, którego wypustki tracą zdolność pełnienia swoich funkcji. Wskazują na to dane morfologiczne dotyczące transformacji komórki oligodendrogleju pod wpływem etylnitrozomocznika, w trakcie której komórka tworzy bardzo liczne poronne wypustki, zaś ciało komórki powiększa się i zawiera wtręty odpowiadające wyglądem rozpadłym osłonkom mielinowym (Kroh, Cervos-Navarro — w druku).

Г. Крох

#### МИЕЛИН В МОЗГОВЫХ ОЛИГОДЕНДРОГЛИОМАХ У МЫШИ

##### Резюме

Цель настоящего исследования было выяснить, является ли повреждением миелиновых оболочек в олигодендроглиомах результатом первичных изменений, или результатом регрессивных изменений нейропиля.

В световом микроскопе было изучено 10 разных со степенью дифференциации олигодендроглиомы в мозге мыши, вызванный с помощью метилхолантреном.

Выяснено, что в изо- и полиморфичных олигодендроглиомах, а также с преимуществом глобоидальных и анапластичных клеток, интенсивная дегенерация миелиновых оболочек видимо связано с густотой опухолевой инфильтрацией, чем со степенью или направлением дифференциацией опухолевых клеток.

H. Kroh

#### MYELIN IN CEREBRAL OLIGODENDROGLIOMAS IN MICE

##### Summary

The purpose of the work is the evaluation of myelin destruction in oligodendrogliomas either as the result of primary changes in oligodendroglia or as resulting from regressive changes in neuropil.

Ten oligodendrogliomas of various degree of differentiation induced in mice brain with methylcholantrene have been studied in light microscope.

It has been established that in iso- and polymorphic oligodendrogliomas as well as in those with predominance of globoid and anaplastic cells the intensity of myelin degeneration is connected rather with the density of neoplastic infiltration and with edema of neuropil than with the degree or the course of neoplastic cell differentiation.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Gluszczyk A.: The grouping system of supratentorial gliomas according to their dominant biomorphological features. *Acta neuropath. (Berl.)* 1972, 22, 110—126.
2. Kleihues P. P. L., Lantos P. L., Magee P. N.: Chemical carcinogenesis in the nervous system. W: *International Review of Experimental Pathology*. Red. M. A. Epstein, Academic Press, N. York, S. Francisco, London 1976, 15, 153—232.
3. Koestner A., Swenberg J. A., Wechsler W.: Transplacental production with ethylnitrosourea of neoplasms of the nervous system in Sprague-Dawley rats. *Am. J. Path.* 1971, 63, 37—50.
4. Kroh H.: Preneoplastic changes in the central nervous system of mice induced by methylcholantrene. *Neuropat. Pol.* 1969, 7, 55—72.
5. Kroh H., Cervos-Navarro J.: Transformation of oligodendroglia; an para or preneoplastic effect of ethylnitrosourea in mice brain (w druku).
6. Lantos P. L., Pilkington G. J.: Cell degeneration and necrosis in experimental gliomas. *Br. J. exp. Path.* 1978, 59, 85—92.
7. Raine C.: Morphological aspects of myelin and myelination. W: *Myelin*. Red. P. Morell. Plenum Press. N. York 1977, 14.
8. Raine C., Schaumburg H.: The neuropathology of myelin disease. W: *Myelin*. Red. P. Morell Plenum Press, N. York 1977, 271—272.
9. Zülch K. J., Christensen E.: *Handbuch der Neurochirurgie. III. Pathologische Anatomie der raumbeengenden intrakraniellen Prozesse*. Springer Verlag., Berlin, Gottingen, Heidelberg 1965, 89, 197.

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

Komitet Budowy Domu Lekarza Seniora pragnie poinformować wszystkich zainteresowanych realizacją pięknego i ważnego dzieła — przystąpi dla wysłużonego lekarza, że po uzyskaniu wstępnej lokalizacji terenu dla Domu w Miedzeszynie-Radości budowa została umieszczona w 5-letnim planie inwestycyjnym Ministerstwa Zdrowia.

