

ep 2

STOWARZYSZENIE NEUROPATOLOGÓW POLSKICH

NEUROPATOLOGIA POLSKA

TOM XIII

1975

ZESZ. 1

WARSZAWA

NEUROPATHOLOGIA POLSKA

KWARTALNIK

Tom XIII

Styczeń – Marzec 1975

Nr 1

KOMITET REDAKCYJNY

Janusz Groniowski (Warszawa), *Hanna Jędrzejowska* (Warszawa), *Jerzy Kulczycki* (Szczecin), *Adam Kunicki* (Warszawa), *Tadeusz Majdecki* (Warszawa), *Danuta Markiewicz* (Pruszków), *Mirosław Mossakowski* (Warszawa), *Ewa Osetowska* (Mińsk Mazowiecki), *Mieczysław Wender* (Poznań), *Irmina Zelman* (Warszawa)

PRZY WSPÓŁPRACY

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

REDAKCJA ŚCISŁA

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

REDAKCJA

Redaktor Naczelny: *Irmina Zelman*
Sekretarz Redakcji: *Tadeusz Majdecki*
Sekretarz techniczny: *Władysława Smolińska*

ADRES REDAKCJI

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

Wydawca

PAŃSTWOWY ZAKŁAD WYDAWNICTW LEKARSKICH

MIROSLAW J. MOSSAKOWSKI, ZUZANNA KRAŚNICKA,
KRYSTYNA RENKAWEK

EFFECT OF SODIUM GLUTAMATE ON THE MORPHOLOGY AND HISTOCHEMISTRY OF EXPERIMENTAL GLIOPATHY INDUCED IN VITRO BY AMMONIA AND SODIUM MALONATE

Department of Neuropathology, Medical Research Centre Polish Academy of Sciences
Head: Prof. M. J. Mossakowski M. D.

In a previous *in vitro* study Opalski cells and Alzheimer cells, type II, similar to those occurring in spontaneous and experimental hepato-cerebral pathology, were found to appear under the influence of exogenous copper and ammonia salts and sodium malonate, added to the standard culture medium (Mossakowski et al., 1970; Renkawek et al., 1973). Inhibition of the gliotoxic effect of the above mentioned substances by alfa-oxoglutarate and a remarkable reduction of glutamic dehydrogenase activity in the pathological glial cells led us to the conclusion that insufficient detoxication of ammonia is the main pathogenic factor of Wilsonian and hepatogenic gliopathy (Mossakowski et al., 1972; Renkawek et al., 1973).

As glutamate is one of the steps of natural detoxication of ammonia into glutamine in the central nervous system, it seemed interesting to study its influence on the formation and morphological and histoenzymatic picture of experimental gliopathy due to ammonia and malonate and to compare it with that of alfa-oxoglutarate.

MATERIAL AND METHODS

Experiments were carried out on *in vitro* cultures of glial tissue from the cerebellum of newborn rats (Kraśnicka, Mossakowski, 1965). The studies were performed in four experimental and two control groups of 1- and 3-week-old cultures.

I. **Experimental group.** The cultures of appropriate age were transferred for 24—120 hrs to standard medium, containing ammonium chloride in a final concentration of 100 mg percent.

II. Experimental group. Cultures of the same age were placed for 3—9 days in medium containing sodium malonate in a concentration of 1 mM/13.5 ml medium *).

III. Experimental group. The cultures were treated identically as those in group I, with the only difference consisting in the presence of sodium 1-glutamate in a 1 mM concentration in the medium.

IV. Experimental group. Cultures were grown in conditions analogous to those in group II, but the medium contained additionally 1 mM sodium 1-glutamate.

Two control groups consisted of cultures of appropriate age grown in standard medium and in that with addition of sodium 1-glutamate in the concentration used in experimental group. The latter control has been applied in order to ascertain if sodium glutamate itself has any effect on the morphological and histoenzymatic picture of glial cells *in vitro*.

Cultures of experimental groups I and III were kept in appropriate medium for 24, 48, 72 and 120 hrs and then used for histological and histochemical studies.

Cultures from groups II and IV were grown in experimental medium for 3, 6 and 9 days. The difference in incubation time resulted from the slower and weaker cytotoxic effect of sodium malonate, observed in our previous investigations. The duration of the culture in medium containing sodium glutamate alone was analogous with that in experimental cultures of groups III and IV. The cultures of all experimental and control groups were stained by the methods mentioned in Table 1.

Table 1. Histological and histochemical methods used

Toluidine blue	
Cresyl violet	
Hematoxylin-eosin	
Sudan black B	
Periodic acid Schiff (PAS)	
Alcian blue method (Lison)	
Succinic dehydrogenase activity	— Scarpelli et al. (1958)
Glutamate dehydrogenase activity	— Pearse et al. (1961)
Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity	— Hess et al. (1958)

RESULTS

The morphological and histochemical picture of glial cultures, grown in medium containing exogenous ammonia (group I) and sodium malonate

*) Malonate concentration was estimated by the complete inhibition of succinic dehydrogenase activity in glial cells *in vitro*.

nate (group II) did not differ from that known from our previous investigations (Mossakowski et al., 1970; Renkawek et al., 1973). Numerous pathological glial cells in the form of both Opalski cells and Alzheimer cells type II were present. Opalski cells were large, oval or round with abundant granular cytoplasm and excentrically placed dark, small nuclei. Multinuclear forms were also present. Their cytoplasm contained abundant, coarsely granular PAS-positive material, as well as fine granules positively stained with alcian blue. High activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase, and weak of both succinic and glutamic dehydrogenases was the most common histoenzymatic feature. Weaker activity of succinic dehydrogenase was typical of Opalski cells from cultures grown in medium containing sodium malonate, while in those kept with exogenous ammonia reduction of glutamate dehydrogenase activity was more pronounced.

In both experimental groups prolonged exposure to the action of cytotoxic agents resulted in an increased number of Opalski cells and Alzheimer cells type II. At the same time non-specific degeneration of all cellular elements, present in the cultures was visible, this being more significant in cultures grown with exogenous ammonium chloride. Intermediate forms between Opalski cells and normal astrocytes were present in both experimental groups. They were more numerous in cultures grown with sodium malonate.

Cultures grown in medium containing both ammonium chloride and sodium glutamate (group III) varied significantly in their morphological and histoenzymatic picture from those kept with ammonium chloride alone, although they also contained both Opalski and Alzheimer cells. The number of cells of the former kind was greatly reduced. Alzheimer genous ammonia reduction of glutamate dehydrogenase activity was more pronounced.

In 1-week-old cultures Opalski cells appeared as early as after 24 hrs (Fig. 1), but they were present only in part of the cultures. They were seen only in 7 of 15 cultures. They were numerous (more than 10 per culture) in 4 cultures, while in the other 3 their number per culture was less than five. After 48 hrs numerous Opalski cells were found in 3 of the 19 cultures examined, while single ones were seen in other 5 cultures. This proportion was significantly smaller in cultures kept in medium containing sodium glutamate together with exogenous ammonia for 120 hrs. Opalski cells were found only in 2 of 19 cultures, but they were not in any of them numerous. Morphology and histochemistry of Opalski cells in this experimental group was identical with that described in groups I and II (Figs. 1, 2). In this age group Alzheimer cells type II were not present at any time of observation.

In 3-week-old cultures the frequency and number of Opalski cells was even less, for instance in the 22 cultures examined at 72 hr of experiment they were present only in 8, occurring always in a number less than 5 per culture. After 120 hrs 4 cultures of the total 22 contained single hypertrophied giant cells. In contrast to the previous age group, 3-week-old cultures contained numerous Alzheimer type II cells, appearing at 48 hrs of experiment (Fig. 3).

Small, round, glial cells lacking processes and showing histochemical properties identical with Opalski cells formed a new pathological feature, not seen in our former observations (Figs. 3, 4). They differed in their shape, size, histochemical properties and lack of fatty degeneration from degenerating astrocytes. The lack of even rudimentary cellular processes and their diameter distinguished them from intermediate forms between normal astrocytes and Opalski cells. They were numerous in 1-week-old cultures, and less common in 3-week-old ones. Prolonged maintenance in medium containing both ammonium chloride and sodium glutamate resulted in significant reduction of their number.

In addition to the above described cellular forms, cultures of both age groups contained numerous glial cells revealing features of non-specific degeneration. Many of them showed significant process fragmentation; their cytoplasm was filled with sudanophilic lipid droplets. Part of the glial population was not changed, showing morphological and histochemical properties typical for glia cultured *in vitro* (Renkawek, 1972).

Fig. 1. One-week culture, 24 hrs in a medium containing ammonia and sodium glutamate. Opalski cell and numerous transitory cells. H—E. $\times 400$.

Ryc. 1. Hodowla 1-tygod., 24 godz. w medium z dodatkiem amoniaku i glutaminianu sodu. Komórka Opalskiego i liczne komórki przejściowe. H—E. Pow. 400 \times .

Fig. 2. Three-week culture, 72 hrs in a medium containing ammonia and sodium glutamate. Glutamate dehydrogenase. Opalski cell with a markedly decreased enzyme activity. $\times 400$.

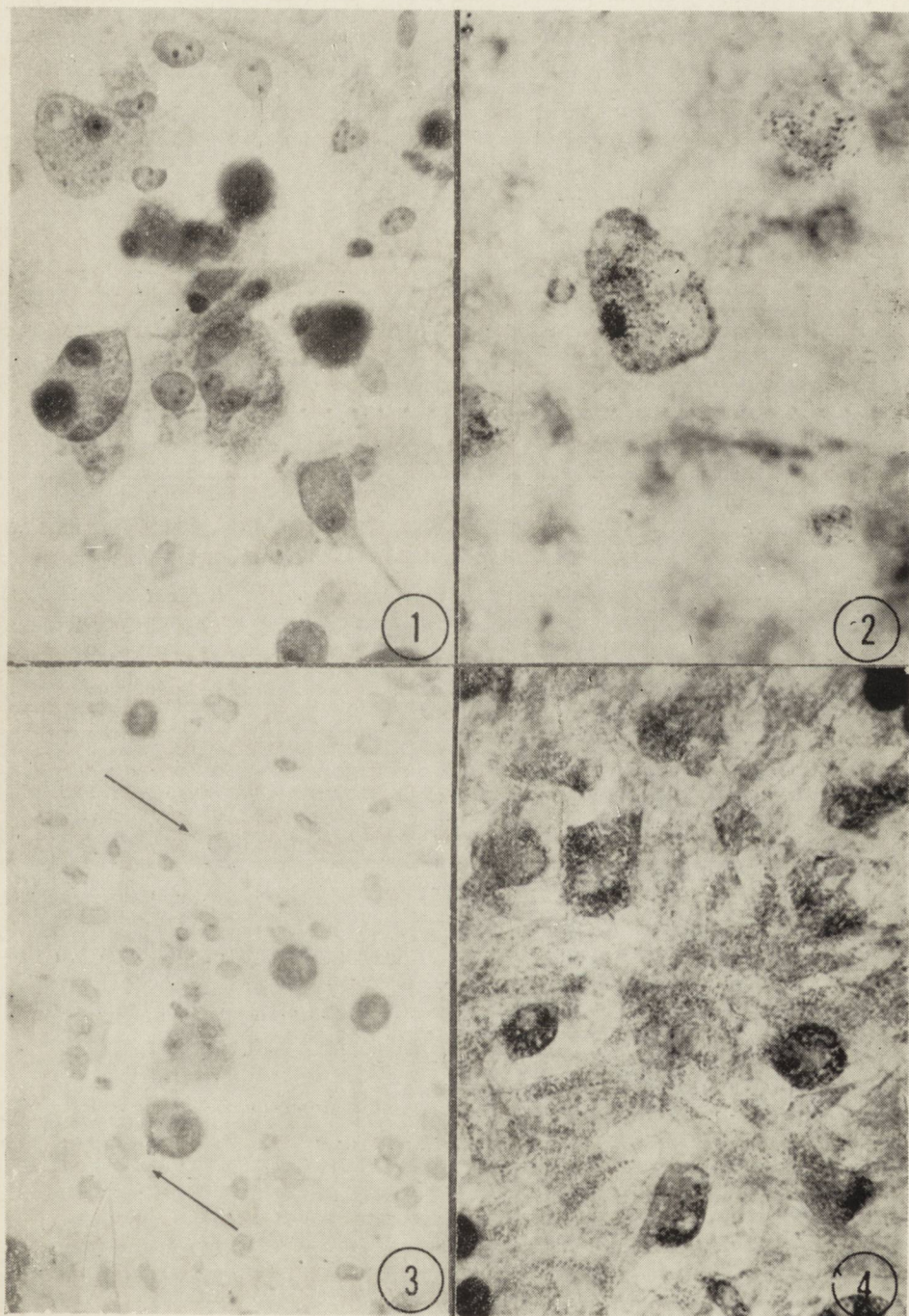
Ryc. 2. Hodowla 3-tygod., 72 godz. w medium z dodatkiem amoniaku i glutaminianu sodu. Dehydrogenaza glutaminianowa. Komórka Opalskiego ze znacznie obniżoną aktywnością enzymatyczną. Pow. 400 \times .

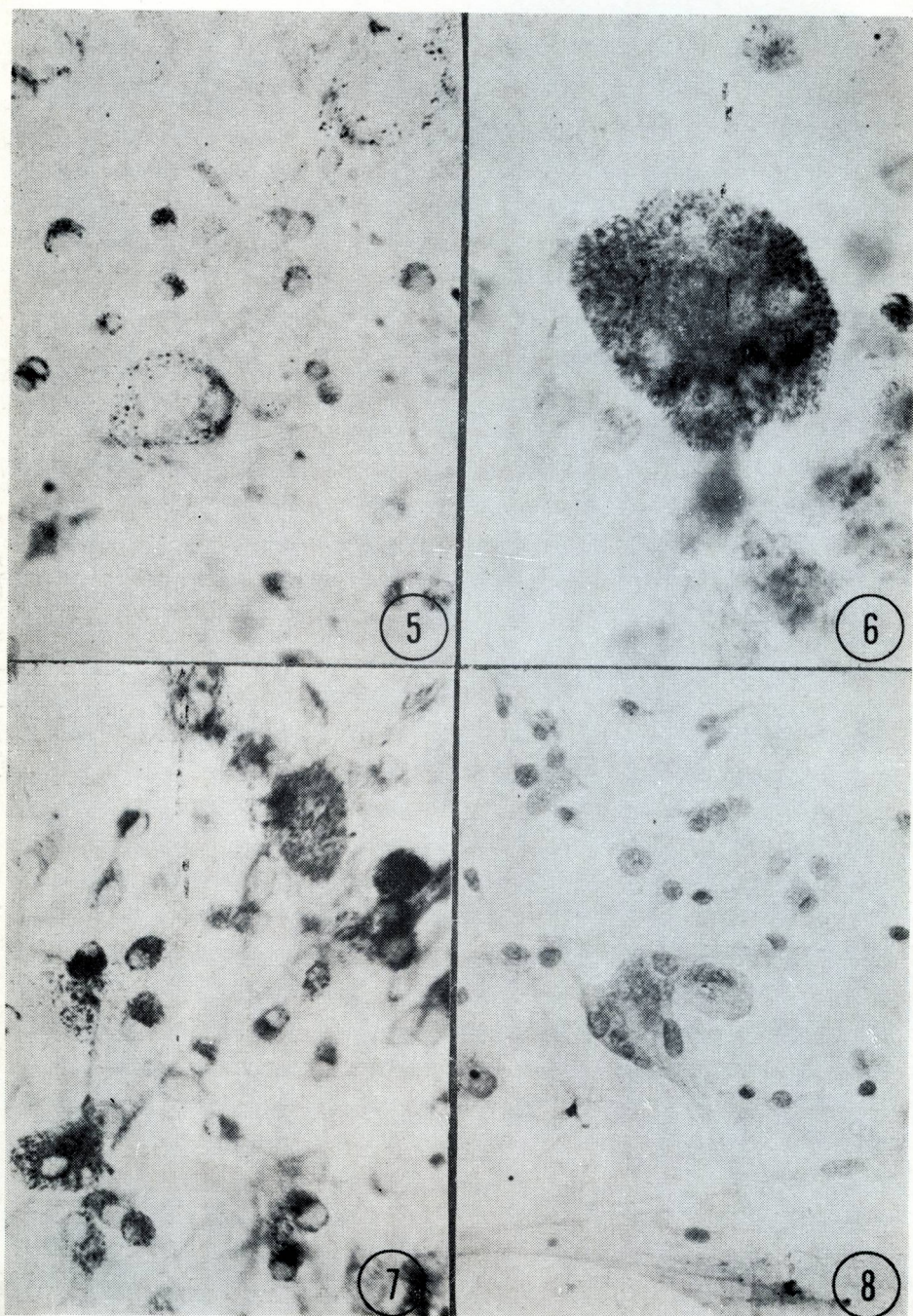
Fig. 3. Three-week culture, 72 hrs in a medium containing ammonia and sodium glutamate. A group of small, round-shaped, process-free cells. Alcian blue positive deposits in cytoplasm. Visible Alzheimer cells type II (arrow). Alcian blue. $\times 400$.

Ryc. 3. Hodowla 3-tygod., 72 godz. w medium zawierającym amoniak i glutaminian sodu. Grupa drobnych, okrągłych bezwypustkowych komórek. Złogi Alcjan-dodatnie obecne w cytoplazmie. Obok widoczne komórki Alzheimer'a typu II (strzałka). Błękit alcjanu. Pow. 400 \times .

Fig. 4. One-week culture, 24 hrs in a medium containing ammonia and sodium glutamate. A number of small process-free cells with cytoplasm containing numerous PAS-positive granules PAS. $\times 400$.

Ryc. 4. Hodowla 1-tygod., 24 godz. w medium z dodatkiem amoniaku i glutaminianu sodu. Kilka drobnych komórek bezwypustkowych, których cytoplazma zawiera liczne ziarnistości PAS-dodatnie. PAS. Pow. 400 \times .





The cultures maintained in medium containing sodium malonate with sodium glutamate (group IV) revealed morphological and histochemical changes, which were generally similar to those observed in group III. However, their intensity was less. Glial abnormalities were more significant in 1-week-old cultures than in the 3-week ones. Prolonged culturing in medium containing sodium glutamate resulted in a reduced intensity of cellular abnormalities. In 1-week-old cultures studied on the 3rd day of experiment Opalski cells occurred in 11 of 14 cultures, being numerous in only one and singly dispersed in the remaining ten. When studied on the 6th day, 7 cultures of 14 contained some Opalski cells, numerous in one and single in six. On the 9th day of experiment only 4 cultures of the total number of 14 revealed the presence of single hypertrophied giant cells. On the other hand 3-week-old cultures contained single Opalski cells only in 3 of the 18 cultures studied on the 3rd day of the experiment. Cultures examined on the 6th and 9th days of experiment contained no Opalski cells. At any period of observation their morphological and histochemical properties were identical with those observed in the former groups (Figs. 5—7).

Alzheimer cells type II occurring both in 1- and 3-week-old cultures were less numerous than in group III, but they were present during the whole period of observation. Intermediate cellular forms between normal astrocytes and Opalski cells (Fig. 8) were more numerous than in group III. Small, round, process-lacking cells described in group III were not noted. The number of cells showing features of non-specific

Fig. 5. One-week culture, 120 hrs in a medium containing sodium malonate and sodium glutamate. Succinate dehydrogenase. Opalski cell with trace enzyme activity. $\times 400$.

Ryc. 5. Hodowla 1-tygod., 120 godz. w medium z malonianem sodu i z glutaminianem sodu. Dehydrogenaza bursztynianowa. Komórka Opalskiego z osłabioną aktywnością enzymatyczną. Pow. 600 \times .

Fig. 6. One-week culture, 120 hrs in a medium containing sodium malonate and sodium glutamate. Glutamate dehydrogenase. Opalski cell with reduced enzyme activity. $\times 600$.

Ryc. 6. Hodowla 1-tygod., 120 godz. w medium z dodatkiem malonianu sodu i glutaminianu sodu. Dehydrogenaza glutaminianowa. Komórka Opalskiego z osłabioną aktywnością enzymatyczną. Pow. 600 \times .

Fig. 7. Three-week culture, 120 hrs in a medium containing sodium malonate and sodium glutamate. Glucose-6-phosphatase. Opalski cells with well manifested enzyme activity. $\times 400$.

Ryc. 7. Hodowla 3-tygod., 120 godz. w medium z dodatkiem malonianu sodu i glutaminianu sodu. Dehydrogenaza glikozo-6-fosforanowa. Komórki Opalskiego z dobrze wyrażoną aktywnością enzymatyczną. Pow. 400 \times .

Fig. 8. One-week culture, 120 hrs in a medium containing sodium malonate and sodium glutamate. Transient forms between Opalski cells and normal astrocytes. Toluidine blue. $\times 400$.

Ryc. 8. Hodowla 1-tygod., 120 godz. w medium z malonianem sodu i z glutaminianem sodu. Komórki przejściowe, między komórkami Opalskiego i prawidłowym astroglejem. Błękit toluidyny. Pow. 400 \times .

degeneration was less than in group III. Numerous glial cells were entirely normal, this being true especially for the group of 3-week-old cultures.

Cultures of control groups, both those grown in a standard medium and those kept in medium containing sodium glutamate alone, were morphologically and histochemically identical and showed features typical for glia cultured *in vitro*.

DISCUSSION

Our observations indicate that glutamate, given to the glial cultures together with ammonia and malonate, the gliotoxic effect of which has been proven in our previous investigations, exerts a protective activity, diminishing the cytotoxic effect of both compounds. Contrary to α -oxoglutarate it does not inhibit this effect entirely.

Under the influence of glutamate the number of typical pathological glial forms and the intensity of non-specific glial degeneration are greatly diminished, this effect being enhanced with prolonged culturing time in medium containing glutamate. Nevertheless, the cytopathological and cytochemical pattern of glial abnormalities remains unchanged as compared with that observed in cultures exposed to the activity of ammonia and malonate (Mossakowski et al., 1970; Renkawek et al., 1973). The only new morphological feature consists in the appearance of small, round, astrocytes lacking processes, and revealing histochemical properties of Opalski cells. Their identification without electron-microscopic studies does not seem possible. It may be supposed, however, that they are abortive forms of Opalski cells, the full development of which is inhibited by sodium glutamate action. It seems worth pointing out that they occur only in cultures grown in medium containing ammonium chloride together with glutamate. These were the cultures in which the number of typical intermediate forms between normal astrocytes and fully developed Opalski cells was less than in any other experimental group. They never occurred in the group cultured in medium containing both malonate and glutamate, in which, on the contrary, numerous intermediate cellular forms were present.

The differences in the intensity of morphological changes between cultures grown in medium containing ammonium chloride with sodium glutamate and those with sodium malonate and sodium glutamate (groups III and IV) may indicate a weaker protective effect of glutamate in the case of ammonia. Our previous observations (Mossakowski et al., 1970, 1972) have already shown that ammonia exerted the strongest cytotoxic effect of all substances examined. In the light of these obser-

vations, the lack of Alzheimer cells type II in 1-week-old cultures, grown in medium containing both ammonia and glutamate, and their appearance not before 48 hrs of experiment in 3-week-old ones remain unexplained, especially when we compare this with their presence in both age groups of cultures containing in their media malonate together with glutamate. Alzheimer cells type II are the most typical and common cellular elements of hepatogenic gliopathy, occurring both in human and experimental pathology, accompanied by hyperammonemia (Mossakowski, 1966; Bruton et al., 1970; Cavanagh, Ma Hta Kyn, 1971; Norenberg, 1974).

All types of cellular abnormalities are much more advanced in 1-week-old cultures than in those 3-week-old. This indicates a greater sensitivity of intensively developing and maturing cells, prevailing in younger cultures, to the noxious action of the substances applied. This seems to be a general property of tissue cultured *in vitro*, as indicated in several other studies (Kraśnicka, Renkawek, 1972; Hoppe, 1974).

The present observations seem to support our previous supposition that disturbances in ammonia detoxication are responsible for the occurrence of tissue abnormalities typical for Wilsonian and hepatogenic gliopathy. Regardless of the nature of the damaging factor — ammonia, on the one hand, and malonate, on the other, glutamate exerts an evident protective action against damage to glia. However, glutamate seems to be a weaker protective factor as compared with alfa-oxoglutarate. This difference, although difficult to explain, may depend on the fact, that in the process of ammonia detoxication into glutamine, alfa-oxoglutarate binds two molecules of ammonia, while glutamate only one.

M. J. Mossakowski, Z. Kraśnicka, K. Renkawek

WPLYW GLUTAMINIANU SODU NA OBRAZ MORFOLOGICZNY
I HISTOCHEMICZNY GLIOPATII WYWOŁANEJ PRZEZ AMONIAK
I MALONIAN SODU W WARUNKACH HODOWLI *IN VITRO*

Streszczenie

Przedmiotem badań była ocena wpływu glutaminianu sodu na obraz morfologiczny i histoenzymatyczny gliopatii wywołanej przy użyciu egzogenego amoniaku i malonianu sodu w warunkach hodowli tkankowej.

Do hodowli glejowych 1- i 3-tygodniowych podawano medium zawierające odpowiednio chlorek amonu i malonian sodu z glutaminianem sodu o ekwiwalentnym stężeniu molarnym. Obserwacje prowadzono w okresie od 24 godz. do 9 dni przetrzymywania hodowli w odpowiednim medium.

Stwierdzono, że dodatek egzogenego glutaminianu sodu zmniejsza efekt uszkadzający zarówno amoniaku, jak i malonianu sodu, ale nie znosi go całkowicie. Wzorzec uszkodzeń komórkowych był niezmienny. Efekt łagodzący uszkodzenia glejowe był większy w przypadku malonianu niż amoniaku. Sam glutaminian sodu nie wywoływał uszkodzeń tkankowych.

М. Я. Моссаковский, З. Красницка, К. Ренкавек

**ВЛИЯНИЕ ГЛЮТАМАТА НАТРИЯ НА МОРФОЛОГИЧЕСКУЮ
И ГИСТОХИМИЧЕСКУЮ КАРТИНУ ГЛИОПАТИИ, ВЫЗВАННОЙ АММИАКОМ
И МАЛОНАТОМ НАТРИЯ В УСЛОВИЯХ КУЛЬТУРЫ IN VITRO**

Резюме

Целью работы была оценка влияния глутамата натрия на морфологическую и гистохимическую картину глиопатии, вызванной путем использования экзогенного аммиака и малоната натрия в условиях тканевой культуры.

В 1- и 3-недельные глиальные культуры вносили среды, содержащие соответственно хлористый аммоний и малонат натрия с глутаматом натрия в эквивалентной концентрации. Наблюдения проводили в период от 24 часов до 9 дней после выдерживания культуры в соответствующей питательной среде.

Было обнаружено, что добавка экзогенного глутамата натрия уменьшает отрицательное воздействие самого аммиака и малоната натрия, однако, в отличие от α-оксоглутарата не снимает его полностью. Картина клеточных повреждений оставалась неизменной. Эффект, смягчающий глиальные повреждения, был в случае малоната большим, чем аммиака. Один глутамат натрия не вызывал тканевого повреждения.

Проведенные исследования подтверждают гипотезу, что решающим звеном патогенетических глиальных повреждений является нарушение детоксикации аммиака.