Projekt Domu wykonał w darze prof. Stanisław Bieńkuński, dziekan wydziału architektury Politechniki Warszawskiej, wraz z córką mgr inż. Magdaleną Bieńkuńską.

Ostatnio Komitet otrzymał konto dewizowe:

PKO I Oddział W-wa, ul. Czackiego 21 nr 999896, zaś nr konta krajowego został zmieniony na NBP XV Oddział W-wa

Nr 1153-201696-133-11

WSZYSCY LEKARZE BUDUJĄ DOM LEKARZA SENIORA

wpłacając na ten cel dary na konto Komitetu Budowy DLS

## SPIS TREŚCI

A. Fidziańska, I. Niebrój-Dobosz, J. Rafałowska, B. Ryniewicz: Korelacyjne badania morfologiczne i biochemiczne w przypadku panencephalomyelitis subacuta progressiva wywołanym przez paramyxovirus. . . . .	293
E. Tarnowska-Dziduszko, D. Ostrowska: Analiza kliniczno-morfologiczna wtórnych krwotoków do pnia mózgu w przebiegu nadnamiotowych ognisk rozmiękania . . . . .	307
R. Pluta: Zmiany pO <sub>2</sub> , pCO <sub>2</sub> i pH w tętniczej krwi królika w całkowitym 30-min. niedokrwieniu mózgowia . . . . .	323
K. Renkawek: Lokalizacja ultrastrukturalna enzymów nukleotydowych w hodowli organotypowej mózdzku w warunkach prawidłowych i w niedotlenieniu . . . . .	335
W. Hilgier: Zawartość amoniaku oraz aktywność syntetazy glutaminowej i glutaminazy w mózgu w doświadczalnej encefalopatii wątrobowej . . . . .	351
E. Matyja, K. Renkawek, M. Śmiałek, M. J. Mossakowski: Przypadek encefalopatii wątrobowej o obrazie neuropatologicznym choroby Wilsona . . . . .	359
U. Wysmyk-Cybula, J. Albrecht: Zawartość kwasu $\gamma$ -aminomasłowego (GABA) oraz aktywność dekarboksylazy glutaminowej (GAD) w mózgu szczura w warunkach doświadczalnej hipoglikemii . . . . .	369
M. Śmiałek, M. J. Mossakowski: Patomorfologia ośrodkowego układu nerwowego szczurów w zatruciu związkami manganu . . . . .	377 ✓
A. Godlewski: Zmiany morfologiczne i histoenzymatyczne neurogleju w mózgu szczura pod wpływem wysokich dawek cynkotoxu . . . . .	389
M. Pietrzak: Wpływ długotrwałego podawania ZnCl <sub>2</sub> na neurosekrecję układu podwzgórzowo-przysadkowego . . . . .	399
L. Dydyk, J. Borowicz, M. Klonowska, B. Schmidt-Sidor: Ultrastruktura rdzeniaka u dzieci . . . . .	415
H. Kroh: Mielina w skąpodrzewiakach mózgu myszy . . . . .	429

## СО Д Е Р Ж А Н И Е

А. Филянска, И. Небруй-Добош, Я. Рафаловска, Б. Рыневич: Коррелятивные морфологические и биохимические исследования в <i>panencephalomyelitis subacuta progressiva</i> , вызванным парамиксовирусом . . .	293
Е. Тарновска-Дзидушко, Д. Островска: Клиническо-морфологический анализ вторичных кровотечений до ствола мозга в течении супратенториальных фокусов маляции . . .	307
Р. Плюта: Изменения $pO_2$ , $pCO_2$ и pH артериальной крови кролика в полной 30-минутной ишемии головного мозга . . .	323
К. Ренкавек: Ультраструктурная локализация нуклеотидных энзимов в органотиповой культуре мозжечка в нормальных условиях и во время гипоксии . . .	335
В. Хильгер: Содержание аммиака и активность глутаминатсинтетазы и глутаминазы в мозге в экспериментальной печеночной энцефалопатии . . .	351
Е. Матья, К. Ренкавек, М. Сьмялек, М. Я. Моссаковски: Случай печеночной энцефалопатии с нейропатологической картиной болезни Уильсона . . .	359
У. Высмык-Цибуля, Я. Альбрехт: Содержание аминокислотной кислоты (GABA) и активность глутаматдекарбоксилазы (GAD) в мозге крысы в условиях экспериментальной гипогликемии . . .	369
М. Сьмялек, М. Я. Моссаковски: Патоморфология центральной нервной системы крыс в отравлении соединениями мангана . . .	377
А. Годлевски: Морфологические и гистохимические изменения нейроглии в мозге крысы, вызванные большими дозами Цинкотокса . . .	389
М. Петшак: Влияние продолжительной подачи $ZnCl_2$ на нейросекрецию гипоталамо-гипофизарной системы . . .	399
Л. Дыдык, Е. Борович, М. Клёновска, Б. Шмидт-Сидор: Ультраструктура медуллобластомы у детей . . .	415
Г. Крох: Миелин в мозговых олигодендроглиомах у мыши . . .	429