REFERENCES

1. Bruton, C. J., Corselis, J. A. N., Russel, A.: Hereditary hyperamonaemia. *Brain* 1970, 93, 621—632.
2. Cavanagh, J. B., Ma Hta Kyn: Type II Alzheimer change experimentally induced in astrocytes in the rat. *J. Neurol. Sci.*, 1971, 12, 63—75.
3. Hoppe, B.: Obraz zmian strukturalnych i histochemicznych gleju hodowanego in vitro poddanego działaniu tlenku węgla. *Neuropat. Pol.* 1974, 12, 371—385.
4. Kraśnicka, Z., Mossakowski, M. J.: Zagadnienie zmienności morfologicznej tkanki glejowej hodowanej in vitro. *Neuropat. Pol.* 1965, 3, 397—408.
5. Kraśnicka, Z., Renkawek, K.: Wpływ krótkotrwałej anoksji na obraz morfologiczny i histochemiczny tkanki glejowej hodowanej in vitro. *Neuropat. Pol.* 1972, 10, 507—518.
6. Mossakowski, M. J.: Some aspects of morphology and histochemistry of cerebral changes in hepatic coma. *Proceedings of V. Intern. Congress of Neuropath.* Zurich 1965, Elsevier, Amsterdam, 1966, pp. 981—986.
7. Mossakowski, M. J., Renkawek, K., Kraśnicka, Z., Śmiałek, M., Pronaszko, A.: Morphology and histochemistry of Wilsonian and hepatogenic gliopathy in tissue culture. *Acta Neuropath. (Berl.)* 1970, 16, 1—16.
8. Mossakowski, M. J., Kraśnicka, Z., Renkawek, K.: Contribution des études des cellules d'Opalski à la connaissance de la pathogenese de lesions du système nerveux central dans les maladies hépatocerebrales. *Neuropat. Pol.* 1972, 10, 385—394.

9. Norenberg, M. D.: Ultrastructural and enzyme histochemical studies in experimental portal-systemic encephalopathy. Program of the 50th Annual Meeting of Amer. Assoc. of Neuropath. Boston, 1974, pp. 15—16.
10. Renkawek, K.: On the histochemical and enzyme-histochemical differences between various types of glial cells cultured in vitro. *Neuropat. Pol.* 1972, 307—315.
11. Renkawek, K.: Glial changes in vitro induced by the inhibitor of succinic dehydrogenase. *Acta Neuropath. (Berl.)* 1973, 26, 107—114.

Authors' address: Department of Neuropathology, Medical Research Centre, Dworkowa Str. 3, 00-784 Warszawa.

WITOLD SIEIŃSKI

BADANIA NAD PATOMORFOLOGIĄ MÓZGU W DOŚWIADCZALNEJ OSTREJ CHOROBY POPROMIENNEJ

ZMIANY HISTOLOGICZNE, HISTOCHEMICZNE I HISTOENZYMATYCZNE

Katedra Anatomii Patologicznej Instytutu Kształcenia Podyplomowego WAM

Kierownik: prof. dr E. Waniewski

Patomorfologia mózgu w ostrej chorobie popromiennej nie została jeszcze wystarczająca poznana. W dotychczasowych badaniach koncentrowano się głównie na określeniu zmian histologicznych, a także niektórych zmian histochemicznych i histoenzymatycznych, rozwijających się w komórkach nerwowych (Jones i wsp. 1966, Manina 1964, Ojak 1964a, 1964b, Sieiński, Kałczak 1969, Stefanko 1963). Dane charakteryzujące uszkodzenie gleju i naczyń są stosunkowo nieliczne (Graczewa 1963, Hydén 1967, Sieiński, Kałczak 1969, Stefanko 1963). Fragmentaryczność tych badań oraz różnorodność modeli doświadczalnych, a zwłaszcza dawek energii jonizującej, gatunków zwierząt i czasu obserwacji uniemożliwia przeprowadzenie istotnej dla wnioskowania o patogenie uszkodzeń w mózgu, całościowej oceny jednostki morfofunkcjonalnej jaką stanowią: komórka nerwowa, glej i naczynie włosowate (Chen i wsp. 1967, De Robertis 1965, Friede 1965, Hydén 1967, Pevzner 1971).

Jako cel niniejszej pracy postawiono sobie zbadanie charakteru, nasilenia i dynamiki zmian histologicznych, histochemicznych i histoenzymatycznych w komórkach nerwowych oraz gleju i naczyniach włosowatych kory i istoty białej mózgu szczura w ostrej chorobie popromiennej, co umożliwi dokonanie całościowej oceny i próby korelacji zmian morfologicznych w poszczególnych składowych tej jednostki morfofunkcjonalnej.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie przeprowadzono na dorosłych szczurach rasy Wistar, samcach o ciężarze 175—200 g, napromienionych na całe ciało dawką

1.000 r promieni rentgenowskich z aparatu Medicor THX-250 przy parametrach: 200 kV, 20 mA, filtry: 1mm Al i 0.5 mm Cu, wydajność 79,5 r/min.

Spośród 173 napromienianych zwierząt 41 padło między 4 a 10 dniem choroby popromiennej. Badania wykonano na 100 *) szczurach uśmiercanych w grupach po 10 zwierząt przez dekapitację w 10 przedziałach czasowych: 3, 6, 12 i 24 godziny oraz 2, 3, 4, 6, 7 i 10 dni po napromienieniu. Kontrolę stanowiło 35 szczurów.

Badano nową korę płatów czołowych i ciemieniowych oraz istotę białą spoidła wielkiego.

Zastosowano barwienie hematoksyliną-eozyną i 1% roztworem błękitu toluidyny oraz odczyny na DNA metodą Feulgena, RNA metodą Bracheta z kontrolnym trawieniem RNA-azą, glikogen metodą Mc Manusa (PAS z trawieniem diastazą) na dehydrogenazę bursztynianową (DB) i mleczanową (DM) metodą Nachlasa oraz fosfatazę kwaśną (FK) metodą Gomoriego. Przy każdorazowym wykonywaniu odczynów histoenzymatycznych przeprowadzano kontrolne inkubacje bez substratu. Odczyny wykonano wg metod podanych w skrypcie Metod Histochemicznych (Krygier, Godlewski 1964).

WYNIKI

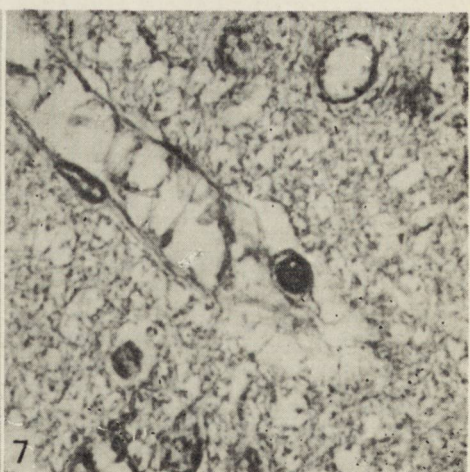
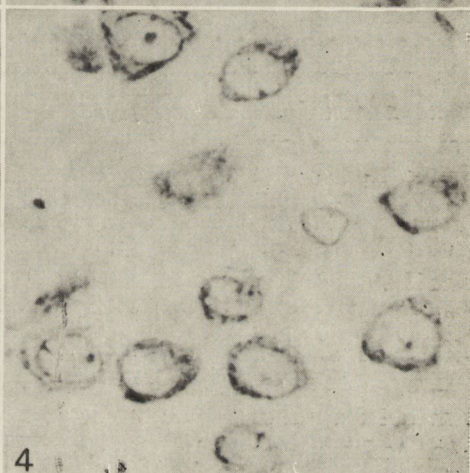
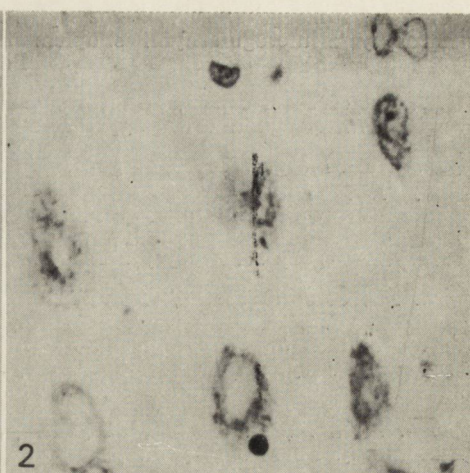
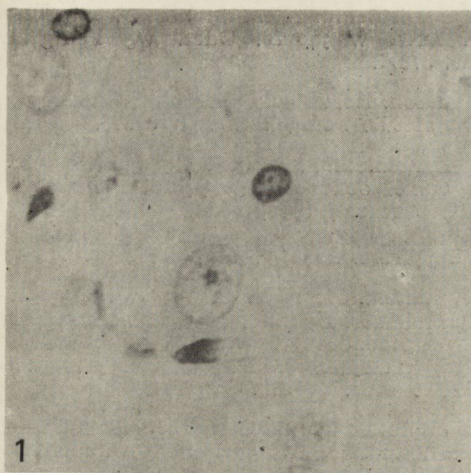
Stan ogólny zwierząt

U napromienionych zwierząt rozwinęły się typowe objawy ostrej choroby popromiennej. Po przejściowym pobudzeniu, 2. dnia obserwowano zmniejszenie ruchliwości. W 3—4 dniu pojawiała się krwawa biegunka oraz wybroczyny w śluzówkach nosa i spojówkach. Reakcja na bodźce była osłabiona. 4-go dnia padły pierwsze pojedyncze zwierzęta. Pozostałe szczury były apatyczne, nie jadły i nie piły. Stwierdzono wypadanie sierści oraz zblednięcie uszu i łapek. U zwierząt w ciężkim stanie ogólnym dochodziło do zniesienia reakcji na bodźce i zaburzenia równowagi. Od 6 dnia liczba zwierząt padłych znacznie wzrosła. Po 10 dniach ciężar ciała był zmniejszony o około 20%.

Badanie makroskopowe

Już po 3 godz. stwierdzono przekrwienie mózgu i opon miękkich, które utrzymywało się w ciągu całego okresu obserwacji. Po 4 dniach pojawiły się cechy narastającego obrzęku mózgu. Przekrwienie i obrzęk były najwyraźniejsze u zwierząt uśmiercanych w ciężkim stanie ogólnym oraz u szczurów padłych.

*) Wyniki badania mózgów pozostałych 32 napromienionych szczurów w mikroskopie elektronowym i fluorescencyjnym są przedmiotem odrębnego doniesienia (Pamiętnik VI Zjazdu PTAP, Lublin 1973).



kwaśnej w części neurocytów (ryc. 5). Równolegle zwiększyło się nasilenie zmian w komórkach glejowych. Odczyn na FK był wyraźnie wzmożony, zwłaszcza w gleju satelitarnym (ryc. 5) i okołonaczyniowym (ryc. 6). W naczyniach stwierdzono obrzmienie bądź obkurczenie jądra niektórych śródbłonek, wzrost aktywności FK (ryc. 6) oraz spadek aktywności dehydrogenaz słabiej zaznaczony niż w komórkach glejowych.

Po 6 i 7 dniach stwierdzono zmiany w większości komórek nerwowych, przeważnie w postaci ostrego obrzęku. Liczne komórki wykazywały cechy schorzenia ciężkiego. Największe zmiany rozwinęły się w środkowych warstwach kory. Obrzęk kory i istoty białej miał charakter rozlany. W tym czasie nie stwierdzano już PAS (+) ziaren w neuropilu. W gleju i naczyniach obserwowano bardziej nasilony spadek aktywności dehydrogenaz oraz wzrost aktywności FK.

Po 10 dniach nasilonym zmianom w barwieniach przeglądowych, o podobnym charakterze jak po 7 dniach choroby popromiennej, odpowiadało znaczne osłabienie odczynów na RNA i aktywność dehydrogenaz w większości komórek nerwowych i glejowych. W licznych neurocytach aktywność FK była obniżona. Cechy rozlanego obrzęku mózgu były bardzo wyraźne (ryc. 7).

OMÓWIENIE

Przeprowadzone badanie jednostki morfo-funkcjonalnej, utworzonej przez komórkę nerwową, glej i naczynie włosowate mózgu wykazało, że zmiany w komórkach nerwowych i glejowych ujawniają się wcześniej niż zmiany w ścianie naczyń włosowatych.

Stwierdzane już po 3 godzinach zbrylanie się chromatyny i DNA w neurocytach i gleju jest znanym, wczesnym wykładnikiem uszkodzenia popromiennego (Zeman 1968). Nieregularne rozmieszczenie chromatyny w jądrze oraz tigroidu i RNA w cytoplazmie neurocytów może być związane z rozpoczynającym się obrzękiem wewnątrzkomórkowym. Świadczące o nim zmiany w ultrastrukturze komórek nerwowych występują prawie bezpośrednio po masywnym napromienieniu całego ciała (Dodson 1971). W przebadanym materiale niewielkie obrzmienie lub obkurczenie jądra bądź cytoplazmy pojawiło się w komórkach nerwowych i glejowych już po 6 godzinach. Pojedyncze oligodendrocyty wykazywały nawet pyknozę jądra i cechy ostrego obrzęku cytoplazmy, co zgodnie z danymi z piśmiennictwa może wskazywać na znaczną promienioczułość tych komórek (Brownson i wsp. 1963).

Powyższe wykładniki zaburzeń osmotycznych w komórkach nerwowych i glejowych przemawiają za wczesnym zaburzeniem metabolizmu energetycznego. Mechanizmy aktywnego, wymagającego energii transportu są bowiem uzależnione od przemian tlenowych i beztlenowych oraz

fosforylacji tlenowej, które warunkują syntezę ATP (Chen i wsp. 1967, Sato i wsp. 1969). Badania biochemiczne wskazują, że procesy energetyczne w mózgu ulegają zahamowaniu już w pierwszych godzinach po napromienieniu zwierząt (Satchozina, Uteszew 1970). W badanym materiale po 6 i 12 godz. aktywność dehydrogenazy bursztynianowej i mleczanowej nie była jeszcze uchwyttnie zmieniona, można stąd sądzić, że zaburzenia przemiany tlenowej i glikolizy beztlenowej mają w tym okresie niewielkie nasilenie. Już po 6 godzinach zaobserwowano jednak gromadzenie glikogenu w astrocytach kory, stwierdzone także przez Ibrahima i wsp. (1970). Wybiórcze gromadzenie glikogenu w astrocytach, biorących prawdopodobnie udział w transporcie glukozy, może być wyrazem zaburzeń metabolizmu w systemie neuron — astrocyt.

W komórkach nerwowych najwcześniejszym odchyleniem histoenzymatycznym był wzrost aktywności fosfatazy kwasnej. Przemawia to za istotną rolą enzymów lizosomalnych w rozwoju popromiennego uszkodzenia komórek.

Począwszy od 24 godziny po napromienieniu, wraz ze zwiększeniem nasilenia zaburzeń równowagi osmotycznej w komórkach nerwowych i glejowych obserwowano osłabienie odczynów na kwasy nukleinowe i dehydrogenazy. W komórkach nerwowych spadek zawartości RNA był wyraźniejszy niż spadek DNA. W odniesieniu do DNA badania radiobiologiczne wskazują, że efekt popromienny może być związany z uszkodzeniem cząsteczki DNA i jej powiązań z białkami, a także rozkładem enzymatycznym i zahamowaniem jego syntezy (Bacq, Alexander 1961, Zeman 1968). W badanym materiale niewielkie zmniejszenie zawartości DNA może być uwarunkowane małym nasileniem lub brakiem jego przemiany w komórkach nerwowych, które nie wykazują uchwytnej inkorporacji prekursorów DNA u dojrzałych osobników (Graczewa 1963).

W związku z szybką przemianą RNA (Dawson 1967) można sądzić, że osłabienie odczynu na RNA w cytoplazmie i jąderku komórek nerwowych wiąże się ze zmniejszeniem syntezy tego kwasu. Równoczesne zmniejszanie zawartości RNA i aktywności dehydrogenaz przemawia za powiązaniem zaburzeń metabolizmu energetycznego i syntezy RNA. W komórkach nerwowych, w których już po 3 dniach obserwowano znaczny spadek zawartości RNA, prawdopodobny jest także jego wzmożony rozkład enzymatyczny.

Mimo wczesnego ujawnienia niewielkich zmian morfologicznych w komórkach nerwowych, dopiero 4 dnia po napromienieniu rozwinęło się w nich schorzenie ciężkie w postaci znacznego obrzęku komórki i tigrólizy ze zmniejszeniem zawartości RNA i aktywności wszystkich badanych enzymów oraz niewielkim spadkiem ilości DNA. Pojawienie się tych zmian w licznych komórkach nerwowych kory w późniejszym

okresie ostrej choroby popromiennej świadczy o narastaniu uszkodzenia, które może prowadzić do popromiennej martwicy neurocytów (Zeman 1968). Największe nasilenie zmian w komórkach piramidowych i ziarnistych środkowych warstw kory jest prawdopodobnie uwarunkowane fizjologicznie większym nasileniem metabolizmu w tych komórkach, z czym wiąże się również ich większa wrażliwość na niedotlenienie i zaburzenia w ukrwieniu. W zbadanym materiale przekrwienie utrzymywało się w ciągu całego okresu obserwacji.

Wyniki badania wskazują, że zmiany w komórkach nerwowych i glejowych rozwijają się równolegle. Astro- i oligodendrocyty, podobnie jak komórki nerwowe, wykazywały stopniowy spadek zawartości kwasów nukleinowych i aktywności badanych dehydrogenaz oraz wzrost aktywności fosfatazy kwaśnej, przy czym wzrost aktywności fosfatazy był szczególnie wyraźny w komórkach satelitarnych i okołonaczyniowych. Powyższe odchylenia przemawiają za znacznym uszkodzeniem tych komórek. Uszkodzenie to ma prawdopodobnie duże znaczenie ze względu na powiązanie metabolizmu komórek nerwowych i oligodendrocytów oraz udział astrocytów w utrzymywaniu równowagi elektrolitowej w tkance nerwowej, a także w wymianie substratów i metabolitów między naczyniami włosowatymi i komórkami nerwowymi (Chen i wsp. 1967, De Robertis 1965, Friede 1965, Hydeń 1967, Pevzner 1971).

Zmiany w komórkach nerwowych i glejowych osiągały większe nasilenie niż uszkodzenie naczyń włosowatych. Obserwowane osłabienie odczynów na dehydrogenazy świadczy jednocześnie o zaburzeniu przemiany energetycznej zarówno w astrocytach jak i komórkach śródbłonna naczyń włosowatych, które mogło prowadzić do upośledzenia funkcji pompy sodowej (Chen i wsp. 1967, Sato i wsp. 1969) i wzmożonego przechodzenia płynu przez interfazę naczyniowo-mózgową, czego wyrazem był okołonaczyniowy obrzęk, ujawniający się po 2—3 dniach. W następnych dniach, wraz ze zwiększeniem nasilenia zmian w komórkach glejowych i naczyniach włosowatych, przy jednocześnie narastających zaburzeniach równowagi osmotycznej w komórkach nerwowych, rozwinął się rozlany obrzęk mózgu.

Wyniki przeprowadzonego badania wskazują na złożoną patogenезę uszkodzenia tkanki nerwowej mózgu w ostrej chorobie popromiennej i pozwalają sądzić, że zmiany w astrocytach i naczyniach włosowatych mogą wpływać na nasilenie uszkodzenia w komórkach nerwowych.

WNIOSKI

1. W ostrej chorobie popromiennej rozwijają się zmiany morfologiczne zarówno w komórkach nerwowych jak i w komórkach glejowych oraz w naczyniach włosowatych mózgu.

2. Uszkodzenia ujawniają się równocześnie w komórkach nerwowych oraz w astrocytach i oligodendrocytach. Stwierdzone zmiany wskazują na narastające zaburzenie ich metabolizmu i równowagi osmotycznej. Stopniowo rozwija się przy tym obrzęk mózgu.

3. Zmiany w komórkach nerwowych i glejowych wykazują zróżnicowanie topograficzne — największe uszkodzenie stwierdzono w komórkach nerwowych środkowych warstw kory oraz komórkach glejowych okołonaczyniowych i satelitarnych.

4. Zmiany w ścianie naczyń włosowatych ujawniają się później i mają mniejsze nasilenie niż uszkodzenie komórek nerwowych i glejowych.

5. Zmiany morfologiczne stwierdzone w badanej jednostce morfo-funkcjonalnej mózgu wskazują na złożoną patogenezę uszkodzenia tkanki nerwowej i pozwalają sądzić, że zmiany w komórkach glejowych i naczyniach włosowatych mogą powodować nasilenie uszkodzenia w komórkach nerwowych.

В. Сеи́нский

ИССЛЕДОВАНИЯ ПАТОМОРФОЛОГИИ МОЗГА
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ ВЫЗВАННОЙ ОБЛУЧЕНИЕМ

I. Гистологические, гистохимические и гистоэнзиматические изменения

Резюме

У взрослых крыс при остром послелучевом заболевании, вызванном дозой в 1000 рентген, были исследованы через отрезок времени от 3 часов до 10 дней после облучения, морфологические изменения, развивающихся в таких морфо-функциональных единицах мозга как нервная клетка, глия и капилляры. Оценивали новую кору лобных и теменных долей, а также белое вещество комиссуры. Были проведены обзорная окраска и реакции на нуклеиновые кислоты, гликоген, янтардегидрогеназу и лактатдегидрогеназу, а также кислую фосфатазу.

Обнаруженные изменения указывают на значительные нарушения метаболизма и осмотического равновесия в нервных и глиальных клетках. При этом постепенно развивается отек мозга. Самые значительные изменения относятся к нервным клеткам средних слоев коры и околососудистой и сателитарной глии. Изменения в нервных и глиальных клетках более значительны чем повреждения капилляров. В целом оценка изменений указывает на сложный патогенез повреждения нервной ткани и позволяет думать, что изменения в глиальных клетках и капиллярах могут влиять на интенсивность повреждения в нервных клетках.

W. Sieiński

STUDIES ON PATHOMORPHOLOGY OF THE BRAIN IN EXPERIMENTAL
ACUTE POSTIRRADIATIVE DISEASE

Histological, histochemical and histoenzymatic changes

Summary

Morphological changes developing in the morpho-functional unit of the brain (neurocyte — glia — capillary) were studied in adult rats in acute postirradiative

disease produced by 1000 r dose of X-rays. The examination concerned neocortex of frontal and parietal lobes and white matter of corpus callosum. The methods employed included routine stainings and reactions for nucleic acids, glycogen, succinate dehydrogenase, lactate dehydrogenase and acid phosphatase activities.

The observed changes are indicative of marked disturbances of metabolism and osmotic equilibrium in the neuronal and glial cells and of gradual development of brain edema. The most pronounced changes involve neurocytes of the central layers of the cortex and perivascular and satellite glia. The changes in neuronal and glial cells are of higher intensity than the impairment of capillaries. General evaluation of the changes within the morpho-functional unit of the brain points to a complex pathogenesis of nervous tissue impairment and allows to presume that the changes in glial cells and capillaries may influence the degree of neuronal impairment.

PIŚMIENNICTWO

1. Bacq Z., Alexander P.: *Fundamentals of Radiobiology*. Pergamon Press, London, 1961.
2. Brownson R., Suter D., Diller D.: Acute brain damage induced by low dosage of X — irradiation. *Neurology* 1963, 13, 181—191.
3. Chen H.-C., Lin C.-S., Lien I.-N.: Vascular permeability in experimental kernicterus. An electron-microscopic study of the blood-brain barrier. *Am. J. Pathol.* 1967, 51, 69—99.
4. Dawson D.: Turnover of ribosomal RNA in the rat brain. *J. Neurochem.* 1967, 14, 939—946.
5. De Robertis E.: Some new electron microscopical contributions to the biology of neuroglia. *Prog. Brain Res.* 1965, 15, 1—11.
6. Dodson R.: Electron microscopic observations of the rat medullary reticular tissue after short-term, whole-body gamma irradiation. *Acta Neuropath.* 1971, 17, 353—362.
7. Friede R.: Enzyme histochemistry of neuroglia. *Prog. Brain Res.* 1965, 15, 35—47.
8. Graczewa N.: Awtoradiograficzne wyjawienie pri pomosci H^3 -tymidina sinteza dezoksyribonukleinowej kisloty w kletocznych elementach nerwnej systemy bielych krysz posle obszczewo rentgenowskowo obłuczenia. *Radio-biologija*, 1963, 3, 81—87.
9. Hyden H.: Dynamic aspects of the neuron-glia relationship — a study with micro-chemical methods. W: *The Neuron*. Elsevier Publ., Amsterdam, 1967, 179—219.
10. Ibrahim Z., Allen H., Miquel J., Castellani P.: Synthetic and hydrolytic enzymes of glycogen in the normal and irradiated brain. *Radiat. Res.* 1970, 43, 341—356.
11. Jonek J., Kośmider S., Jonek T.: Badania histochemiczne nad zachowaniem się niektórych enzymów mózgu w różnych okresach ostrej choroby popromiennej. *Pol. Przegl. Radiol. Med. Nukl.* 1966, 30, 307—315.
12. Krygier A., Godlewski H.: *Skrypt metod histochemicznych*. Warszawa, 1964.
13. Manina A.: Diejstwie narużnowo obłuczenia na centralnuju nerwnuju sistemu wozrosłych žiwotnych. W: *Łuczewyje Porażenia i Wostanowlennyje Processy w Centralnoj Nerwnoj Sistemie*. Medicina, Leningrad, 1964, 141—174.
14. Ojak M.: Zmiany w korze amonalnej mózgu szczura w chorobie popromiennej. *Patol. Pol.* 1964, 15, 239—245.

15. Ojak M.: Kwasy nukleinowe i fosfataza kwaśna w komórkach nerwowych mózgu szczura w przebiegu ostrej choroby popromiennej. *Pat. Pol.* 1964, 15, 561—571.
16. Pevzner L.: Topochemical aspects of nucleic acid and protein metabolism within the neuron — neuroglia unit of the spinal cord anterior horn. *J. Neurochem.* 1971, 18, 895—907.
17. Satchożina E., Uteszew A.: Aktywnost suksinatdegidrogenazy w niektórych tkaniach żywotnych pri diejstwiu pronikajuszczzej radiacji. *Radiobiologija* 1970, 10, 105—108.
18. Sato K., Yamaguchi M., Mullan S., Evans J., Ishii S.: Brain edema. A study of biochemical and structural alterations, *Arch. Neurol.* 1969, 21, 413—424.
19. Shantha T., Manocha S., Bourne G.: Enzyme histochemistry of the cerebral cortex of squirrel monkey and rat. *Acta Histochem.* 1968, 30, 218—233.
20. Sieiński W., Kałczak M.: Niektóre zmiany enzymohistochemiczne w mózgu szczura we wczesnym okresie ostrej choroby popromiennej. *Supl. do Patol. Pol.* 1/1969, Łódź, 1969, 529—532.
21. Stefanko S.: Badania histochemiczne nad zachowaniem się kwasów nukleinowych w komórkach nerwowych szczurów szczepu Wistar w ostrej chorobie popromiennej. *Biuletyn WAM*, 1963, Supl. IV, 27—33.
22. Zeman W.: The effect of atomic radiations. W: *Pathology of the Nervous System*. Minckler J., Mc Graw — Hill, New York, 1968, vol. I, 864—939.

Adres autora: Katedra Anatomii Patologicznej Instytutu Kształcenia Podyplomowego Wojskowej Akademii Medycznej, Szaserów 128, 04-349 Warszawa.

IRMINA B. ZELMAN, ALICJA PRONASZKO-KURCZYŃSKA

ZMIANY ZAWARTOŚCI GLIKOGENU W MÓZGU SZCZURA W ENCEFALOPATII OUABAINOWEJ

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

W przeprowadzonych uprzednio doświadczeniach wykazano, że wstrzyknięcie ouabainy do mózgu szczura prowadzi do odkładania się glikogenu i wzrostu aktywności enzymów metabolizujących glikogen: fosforylaz i UDPG-G-transferazy w ośrodkowym układzie nerwowym (Zelman, Szumańska 1973). Zmiany histochemiczne charakteryzowała wybiórczość topograficzna. Złogi glikogenu wyznaczające obszar zaburzeń metabolicznych obserwowano przede wszystkim w strukturach szarych, zwłaszcza w korze półkul mózgowych i zawojach hipokampa. W istocie białej umiejscowienie złogów odpowiadało obszarom zmian strukturalnych. Odkładanie się glikogenu, obserwowane najwcześniej w 4 godzinie po domózgowym wprowadzeniu glikozydu, utrzymywało się jeszcze w 14 dniu po zabiegu. Stwierdzone nieprawidłowości histochemiczne występowały w obu półkulach mózgu, przy czym u większości zwierząt trudno było ustalić jednoznacznie wyraźną przewagę zmian po stronie wprowadzenia glikozydu.

Skłoniło to nas do przeprowadzenia serii doświadczeń mających na celu ilościową ocenę tego zjawiska w obu półkulach mózgu oraz określenie jego dynamiki w zależności od czasu przeżycia zwierząt po wstrzyknięciu ouabainy.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenia przeprowadzono na 2 miesięcznych szczurach rasy Wistar, obu płci. W płytkiej narkozie eterowej, zwierzętom przecinano skórę na głowie i przy pomocy wiertła dentystycznego wykonywano otwór w pokrywie czaszki prawej półkuli starając się zachować wewnętrzną blaszkę kostną. Przez otwór ten znajdujący się około 2 mm od szwu strzałkowego i nieco ku tyłowi od szwu czołowo-ciemieniowego wprowadza-

dzano do mózgu cienką igłą na głębokość 1,5 — 2,0 mm i wstrzykiwano 0,002 mg glikozydu w 0,01 — 0,02 ml roztworu. Po zabiegu skórę na głowie zamykano przy pomocy klamerek. Kontrolnej grupie zwierząt wstrzyknięto w takich samych warunkach 0,01 ml roztworu soli fizjologicznej. Zwierzęta doświadczalne i kontrolne dekapitowano po 2, 6, 24, 48, 96 godzinach i 5, 10 i 14 dniach od wstrzyknięcia ouabainy lub soli fizjologicznej.

Do badań biochemicznych pobierano oddzielnie obie półkule mózgu, które natychmiast po wyjęciu z jamy czaszkowej zamrażano w mieszaninie suchego lodu i alkoholu metylowego, ważono na wadze torsyjnej a następnie hydrolizowano we wrzącym 30% KOH w łaźni wodnej przez 45 minut. Dalsze postępowanie miało na celu wyizolowanie frakcji glikogenu, oczyszczenie go i zhydrolizowanie, które wykonano w/g metody opisanej w poprzedniej pracy (Pronaszko-Kurczyńska i wsp. 1971). Oznaczanie glukozy wykonano metodą kolorymetryczną wg Nelsona (1944). Natężenie zabarwienia odczytywano na fotometrze spektralnym Spekol przy długości fali 540 mμ. Stężenie glukozy odczytywano z krzywej wzorcowej. Zawartość glikogenu wyrażano w mg glukozy na 100 g tkanki mózgowej (mokra waga). Wyniki oznaczeń biochemicznych poddano analizie statystycznej wg testu Studenta.

W każdej grupie doświadczalnej przeprowadzono dodatkowo kontrolę histologiczną materiału. Skrawki z 3 poziomów mózgu po utrwaleniu w formalinie przeprowadzano w sposób standardowy do parafiny. Preparaty barwiono hematoksyliną-eozyną, fioletem krezyłu i wg metody Heidenhaina.

WYNIKI

Obserwacje kliniczne

Podobnie jak w poprzedniej serii doświadczeń, bezpośrednio po wstrzyknięciu glikozydu obserwowano u szczurów przyspieszenie tętna i oddechu, pobudzenia ruchowe, prężenia, rzadziej pełne napady drgawkowe pojedyncze lub gromadne. Nasilenie tych zaburzeń zmniejszało się stopniowo po 4—6 godzinach i w ciągu następnych kilku godzin ustępowały one całkowicie. Większość szczurów następnego dnia po wstrzyknięciu glikozydu była w dobrym stanie ogólnym wykazując jedynie mniejszą ruchliwość. Śmiertelność zwierząt była minimalna. Szczury, którym wstrzyknięto sól fizjologiczną po wyjściu z narkozy nie zdradzały żadnych objawów chorobowych.

Kontrola morfologiczna

Badanie mikroskopowe wykazało w mózgach zwierząt doświadczalnych obecność typowych ostro odgraniczonych ognisk zgąbczenia, umiejscowionych najczęściej w korze mózgowej po stronie wklucia i w górnej części zawoju hipokampa jedno- lub obustronnie. W otoczeniu tych ognisk i w strukturach szarych położonych przykomorowo widoczne było rozluźnienie struktury, przechodzące nieostro w prawidłową tkankę i powiększenie jąder astrogliu. Nie stwierdzono uszkodzenia mieliny ani zmian w układzie naczyniowym. Z wyjątkiem ognisk zgąbczenia z obecnością licznych, zlewających się jamek, pozostałe zmiany miały charakter odwracalny i cofały się w okresie 48—96 godzin po wstrzyknięciu glikozydu. Otoczenie kanału wklucia nie różniło się w sposób istotny u zwierząt doświadczalnych w porównaniu z kontrolnymi. Obraz uszkodzenia i towarzyszące odczyny reparacyjne uwarunkowane były w obu grupach czasem przeżycia zwierząt po zabiegu.

Oznaczenia ilościowe

Zawartość glikogenu w półkulach mózgu szczurów doświadczalnych i kontrolnych w zależności od czasu przeżycia po zabiegu zestawiono w tab. 1.

Zawartość glikogenu w mózgach zwierząt kontrolnych utrzymywała się na tym samym poziomie we wszystkich badanych grupach czasowych. Nie stwierdzono także różnicy pomiędzy prawą półkulą, do której wstrzyknięto roztwór soli fizjologicznej i przeciwległą nie uszkodzoną półkulą.

U szczurów doświadczalnych statystycznie znamienny wzrost zawartości glikogenu obserwowano już w 2 godziny po wprowadzeniu ouabainy. Występował on w obu półkulach wykazując znamienne większy przyrost wielocukru po stronie wstrzyknięcia glikozydu. Z wyjątkiem grupy szczurów z 6 godzinnym przeżyciem, u których zaobserwowano przejściowe obniżenie zawartości glikogenu poniżej wartości kontrolnych, w pozostałych przedziałach czasu poziom wielocukru w półkuli prawej był podwyższony (od 10,9 do 92,8%). W półkuli przeciwległej do wklucia zmiany zawartości glikogenu kształtowały się podobnie, z tym, że maksymalny przyrost wielocukru nie przekraczał 55% wartości kontrolnej, natomiast spadek w 6 godzinie od wstrzyknięcia ouabainy był w tej półkuli znacznie większy (tab. 1, wykres 2). Największy przyrost glikogenu stwierdzono w obu półkulach w 7 dniu po wstrzyknięciu glikozydu. W dalszych przedziałach czasu poziom glikogenu zmniejszał się stopniowo zbliżając się do poziomu wartości kontrolnych.

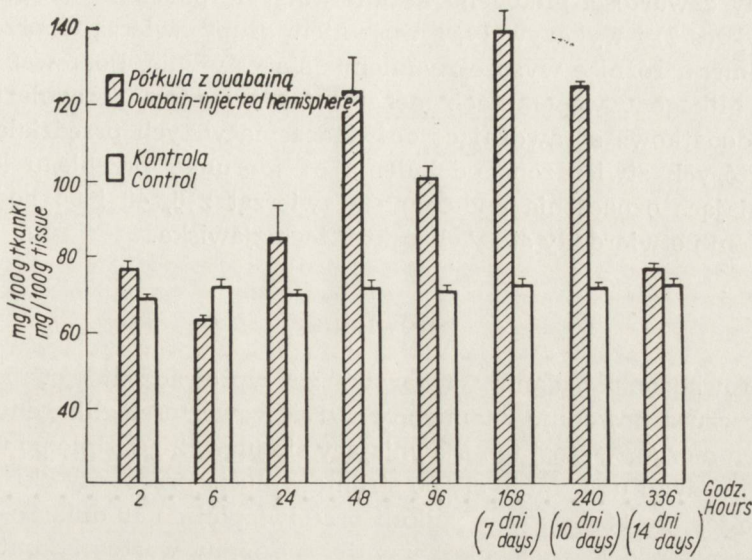
Tabela 1. Zawartość glikogenu w mózgach szczurów po wstrzyknięciu ouabainy wyrażona w mg glukozy na 100g mokrej wagi
Table 1. Glycogen content in brains of ouabain-injected rats expressed in mg glucose/100 g wet tissue

Czas prze- życia Survival time	Zawartość glikogenu w półkulach mózgu Glycogen content in brain hemispheres					Procent wzrostu Percent of increase			
	Zwierzęta kontrolne Control animals		Zwierzęta doświadczalne Experimental animals		p	prawa right	p	lewa left	p
	prawa right	lewa left	prawa right	lewa left					
2 godz. hours	68,9*±0,9(5)**	69,7±2,6(3)	76,4±2,0(8)	73,3±0,9(8)	<0,01	+10,9	<0,001	+5,2	<0,001
6 godz. hours,	71,1±0,5(5)	70,1±0,9(5)	63,0±1,6(10)	49,6±1,4(10)	<0,001	-11,4	<0,001	-29,2	<0,001
24 godz. hours	69,9±0,1(3)	70,8±0,3(3)	84,7±8,8(5)	69,6±2,0(5)	<0,05	+21,2	<0,05	-1,7	—
48 godz. hours	71,7±0,5(6)	71,4±1,7(6)	127,6±8,3(9)	100,2±3,2(9)	<0,02	+77,9	<0,001	+40,3	<0,001
96 godz. hours	70,7±0,9(6)	70,7±1,2(6)	100,7±2,9(9)	97,8±3,5(9)	>0,05	+42,4	<0,001	+38,3	<0,001
7 dni days	72,2±1,3(3)	72,3±1,7(3)	139,2±5,4(5)	112,4±10,5(5)	<0,01	+92,8	<0,001	+55,5	<0,001
10 dni days	71,7±0,5(2)	71,9±6,7(2)	124,5±0,9(3)	99,8±4,9(3)	<0,02	+73,6	<0,001	+38,8	<0,02
14 dni days	72,5±0,9(4)	72,8±1,5(4)	76,7±0,5(4)	69,9±1,8(4)	<0,01	+5,8	<0,01	-3,8	>0,05

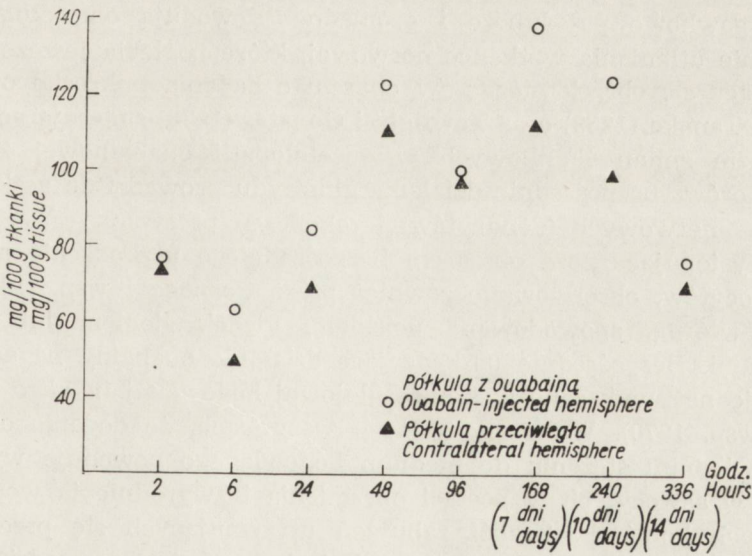
* średnia ± odchylenie standardowe
 arythmetic mean ± standard deviation

** ilość zwierząt
 number of animals

p prawdopodobieństwo
 significance of difference



Wykres 1. Zawartość glikogenu w prawej półkuli mózgu w różnym czasie po wstrzyknięciu ouabainy w porównaniu do kontroli.
Diagram 1. Glycogen content in the right brain hemisphere of ouabain-injected and control rats in various time after experiment.



Wykres 2. Zmiany zawartości glikogenu w półkulach mózgu szczura w różnym czasie po wstrzyknięciu ouabainy.
Diagram 2. Changes in the glycogen content in rat brain hemispheres in various time after ouabain injection.

Zmiany zawartości glikogenu kształtowały się podobnie w obu półkulach (wykres 2) i wykazywały, z wyjątkiem grupy zwierząt z przeżyciem 96 godzinnym różnice wysoce znamienne statystycznie. Ponieważ krzywa wzrostu glikogenu w półkulach mózgu miała przebieg nieregularny, wykonano dodatkowe sprawdzające doświadczenia w tych przedziałach czasu, w których stwierdzono odchylenia od kierunku przebiegu krzywej. Uzupełniające oznaczenia wykonane u zwierząt z 6, 48 i 96 godzinnym przeżyciem potwierdziły stały charakter tego zjawiska.

OMÓWIENIE

Przeprowadzone badania wykazały, że wprowadzenie ouabainy do mózgu szczura powoduje znamienny wzrost zawartości glikogenu w obu półkulach mózgu. Wzrost ten ujawniający się już w 2 godzinie po wstrzyknięciu glikozydu utrzymuje się po stronie wkłucia przez cały okres obserwacji, to jest do 14 dnia, a w półkuli przeciwległej do 10 dnia po zabiegu. Przejściowy spadek wielocukru poniżej poziomu wartości kontrolnych, obserwowany w 6 godzinie po wstrzyknięciu ouabainy jest prawdopodobnie wykładnikiem działania szeregu czynników patogenetycznych. Zgodnie z opisami innych autorów (Bignami 1965, Cornog i wsp. 1967, Towfighi i Gonatas 1973) oraz naszymi własnymi obserwacjami, w okresie pierwszych kilku godzin po wprowadzeniu do mózgu glikozydu występują u szczurów ciężkie zaburzenia krążenia i oddychania, prężenia i napady drgawkowe pojedyncze i gromadne. Powodują one długotrwałe zaburzenie utleniania w tkance nerwowej, które pogłębia jeszcze szybko rozwijający się obrzęk mózgu. W oparciu o badania mikroskopowoelektronowe Tanaka (1969) oraz Towfighi i Gonatas (1973) sugerują podwójny mechanizm zmian tkankowych w encefalopatii ouabainowej. Zdaniem tych autorów bezpośrednie działanie glikozydu prowadzi do uszkodzenia wypustek nerwowych (dendrytów) i zakończeń presynaptycznych, natomiast występujące poza obszarem bezpośredniego uszkodzenia obrzmienie astrocytów, obserwowane również przez Cornoga i wsp. (1967) jest zmianą wtórną, spowodowaną uciskiem, niedokrwieniem lub innymi czynnikami. Bezpośrednie uszkadzające działanie ouabainy na astrocyty zostało jednak wykazane w tkance glejowej hodowanej *in vitro* (Renkawk i wsp. 1970). Wykazano w tych warunkach, że dodanie ouabainy w odpowiednim stężeniu do medium hodowlanego powoduje wybiórcze zmiany w astrocytach w postaci obrzmienia i zwyrodnienia wodniczkowego tych komórek. Zespół zaburzeń utrzymujących się przez okres 4—6 godzin po domózgowym wstrzyknięciu ouabainy prowadzi do wyczerpania rezerw energetycznych wraz z obniżeniem poziomu glukozy we krwi, od którego zależy między innymi, zarówno w warunkach pra-

widlowych, jak i patologicznych poziom glikogenu w mózgu (Nelson i wsp. 1968). Zaburzenia te modyfikują prawdopodobnie efekt działania glikozydu na tkankę nerwową, prowadzący do obserwowanego po 2 godzinach wzrostu zawartości glikogenu u naszych zwierząt doświadczalnych. Taką interpretację spadku poziomu wielocukru sugeruje między innymi przejściowy charakter tego zjawiska oraz większe obniżenie zawartości glikogenu w półkuli przeciwległej do miejsca iniekcji, wykazującej we wszystkich pozostałych przedziałach czasu mniejsze zmiany niż półkula prawa. Przyjęcie takiej hipotezy sugerują wyniki doświadczeń Rivery i wsp. (1970), którzy w warunkach okołoporodowej asfiksji u małych stwierdzili u noworodków spadek zawartości glikogenu w mózgu o 74% oraz Shelleya, który w podobnej sytuacji obserwował obniżenie poziomu wielocukru o 80%.

Dynamika zmian zawartości glikogenu w tkance nerwowej w następstwie niedotlenienia kształtuje się różnie w zależności od typu, nasilenia i czasu działania czynnika patogennego, rodzaju i wieku użytych zwierząt i szeregu innych dodatkowych czynników (Mossakowski i wsp. 1968, Ibrahim i wsp. 1970, Pronaszko-Kurczyńska i wsp. 1971, Śmiałek i wsp. 1972). Zasadniczy wzorzec zmian jest podobny, różnice dotyczą przede wszystkim dynamiki procesu i czasu, w którym występuje największy przyrost wielocukru. Zmiany zawartości glikogenu po wstrzyknięciu ouabainy kształtują się inaczej wykazując odmienny rozkład wartości i stosunkowo późny (w 7 dniu po wprowadzeniu ouabainy) szczyt przyrostu wielocukru. Trudno jest wytłumaczyć przyczynę tego zjawiska, warto jednak podkreślić, że podobnej dynamiki zmian nie spotkaliśmy w żadnym układzie doświadczalnym, w którym występował wzrost zawartości wielocukru.

Wśród czynników mogących prowadzić do wzrostu zawartości glikogenu w mózgu w naszych warunkach doświadczalnych należy uwzględnić poza działaniem glikozydu, wpływ narkozy eterowej i urazu tkanki spowodowanego wkluciem. Wyniki uzyskane przez Nelsona i wsp. (1968) wskazują, że przedłużona narkoza, zwłaszcza barbituranowa prowadzi do wzrostu zawartości glikogenu u myszy. Badania przeprowadzone przez Pronaszko i wsp. (1971) wykazały u dorosłych szczurów poddanych krótkotrwałej narkozie eterowej jedynie niewielki i krótkotrwały przyrost glikogenu w 12 godzinie po zastosowaniu narkozy. Po 6 i 24 godzinach zmiany zawartości wielocukru były niewielkie i statystycznie nieznamienne. W naszym doświadczeniu glikogen u szczurów kontrolnych utrzymywał się we wszystkich przedziałach czasu na tym samym poziomie, co wskazuje, że 5 minutowa narkoza nie powodowała zmian zawartości wielocukru.

Uszkodzenie tkanki nerwowej może powodować gromadzenie się glikogenu zarówno w otoczeniu ogniska, jak i w obszarach bardziej oddalonych. Guth i Watson (1968) badając histochemicznie i ilościowo glikogen w mózgach szczurów po rozległym, sięgającym podstawy mózgu, zranieniu jednej półkuli przez wkłucie grubej igły (tzw. stab wound) stwierdzili wzrost zawartości wielocukru już w 6 godzinie po urazie. Wzrost ten utrzymuje się mniej więcej na tym samym poziomie do 4 dnia po zabiegu, w dalszym okresie poziom glikogenu obniżał się stopniowo, ale jeszcze po 15 dniach jego zawartość była podwyższona w stosunku do materiału kontrolnego. Niewielki i krótkotrwały wzrost glikogenu występował również w przeciwlekkiej, nie uszkodzonej półkuli (do 4—5 dnia po zabiegu). Również Farkas-Bargeton i wsp. (1972), stosując podobną technikę urazu u szczurów różnego wieku stwierdzili w badanym czasie (24 godz.) wzrost zawartości glikogenu w mózgach zwierząt dorosłych i 4 tygodniowych. W naszym doświadczeniu długość kanału wkłucia nie przekraczała zwykle 2 mm. Jak wynika z przedstawionej tabeli 1 w żadnej grupie zwierząt kontrolnych nie stwierdzono istotnej różnicy pomiędzy prawą (uszkodzoną) i lewą (nietkniętą) półkulą. Należy więc sądzić, że wzrost glikogenu w sąsiedztwie urazu tkanki był nieznaczny i nie miał istotnego wpływu na całkowitą zawartość glikogenu w uszkodzonej półkuli. Przeprowadzone w podobnych warunkach badanie histochemiczne ujawniające glikogen w tkance wykazało jego obecność w ograniczonym obszarze wokół kanału wkłucia (Zelman, Szumańska 1973).

Pomimo złożonego charakteru zjawiska zmiany zawartości glikogenu w mózgu po wstrzyknięciu ouabainy wskazują na istotne i długotrwałe zaburzenie przemiany glukozy w mózgu w przeciwieństwie do krótkotrwałych i odwracalnych zmian strukturalnych (Cornog i wsp. 1967). Uzyskane wyniki ilościowe nie odzwierciedlają jednak w pełni stopnia nasilenia tych zaburzeń. Warto przypomnieć, że zarówno zmiany strukturalne widoczne w mikroskopie świetlnym, jak i znacznie bardziej rozległe zmiany histochemiczne obserwowano przede wszystkim w korze i tylko w nieznacznym stopniu w strukturach podkorowych (Zelman, Szumańska 1973). Natomiast ilościowo oznaczano glikogen w całej półkuli mózgu wraz z istotą białą oraz zwojami podstawy i wzgórzem. Towfighi i Gonatas (1973) wstrzykując domózgowo ouabainę znakowaną trytem wykazali autoradiograficznie bardzo ograniczoną penetrację glikozydu w mózgu. Histochemiczna lokalizacja glikogenu i wyniki przeprowadzonych przez nas badań ilościowych wskazują na stosunkowo rozległy zasięg bezpośredniego działania glikozydu przenikającego prawdopodobnie do odleglejszych struktur wraz z płynem mózgowo-rdzeniowym. Nie przeczy to wynikom wspomnianych wyżej autorów, którzy mogli wy-

kazać przy pomocy autoradiografii jedynie obszar największego natężenia glikozydu.

Wśród postulowanych mechanizmów patogenetycznych prowadzących do odkładania się glikogenu w tkance nerwowej uwzględnia się obniżenie tlenowej i beztlenowej glikolizy, zwiększoną syntezę wielocukru oraz wtórne metabolizowanie glikogenu z uwolnionych w obrębie tkanki nerwowej węglowodanów (Farkas-Bargeton i wsp. 1972). Wydaje się, że w przypadku encefalopatii ouabainowej można postulować przede wszystkim zaburzenie tlenowej i beztlenowej glikolizy.

И. Б. Зельман, А. Пронашко-Курчиньска

ИЗМЕНЕНИЯ В СОДЕРЖАНИИ ГЛИКОГЕНА В МОЗГУ КРЫСЫ С ЭНЦЕФАЛОПАТИЕЙ ОУАБАИНОВОЙ

Резюме

Исследовали изменения в содержании гликогена в мозгу крыс после инъекции в мозг раствора оуабаины, содержащего 0,002 мг гликозида. Обозначения проводили колориметрическим методом в 2, 6, 24, 48 и 96 часов, а также в 7, 10 и 14 дни после инъекции отдельно в двух полушариях мозга. Контрольным крысам вводили раствор физиологической соли.

Обнаружено увеличение содержания гликогена в обоих полушариях мозга уже в 2 часа после инъекции оуабаины. Повышенный уровень полисахарида сохранялся до конца наблюдений в полушарии мозга, в которое вводилась инъекция, в противоположном полушарии — до 10 дней после введения гликозида и был существенно выше у большинства исследованных групп в пределе полушария, в которую вводили оуабаину. Проходящее снижение уровня гликогена ниже контрольного наблюдалось в 6 часов после инъекции, большее в нетронутом полушарии, видимо связанное с выступающими в этом периоде атаками конвульсий и нарушениями в кровообращении и дыхании. У контрольных крыс уровень гликогена был одинаковым в двух полушариях мозга, независимо от времени жизни животных и не отличался от уровня полисахарида у нормальных крыс.

Динамика изменений в содержании гликогена в мозгу крыс с энцефалопатией оуабаиновой отличается от такого же типа изменений, наблюдаемых в результате различного рода гипоксии и указывает на сложный механизм нарушений, лежащих в основе этого процесса. Статистически существенные и долговременные изменения в содержании гликогена указывают на серьезные нарушения в метаболизме, что длится значительно дольше, чем небольшие и проходящие структуральные изменения.

I. B. Zelman, A. Pronaszko-Kurczyńska

GLYCOGEN CONTENT IN RAT BRAIN IN OUABAIN ENCEPHALOPATHY

Summary

The glycogen content was investigated in brains of 2 months old Wistar rats which were injected intracerebrally with 0,002 mg of ouabain. The glycogen was assayed quantitatively at 2, 6, 24, 48, 96 hours and 7, 10 and 14 days after ouabain

injection separately in both brain hemispheres. Control rats were given by the same route physiological saline solution.

The glycogen content started to increase in both brain hemispheres as early as 2 h after ouabain injection, reaching the peak value after 7 days and being significantly higher in the majority of experimental groups on the injected side. The increased glycogen level was observed on the injected side up the end of experiment and up to 10 days in the contralateral hemisphere. Transient decrease of glycogen content below the control values was stated 6 h after ouabain injection being greater on the unoperated side. In the control rats glycogen content was normal, irrespective of survival time.

The character and dynamics of observed changes differs from the glycogen disturbances stated in several models of experimental hypoxia and ischemia and suggests a complex pathomechanism of glycogen disturbances in ouabain encephalopathy. Significant and long lasting glycogen changes indicate profound metabolic disturbances contrary to slight and transient structural abnormalities.

PÍSMIENNICTWO

1. Bignami A., Palladini G.: Subacute spongiform encephalopathy. An experimental study. Proc. Vth Congress Neuropathol. Excerpta Med. Found. Amsterdam 1966.
2. Cornog J. L., Gonatas N. K., Feierman J. R.: Effects of intracerebral injection of ouabain on the fine structure of rat cerebral cortex. Amer. J. Pathol. 1967, 51, 573—590.
3. Farkas — Bargeton E., Olsson Y., Guth L., Klatzo I.: Glycogen reaction to cerebral stab wound during maturation of rat brain. Acta Neuropath. (Berl.), 1972, 22, 158—169.
4. Guth L., Watson P. K.: A correlated histochemical and quantitative studies on cerebral glycogen content after brain injury in the rat. Exp. Neurol. 1968, 22, 590—602.
5. Guth L., Dempsey P. J.: Mechanism controlling glycogen levels in injured brain, normal brain, liver and heart. Exp. Neurol. 1970, 29, 152—161.
6. Ibrahim M.Z.M., Pascoe E., Alam S., Miquel J.: Glycogen and phosphorylase activity in rat brain during recovery from severa forms of hypoxia. Amer. J. Pathol. 1970, 60, 403—415.
7. Mossakowski M. J., Long D. M., Myers R. E., de Curet H. R., Klatzo I.: Early histochemical changes in perinatal asphyxia. J. Neuropath. exp. Neurol. 1968, 27, 500—516.
8. Mossakowski M. J., Pronaszko-Kurczyńska A., Korthals J., Wrutniak A.: Wpływ umiarkowanego niedokrwienia na poziom glikogenu w mózgu w zależności od stopnia dojrzałości ośrodkowego układu nerwowego. Neuropat. Pol. 1973, 11, 53—68.
9. Nelson A.: A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. J. Biol. Chem. 1944, 153, 375—380.
10. Nelson S. R., Schulz D. W., Passoneau J. V., Lowry O. H.: Control of glycogen levels in brain. J. Neurochem. 1968, 15, 1271—1279.
11. Pronaszko-Kurczyńska A., Mossakowski M. J., Ostenda M., Korthals J.: Zmiany zawartości glikogenu w mózgu w doświadczalnej ischemii. Neuropat. Pol. 1971, 9, 281—294.