## CONTENTS

A. Fidziańska, I. Niebrój-Dobosz, J. Rafałowska, B. Ryniewicz: Correlative morphological and biochemical studies in a case of subacute progressive panencephalomyelitis caused by paramyxovirus . . . . .	293
E. Tarnowska-Dziduszko, D. Ostrowska: Clinical and morphological analysis of secondary hemorrhages to cerebral stem accompanying supratentorial malacia . . . . .	307
R. Pluta: Changes of pO <sub>2</sub> , pCO <sub>2</sub> and pH in the arterial blood of rabbit in 30-minute complete cerebral ischemia . . . . .	323
K. Renkawek: Ultrastructural localization of nucleotide enzymes in organotypic cerebellar culture in conditions of normoxia and anoxia . . . . .	335
W. Hilgier: The ammonia content and glutamine synthetase and glutaminase activity in brain in experimental hepatic encephalopathy . . . . .	351
E. Matyja, K. Renkawek, M. Śmialek, M. J. Mossakowski: A case of hepatogenic encephalopathy with neuropathological features of Wilson's disease . . . . .	359
U. Wysmyk-Cybula, J. Albrecht: The $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) content and glutamic acid decarboxylase (GAD) activity in rat in the conditions of experimental hypoglycemia . . . . .	369
M. Śmialek, M. J. Mossakowski: Neuropathology of manganese intoxication in rats	
A. Godlewski: Morphological and histoenzymatic changes in rat brain neuroglia following high doses of „cynkotox” . . . . .	377
M. Pietrzak: Effect of long-term administration of ZnCl <sub>2</sub> on neurosecretion in the hypothalamo-hypophyseal system . . . . .	389
L. Dydyk, J. Borowicz, M. Klonowska, B. Schmidt-Sidor: Ultrastructure of medulloblastoma in children . . . . .	415
H. Kroh: Myelin in cerebral oligodendrogliomas in mice . . . . .	429

## WARUNKI PRENUMERATY

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

- do dnia 25 listopada na I półrocze roku następnego i na cały rok następny,
- do 10 czerwca na II półrocze roku bieżącego.

Cena prenumeraty:

półrocznie	50 zł
rocznie	100 zł

Jednostki gospodarki uspołecznionej, instytucje, organizacje i wszelkiego rodzaju zakłady pracy zamawiają prenumeratę w miejscowych Oddziałach RSW „Prasa-Książka-Ruch”, w miejscowościach zaś, w których nie ma Oddziałów RSW — w urzędach pocztowych. Czytelnicy indywidualni opłacają prenumeratę wyłącznie w urzędach pocztowych i u doręczycieli.

Prenumeratę ze zleceniem wysyłki za granicę przyjmuje RSW „Prasa-Książka-Ruch” Centrala Kolportażu Prasy i Wydawnictw, ul. Towarowa 28, 00-958 Warszawa, konto NBP XV Oddział w Warszawie nr 1153-201045-139-11. Prenumerata ze zleceniem wysyłki za granicę jest droższa od prenumeraty krajowej o 50% dla zleceniodawców indywidualnych i o 100% dla zleceniodawców instytucji i zakładów pracy.

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**