12. Renkawek K., Palladini G., Ieradi L.: Morphology of glia cultured in vitro in presence of ouabain. *Brain Res.* 1970, 18, 363—367.
13. Rivera A., Brann M., Myers R. E.: Brain glycogen of the recovering asphyxiated newborn monkey. *Exp. Neurol.* 1970, 26, 363—367.
14. Shelley H. J.: Glycogen reserves and their changes at birth and in anoxia. *Brit. Med. Bull.* 1961, 17, 137—143.
15. Śmiałek M., Sikorska M., Korthals J., Bicz W., Mossakowski M. J.: The glycogen content and its topography and UDPglucose: glycogen -4 Glucosyltransferase (EC.2.4.1.1.11) activity in rat brain after experimental carbon monoxide intoxication. *Acta Neuropath. (Berl.)* 1973, 24, 222—231.
16. Tanaka R.: Electron microscopic study of ouabain induced edematous brain. *Brain Nerve (Tokyo)* 1969, 21, 853.
17. Towfighi J., Gonatas N. K.: Effect of ouabain in adult and developing rats. An ultrastructural and autoradiographic study. *Laboratory Invest.* 1973, 28, 170—180.
18. Zelman I. B., Szumańska G.: Zmiany histochemiczne w mózgu szczura w encefalopatii ouabainowej. *Neuropat. Pol.* 1973, 11, 441—453.

Adres autorek: Zespół Neuropatologii CMDiK PAN, ul. Dworkowa 3, 00-784 Warszawa.

ZBIGNIEW M. RAP, GRAŻYNA SZUMAŃSKA, BARBARA GAJKOWSKA.

INFLUENCE OF "EXPERIMENTAL SUBARACHNOID
HAEMORRHAGE" ON THE OCCURRENCE OF GLYCOGEN
IN THE HYPOTHALAMO-HYPOPHYSEAL SYSTEM
OF RABBITS

Department of Neuropathology, Medical Research Centre, Polish Academy of Sciences

Head: Prof. M. J. Mossakowski M. D.

Laboratory of Electron Microscopy, Medical Research Centre, Polish Academy
of Sciences

Head: Prof. J. W. Borówicz M. D.

Increase of intracranial pressure causes secondary morphological changes in the hypothalamo-hypophyseal system (Wolman, 1956; Daniel et al., 1959; Crompton, 1963; Wiśniewski, 1965; Rap, Zaremba, 1970; Rap, Liudkovskaya, 1971 and others). The degree and extent of injury to this system depends on the rate of increase of intracranial pressure and on the kind and localization of the primary pathological focus. In most cases morphological changes in the hypothalamo-hypophyseal system (HHS) are connected with circulatory disturbances due to the specific topographic conditions and to the structure of the vascular network in this region (Adams et al., 1964; Duvernoy, 1972). As a result of these disorders in blood supply to the tissues, and owing to changes in the walls of the portal vessels of the hypophysis both the neurophysis and the anterior lobe of the hypophysis as well as the hypothalamic structures are impaired.

Numerous studies devoted to the consequences of hypoxia of the nervous system indicate that one of the earliest reactions of tissue to this condition is increased glycogen deposition in the processes and cytoplasm of glial cells and sometimes also in nerve cells (Guth, Watson, 1968; Klatzo et al. 1970; Long et al., 1972).

The aim of the present study was to evaluate this phenomenon in the HHS. Together with the analysis of glycogen deposition and changes in the activity of glycogen metabolizing enzymes, the neurosecretory activity of this system was evaluated.

As experimental model the subarachnoid haemorrhage was used, in the course of which, beside the above named circulatory disturbances

leading to hypoxia and ischaemia of the HHS structures there probably occur disorders in the cerebrospinal fluid-brain barrier.

MATERIAL AND METHODS

The investigations were performed on 62 male rabbits weighing 3.5—4 kg. Conditions simulating subarachnoid haemorrhage were elicited by injection of 3.5—4 ml of the animal's own heparinized blood into the subarachnoid space. The rabbits were decapitated after 24 and 48 h, 4, 7, 9 and 14 days and after the lapse of one month from the experimental treatment. Each time group consisted of 7 animals, in three of which glycogen content in the HHS was investigated. In two others phosphorylase activity was determined and in the remaining two simultaneously glycogen and the Gomori-positive neurosecretory substance were assayed. The control group consisted of 7 rabbits which received, instead of heparinized blood, physiological saline with heparin. Six animals were left intact and these served for comparison of the histochemical changes observed in the HHS in the experimental and control groups. HHS from the optic chiasm to the interpeduncular fossa was taken for histological and histochemical examinations. Material for glycogen assay was fixed in cooled Rossman solution and embedded in paraffin. Glycogen deposits were evaluated by the PAS reaction which was compared with the control one consisting in digestion with 1 percent diastase solution and blocking of aldehyde groups with dimedone (Bulmer, 1959). Blocks of fresh tissue for enzymatic investigations were frozen in liquid nitrogen and cut on a cryostat at -15°C into $14\text{-}\mu$ sections. Total, a and a + b phosphorylase activity was assayed by the method of Takeuchi and Kuriaki (1955) in the modification of Godlewski (1963). Neurosecretory substance was stained with aldehyde fuchsin in material previously fixed in Bouin's solution. The material was histologically evaluated in paraffin sections stained with hematoxylin and eosin and cresyl violet.

For studies in the electron microscope, sections were taken from rabbits surviving 3, 4 and 7 days after introduction of blood into the subarachnoid space and from animals of the control group — 2 animals from each time group. The animals were decapitated and as quickly as possible (about 1 min.), the brain were removed with the pituitary gland and the stem of the pituitary stalk. The sections were fixed in 5 per cent glutaraldehyde in phosphate buffer, pH 7.4 for 1.5 h. After washing of the material for 1 h in phosphate buffer, pH 7.4 it was once more fixed for 1 h in 2 per cent OsO_4 in Millonig buffer, pH 7.4. Then the material was dehydrated in an ascending ethanol gradient and in propylene oxi-

de and embedded in Epon 812. Ultrathin sections were cut on a Reichert OmU 2 microtome and counterstained with a saturated uranyl solution at 37°C for 45 min and with Reynold's reagent at room temperature for 15 min. Photographs were taken in a JEM-7A electron microscope on ORWO E 42 plates.

RESULTS

Clinical observations

Immediately after the experiment the animals remained in coma for 6—12 h. During this time episodes of respiratory disturbances and rigidity of the extremities occurred. In the second 24 h after the haemorrhage the general condition of the rabbits improved visibly — they moved freely and appetite returned. Neurological examination did not reveal any noticeable changes, and after 5 to 6 days the animals regained their full efficiency.

Morfological observations

In dependence on the time of survival of the animals, smaller or larger amounts of unresorbed blood were seen macroscopically on the base and convexities of the brain hemispheres. On frontal brain sections no lesions were noticed, except the linear canal of the puncture which ran through the basal ganglia and reached the subarachnoid space outside the lateral part of the hypothalamus (Fig. 1).

Histopathological picture

The neurocytes of the supraoptic and paraventricular nuclei exhibited in the first week after the haemorrhage a characteristic tygrolisis, vacuolization of the cytoplasm and enlargement of the cell nuclei. Sometimes shrunken nerve cells were noted with dark compact cytoplasm. In the 2 and 4th week after haemorrhage the tigroid amount in the cytoplasm of neurocytes of magnocellular hypothalamic nuclei increased and single shadows of disintegrated neurocytes were visible. Both in the median eminence, the stalk and the posterior lobe of the pituitary gland distinct glial proliferation and cell hyperplasia in the subependymal layer of the recessus infundibularis were observed. In the pars distalis of the hypophysis acidophylic cells prevailed.

Glycogen. In the group of animals not subjected to experimental treatment single glycogen grains were only found in the neuropil of the median eminence (Fig. 2), in the ependymal cells and in the subependymal tissue of the 3rd ventricle and recessus infundibularis as well as in the stalk itself and in the posterior hypophyseal lobe. Sporadically they were also found in the cytoplasm of nerve cells of the tuberal nuclei. Glycogen was absent in the supraoptic and paraventricular nuclei and in the pars distalis of the hypophysis. Contrary to glycogen the PAS-positive substance was present both in the neural and in the distal part of the hypophysis. It accumulated most abundantly in the median eminence and the walls of the 3rd ventricle and of the recessus infundibularis and also occurred in the cytoplasm of nerve cells of the nuclei magnocellulares and tuberales of the hypothalamus. Moreover PAS-positive substances were found in the cytoplasm of the glandular cells of the hypophysis. The PAS reaction was most pronounced in the walls of blood vessels and in the connective tissue elements of the hypophysis.

Twenty four hours after subarachnoid haemorrhage a slight increase in the glycogen content in the neuropil of the median eminence occurred. After 48 h the number of glycogen deposits in this region, the stalk and posterior hypophyseal lobe distinctly increased (Fig. 3). Polysaccharide grains were profuse also in the walls of the recessus infundibularis. The cells of the pars distalis of the hypophysis did not store glycogen at all, but it was found in the connective tissue structures surrounding vessels. The greatest glycogen accumulation was noted between the 2nd and 9th day of observation. At this time the number of deposits increased considerably both in the median eminence (Fig. 4) and in the stalk. Compact polysaccharide conglomerations were seen in the formations resembling Hering bodies, occurring in the stalk stem in the neighbourhood of the pars intermedia, less frequently in the posterior hypophyseal lobe (Fig. 5). The chain-like arrangement of glycogen grains in the zona interna of the stalk suggested their connection with the processes of the ependymal and subependymal cells (Fig. 6). In the posterior hypophyseal lobe, beside glycogen accumulation in single Hering bodies polysaccharide grains were disseminated loosely in the neuropil. In the period between the 7th and 9th day after inducing haemorrhage there appeared rather abundant glycogen deposits in the pars tuberalis of adenohypophysis both in the glandular cells and the vascular walls (Fig. 7). This finding, however, was not consistent. In the pars intermedia and distalis of the hypophysis only single glycogen grains were seen in the cytoplasm of glandular cells. A marked decrease of glycogen deposition in the HHS was observed as early as nine days after the injection although its amount was still considerable as com-

pared with that in normal conditions. From the 14th day the glycogen content in the particular HHS structures was identical as in animals not subjected to experimental treatment.

In the control group in which the animals received, instead of heparinized blood, physiological saline with heparin into the subarachnoid space, glycogen accumulation in the HHS was slightly increased as compared with normal, but did not reach the intensity observed in the group of experimental animals.

Phosphorylase activity. In normal conditions most HHS structures showed a relatively low activity of phosphorylase a and a + b. A stronger enzymatic reaction was only observed in the optic tracts, in the region corresponding to the supraoptic nuclei and in the pars tuberalis of the hypophysis. The histochemical reaction for phosphorylases was slight in the median eminence, structures of the stalk and in the posterior and anterior lobes of the hypophysis. In general, the diffuse and varying reaction made a precise localization of the enzymatic activity in the particular structural elements of the HHS difficult.

Slight changes in phosphorylase activity were noted 24 and 48 h after the subarachnoid haemorrhage with a decline of the reaction for phosphorylase a and enhanced reaction for phosphorylases a + b. These changes became more pronounced on the 4th, 7th or even 9th day after treatment, and they involved only some regions of the HHS such as the walls of the 3rd ventricle (except ependyma- and subependymal layer) optic tract, the region of the supraoptic nuclei (Fig. 9) and some parts of the stalk and tuberal portion of the hypophysis. After 14 days and after 1 month the pattern of phosphorylase activity did not differ from that found in intact animals.

Neurosecretion. The nerve cells of the supraoptic and paraventricular nuclei in animals not subjected to any experimental treatment showed a characteristic accumulation of Gomori-positive substance in the cytoplasm. The amount of neurosecretory material in their axons varied. It occurred in the form of minute dark blue granules, less frequently in bead-like arrangement along the supraoptic-paraventriculo-hypophyseal tracts. In the internal layer of the median eminence and the stalk greater agglomerations of neurosecret were found in the form of typical Hering bodies. Beside these bodies, in the neural part of the hypophysis small accumulation of neurosecret were grouped around the vessels. Subarachnoid haemorrhage resulted in marked changes in the content and distribution of the neurosecretory material. After 24 and 48 h the amount of the neurosecretory substance in the cytoplasm of nerve cells of the magnocellular hypothalamic nuclei decreased irregularly (Fig. 10), with simultaneous increase of its amount in their

axons, enlarged and distended in some places (Fig. 11). The number of Hering bodies increased in the zona interna of the hypophyseal stalk and in neurohypophysis.

In the groups surviving 4 and 7 days after haemorrhage a further increase of neurosecret accumulation was observed in the median eminence, stalk and in the neural part of the hypophysis (Fig. 12, 13). At the same time, the changes in the morphological pattern of the neurocytes of the supraoptic and paraventricular nuclei became more pronounced. These neurocytes had a light vacuolized cytoplasm and large vesicular nuclei. Sometimes empty spaces left by disintegrated nerve cells could be seen.

In animals surviving 14 days and 1 month and in the control group no changes in the distribution of the neurosecretory material in the HHS were found.

Electron-microscopic picture. The electron microscopic studies were limited to the part of the stalk in which, under the light microscope, large agglomerations of glycogen grains resembling Hering bodies were seen in animals surviving 3, 4 and 7 days after experimental treatment.

The electron-microscopic picture of this region showed nerve fibres arranged in parallel bands and numerous processes of glial cells forming an irregular network. Among the unmyelinated nerve fibres „large” ones prevailed. They contained, beside neurofilaments, neurotubules and single unchanged mitochondria, numerous neurosecretory granules. The latter were arranged in bands along the course of the fibres or accumulated in larger agglomerations in the distended axons or their endings — Hering bodies. The neurosecretory granules differed in size, shape and structure. Their size varied within 1500—3000 Å. Beside typical round forms with a strongly osmiophilic core, light halo and a distinctly outlined limiting membrane, there occurred forms with altered shape and structure. These forms were mostly oval in outline with a light granular core, containing sometimes highly osmiophilic particles (Fig. 14). Quite frequently invaginations of the membranes surrounding the nerve fibres typical for exocytosis were observed, associated with shadows of the neurosecretory granules (Fig. 15). Usually the structurally varying neurosecretory granules were accompanied by numerous glycogen grains localized in the axoplasm of the processes (Fig. 15, 16). In animals surviving 4 and 7 days giant Hering bodies (3.5—6 μ) were seen, filled completely with a compact mass of glycogen grains. Among them „diffusing” neurosecretory granules were only visible here and there (Fig. 17A, 17B). Some of the nerve endings contained two kinds of vesicular structures, the first 800—1000 Å in size exhibited dark electron-dense cores, the second ones

of 500 Å dimensions had the appearance of typical synaptic vesicles found in the nerve endings in the central nervous system. Glycogen grains accumulated not only in the neurosecretory axons and their endings, but also in large quantities in the processes of glial cells (Fig. 18).

In intact animals neither the above described diversity of structure of neurosecretory granules nor glycogen accumulation in the neuronal processes were noted. Scanty glycogen deposits were found only in the processes of glial cell.

DISCUSSION

The introduction of blood into the subarachnoid space of the rabbit brain base, simulating conditions occurring in the course of subarachnoid haemorrhage leads to distinct, mostly reversible, changes in the hypothalamo-hypophyseal system manifested in the first place by accumulation of glycogen deposits with simultaneous ununiform enhancement of phosphorylase activity and changes in the neurosecretory system.

Increased glycogen deposition observed as early as 24 h after haemorrhage reaches its peak between the 2nd and 9th day after experimental treatment. The glycogen deposits in experimental animals after one month were identical as in untreated rabbits. The topographic differences of the deposits is noteworthy. The cells of the tuberal portion of the adenohypophysis were the only glandular elements accumulating glycogen, which elsewhere in this part was limited to the vascular walls. This phenomenon moreover occurred late and was not consistent. Profuse and constant glycogen deposits accumulated in the median eminence of the hypothalamus, stalk and the neurohypophysis, filling the processes and cytoplasm of glial cells, pituicytes and ependymal cells. They also occurred in the cytoplasm of some few neurones belonging to the group of stalk and tuberal nuclei. On the other hand, glycogen was not found in the neurones of neurosecretory magnocellular nuclei. The most abundant glycogen deposits were found in the distended neurosecretory axons and their endings situated in the base of the stalk, in the immediate vicinity of the pars intermedia of the hypophysis and in its posterior lobe.

The HHS even under normal conditions, belongs to structures with a high glycogen content. Its content in the HHS of immature rabbits is much higher than in adult animals (Barrer, Lederis, 1967). It is usually accumulated in the processes and cytoplasm of the glial subependymal cells and in the ependyma. Sporadically glycogen deposits have been described in some neurones of the hypothalamic tuberal nuclei (Shimizu, Kumamoto 1952; Friede, 1966). However glycogen accumulation has never been reported in the neurosecretory system either of rabbit

or other animals. It has been suggested that a polysaccharide PAS-positive component is included in the Gomori-positive neurosecretory substance, however, its glycogen character is unanimously negated (Schiedler, 1954; Gosler, Schiedler, 1963; Hove, Pearse, 1956; Rinne, 1960; Pawlikowski, 1963; Polenov, 1968).

Enhanced glycogen deposition in the HHS has been described in cases of depressed metabolic processes in the organism. Wolff (1968) found profuse glycogen deposits in the magnocellular nuclei of the hypothalamus as in the walls of recessus infundibularis during natural hibernation in small animals, and Koizumi and Shiraishi (1968) in cases of artificially induced hibernation due to large chlorpromazine doses, described glycogen deposition in the postsynaptic part of the dendrites of the median eminence and in the subependymal layer and ependyma of the stalk. Similar glycogen accumulation was reported in the early period after castration (Kabayashi, Matsui, 1969). In none of the described conditions, however, was this accumulation as high as in the present material and it did not involve the structures of the neurosecretory system. Only Delman and Rodriguez (1970) noted the presence of singly distributed glycogen-like grains in regenerating Hering bodies of type IIIa.

The reaction observed in the present studies in the neurosecretory system was manifested by morphological changes in neurocytes of the nuclei magnocellulares of the hypothalamus and by a considerable accumulation of Gomori-positive neurosecretory substance in their axons and endings. Changes in the histological picture of cells of the supraoptic and paraventricular nuclei, suggesting their activation in connection with enhanced neurosecret synthesis, became more pronounced as the latter accumulated in the distended axons and Hering bodies.

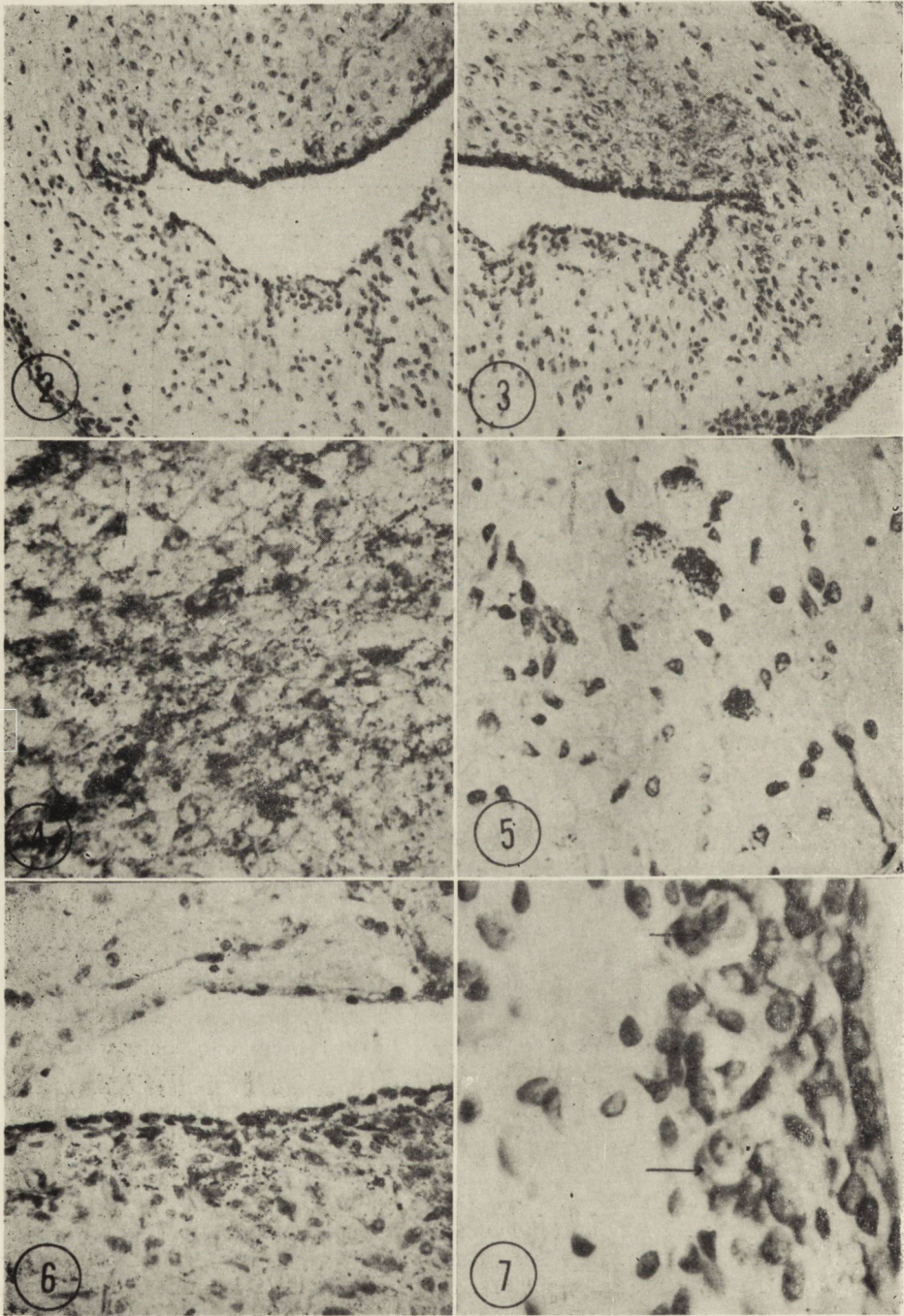
Electron microscopic investigations performed in the period of most intensive accumulation of Gomori-positive neurosecretory material, demonstrated that it is associated with significant alterations in the structure of the neurosecretory granules and profuse glycogen deposition in Hering bodies. Beside neurosecretory granules of typical size, shape and structure, forms appeared with a light granular core, quite frequently containing strongly osmiophilic particles of unknown origin. The greater were the changes in the neurosecretory granules the more abundant were the glycogen deposits in the axonal distentions and endings. The huge Hering bodies were filled almost exclusively with glycogen grains among which „diffusing” neurosecretory granules and scarce mitochondria with impaired structure could be seen here and there.

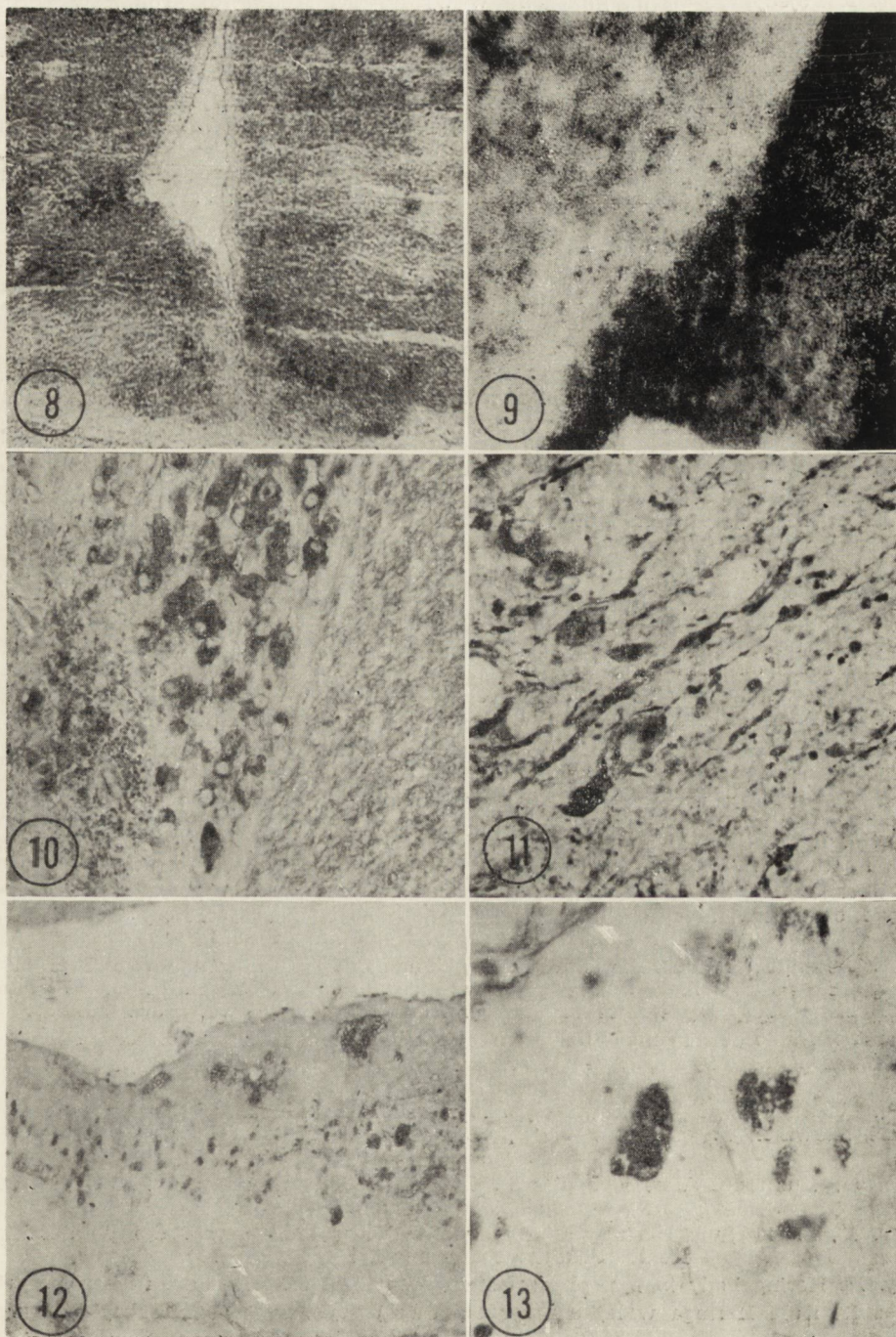
In the literature no univocal interpretation can be found of the neurosecretory granules with light core. Duffy and Menefee (1965) believe they are a phenomenon typical for the neurosecretory system of nor-



Fig. 1. Frontal section through hypothalamus, stalk and hypophysis of rabbit, with subarachnoid haemorrhage. Arrow points to canal after puncture. Hematoxylin-eosin. $\times 10$.

Ryc. 1. Przekrój czołowy przez podwzgórze, lejek i przysadkę mózgową królika z krwotokiem podpajęczynówkowym. Strzałką oznaczono kanał wkłucia. Hematoksylina-eozyna. Pow. 10 \times .





- Fig. 2.* Glycogen grains singly distributed in median eminence of rabbit in normal conditions. Dimedone-PAS-hematoxylin. $\times 100$.
- Ryc. 2.* Pojedyncze ziarna glikogenu w wyniosłości środkowej królika w warunkach prawidłowych. Dimedon-PAS-Hematoksylina. Pow. 100 \times .
- Fig. 3.* Enhanced glycogen deposits accumulation in median eminence of rabbit 48 h after subarachnoid haemorrhage. Dimedone-PAS-hematoxylin. $\times 100$.
- Ryc. 3.* Zwiększone gromadzenie się złogów glikogenu w wyniosłości środkowej u królika w 48 godz. po krwotoku podpajęczynówkowym. Dimedon-PAS-Hematoksylina. Pow. 100 \times .
- Fig. 4.* Profuse glycogen deposits in neuropile of median eminence in rabbit 7 days after experiment. Dimedone-PAS-Hematoxylin. $\times 400$.
- Ryc. 4.* Obfite złogi glikogenu w neuropilu wyniosłości środkowej u królika w 7 dni po doświadczeniu. Dimedon-PAS-Hematoksylina. Pow. 400 \times .
- Fig. 5.* Abundant glycogen deposits in Hering bodies. Base of hypophyseal stalk 4 days after experiment. Dimedone-PAS-hematoxylin. $\times 300$.
- Ryc. 5.* Bogate złogi glikogenu w kulach Heringa. Pień lejka przysadki królika w 4 dni po doświadczeniu. Dimedon-PAS-Hematoksylina. Pow. 300 \times .
- Fig. 6.* Glycogen grains in ependymal and subependymal layer of hypophyseal stalk in rabbit 7 days after experiment. Dimedone-PAS-hematoxylin. $\times 200$.
- Ryc. 6.* Ziarna glikogenu w warstwie wyściółkowej i podwyściółkowej lejka przysadki u królika w 7 dni po doświadczeniu. Dimedon-PAS-Hematoksylina. Pow. 200 \times .
- Fig. 7.* Diffuse glycogen deposits in glandular cells of pars tuberalis of the hypophysis (Arrows). Rabbit 7 days after experiment. Dimedone-PAS-Hematoxylin. $\times 200$.
- Ryc. 7.* Dyfuzyjne złogi glikogenu w komórkach gruczołowych części guzowej przysadki. Królik — 7 dni po doświadczeniu. Dimedon-PAS-Hematoksylina. Pow. 200 \times .
- Fig. 8.* Section through posterior part of median eminence. Ununiformly distributed darker areas on both sides of III brain ventricle indicate an active reaction for phosphorylase a + b. Rabbit 4 days after experiment. $\times 1000$.
- Ryc. 8.* Przekrój przez tylną część wyniosłości środkowej. Nierównomiernie rozsięte zacieńczenia po obu stronach komory III-ciej mózgu wskazują na aktywny odczyn na fosforylaze a + b. Królik — 4 dni po doświadczeniu. Pow. 1000 \times .
- Fig. 9.* Enhanced reaction for phosphorylase a + b in the region of nucleus supraopticus and optic tract in rabbit 7 days after experiment. $\times 200$.
- Ryc. 9.* Wzmoczony odczyn na fosforylaze a + b w okolicy jądra nadwzrokowego i pasma wzrokowego u królika w 7 dni po doświadczeniu. Pow. 200 \times .
- Fig. 10.* Nucleus supraopticus with minute haemorrhagic focus in rabbit 48 h after experiment. In neurocyte cytoplasm dark deposits of neurosecretory Gomori positive substance. Aldehyde fuchsin. $\times 200$.
- Ryc. 10.* Jądro nadwzrokowe z drobnym ogniskiem krwotocznym u królika w 48 godzin po doświadczeniu. W cytoplazmie neurocytów ciemne złogi substancji neurosekrecyjnej Gomori dodatniej. Fuksyna aldehydowa. Pow. 200 \times .
- Fig. 11.* Numerous axons filled with Gomori positive neurosecretory substance within nucleus supraopticus. Rabbit 48 h after experiment. Aldehyde fuchsin. $\times 400$.
- Ryc. 11.* Liczne włókna osiowe wypełnione substancją neurosekrecyjną w obrębie jądra nadwzrokowego. Królik — 48 godzin po doświadczeniu. Fuksyna aldehydowa. Pow. 400 \times .
- Fig. 12.* Numerous Hering bodies in hypophyseal stalk of rabbit 7 days after experiment. Aldehyde fuchsin. $\times 200$.
- Ryc. 12.* Liczne kule Heringa w lejku przysadki u królika w 7 dni po doświadczeniu. Fuksyna aldehydowa. Pow. 200 \times .
- Fig. 13.* Hering body in hypophyseal stalk from Fig. 12. Aldehyde fuchsin. $\times 400$.
- Ryc. 13.* Kula Heringa w lejku przysadki mózgowej z ryciny 12. Fuksyna aldehydowa. Pow. 400 \times .

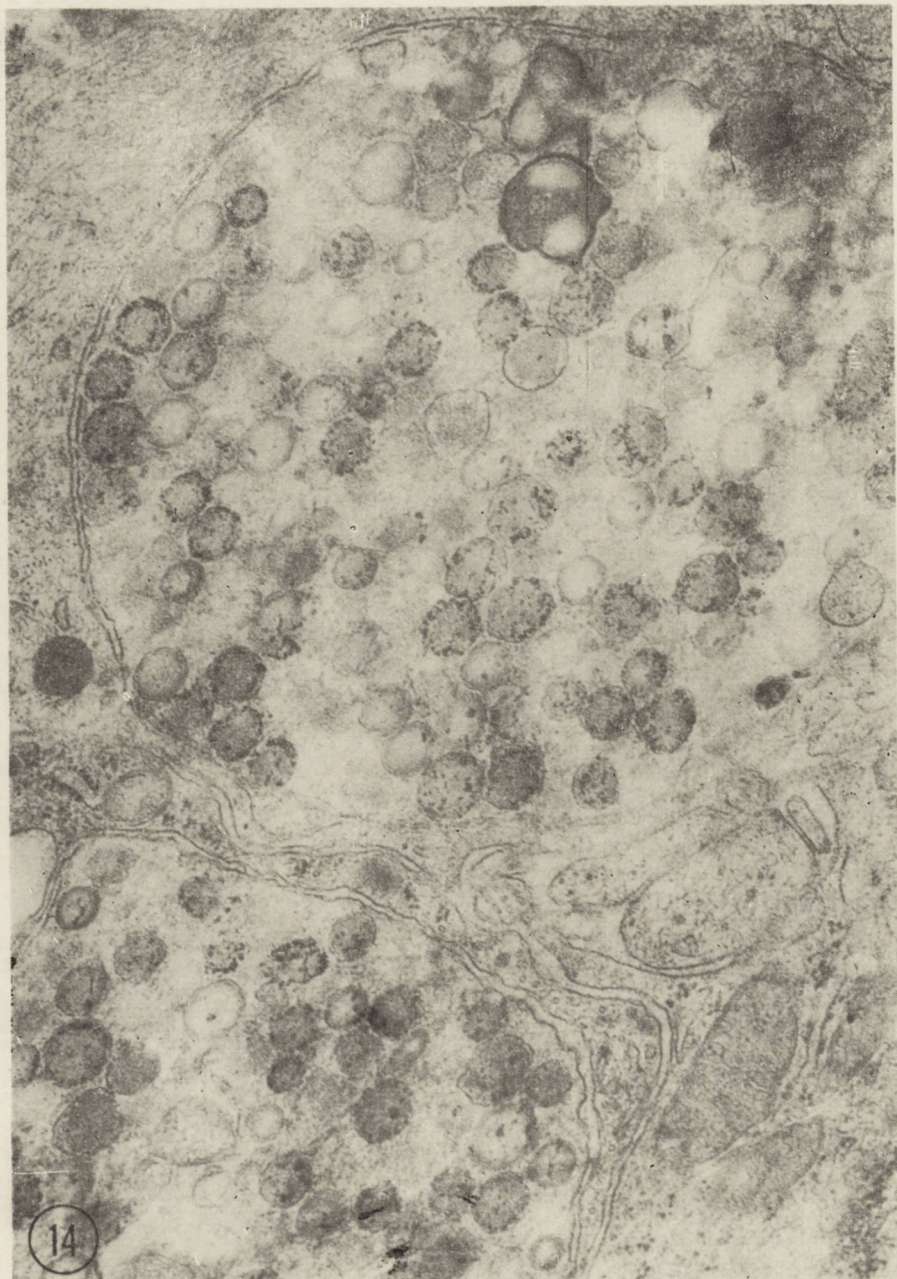


Fig. 14. Two neighbouring nerve fibres in base of stalk, filled with neurosecretory granules, part of which contain highly osmiophilic particles. Rabbit 3 days after experiment. $\times 37\,500$.

Ryc. 14. Dwa sąsiadujące ze sobą włókna nerwowe w pniu lejka przysadki wypełnione ziarnami neurosekrecyjnymi, z których część zawiera silnie osmofilne ziarenka. Królik — 3 dzień po doświadczeniu. Pow. 37 500 \times .

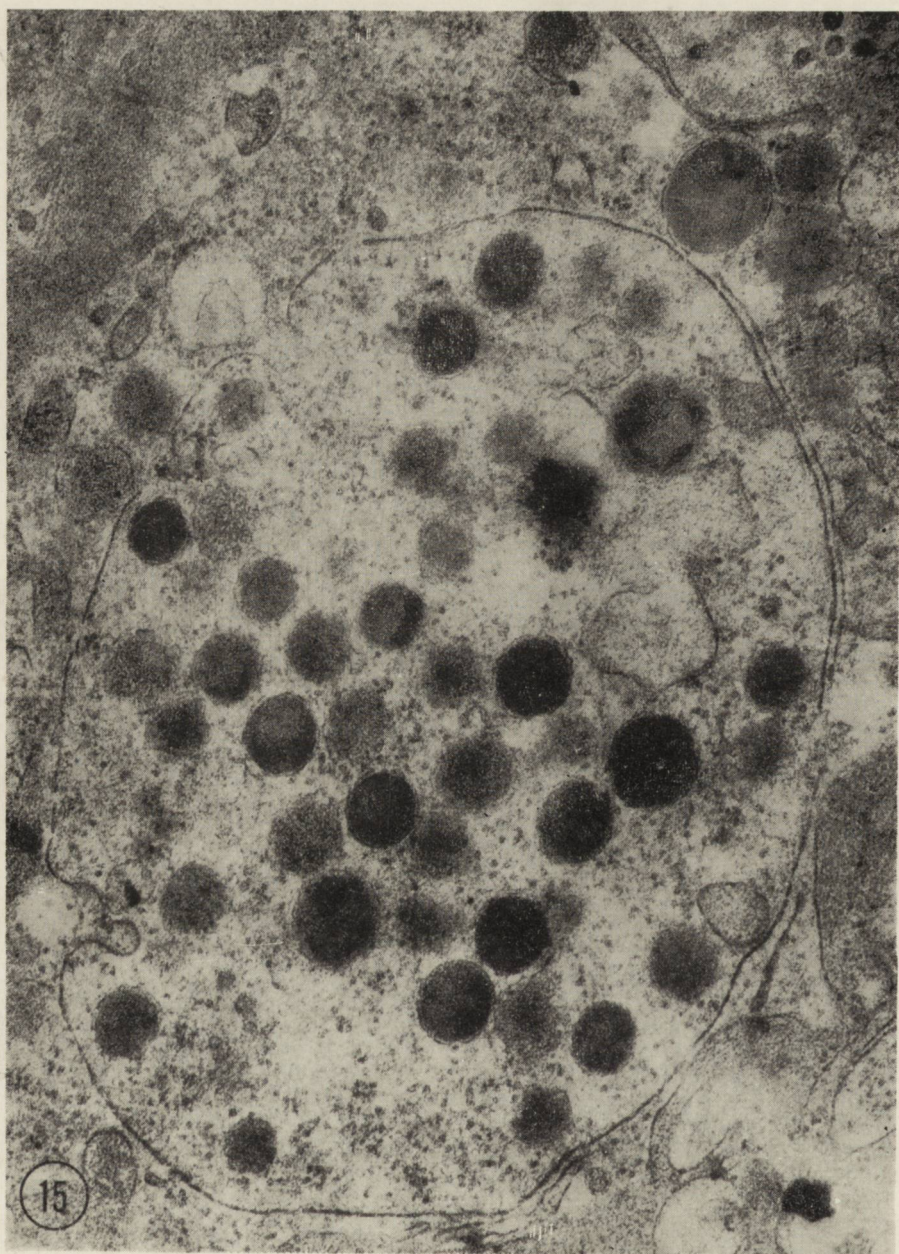


Fig. 15. Glycogen deposits in and around nerve fibre in the stalk of hypophysis. Pronounced exocytosis and shadows of neurosecretory granules. Rabbit 4 days after experimental. $\times 43\,500$.

Ryc. 15. Złogi glikogenu wewnątrz i w otoczeniu włókna nerwowego w lejku przysadki. Nasilone zjawisko egzocytozy i związane z nim cienie ziaren neurosekrecyjnych. Królik — 4 dni po doświadczeniu. Pow. $43\,500\times$.

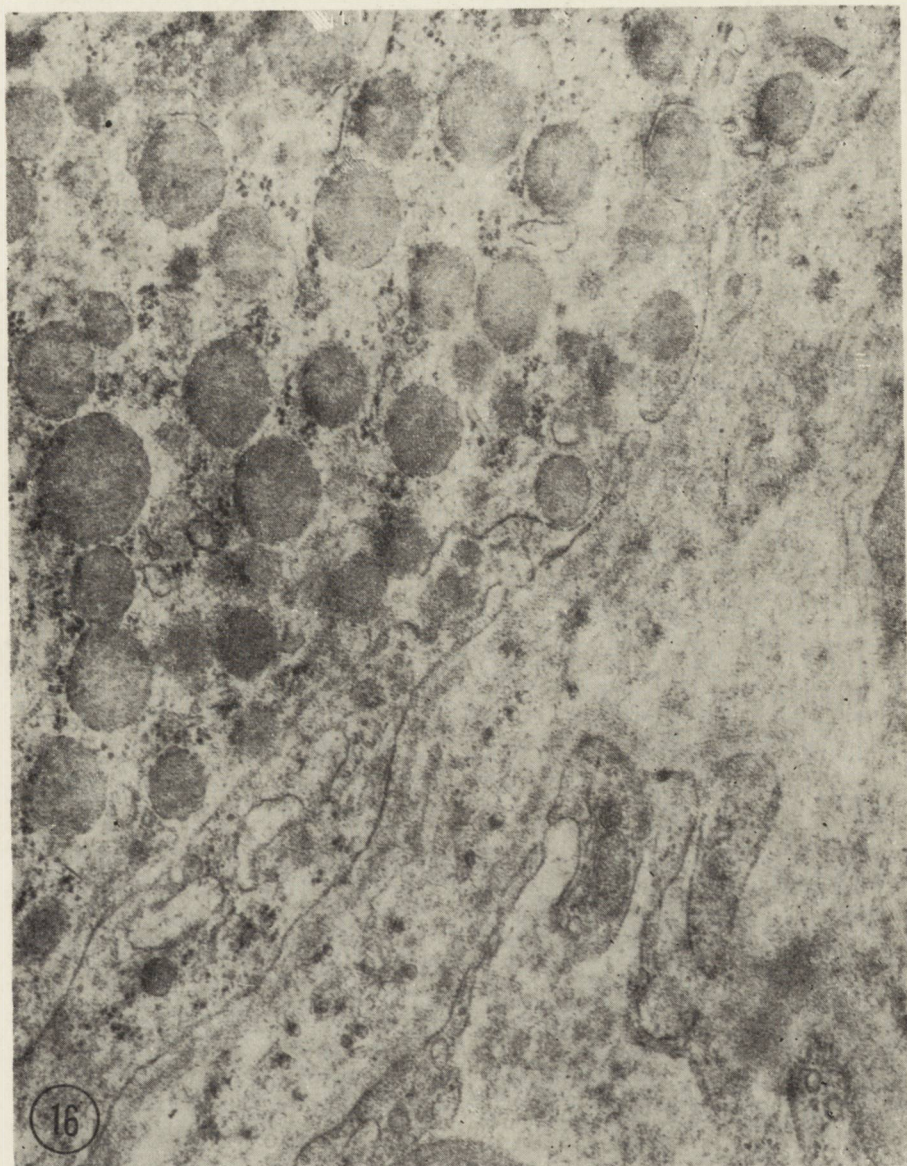
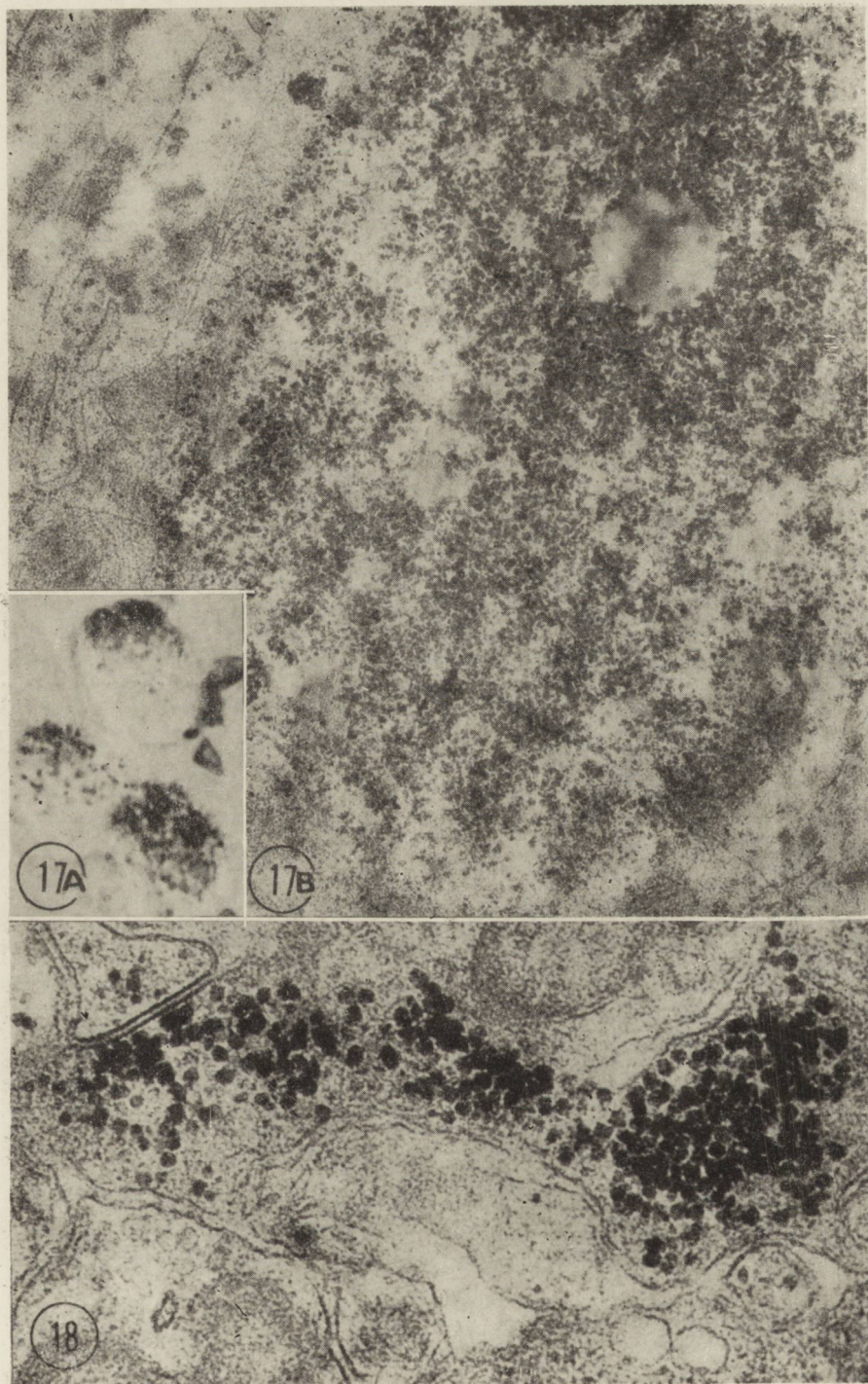


Fig 16. Fragment of nerve fibre filled with light homogenous neurosecretory granules and glycogen grains in the immediate vicinity of a blood vessel. Rabbit 4 days after experiment $\times 43\,400$.

Ryc. 16. Fragment włókna nerwowego wypełnionego jasnymi, o jednorodnej budowie ziarnami neurosekretoryjnymi i ziarnami glikogenu w bezpośredniej okolicy naczynia krwionośnego. Królik — 4 dzień po doświadczeniu Pow. $43\,500 \times$.



mal rabbits. This is contradicted by the present observations in control material. Barrer and Lederis (1967) consider these bodies as characteristic for the HHS of immature animals. They report having observed them after ether anesthesia and fluidless diet. Similar changes in the structure of the neurosecretory granules have been described by Akmayev et al. (1967) after adrenalectomy, whereas Gerschenfeld et al. (1960) suppose that they are formed as the result of neurohormone secretion. Notwithstanding the differing opinions as regards the origin of the changes in the fine structure of neurosecretory granules, they are usually attributed to a changed functional state of the HHS. In our material, beside changes indicating activation of the neurosecretory system, pictures may be seen to be evidence of impairment of this system. Among these belong changes in the nerve cells of nuclei magnocellulares observed in the light microscope (shadows of neurocytes) as well as ultrastructural abnormalities in the structure of the neurosecretory granules, a decrease in the number of mitochondria and features of their injury.

The same group of changes is probably represented by the huge Hering bodies filled with glycogen, nevertheless they differ significantly from changes considered by Dellman and Rodriguez (1970) as indices of degeneration of Hering bodies and from the Hering bodies described in sheep in cases of the natural form of scrapie (Bignami and Parry, 1972). These differences may probably be attributed both to the different experimental material and conditions.

Changes in the picture of the neurosecretory system pointing to its activation have been described in numerous pathological processes in the central nervous system of humans (Polay, 1953; Hild, Zettler, 1953; Müller, Mortillaro, 1957; Lundberg, 1958; Bom, 1964; Oksche, Rabl, 1964;

Fig. 17. A — Hering bodies in base of stalk, filled with glycogen deposits. Rabbit 7 days after experiment. Dimedone-PAS-hematoxylin. $\times 1500$. B — Excessively thickened degenerating nerve ending in base of stalk, surrounded with changed, partly disappearing membrane, filled with compact glycogen mass in which sporadically "diffusing" forms of neurosecretory granules are seen. $\times 30\,000$.

Ryc. 17 A — Kule Heringa w pniu lejka przysadki mózgowej wypełnione złogami glikogenu u królika w 7 dni po doświadczeniu. Dimedon-PAS-Hematoksylina. Pow. $1\,500\times$. B — Nadmiernie zgrubiałe wyrodlone zakończenie nerwowe w pniu lejka ograniczone rozpułchnioną zacierającą się błoną, wypełnione zbity masą glikogenu wśród których sporadycznie spotyka się „rozpływające się” ziarna neurosekrecyjne. Pow. $30\,000\times$.

Fig. 18. Glial process in hypophyseal stalk, filled with glycogen grains. Rabbit 7 days after experiment. $\times 46\,200$.

Ryc. 18. Wypustka glejowa w lejku przysadki wypełniona ziarnami glikogenu. Królik — 7 dni po doświadczeniu. Pow. $46\,200\times$.

Fiodorowa, 1964). These studies, however, were based exclusively on the light microscope technique.

Under experimental conditions Rap and Staszewska-Barczak (1974) also found morphological indices of activation of the neurosecretory system in cats in cases of increased intracranial pressure after cerebral compression induced by inflation of a balloon placed in the epidural space and in cases of subarachnoid haemorrhage.

The elucidation of the pathogenic mechanism of the changes found in the present material requires a number of factors to be taken into account. Profuse accumulation of glycogen deposits suggests that an ischaemic-hypoxic factor may be involved here (Guth, Watson, 1968; Long et al., 1972). In pathological processes occurring in the central nervous system in humans with symptoms of increased intracranial pressure pathological changes have frequently been described in the HHS, suggesting their dependence on the disturbed circulation in this region (Wolman, 1956; Daniel et al., 1959; Crompton, 1963; Wiśniewski, 1965; Rap, Zaremba, 1970). This has been confirmed by the investigations of Rap and Liudkovskaja (1971) concerning changes in the HHS associated with occlusion of the internal carotid arteries. Experimental subarachnoid haemorrhage is also connected with a rise of intracranial pressure leading to disturbances in the HHS circulation. An additional factor impairing this circulation may be the direct pressure of, blood accumulating on the brain base.

The differences in the character of changes in the hypothalamo-hypophyseal system in experimental condition simulating epidural haematoma and in experimental subarachnoid haemorrhage in cats indicate that the changes observed in the present material cannot be attributed solely to the rise of intracranial pressure common to both these processes. Whole blood accumulation in the subarachnoid space points to the possibility of the existence of active substances contained in this blood and not occurring in general in the cerebrospinal fluid or present only in much lower concentrations such as hormones or Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, and other ions influencing the HHS. Attention is called to this possibility in the investigations of the cerebrospinal fluid-brain barrier system in the hypothalamo-hypophyseal region (Kandel et al., 1971; Ondo et al., 1972) and in studies concerning changes in the cerebrospinal fluid in the case of subarachnoid haemorrhage (Froman, Smith, 1967). These data indicate that active substances may pass from the cerebrospinal fluid to the HHS and affect its metabolism and functions. The fact may not be overlooked that heparin is present in the blood injected into the subarachnoid space. However control animals in which physiological saline with heparin was introduced

instead of blood showed only slight increase in glycogen deposits in the HHS which did not reach the intensity observed in the experimental group. The influence of general metabolic disturbances in the organism similar to these noted in humans with subarachnoid haemorrhage, should also be taken into account (Joynt et al., 1965; Buckell et al., 1966). There is also a possibility of a secondary response of the HHS to disorders in the adrenal function, developing as the result of primary impairment of HHS (Rap, Staszewska-Barczak, 1974). It may be that excessive secretion of the antidiuretic hormone noted in humans in the cases of subarachnoid haemorrhage (Bartter, Schwartz, 1967), is connected with the enhanced activity of the neurosecretory system and more intensive accumulation of Gomori-positive substance, considered as the precursor of oxytocin and vasopressin.

Z. M. Rap, G. Szumańska, B. Gajkowska

WPŁYW „DOŚWIADCZALNEGO KRWOTOKU PODPAJĘCZYNÓWKOWEGO”
NA GROMADZENIE SIĘ GLIKOGENU
W UKŁADZIE PODWZGÓRZOWO-PRZYSADKOWYM U KRÓLIKA

Streszczenie

Badanie dotyczyło gromadzenia się glikogenu, aktywności enzymów metabolizujących glikogen i zachowania się Gomori-dodatniej substancji neurosekrecyjnej w układzie podwzgórzowo-przysadkowym królika w następstwie doświadczalnego krwotoku podpajęczynówkowego. Stwierdzono zwiększone odkładanie glikogenu od 24 godziny do 9 dnia po zabiegu. Złogi wielocukru zlokalizowane były w strukturach wyniosłości środkowej i lejku, w tylnym płacie przysadki oraz w jej części guzowej. Występowały one we włóknach i zakończeniach nerwowych, w wypustkach komórek glejowych i w niektórych neurocytach jąder lejkowatych. Nie stwierdzono glikogenu w komórkach nerwowych jądra nadwzrokowego i przykomorowego oraz w komórkach gruczołowych przedniego płata przysadki. Po 2 tygodniach ilość złogów glikogenu zmniejszała się, a po 30 dniach obraz histochemiczny UPP był taki sam, jak u zwierząt nie poddanych zabiegowi operacyjnemu. Odkładaniu się glikogenu towarzyszyły zmiany w aktywności fosforylazy a i a + b. W tym samym czasie stwierdzono zmiany w układzie neurosekrecyjnym wyrażające się zmniejszeniem ilości Gomori-dodatniej substancji w neurocytach jąder nadwzrokowych i przykomorowych oraz cechami ich aktywizacji z gromadzeniem się substancji neurosekrecyjnej we włóknach i zakończeniach nerwowych szlaków nadwzrokowo-przykomorowo-przysadkowych. Badanie mikroskopowo-elektronowe wykazało cechy zwyrodnienia kul Heringa. Kule te, wielkości 3–5 μ zawierały zmienione ziarnistości neurosekrecyjne i znaczną ilość ziaren glikogenu, które stanowiły niekiedy przeważający element ultrastrukturalny.

Zdaniem autorów przyczyną opisanych zmian mogą być zaburzenia w krążeniu krwi w układzie podwzgórzowo-przysadkowym związane ze wzmożonym ciśnieniem śródczaszkowym. Nie wykluczony jest również wpływ bezpośredniego ucisku mas krwi na UPP i oddziaływanie chemicznych składników krwi nagromadzonej w przestrzeni podpajęczynówkowej.

З. М. Рап, Г. Шуманьска, Б. Гайкојска

**ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СУБАРАХНОИДАЛЬНОГО
КРОВОТЕЧЕНИЯ НА ОТЛОЖЕНИЕ ГЛИКОГЕНА
В ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНОЙ СИСТЕМЕ**

Резюме

Исследовались отложение гликогена, активность ферментов, метаболизирующих гликоген, а также поведение Гомори положительного нейросекреторного вещества в ГТС кроликов в результате экспериментального субарахноидального кровотечения. Было обнаружено увеличенное отложение гликогена через 24 часа и через 9 дней после кровотечения. Отложения были расположены в структурах медиальной возвышенности, воронки, в задней доле гипофиза и в его туберальной части. Отложения гликогена были обнаружены в нервных волокнах и окончаниях, в отростках глиальных клеток и в некоторых нервных клетках инфундибулярных ядер. В нейронах супраоптического и паравентрикулярного ядер, а также в секреторных клетках передней доли гипофиза отложения не были обнаружены. Через 2 недели число отложений полисахарида уменьшалось, а через 30 дней гистохимическая картина ГТС напоминала отмеченную у животных не подвергнутых экспериментальной процедуре. Одновременно наблюдались изменения в активности фосфорилазы а, а + b. Наблюдались также изменения в нейросекреторной системе, выражающиеся уменьшением количества Гомори положительного вещества в нейронах супраоптического и паравентрикулярного ядер, а также признаками как их активации так и накопления нейросекреторного вещества в нервных волокнах и окончаниях путей супраоптического-паравентрикулярно-гипофизарных. Электронно-микроскопические исследования обнаружили признаки дегенерирования шаров Херинга. Эти шары величиной в 3—5 μ наряду с измененными нейросекретными гранулами содержали значительные количества гликогеновых зерен. В некоторых из них гликогеновые зерна составляли преобладающий ультраструктурный элемент. В основе обнаруженных изменений возможно лежат нарушение в кровообращении в ГТС, связанное повышенным внутричерепным давлением. Не исключается также непосредственное влияние давления массы крови на ГТС как и влияние химических компонентов крови, скапливающихся в субарахноидальной области.

REFERENCES

1. Adams J. H., Daniel P. M., Prichard M. M. L.: Distribution of hypophyseal portal blood in the anterior lobe of the pituitary gland. *Endocrinology* 1964, 75, 120—126.
2. Akmayew I. G., Rathelyi R., Majorossy K.: Changes induced by adrenalectomy in nerve endings of the hypothalamic median eminence (Zona polissodica) in the albino rat. *Acta. Biol. Hung.* 1967, 18, 187—200.
3. Barrer R., Lederis K.: Ultrastructure of the rabbit neurohypophysis with special reference to the release of hormones. *Z. Zellforsch.* 1966, 75, 201—239.
4. Bartter F. C., Schwartz W. B.: The syndrome of inappropriate secretion of anti-diuretic hormone. *Amer. J. Med.* 1967, 42, 790—805.
5. Bignami A., Parry H. B.: Electron microscopic studies of the brain of sheep with natural scrapie. II-The small nerve processes in neuronal degeneration. *Brain.* 1972, 85, 487—494.

6. Bom F.: About the effect of acute asphyxia on the physiological vacuolization and the basophilia of the human supraoptic ganglion cells. *Acta Psychiatr. Neurol. Scand.* 1956, 108, 61—75.
7. Bulmer D.: Dimedon as an aldehyde blocking to facilitate the histochemical demonstration of glycogen. *Stain Technol.* 1959, 34, 95—98.
8. Buckell M., A. Richardson, M. Sarnar: Biochemical changes after spontaneous subarachnoid haemorrhage. *Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* 1966, 29, 291—298.
9. Crompton M. R.: Hypothalamic lesions following the rupture of cerebral berry aneurysm. *Brain.* 1963, 86, 301—314.
10. Daniel P. M., Prichard M.M.L., Preiß C. S.: Traumatic infarction of the anterior lobe of the pituitary gland. *Lancet* 1959, 7109, 927—930.
11. Dellman H. D., Rodriguez E. M.: Herring Bodies: An electron microscopic study on local degeneration and regeneration of neurosecretory axons. *Z. Zellforsch.* 1970, 111, 293—315.
12. Duffy P. E., Menefee M.: Electron microscopic observations of neurosecretory granules, nerve and glial fibers and blood vessels in the median eminence of the rabbit. *Amer. J. Anat.* 1965, 117, 251—286.
13. Duvernoy H.: The vascular architecture of the median eminence. *Brain-Endocrine Interaction. Median Eminence; Structure and function.* Int. Symp. München. 1971. Ed. Kargel, Basel 1972.
14. Fiedorowa I. A.: Morfologičeskije izmjenienija w gipotalamogipofizarnoj nejrosekretornoj sistiemie w ostrom pieriodie zakrytoj trawmy czerepa u gołownowo mozga. Aftoreferat. Institut Eksperimentalnoj Mediciny. A. M. N. Lenin-grad 1966.
15. Friede R. L.: *Topographic Brain Chemistry.* New York and London: Academic Press 1966.
16. Froman C., Smith C.: Metabolic acidosis of the cerebrospinal fluid associated with subarachnoid haemorrhage. *Lancet* 1967, (May) 965—967.
17. Gerschenfeld H. M., Tromezzani I. H., de Robertis E.: *Endocrinology* 1960, 66, 741—751.
18. Godlewski H. G.: Are active and inactive phosphorylases histochemically distinguishable? *J. Histochem. Cytochem.* 1963, 11, 108—112.
19. Guth L., Watson P. K.: A correlated histochemical and quantitative study on cerebral glycogen after brain injury in the rat. *Exp. Neurol.* 1968, 22, 590—602.
20. Hild W., Zetler G.: Experimenteller Beweis für die Entstehung der Sog. Hypophysenhinterlappenwirkstoffe im Hypothalamus. *Pflügers Archiv.* 1953, 257, 169—201.
21. Howe A., Pearse A. G. E.: A histochemical investigation of neurosecretory substance in the rat. *J. Histochem. Cytochem.* 1956, 4, 561—569.
22. Imoto T.: Histochemical studies on the hypothalamo-hypophyseal neurosecretory system. II PAS Reaction in the freeze dried section. *Arch. hist. jap.* 1957, 13, 487—490.
23. Joynt R. I., Afifi A., Horbison J.: Hyponatremia in subarachnoid hemorrhage. *Arch. Neurol.* 1965, 13, 633—655.
24. Kendall J. W., Jacobs J. J., Kramer R. M.: Studies on the transport of hormones from the cerebrospinal fluid to hypothalamus and pituitary. *Brain-Endocrine Interaction. Median Eminence. Structure and Function.* Int. Symp. München. 1971, Ed. Kargel Basel 1972.

25. Klatzo I., Farkas-Borgeton E., Guth L., Miquel J., Olson Y.: Some morphological and biochemical aspects of abnormal glycogen accumulation in the glia. *Proc. of VIth International Congress of Neuropathology*. Ed. Masson et Cie. Paris 1970.
26. Kobayashi H., Matsui T.: Fine structure of the median eminence and its functional significance. In *Frontiers in Neuroendocrinology*. Ed. F. Genong, L. Mortim. Oxford University Press, New York—London—Toronto 1969.
27. Koizumi J., Shiraishi H.: Ultrastructural appearance of glycogen in the hypothalamus of the rabbit following chlorpromazine administration. *Exp. Brain Res.* 1970, 10, 276—282.
28. Long D. M., Mossakowski M. J., Klatzo I.: Glycogen accumulation in spinal cord motor neurons due to partial ischemia. *Acta Neuropath. (Berl.)*, 1972, 20, 335—347.
29. Lunberg P. O.: Neurosecretory and related phenomena in the hypothalamus and pituitary of man. 2 Internat. Symp. über Neurosecretion Lund, Berlin—Göttingen—Heidelberg, Springer 1958.
30. Müller W., Mortillaro: Der Neurosekretgehalt in Hypophysenhinterlappen des Menschen bei intrakraniellen raumfordernden Prozessen. *Acta endocr. (Kbh)* 1957, 24, 153—158.
31. Oksche A., Rabl R.: Über das Verhalten des Neurosekretorischen Zwischenhirnsystems des Menschen unter Pathologischen Bedingungen. *Z. Zellforsch.* 1964, 63, 418—446.
32. Ondo J. G., Mical R. S., Porter J. C.: Passage of radioactive substances from CSF to hypophysial portal blood. *Endocrinology* 1972, 91, 1239—1246.
33. Polenow A. L.: Gipotalamiczeskaja neurosekrecja. *Ak. Nauk SSSR Institut Citologii Izdatelstwa „Nauka” Leningrackskoje otdelenije*. Leningrad 1968, 49—50.
34. Polay S. L.: Neurosecretory phenomena in the hypothalamo-hypophysial system of man and monkey. *Amer. J. Anat.* 1953, 93, 107—141.
35. Pawlikowski M.: Badania nad neurosekrecją obwodową. II. Porównanie histochemiczne neurosekrecji układu podwzgórzowo-przysadkowego i podobnych zjawisk w obwodowym układzie anatomicznym. *Endokryn. Pol.* 1963, 14, 6, 475—504.
36. Rap Z. M., Zaremba J.: Pathomechanism of secondary morphological lesions in the hypothalamo-hypophyseal system in cases of increased intracranial pressure. *Polish Med. J.* 1971, 1, 187—207.
37. Rap Z. M., Liudkowskaya I. G.: Secondary morphological lesions in the hypothalamo-hypophyseal system in case of thrombosis and stenosis of internal carotid arteries. *Polish Med. J.* 1971, 5, 1201—1213.
38. Rap Z. M., Staszewska-Barczak J.: Adrenergic response and morphologic changes in neurosecretory system and adrenal cortex during intracranial hypertension in cats. Abstract. VIIth International Congress of Neuropathology Sept. 1974. Budapest.
39. Schiebler T. H.: Die Chemischen Eigenschaften der Neurosekretorischen Substanz in Hypothalamus und Neurohypophyse. *Exp. Cell Res.* 1952, 3, 249—290.
40. Schiebler T. H.: Zur Histochemie des Neurosekretorischen hypothalamisch System (Teil II). *Acta Anat.* 1952, 15, 393—416.
41. Shimizu N., Kumamoto T.: Histochemical studies on the glycogen of the mammalian brain. *Anat. Rec.* 1952, 114, 479—499.
42. Takeuchi T., Kuriaki H.: Histochemical detection of phosphorylase in animal tissues. *J. Histochem. Cytochem.* 1955, 3, 153—160.

43. Wiśniewski H.: Hemorrhage and necrosis in the pituitary gland in cases with increased intracranial pressure, recent myocardial infarction and other pathological condition. *Neuropat. Pol.*, 1965, 3, 299—316.
44. Wolff H.: Histochemische und elektronenmikroskopische Beobachtungen über Verteilung im Hypothalamus einigen Winterschläfer (Mit quantitativen Bemerkungen). *Z. Zellforsch.* 1968, 88, 228—261.
45. Wolman L.: Pituitary necrosis in raised intracranial pressure. *J. Path. Bact.*, 1956, 72, 575—586.

Authors' address: Department of Neuropathology, Experimental and Clinical Medical Research Centre, Dworkowa Str. 3, 00-784 Warszawa.

AGNES DANIELEWICZ-KOTÓWICZ

ZMIANY MIKROSKOPOWO-ELEKTRONOWE
W PRZYSADCE SZCZURA PO ADRENALEKTOMII
ORAZ PO PODANIU ACTH

II. PŁAT NERWOWY PRZYSADKI

Pracownia Mikroskopii Elektronowej Centrum Medycyny Doświadczalnej
i Klinicznej PAN
Kierownik: doc. dr J. W. Borowicz

Większość autorów uważa, że neurohormony są uwalniane z włókien nerwowych do naczyń krwionośnych w formie bezpostaciowej. Morfologicznym wykładnikiem tego procesu jest zmniejszenie ilości ziarnistości elementarnych, bez zmian ich gęstości elektronooptycznej (Reinhardt i wsp. 1969, Boudier i wsp. 1970). Jednakże w warunkach doświadczalnych, powodujących wzmożone wydzielanie wazopresyny (po odwodnieniu szczura — Palay 1955, po odwodnieniu królika — Barer, Lederis 1966, po krwotoku lub narkozie eterowej u szczura — Daniel, Lederis 1966, Santaloya i wsp. 1972), stwierdzono, że uwalnianie neurohormonów wyraża się morfologicznie nie tylko zmniejszeniem liczby ziarnistości elementarnych we włóknach nerwowych, ale i zmniejszeniem ich gęstości elektronooptycznej, oraz pojawieniem się optycznie pustych, owalnych lub okrągłych tworów pęcherzykowych, o średnicy zbliżonej do średnicy ziarnistości elementarnych.

Fleischer i Vale (1968) badając izolowane przysadki szczurów stwierdzili, że wazopresyna może powodować uwalnianie ACTH, działając bezpośrednio na płat gruczołowy przysadki, jak również może stymulować wydzielanie CRF. Badania biochemiczne płata nerwowego przysadek szczurów po adrenalectomii wykazały wyraźny spadek aktywności wazopresyny i oksytocyny (Barnafi, Croxatto 1966).

Celem moich badań było prześledzenie zmian mikroskopowo-elektronowych we włóknach płata nerwowego przysadek szczurów po adrenalectomii i u zwierząt zdrowych po jednorazowym podaniu ACTH, oraz próba wyjaśnienia mechanizmu wydzielania ziarnistości elementarnych z zakończeń włókien aksonalnych płata nerwowego przysadki.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie zostało wykonane na 60 szczurach samcach, o wadze 200 g, szczepu Wistar. Zwierzęta podzielono na cztery grupy:

Grupa 1 — (Kontrola A) — 6 zwierząt zdrowych.

Grupa 2 (Kontrola B) — 16 zwierząt po operacji pozornej bez usuwania nadnerczy. Płaty nerwowe przysadek pobierano po 6, 24, 48 godz. i 5 dniach po zabiegu.

Grupa 3 — Szczury po obustronnej adenalektomii (22 zwierzęta). Płaty nerwowe przysadek pobierano po 6, 12, 24, 48 godz, 3 i 5 dniach po zabiegu.

Grupa 4 — Zwierzęta zdrowe, którym podano jednorazowo, podskórnie 1 j.m. ACTH (16 szczurów). Płaty nerwowe przysadek pobierano po 1, 6, 12, 24, 48 godzinach po wstrzyknięciu ACTH.

Sposób wykonania operacji pozornej i adenalektomii jest opisany w I części pracy (Danielewicz-Kotowicz 1974).

Zwierzęta były dekapitowane. Przysadki po wyjęciu z jamy czaszki utrwalano w aldehydzie glutarowym i czterotlenku osmu, odwadniano we wzrastających stężeniach alkoholu oraz zatapiano w Eponie 812. Preparaty ultracienkie kontrastowano nasyconym wodnym roztworem octanu uranylu i odczynnikiem Reynoldsa. Zdjęcia wykonano w mikroskopie elektronowym JEM7A, przy napięciu przyspieszającym 80kV, na płytach fotograficznych ORWO EU2.

Dla wszystkich grup wykonano badanie kontrolne materiału w mikroskopie świetlnym. Przysadki barwiono hematoksyliną-eozyną oraz fuksyną aldehydową wg Gomoriego.

WYNIKI

Badanie w mikroskopie świetlnym

W preparatach barwionych hematoksyliną-eozyną nie stwierdzono uchwytanych zmian morfologicznych zarówno w płatach nerwowych przysadek zwierząt kontrolnych, jak i zwierząt z grup doświadczalnych. W barwieniu fuksyną aldehydową — w płacie nerwowym przysadek zwierząt po operacji pozornej nie stwierdzono różnic w nagromadzeniu ziarnistości neurosekrecyjnych w porównaniu z nagromadzeniem tych ziarnistości w płatach nerwowych zwierząt zdrowych. Po adenalektomii, od 3 dnia po zabiegu w płatach nerwowych obserwowano mniejsze nagromadzenie ziarnistości neurosekrecyjnych, które utrzymywało się również po 5 dniach po adenalektomii. Po jednej godzinie po podaniu ACTH stwierdza się mniej częste, w porównaniu z kontrolą, występowanie ziarnistości neurosekrecyjnych. Następnie po 6, 12, 24 godzinach liczba

ziarnistości stopniowo wzrastała, a po 48 godzinach po wstrzyknięciu ACTH nagromadzenie ziarnistości neurosekrecyjnych było podobne jak w płatach nerwowych przysadek zwierząt zdrowych.

Badanie w mikroskopie elektronowym

Grupa 1 (kontrola A) — zwierzęta zdrowe.

Obrazy mikroskopowo-elektronowe przedstawiają włókna nerwowe bezmielinowe. Włókna te oprócz zwykle występujących w nich organelli zawierają ziarnistości elementarne i mikropecherzyki (ryc. 1 i 2). Ziarnistości elementarne są kształtu okrągłego, otoczone pojedynczą błoną, mają średnicę około 1800 Å. Gęstość elektronooptyczna ziarnistości elementarnych jest różna. Większość ziarnistości posiada dużą gęstość, spotyka się również ziarnistości o zmniejszonej gęstości, lub też elektronowo przeziernie.

Drugim charakterystycznym elementem włókien płata nerwowego przysadki są jasne mikropecherzyki wielkości około 400 Å. Najwięcej mikropecherzyków spotyka się we włóknach ze stosunkowo małą ilością lub z pojedynczymi ziarnistościami elementarnymi. Mitochondria występujące we włóknach neurosekrecyjnych są owalne lub wydłużone, mają dość gęstą macierz oraz liczne grzebienie przeważnie o przebiegu poprzecznym. Neurotubule, o charakterystycznym, równoległym ułożeniu znajdują się we włóknach w dość dużej liczbie (ryc. 1).

Pituicyty mają typowy gwiazdzisty kształt, siateczka śródplazmatyczna jest miernie rozwinięta, aparat Golgiego znajduje się w okolicy przyjądrowej. Czasami w cytoplazmie pituicytów występują duże owalne nieobłonione twory mające charakter morfologiczny lipidów.

Grupa 2 (kontrola B) — zwierzęta po operacji pozornej bez usuwania nadnerczy.

Wykonanie operacji pozornej nie spowodowało wystąpienia uchwytłych zmian mikroskopowo-elektronowych we włóknach płata nerwowego przysadki.

Grupa 3 — zwierzęta po adenalektomii.

W sześć godzin po adenalektomii obrazy włókien nerwowych przysadki są podobne do kontrolnych. Większość włókien zawiera dość dużą liczbę ziarnistości elementarnych oraz pojedyncze optycznie puste pęcherzyki.

We włóknach neurosekrecyjnych w 12 i 24 godziny po zabiegu stwierdza się mniej niż w kontroli ziarnistości elementarnych. Występują dość często włókna wypełnione mikropecherzykami (ryc. 3, 4).

W 48 godzin i w 3 dni po adrenalectomii obserwuje się dalsze zmniejszanie nagromadzenia ziarnistości elementarnych, które są różnej gęstości elektronooptycznej. Występuje dużo optycznie prawie pustych pęcherzyków (ryc. 5). W niektórych włóknach obecne są liczne figury mielinowe.

W 5 dni po adrenalectomii stwierdza się we włóknach neurosekrecyjnych wyraźne zmniejszenie nagromadzenia ziarnistości elementarnych, mających zwykle zmniejszoną gęstość elektronową, oraz bardzo częste występowanie optycznie pustych pęcherzyków (ryc. 6). W wielu włóknach spotyka się figury mielinowe oraz struktury lizosomo-podobne (ryc. 7).

Grupa 4 — zwierzęta po podaniu ACTH.

Po jednej godzinie po wstrzyknięciu ACTH obrazy mikroskopowo-elektronowe włókien płąta nerwowego przysadki różnią się od obrazów kontrolnych. Większość włókien zawiera niezbyt liczne ziarnistości o różnej gęstości elektronooptycznej. Puste lub prawie puste pęcherzyki obserwuje się znacznie częściej (ryc. 8, 9). Włókna, w których znajdują się tylko pojedyncze ziarnistości elementarne, często są wypełnione mikropęcherzykami. Występują również włókna, które prawie wcale nie zawierają ziarnistości elementarnych, natomiast mają wiele struktur heterogennych różnego kształtu, wielkości i gęstości, przypominające często figury mielinowe (ryc. 10).

Ryc. 1. Kontrola A (zwierzę zdrowe). Fragmenty włókien nerwowych zawierających ziarnistości elementarne (E) i mikropęcherzyki (mv) oraz neurotubule (nt) i mitochondria. Pow. 29 100 \times .

Fig. 1. Control A (healthy animal). Nerve fibres fragments containing elementary granules (E), microvesicles (mv), neurotubules (nt) and mitochondria. $\times 29\,100$.

Ryc. 2. Kontrola A (zwierzę zdrowe). Fragment kuli Heringa, widoczne nieliczne optycznie prawie puste pęcherzyki (strzałki). Pow. 23 100 \times .

Fig. 2. Control A (healthy animal). Hering body fragment, a number of optically almost empty vesicles (arrows). $\times 23\,100$.

Ryc. 3. 12 godzin po adrenalectomii, włókna nerwowe z ziarnistościami elementarnymi (E) o małej gęstości elektronowej. Pow. 39 000 \times .

Fig. 3. 12 hrs after adrenalectomy, nerve fibres with elementary granules (E) of small electrodensity. $\times 39\,000$.

Ryc. 4. 24 godziny po adrenalectomii, mało ziarnistości elementarnych (E) oraz liczne mikropęcherzyki (mv) we włóknach nerwowych. Pow. 23 700 \times .

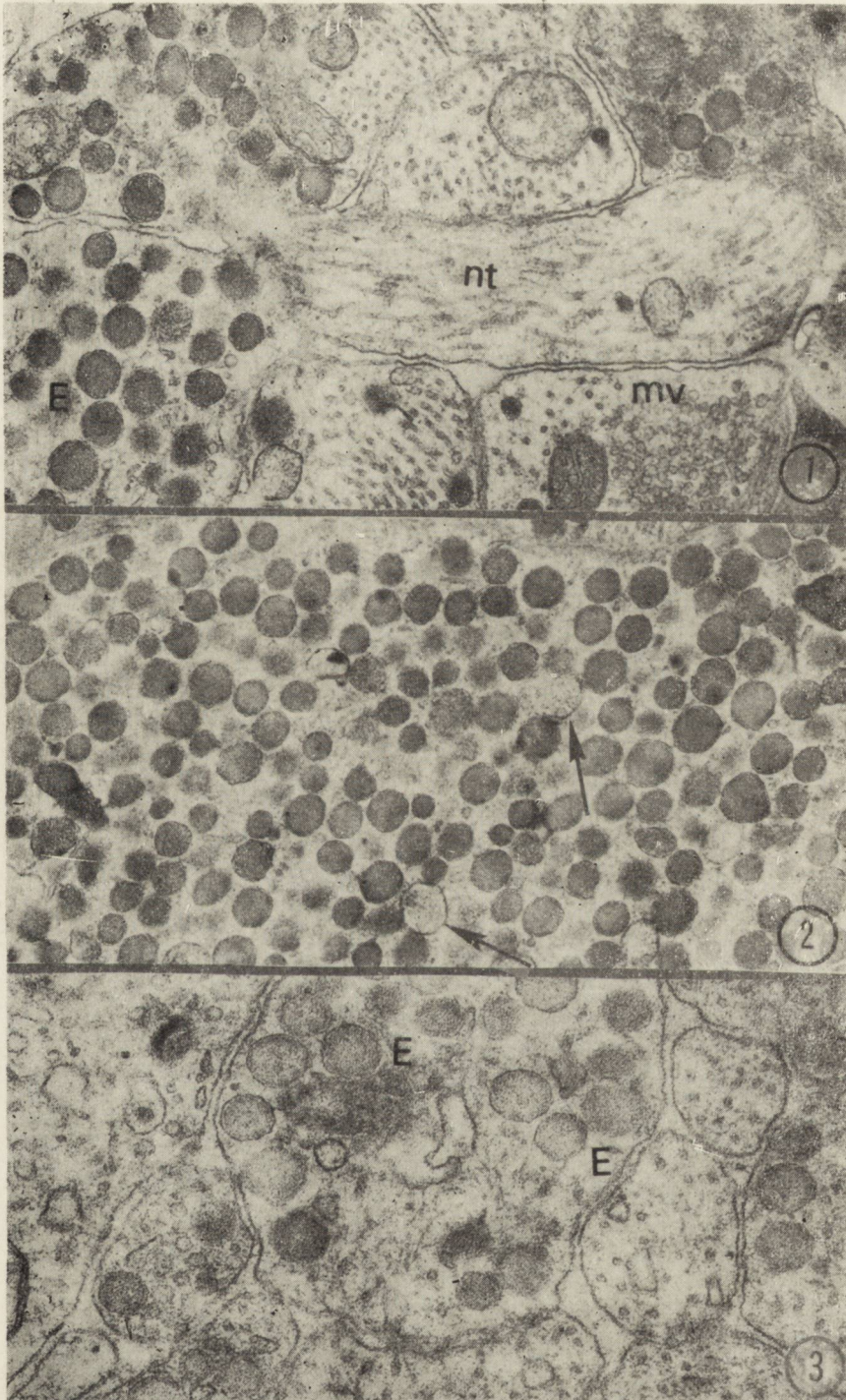
Fig. 4. 24 hrs after adrenalectomy, small number of elementary granules (E) and numerous microvesicles (mv) in nerve fibres. $\times 23\,700$.

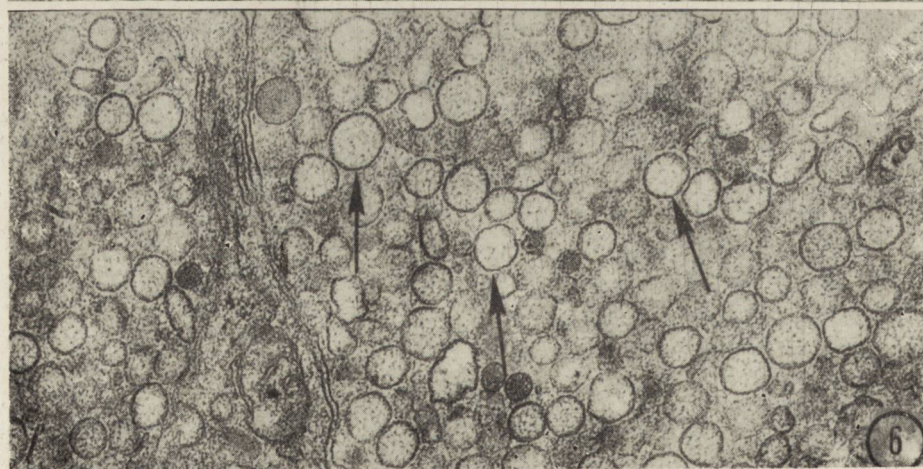
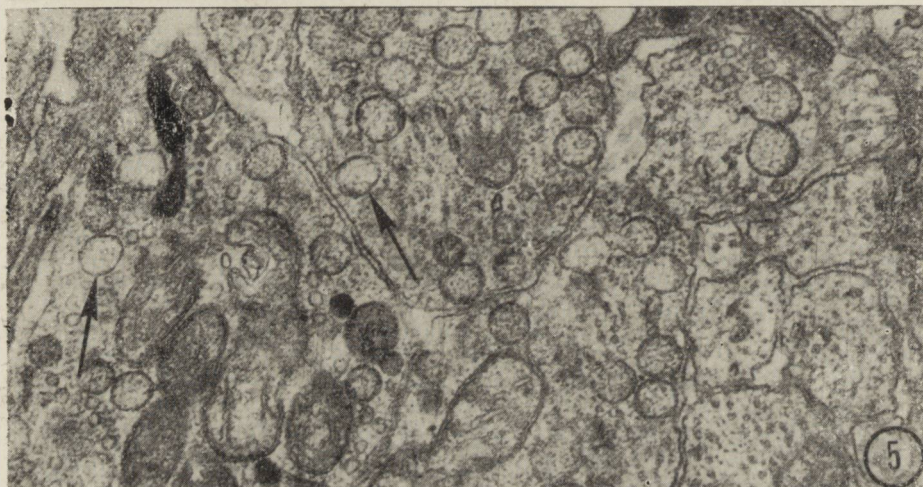
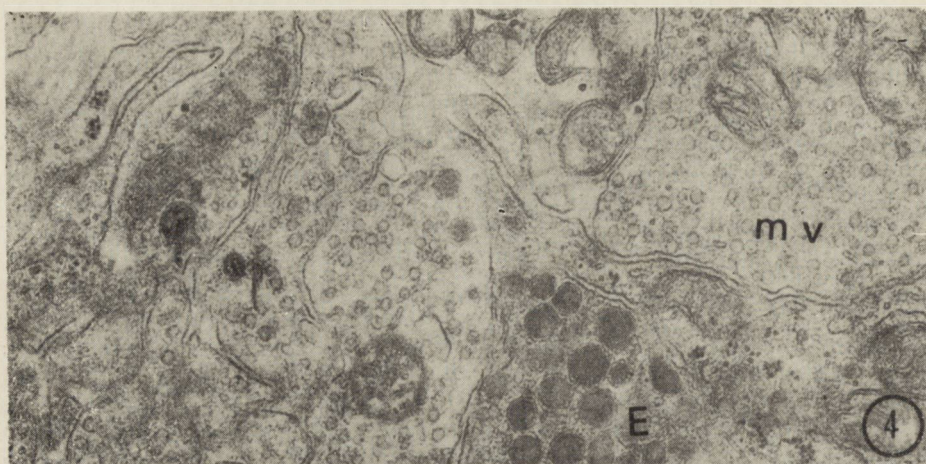
Ryc. 5. 3 dni po adrenalectomii, we włóknach nerwowych widoczne pojedyncze ziarnistości elementarne o dużej gęstości oraz liczne prawie puste optycznie pęcherzyki (strzałki). Pow. 33 000 \times .

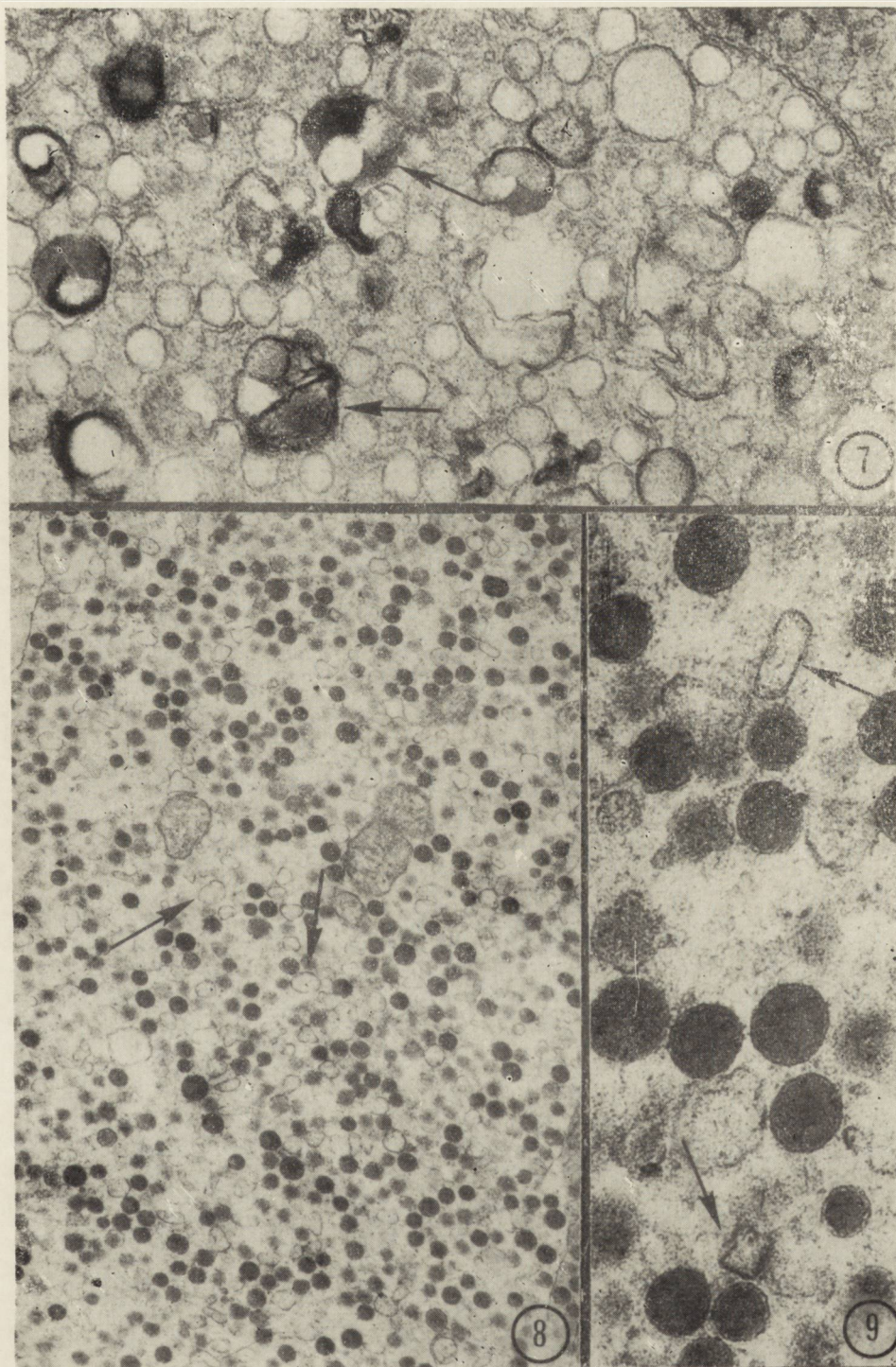
Fig. 5. 3 days after adrenalectomy, single elementary granules of high electrodensity and numerous optically almost empty vesicles (arrows). $\times 33\,000$.

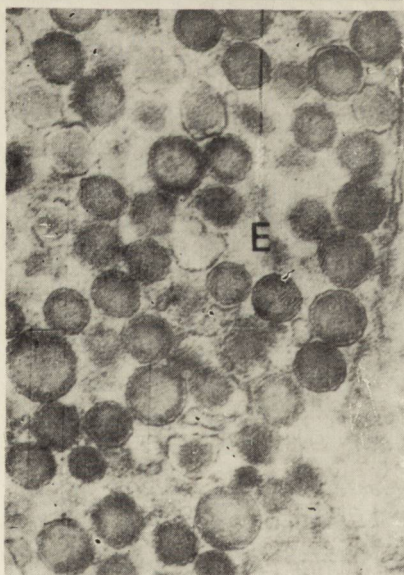
Ryc. 6. 5 dni po adrenalectomii, liczne puste optycznie pęcherzyki (strzałki), pojedyncze ziarnistości elementarne. Pow. 30 000 \times .

Fig. 6. 5 days after adrenalectomy, numerous optically empty vesicles (arrows), single elementary granules. $\times 30\,000$.









Obraz mikroskopowo-elektronowy włókien nerwowych w 6 godzin po podaniu ACTH jest podobny do opisanego u zwierząt po 1 godzinie po wstrzyknięciu. Spotyka się jednak częściej włókna zawierające dość dużo ziarnistości elementarnych. Włókna nerwowe, które mają tylko pojedyncze ziarnistości elementarne są przeważnie wypełnione mikropęcherzykami (ryc. 11). W niektórych włóknach występują liczne figury mielinowe.

W 24 godziny po podaniu ACTH zwiększa się we włóknach neurosekrecyjnych nagromadzenie ziarnistości elementarnych, mających dość dużą gęstość elektronooptyczną. Obserwuje się pojedyncze włókna, które zawierają mało ziarnistości, nieliczne optycznie puste pęcherzyki oraz ciała heterogenne, lizosomopodobne i figury mielinowe.

48 godzin po podaniu ACTH obraz mikroskopowo-elektronowy włókien nerwowych jest podobny do kontrolnego (ryc. 12).

Zarówno po adrenalectomii, jak i po podaniu ACTH w pituicytach nie znajdowano istotnych zmian w porównaniu z kontrolą.

Ryc. 7. 5 dni po adrenalectomii, fragment włókna nerwowego z licznymi figurami mielinowymi i strukturami lizosomopodobnymi (strzałki). Pow. 33 500 ×

Fig. 7. 5 days after adrenalectomy, nerve fibre fragment with numerous myelin figures and lysosome-like structures (arrows). × 33 500.

Ryc. 8. 1 godzina po podaniu ACTH, liczne optycznie puste pęcherzyki (strzałki). Pow. 13.000 ×.

Fig. 8. 1 hour after ACTH administration, numerous optically empty vesicles (arrows). × 13 000.

Ryc. 9. 1 godzina po podaniu ACTH, optycznie puste pęcherzyki o kształcie nie-regularnym (strzałki). Pow. 37.750 ×.

Fig. 9. 1 hour after ACTH administration, optically empty vesicles of irregular shape (arrows). × 37 750.

Ryc. 10. 1 godzina po podaniu ACTH, fragment włókna nerwowego wypełnionego strukturami lizosomopodobnymi oraz o wyglądzie figur mielinowych (strzałki). Pow. 39.000 ×.

Fig. 10. 1 hour after ACTH administration, fragment of a nerve fibre filled with lysosome-like structures showing features of myelin figure (arrows). × 39 000.

Ryc. 11. 12 godzin po podaniu ACTH, liczne mikropęcherzyki (mv) we włóknach nerwowych, liczba ziarnistości elementarnych nieco mniejsza niż w kontroli. Pow. 22.200 ×.

Fig. 11. 12 hrs after administration of ACTH, numerous microvesicles (mv) in nerve fibres, less elementary granules than in the control. × 22 200.

Ryc. 12. 48 godzin po podaniu ACTH, budowa włókien nerwowych jest podobna do kontroli, ziarnistości elementarne (E) i neurotubule (nt). Pow. 29.100 ×.

Fig. 12. 48 hrs after administration of ACTH, structure of nerve fibres resembling the control, elementary granules (E) and neurotubules (nt). 29 100.

OMÓWIENIE

Na podstawie otrzymanych wyników wydaje się, że zarówno adrena-
lektomia, jak i jednorazowe podanie ACTH (w jedną godzinę po wstrzyk-
nięciu) zwierzętom zdrowym wpływają stymulująco na wydzielanie
ziarnistości elementarnych z włókien płata nerwowego przysadki. Morfo-
logicznym wykładnikiem tego procesu było zmniejszenie nagromadzenia
ziarnistości elementarnych, częstsze niż w kontroli występowanie optycz-
nie pustych pęcherzyków. Przyjmuje się, że zmniejszeniu ilości ziarni-
stości elementarnych we włóknach nerwowych odpowiada zmniejszenie
ilości neurohormonów w płacie nerwowym przysadki, chociaż Daniel
i Lederis (1966) uważają, że objawy morfologiczne wzmożonego wydzie-
lania ziarnistości elementarnych nie wskazują na rzeczywistą zawartość
neurohormonów w płacie nerwowym przysadki. Holmes (1964), Reinhardt
i wsp. (1969), Boudier i wsp. (1970) traktują zmniejszenie ilości ziarnistości
elementarnych we włóknach nerwowych za jedyny objaw morfologiczny
wydzielania neurohormonów.

Jednakże wyniki przeprowadzonych badań własnych sugerują, że ziarni-
stości elementarne o zmniejszonej gęstości elektronowej, jak również
występowanie optycznie pustych pęcherzyków są istotnym wskaźnikiem
wydzielania ziarnistości elementarnych. Zgodne jest to z wynikami badań
płata nerwowego przysadek szczurów zdrowych, u których we włóknach
neurosekrecyjnych obserwowano występowanie optycznie pustych pęche-
rzyków, jak również ziarnistości elementarnych o różnej gęstości elek-
tronowej (Monroe, Scott 1966, Herlant 1967). W stanach wzmożonego
wydzielania neurohormonów z płata nerwowego (po ostrym krwotoku,
po narkozie eterowej) stwierdzono zwiększenie liczby ziarnistości ele-
mentarnych o małej gęstości elektronowej i wzrost liczby optycznie pu-
stych pęcherzyków (Barer, Lederis 1966, Daniel, Lederis 1966, Santa-
loya i wsp. 1972).

Douglas (1973) uważa, że zawartość ziarnistości elementarnych jest
wydzielana do naczyń krwionośnych przez połączenie się błony ziarni-
stości elementarnej z błoną włókna nerwowego, a następnie przerwanie
zespoleń błon i wydzielanie do przestrzeni okołonaczyniowej zawar-
tości ziarnistości elementarnej. Proces ten ma zachodzić przy współu-
dziale jonów wapnia. Jednakże obrazy mikroskopowo-elektronowe mogą-
ce potwierdzić to przypuszczenie są bardzo nieliczne. Niektórzy autorzy
obserwowali we włóknach płata nerwowego wydzielanie ziarnistości ele-
mentarnych przez egzocytozę (Thorn 1970, Santaloya i wsp. 1972, Krisch
i wsp. 1972), jednakże wydaje się, że ten sposób wydzielania występuje
rzadko. W przebadanym materiale obserwowano niekiedy obrazy mogące
sugerować możliwość wydzielania ziarnistości elementarnych na drodze

egzocytozy, były one jednak bardzo rzadkie i nie bardzo przekonywujące.

Pochodzenie i rola mikropęcherzyków we włóknach płata nerwowego przysadki nie są dotychczas jednoznacznie wyjaśnione. Niektórzy autorzy (Greschenfeld i wsp. 1960, La Bella 1968) identyfikują te struktury z pęcherzykami synaptycznymi zawierającymi acetylocholinę. Vollrath (1970) badając w mikroskopie elektronowym płaty nerwowe przysadek noworodków szczurów stwierdził, że mikropęcherzyki wykazują ciągłość z neurotubulami. Na tej podstawie Vollrath (1970) przypuszcza, że mikropęcherzyki powstają z neurotubuli. W badanym materiale obserwowałam duże nagromadzenie mikropęcherzyków we włóknach zawierających tylko pojedyncze ziarnistości elementarne. Ta obserwacja przemawiałaby za hipotezą Lederisa (1965) oraz Herlanta (1967), zgodnie z którą mikropęcherzyki są fragmentami błon otaczających ziarnistości elementarne i pozostających po wydzieleniu neurosekreту. Również Douglas (1973) uważa, że z błon pozostałych po wydzieleniu zawartości ziarnistości elementarnych tworzą się początkowo „opłaszczone pęcherzyki” (coated vesicles), które bardzo szybko tracą swój „płaszcz” i przechodzą w typowe, gładkie mikropęcherzyki. Rufener i Dreifuss (1970) uważają, że mikropęcherzyki muszą zawierać acetylocholinę lub jej pochodne ponieważ barwią się jodkiem cynku w kwasie osmowym (tzw. reakcja „ZIO” — barwienie na obecność acetylocholiny). Jednak Douglas (1973) wykazał (nie tłumacząc mechanizmu reakcji), że opłaszczone pęcherzyki również barwią się tą metodą. Tak więc autor uważa, że „ZIO”—dodatnie „pęcherzyki synaptyczne” mogą być po prostu opłaszczonymi pęcherzykami powstającymi z błon ziarnistości elementarnych.

W obrazach kontrolnych płata nerwowego przysadki nie często spotykane są struktury o wyglądzie lizosomów. W badanym materiale obserwowano równolegle do zmniejszenia się nagromadzenia ziarnistości elementarnych występowanie we włóknach nerwowych struktur lizosomalnych oraz figur mielinowych. Te obserwacje zgodne są z badaniami Whitakera i wsp. (1970), którzy wykazali aktywność fosfatazy kwaśnej we włóknach płata nerwowego. Dellmann i Rodriguez (1970) uważają, że lizosomy znajdujące się w zakończeniach włókien neurosekrecyjnych mogą brać udział w trawieniu ziarnistości elementarnych i mikropęcherzyków. Za tą hipotezą przemawiają struktury heterogenne spotykane w moim materiale. Rufener (1970) obserwował pojedyncze ziarnistości elementarne we wnętrzu struktur heterogennych (we włóknach płata nerwowego przysadek szczurzych nie karmiących w czasie laktacji). Autor ten nazwał takie ziarnistości, ulegające jakby sekwestracji „residual bodies”, sądzi też, że ziarnistości te ulegają następnie rozpadowi. W badanym materiale zarówno po adrenalectomii, jak i po podaniu ACTH nie

obserwowano występowania typowych „residual bodies”, jakkolwiek pewne obrazy sugerowały możliwość trawienia ziarnistości elementarnych we włóknach nerwowych (ryc. 7).

Po adrenalectomii od 12 godzin po zabiegu obserwuje się w płacie nerwowym zmniejszenie nagromadzenia ziarnistości elementarnych. Opierając się na badaniach wielu autorów (de Wied 1961, Vernikos-Danellis 1965, Hedge i wsp. 1966, Dhariwal i wsp. 1969, Gonzales-Louque i wsp. 1970) zjawisko to można tłumaczyć tym, że wazopresyna może stymulować wydzielanie CRF lub wywierać działanie podobne do CRF, może ona również wpływać bezpośrednio na podwzgórze (Hedge i wsp. 1966, de Wied i wsp. 1968). Zwiększone zapotrzebowanie ustroju na ACTH prowadziłoby do wzrostu wydzielania wazopresyny. Zarówno badania biochemiczne (Barnafi i Croxatto 1969), jak i badania morfologiczne w mikroskopie świetlnym (Stohr 1969) wykazały zmniejszenie ilości substancji neurosekrecyjnej w płatach nerwowych przysadek szczurów po adrenalectomii. Na podstawie przytoczonego piśmiennictwa oraz wyników badań własnych, można stwierdzić, że w stanie niedoczynności nadnerczy istnieje korelacja pomiędzy czynnością płata nerwowego przysadki, a syntezą i wydzielaniem ACTH z płata gruczołowego. Kolaszyński i Pawlikowski (1968) przypuszczają, że w przypadkach zwiększonego zapotrzebowania organizmu na ACTH, układ neurosekrecyjny przedstawia się na syntezę CRF. W jedną godzinę po podaniu ACTH zwierzętom zdrowym zaobserwowano w płacie nerwowym zmniejszenie nagromadzenia ziarnistości elementarnych oraz dużo optycznie pustych pęcherzyków. Wydawałoby się, że w takim układzie doświadczalnym powinno by nastąpić zahamowanie wydzielania neurosekretu. Jednak wiadomo, że wazopresyna ma wielokierunkowe działanie na ustrój. Oprócz wpływu na czynność ośrodkowego układu nerwowego i czynność płata gruczołowego przysadki najlepiej poznaną jej właściwością jest wpływ na gospodarkę wodną ustroju oraz utrzymanie prawidłowego ciśnienia krwi. Ponieważ w stanach nadmiaru wazopresyny obserwuje się hiponatremię (Pawlikowski 1971), można przypuszczać, że po podaniu ACTH wzmożone wydzielanie wazopresyny warunkuje utrzymanie prawidłowego stężenia jonów sodu we krwi.

WNIOSKI

1. Po adrenalectomii, od 12 godzin po zabiegu jak również w jedną godzinę po podaniu ACTH w płacie nerwowym przysadki obserwuje się wykładniki morfologiczne zwiększenia wydzielania substancji neurosekrecyjnej.
2. Wykładnikami tymi są: zmniejszenie gęstości elektronowej ziar-

nistości elementarnych oraz występowanie optycznie pustych pęcherzyków.

3. Gromadzenie się mikropęcherzyków we włóknach płata nerwowego, w których jest bardzo mało ziarnistości elementarnych, sugeruje możliwość powstawania mikropęcherzyków z błon otaczających substancję neurosekrecyjną.

A. Данелевич-Котович

IZMENENIYA NABLYUDAEMYE V ELEKTRONNOM MIKROSKOPE
V GIPOFIZE KRYSY POSLE ADRENALIEKTOMII,
A TAKZHE POSLE VVEDENIYA AKTG

II. Задняя доля гипофиза

Резюме

Исследовались изменения наблюдаемые в электронном микроскопе в задней доле гипофиза крысы после адrenaлeктомии, а также после однократного введения АКГГ. После адrenaлeктомии, через 12 часов было обнаружено уменьшение количества нейросекреторной жидкости, выражающееся малым количеством элементарной зернистости с большой электронооптической плотностью, выступанием большого числа оптически пустых пузырьков, а также безоболочечных масс материала с малой электронооптической плотностью. Повидимому увеличенное выделение нейросекреторной жидкости после адrenaлeктомии связано с увеличенной потребностью организма к фактору освобождающему адrenокортикотропный гормон. Через один час после введения АКГГ наблюдались симптомы свидетельствующие об освобождении нейросекреторной жидкости изволокон задней доли гипофиза, что вызвано вероятно с нарушениями в составе электролитов крови, выступающими при избытке гормонов коры надпочечников.

A. Danielewicz-Kotowicz

ELEKTRON MICROSCOPIC CHANGES IN RAT HYPOPHYSIS
AFTER ADRENALECTOMY AND ADMINISTRATION OF ACTH

II. Neuronal lobe of hypophysis

Summary

Electron microscopic changes in the neural lobe of rat hypophysis following adrenalectomy and one-time administration of ACTH were studied. Twelve hours after adrenalectomy, a decrease of the amount of neurosecretory substances was observed, manifested by a small number of elementary granules of high electrono-optic density and, by the appearance of a great number of optically empty vesicles and masses of membrane-free material of low electrono-optic density. The increased secretion of neurosecretory substances after adrenalectomy seems to be related to the increased requirement of the organism for the ACTH — releasing factor. One hour after administration of ACTH, a picture was observed suggestive of the release of neurosecretory substances from the neural lobe fibres, which is probably related to the disturbances in the composition of blood electrolytes accompanying the excess of adrenal cortex hormones.

PIŚMIENNICTWO

1. Barer R., Lederis K.: Ultrastructure of the rabbit neurohypophysis with special reference to the release of hormones. *Z. Zellforsch.*, 1966, 75, 201—239.
2. Barnafi L., Croxatto U.: Vasopressor and oxytotic activities in the posterior lobe of the pituitary gland of male and female rats following adrenalectomy and gonadectomy. *Acta Endocr. (Kbh)* 1966, 52, 3—6.
3. Boudier J. L., Boudier J. A., Picard D.: Ultrastructure du lobe posterieur de l'hypophyse du rat et ses modifications au cours de l'exertion de vasopressine. *Z. Zellforsch.* 1970, 108, 357—379.
4. Daniel A. R., Lederis K.: Effects of ether anaesthesia and haemorrhage on hormon storage and ultrastructure of rat neurohypophysis. *J. Endocrinol.* 1966, 34, 91—104.
5. Danielewicz-Kotowicz A.: Zmiany mikroskopowo-elektronowe w przysadce szczura po adrenalectomii oraz po podaniu ACTH. I Płat gruczołowy przysadki. *Neuropat. Pol.* 1974, 12, 3, 345—356.
6. Dellmann H. D., Rodriquez E. M.: Herring Bodies — An Electron Microscopic Study of Local Degeneration and Regeneration of neurosecretory Axons. *Z. Zellforsch.* 1970, 111, 293—315.
7. Dhariwal A. F., Russel S. M., Mc Cann S. M., Yates F. E.: Assay of corticotropin releasing factors by injection into the anterior pituitary of intact rats. *Endocrinol.* 1969, 84, 544—556.
8. Douglas W. W.: How do neurones secrete peptides? Exocytosis and its consequences, including „synaptic vesicle” formation, in the hypothalamo-neurohypophyseal system. W: *Drug effects on neuroendocrine regulation*, wyd.: E. Zimmermann, W. H. Giapen, B. H. Marsk, D. de Wied, 1973, 39, 21—40.
9. Fleischer H., Vale W.: Inhibition of Vasopressin Induced ACTH Release from the Pituitary by Glucocorticoids in Vitro. *Endocrinol.* 1968, 83, 1232—1236.
10. Gerschenfeld H. M., Tramenzzani J. H., de Robertis E.: Ultrastructure and function in neurohypophysis of the toad. *Endocrinol.* 1960, 66, 741—762.
11. Gonzales-Lougen A., L'Age M., Dhariwal A. P. C., Yates F. E.: Stimulation of Corticotropin Release by Corticotropin Releasing Factor (CRF) or by Vasopressin Following Intrapituitary Infusions in Unanesthetized dogs: Inhibition of Responses by Dexamethasone. *Endocrinol.* 1970, 86, 1134—1142.
12. Hedge G. A., Yates M. B., Marcus R., Yates F. E.: Site of Action of Vasopressin in Causing Corticotropin Release. *Endocrinol.* 1966, 79, 328—340.
13. Herlant M.: Mode de liberation des produits de neurosecretion. W: *Neurosecretion*, wyd.: F. Stutinsky, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, N. York 1967, 20—35.
14. Holmes R. L.: Comparative observations on inclusions in nerve fibres of mammalian neurohypophysis. *Z. Zellforsch.* 1964, 64, 474—492.
15. Kolaszyński J., Pawlikowski M.: Część nerwowa przysadki szczura białego w przebiegu regeneracji nadnerczy. *Endokrynol. Pol.* 1968, 19, 243—248.
16. Krisch B., Becker K., Bargmann W.: Exocytose in Hinterlappen der Hypophyse. *Z. Zellforsch. und mikroskopische Anat.* 1972, 123, 47—55.
17. La Bella F. S.: Storage and secretion of neurohypophyseal hormones. *Canadian J. of Physiology and Pharmacology*, 1968, 46, 335—345.
18. Lederis K.: An Electron Microscopic Study of the Human Neurohypophysis. *Z. Zellforsch.* 1965, 65, 847—868.

19. Manroe B. G., Scott D. E.: Ultrastructural Changes in the Neural lobe of the hypophysis of the rat during lactation and suckling. *J. Ultrastructure Res.* 1966, 14, 497—517.
20. Palay S. L.: An electron microscopic study of the neurohypophysis in normal, hydrated and dehydrated rats. *Anat. Rec.* 1955, 121, 348—353.
21. Pawlikowski M.: Neurosekrecja i jej znaczenie w regulacji części gruczołowej przysadki. W: Ośrodkowa kontrola przysadki. Mater. Konf. Sekcji Endokrynol. Experm. i Oddz. PTE, Łódź, PZWL, 1971, 7—13.
22. Reinhardt H. P., Hennig L. Ch., Rohr U. P.: Morphometrisch ultrastrukturelle Untersuchungen der Hypophysenhinterlappen der Ratte nach Dehydratation. *Z. Zellforsch.* 1969, 102, 182—192.
23. Rufener E.: Autophagocytosis of secretory granules in the neurohypophysis. *Microscopie electronique* 1970, t. III, wyd. F. Favard, France, 573—575.
24. Rufener E., Dreifuss J. J.: Selective $ZnIO-OsO_4$ impregnation of synaptoid vesicles in the rat neurohypophysis. *Brain Res.* 1970, 22, 402—405.
25. Santaloya R. C., Bridges T. E., Lederis K.: Elementary Granules, Small Vesicles and Exocytosis in the Rat Neurohypophysis after Acute Haemorrhage. *Z. Zellforsch. und mikroskopische Anat.* 1972, 125, 277—289.
26. Stöhr D. A.: Über quantitative Veränderungen „Gomoripositiver“ Substanzen in Infundibulum und Hypophysenhinterlappen der Ratte nach beidseitiger Adrenalectomie. *Z. Zellforsch.* 1969, 94, 425—433.
27. Thorn N. A.: Mechanizm of Release of Neurohypophyseal Hormones. *Aspects of Neuroendocrinology.* wyd. W. Bargmann, B. Scharrer, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, N. York, 1970.
28. Vernikos-Danellis J.: Effect of Stress, Adrenalectomy, Hypophysectomy and Hydrocortisone on the Corticotropin-Releasing Activity of Rat Median Eminence. *Endocrinol.* 1965, 76, 122 — 126.
29. Vollrath L.: The origin of Synaptic Vesicles in Neurosecretory Axon. *Aspects of Neurosecretion*, wyd. Bargmann, 1970, 173—176.
30. Whitaker S. F., La Bella S., Sanval M.: Electron Microscopic histochemistry of lizosomes in neurosecretory nerve endings and pituicytes of rat posterior pituitary. *Z. Zellforsch.* 1970, 111, 493—504.
31. Wied de D.: The significance of the antidiuretic hormone in the release mechanism of corticotropin. *Endocrinol.* 1961, 68, 956—971.
32. Wied de D., Bohus B., Ernst A. M., de Jond W., Nieuwenheizen W., Piper E. E. N., Yasumura S.: Several aspects of the influence of vasopresin on pituitary adrenal activity. W: *Investigation of Hypothalamic Pituitary Adrenal Function.* Wyd.: V. H. J. James, London, Cambridge University Press, 1968, 159—173.

Adres autorki: Pracownia Mikroskopii Elektronowej CMD i K PAN ul. Dwor-kowa 3, 00-784 Warszawa.

EWA OSETOWSKA, FELIKS LUSZAWSKI

I. „PROLEGOMENA” *) DO BADAŃ DOŚWIADCZALNYCH
NAD CHOROBA DZIEDZICZNĄ UKŁADU NERWOWEGO
NA MODELU KRÓLIKA „pt” **)

Ośrodek Doświadczalny Neurologii Porównawczej, Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, Mińsk Maz.

Kierownik: prof. dr E. Osetowska

Badania prowadzone na króliku z dziedziczną drżączką (paralytic tremor — symbol genetyczny pt) w bieżącym pięcioleciu (1971—1975) mogą wydawać się przypadkowemu czytelnikowi nader monotonne. Istotnie tematyka naszego zespołu koncentruje się stale na zagadnieniach kliniki, genetyki i neuropatologii klasycznej, porównawczej. Ażeby zrozumieć celowość tej pozornej monotonii trzeba stale pamiętać, że główna część badań prowadzona jest w szczepie królika pt przez naturę; ingerencja eksperymentatorów ogranicza się bądź to do doboru genetycznego, bądź przerywania przebiegu klinicznego usypianiem zwierząt w odpowiednio zaplanowanych okresach. Jakkolwiek tak zaprojektowana współpraca natury i doświadczenia naukowego może wydawać się dużym uproszczeniem, różnorodne modyfikacje odpowiedzi klinicznych i mózgowych, jakich nie szczędzi nam natura powodują konieczność stałego powtarzania weryfikacji neuropatologicznej i mozolnego wypracowywania kryteriów dla doboru materiału żywego do dalszych etapów badań i nowych metod.

Obserwacje kliniczne okresu 1964—1967 pozwoliły na wysunięcie hipotezy sprzężenia mutacji genetycznej z chromosomem X. W tym czasie tylko klinicznie zdrowe nosicielki, krzyżowane dla różnych miotów z odrębnymi zdrowymi samcami, rodziły klinicznie chore samce. Proporcje liczbowe, które jak wiadomo mogą być różne w obrębie poszczególnych miotów, dawały się ustalić, zgodnie z regułami tego typu dziedziczenia, na populacji kilku, czy kilkunastu miotów, pochodzących od tej samej

*) Prolegomena — uwagi wstępne, wprowadzające, esej, rozprawa krytyczna będąca wstępem, wprowadzeniem, komentarzem do większego dzieła (Kopaliński 1967).

**) Praca częściowo subsydiowana z umowy polsko-amerykańskiej. PL 480, USA, NHI. Agreement 05-035-1.

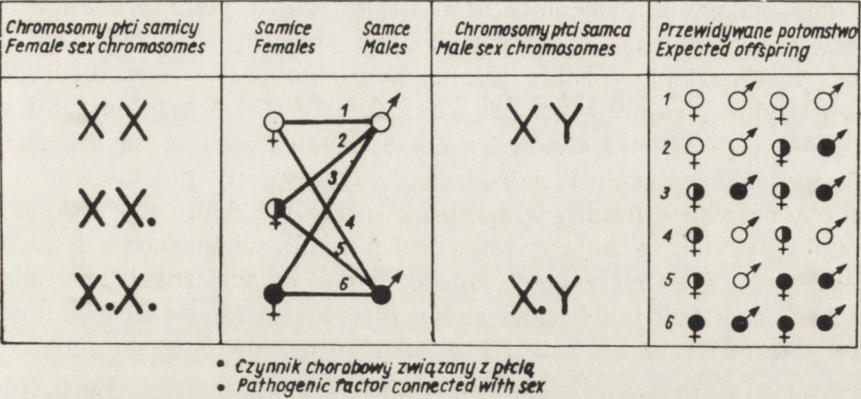
samicy. Otrzymywane w tym czasie chore osobniki wykazywały bardzo ciężkie zespoły kliniczne, które poprzez ogólne upośledzenie fizyczne, wtórne niedożywienie (konkurencja z osobnikami zdrowymi z tego samego miotu) i przypadkowe choroby prowadziły do zgonu pomiędzy 2 a 7 miesiącem życia. W obserwacjach tego okresu określono zespół kliniczny jako drżączkę typu parkinsonoidalnego z porażeniami spastycznymi (Osetowska 1967). Zwiększenie ilości przypadków pozwoliło na korektę postulowanej w pierwszym doniesieniu „ataksji”, w postaci odrębnej niż u królika amerykańskiego (Osetowska, Wiśniewski 1966).

Już w latach 1966—1967 zauważono, że nowa mutacja nie jest letalna w 100% i że u niektórych osobników występuje bądź to przebieg stacjonarny z przeżyciem ponad 2 lata, bądź też tak znaczna poprawa kliniczna, że możliwe jest krzyżowanie eksperymentalne: 1) pomiędzy „matką rodu” — samicą nosicielką 3385, a jej synami objawowymi, lecz z wyraźną kliniczną poprawą — z krzyżówek tych otrzymano chore samice; 2) pomiędzy chorymi samicami z poprawą kliniczną i takimiż samcami — co z kolei pozwoliło na otrzymanie całych miotów chorych.

Krzyżówki te potwierdziły hipotezę sprzężenia mutacji z chromosomem X, ustalając ostatecznie typ dziedziczenia zespołu chorobowego różniący królika „pt” w sposób definitywny od królika niemieckiego „tr” (Nachtsheim 1958) i amerykańskiego „ax” (O’Leary i wsp. 1972). Ten drugi okres badań scharakteryzowany jest w pracy Osetowskiej i Taraszewskiej (1968).

W okresie trzecim datującym się w przybliżeniu od roku 1969, zespół stanął wobec bogactwa możliwości krzyżówkowych. Możliwe było kojarzenie: dwojga rodziców chorych, matki nosicielki i chorego ojca, matki nosicielki i zdrowego ojca, chorej matki i zdrowego ojca, wreszcie zdrowej matki i chorego ojca (ryc. 1). Ta ostatnia krzyżówka pozwalała na odtworzenie pierwotnego przekazania mutacji przez praktycznie „wyleczonego” ojca córkom nosicielkom (ryc. 1). Natomiast pozostałe kombinacje stawiały nas wobec zagadnienia ewentualnego przekształcania obrazu klinicznego pod wpływem różnorodnego obciążenia genetycznego rodziców.

Pierwotna hipoteza robocza zakładała, że potomstwo pochodzące od dwojga rodziców klinicznie chorych, przedstawiać będzie cały miot z ciężkimi objawami klinicznymi. Przy systematycznym wykorzystywaniu krzyżówek tego typu, wskazanych ze względu na otrzymywanie dużych ilości zwierząt do dalszych badań, zachodziła obawa, że stadu „pt” może grozić „wyludnienie” i zagłada. Potwierdzeniem doświadczalnym tej hipotezy zajął się Rutczyński (1972), który przebadiał porównawczo grupy rodziców, dobierane według wyżej podanego schematu, w ilości około 20 par na grupę, co pozwoliło na otrzymanie wyników statystycznie



Ryc. 1. Informacja genetyczna o królikach z dziedziczną drżączką porażną „pt”.
Fig. 1. Genetic information about rabbits with hereditary paralytic tremor „pt”.

istotnych. Rutczyński pracował na królikach pochodzących z pierwszych czterech pokoleń, przy czym obserwacje jego dotyczące królików z miotów podwójnie obciążonych odnosiły się, ściśle biorąc, do pierwszego pokolenia otrzymanego z tak ustawionej krzyżówki, jak 6 (ryc. 1). W wyniku przeprowadzonych badań doszedł on do wniosku, że upadki spontaniczne wśród potomstwa tej grupy są najczęstsze i to tak wśród noworodków przedobjawowych, jak i wśród zwierząt, u których ujawnił się już zespół kliniczny, co następuje pomiędzy 10—15 dniem życia (Osetowska 1967).

Dalsze obserwacje prowadzone po roku 1971 nie potwierdziły wniosków Rutczyńskiego. W przebiegu pracy rutynowej odnotowano, że króliki z miotów typu 6 (ryc. 1), u których drżenia występują z taką samą regularnością jak w miotach mieszanych, wykazują bardzo często skrócony przebieg chorobowy, z poprawą kliniczną występującą w ciągu kilku do kilkunastu dni. Niemal całkowite *restitutio ad integrum*, było dla nas tak zaskakujące, że „ozdrowieńców” poddawano w okresie dojrzałości płciowej krzyżowaniu sprawdzającemu pierwotną ocenę kliniczną. Wyniki krzyżówek wykazały, że istotnie mamy do czynienia z osobnikami obciążonymi genetycznie, przenoszącymi chorobę zgodnie z prawidłami dziedziczenia w sprzężeniu z chromosomem X, u których okres objawowy przebiegał w postaci poronnej, z niezwykle szybką poprawą.

Spostrzeżenia te nie dyskwalifikują wyników otrzymanych przez Rutczyńskiego. Wskazują raczej na ograniczenie ich znaczenia praktycznego w czasie (do pierwszych czterech pokoleń), jak również uprzytniają fakt, że choroba dziedziczna obserwowana w naturalnym roz-

woju podlega przekształceniom nie dającym się w pełni przewidzieć na podstawie przesłanek teoretycznych. Inna sprawa, że zjawisko będące dla nas niespodzianką zostało już niegdyś odnotowane przez neuropatologów-kłasyków, zajmujących się chorobami dziedzicznymi układu nerwowego u człowieka. Kalinowsky (1929) zwraca uwagę, że dziedziczny zespół mózdkowy typu Pierre-Marie, przekazywany potomstwu w dominancie, przebiega bardzo lekko, praktycznie nie doprowadza do zgonu pacjentów, chyba że kojarzy się z chorobami wieku podeszłego. Natomiast wywodzący się z tego samego „pnia” dziedzicznych zwyrodnień mózdku zespół Friedreicha, przekazywany recesywnie występuje u osobników przed 20 rokiem życia i prowadzi do przedwczesnego zgonu.

Tak więc w 10 roku od odkrycia nowej mutacji „pt” (1964—1973), a w 6 roku od drugiej i ostatniej publikacji polskiej na ten temat (Osetowska, Taraszewska 1968), zespół Ośrodka Doświadczalnego Neurologii Porównawczej w Mińsku stanął w obliczu nowych zjawisk, implikujących dalsze kierunki prac cząstkowych.

Zaobserwowane przebiegi kliniczne dziedzicznej drżączki porażnej dają się sklasyfikować następująco: 1) przebieg ostry, łagodny (poronny) trwający od 3 do 18 dni; 2) przebieg ostry, ciężki, przedłużony trwający od kilku tygodni do kilku miesięcy, zakończony wyniszczeniem i zejściem śmiertelnym zwierzęcia lub trwałym kalectwem; 3) przebieg podostry do jednego roku, z poprawą kliniczną umożliwiającą reprodukcję, ale z utrzymującym się zespołem objawów osłabionych; 4) przebieg przewlekły kilkuletni, ze znaczną poprawą kliniczną umożliwiającą reprodukcję, ale z utrzymującymi się, lub nawet okresowo zaostrzającymi objawami klinicznymi; 5) przebieg z *restitutio ad integrum* — może odnosić się do osobników bardzo młodych, rekrutujących się z grupy 1, jak i do osobników, u których objawy cofały się na przestrzeni miesięcy. Te ostatnie po wyzdrowieniu i wycofaniu z hodowli przesunięte zostały do tzw. grupy gerontologicznej, stanowiącej materiał do badań porównawczych nad królikiem starczym po przebytej chorobie i królikiem starczym zdrowym, bez obciążenia dziedzicznego.

Podział kliniczny oparty jest w tej chwili na impresjach rutynowych bez analizy liczbowej grup. Impresje wywodzą się jednak z 653 przypadków przebadanych w latach 1967—1972, z uwzględnieniem tylko tych obserwacji, które mają już opracowane wyniki badania morfologicznego mózgu.

Pierwszą pracą morfologiczną, uzupełniającą charakterystykę różnicową królika „pt” była weryfikacja neuropatologiczna osobników chorych pokolenia I i II, która pozwoliła na wstępne usystematyzowanie zmian obserwowanych w mózgu.

Badania w mikroskopie świetlnym, przeprowadzone najpierw przez Osetowską (1967), potwierdzone potem na większym materiale w pracy doktorskiej Chojnackiej (1973) ustaliły, że pierwotne uszkodzenie dotyczy neuronu, powodując jego obrzmienie, specjalnego typu wakuolizację, tigrolizę lub obkurczenie. Zwyródnienie aksonu następuje wtórnie, podobnie jak glejoza izomorficzna. Glejoza anizomorficzna może pojawiać się znacznie wcześniej w wyniku szerzącego się odnaczyniowo przesiąkania i obrzęku śródtkankowego. Uogólniony charakter zmian neuronalnych nasunął nam porównanie z grupą chorób dziedzicznych człowieka, mianowicie z występującą w różnych odmianach idiocją amaurotyczną. Porównanie to wzbudziło niezmiernie żywy sprzeciw słuchaczy klinicystów i neuropatologów, jako odbiorców wygłaszanych doniesień. Szczególne warunki odbioru tych doniesień (m. in. publiczna obrona pracy doktorskiej) sprawiły, że dopiero obecnie neuropatologiczne uzasadnienie tego porównania może być wyjaśnione bliżej. U podstaw podziału chorób mózgu na trzy wielkie grupy neuropatologiczne: zwyródnienia dziedziczne, zmiany zapalne i zmiany nowotworowe, leżą nienaruszone do dziś kryteria Schaffera (1927, 1938).

Nie znamy dotychczas choroby dziedzicznej mózgu, która naruszałaby Schafferowską triadę: Keimwahl, Systemwahl, Funktionwahl (wybiórcze uszkodzenie: elementów wywodzących się z jednego listka zarodkowego; tworzących określony układ anatomiczny; odpowiedzialnych za określoną czynność obwodową — por. Osetowska 1965). Jedyne wyjątek wyodrębniony z punktu przez samego Schaffera stanowi grupa idiocji amaurotycznej, w której zachowana jest tylko zasada „Keimwahl”, bez predylekcji systemowych i funkcjonalnych. Właśnie w tym znaczeniu upatrujemy podobieństwo zespołu „pt” do grupy I.A., w odróżnieniu od zespołu systemowego „ax”, charakterystycznego dla królika amerykańskiego (O’Leary i wsp. 1972), u którego zmiany odpowiadają pełnej klasycznej triadzie Schaffera. Warto może w tym miejscu zwrócić naszą uwagę na interesujący szczegół, że choroby przypisywane tzw. wirusom powolnym (Osetowska 1971a, 1971b), stanowiące *sui generis* „pomost” pomiędzy zwyródnieniami endogennymi mózgu a zakażeniami egzogennymi, podporządkowują się morfologicznie kryteriom Schaffera dla chorób dziedzicznych. Encefalopatia gąbczasta zachowuje powinowactwo do elementów wywodzących się z jednego listka zarodkowego bez reakcji mezodermalnych (II listek) właściwych dla grupy zakaźno-zapalnej.

Tematyka naszych badań nad królikiem „pt” oparta na korelacjach anatomo-klinicznych nasunęła nam dotychczas następujące zagadnienia, z których jedne zostały już wykonane, inne wchodzą stopniowo w stadium realizacji: 1) Korelacje anatomo-kliniczne przebiegów poronnych

i ciężkich (Osetowska i wsp. 1975); 2) Zmiany w układzie wzrokowym u królika „pt” — doniesienie wstępne obejmuje badanie siatkówki, nerwu i pasma wzrokowego (Osetowska i wsp. 1975). Badania dalsze dotyczące całego układu wzrokowego, aż do ośrodków korowych planowane są przyszłościowo; 3) Przebieg kliniczny, uwarunkowania genetyczne a występowanie, morfologia i topografia zwapnień neuronalnych, jako zjawiska patognomonicznego u królika „pt”, częściowo już opublikowane (Osetowska i wsp. 1973); 4) Zmiany w mózgu u królika „pt” w okresie przedobjawowym; 5) Topografia neuroanatomiczna zmian mózgowych w różnych okresach przeżycia wraz z próbą korelacji patofizjologicznej — jest jedną z najtrudniejszych prac, wymagającą ze względu na metodykę neuroanatomiczną techniki seryjnej; 6) Charakterystyka zmian rdzeniowych i zmiany w mięśniach obwodowych. Do tego ostatniego tematu przywiązujemy szczególną wagę, ponieważ uwarunkowany zmianami w mózgu zespół parkinsonoidalny, a równocześnie zespół kończynowy spastyczny, obok zmian w neuronach rdzenia i sporadycznych zaników mięśniowych, nasuwa nam korelacje z postaciami mieszanymi *sclerosis lateralis amyotrophica* i parkinsonizmu, obserwowanymi u ludzi na wyspie Guam.

Rozwiązania w klasycznej technice neuropatologicznej stanowią tylko etap wstępny do dalszych badań w technikach nowszych, przede wszystkim ME oraz badania biochemiczne, którym rangę „imperatywu kategorycznego” nadaje obserwowany zespół drżeń parkinsonoidalnych i związane z nimi odkrycia biochemiczne lat ostatnich. Badania te planujemy tak w stosunku do płynów ustrojowych pobieranych przyżyciowo, jak i tkanki mózgowej *post mortem* w korelacji z obrazem tkankowym.

Druga grupa tematyczna, którą określić można kliniczno-genetyczną systematyzuje się samorzutnie w oparciu o przesłanki naszkicowane powyżej.

Tak więc na plan pierwszy wysuwa się nam szczegółowa analiza z uwzględnieniem istotności statystycznych, przebiegów klinicznych i upadków w okresie przedklinicznym i objawowym, potomstwa pochodzącego z miotów podwójnie obciążonych i mieszanych. Po podsumowaniu wyników utrwalonych archiwalnie, przechodzimy do dalszych systematycznych weryfikacji w stadzie żyjącym, ustawiając odpowiednie krzyżówki.

Inna grupa spostrzeżeń klinicznych pozwoliła nam zwrócić uwagę na powtarzające się w stadzie zaburzenia w cyklu reprodukcyjnym oraz pojawiające się stosunkowo często przypadki wad rozwojowych i niedorozwoju osobniczego. Dwie takie obserwacje kazuistyczne zostały już opracowane, jedna dotycząca pseudo-obojniactwa (Osetowska, Wiśniewski 1967), druga „podzielonej ciąży” — częściowo macicznej, częściowo

mnogiej brzusznej (Albert, Sawicki 1973). Przypadki niepłodności u samców lub samic, obniżenie popędu płciowego i instynktu macierzyńskiego, zaburzenia laktacji należą do zjawisk obserwowanych znacznie częściej. Istota zagadnienia sprowadza się do znalezienia odpowiedzi na pytanie, czy zaburzenia te stanowią cechę charakterystyczną stada „pt”, czy też wynikają z nasilenia pokrewieństwa wśród osobników krzyżowanych. Zadowolającą odpowiedź będzie można uzyskać prawdopodobnie dopiero po przebadaniu seryjnych skrawków układu przysadkowo-podwzgórzowego, jako sterującego centralnie funkcjami reprodukcji. Równocześnie zamierzamy „rozcieńczyć” chów krewniaczy, przez przeniesienie zespołu chorobowego na króliki innych ras, dla lepszej dokumentacji filmowej na króliki innego koloru. Pozostaje nam także ocena zmian w kształtowaniu się obrazu klinicznego na przestrzeni pokoleń 1—9, wraz z próbą różnicowania, czy przekształcenia te wynikają z rozwoju choroby w czasie, z różnorodności genotypowej poszczególnych osobników, czy też z wprowadzenia krzyżówek eksperymentalnych, które zmodyfikowały naturalny rozwój choroby. Powyższe wypunktowanie tematyki wykonanej i planowanej ma dwa cele praktyczne.

Po pierwsze, dając czytelnikowi tę sumaryczną historię dziedzicznej drżączki porażnej, chcielibyśmy uniknąć w dalszych pracach oryginalnych wprowadzeń wstępnych, sięgających wprawdzie nie do starożytnych Greków, ale co najmniej do samicy nosicielki 3385 (liczba tatuowana na uchu prawym zwierząt w obserwacji: cyfra pierwsza oznacza miesiąc, druga rok urodzenia, pozostałe dwie odpowiadają ewidencji rocznej) — która ustala pojawienie się tej jednostki chorobowej „pt” na marzec 1963; po drugie, przedstawiając w takim układzie nasze prace i zamierzenia chcielibyśmy uprzytomnić naszym czytelnikom, że prowadzone badania rozwijają się zgodnie z pewną określoną linią logiczną. Wytyczne myślowe rodzą się z poszukiwania odniesień porównawczych do chorób dziedzicznych układu nerwowego u człowieka, obserwowanych jak wiadomo na przestrzeni dziesiątków lat.

Historia chorób dziedzicznych zaczyna się z reguły od sporadycznej kazuistyki, przekształcając się w syntetyczne ujęcie jednostki chorobowej. Zdarza się też, że „jednostka” odbywa drogę pozornie odwrotną, przemieniając się w „grupę chorobową”, z której „jednostki wtórne” wydzielają się znów na zasadzie charakteru przemian i nieprawidłowości złożeń chemicznych, czy też różnic klinicznych (wiek, tempo przebiegu), a nawet morfologicznych (wtórne wybiórczości topograficzne, nasilenie uszkodzeń komórkowych itp.).

Wreszcie, korzystając z okazji, chcielibyśmy uprzytomnić także szeregi trudności nie znanych eksperymentatorom posługującym się metodą operacyjną. W naszej dyscyplinie część doświadczalna wykony-

wana przez naturę zasypuje nas taką ilością parametrów, że dla objęcia całości doświadczenia sterowanego dobieramy ostrożnie i kolejno metody badawcze weryfikacyjne, tak ażeby nie zagubić możliwości interpretacji syntetycznej. Sądzę też, że nie od rzeczy będzie uprzątnienie czytelnikowi pracochłonności tej monotonnej metodyki. Jeżeli nasz oddział kliniczny liczy 80 klatek, co można przyrównać do 80 łóżek klinicznych, proszę sobie wyobrazić sytuację, w której ordynator rano na dwóch, czy trzech łóżkach zastaje zamiast jednego osiem, czasem trzy-nastu świeżo narodzonych pacjentów. Każdy z nich wymaga wyprobowania dokumentacji genetycznej, dokumentacji hodowlanej, obserwacji klinicznej, po wyznakowaniu wstępnym niezmiernie podobnych do siebie „pacjentów z przyrostu”, czuwania nad ich rozwojem, selekcją i obrotem hodowlanym (nie mówiąc o leczeniu powikłań przypadkowych), aż po selekcję i kwalifikację materiału do odpowiednich ciągów badawczych. Mam nadzieję, że te ostatnie uwagi naświetlą wagę liczebności i współudziału w badaniach personelu „pielęgniarskiego”, „saloowego” i technicznego. Równocześnie jednak powyższe sformułowania tematów czy to wykonywanych, czy planowanych wskazują jasno, że rolę sterującą a często i wykonawczą mogą odgrywać przede wszystkim pracownicy z przygotowaniem neurologiczno-klinicznym i neuropatologicznym. Tak więc równolegle z hodowlą królika „pt”, Ośrodek musi prowadzić „hodowlę” kadry, której przygotowanie odpowiadałoby wymogom nowej w Polsce dyscypliny, jaką jest neurologia porównawcza. Cykl reprodukcyjny neuropatologa i neurologa jest niestety znacznie dłuższy, niż cykl reprodukcyjny królika „pt”. Powyższa, nieco żartobliwa dygresja daje pojęcie o trudnościach w prowadzonej pracy.

Traktując powyższy esej, jako wprowadzenie do serii doniesień, w ich realizacji będziemy w dalszym ciągu oznaczać poszczególne prace oryginalne numeracją porządkową rzymską, co pozwoli czytelnikowi na odpowiednie zaszeregowanie spostrzeżeń odcinkowych.

Э. Осетовска, Ф. Лушавски

I. „ПРОЛЕГОМЕНЫ” К ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ИССЛЕДОВАНИЯМ
НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ
НА МОДЕЛИ КРОЛИКА „pt”

Резюме

„Пролегомены” являются комментарием к серии опытов с наследственным заболеванием нервной системы на модели кролика с наследственным дрожательным параличом (paralytic tremor — генетический символ „pt”). Авторы вначале суммируют факты, установленные до 1970 года: начальную клиническую картину в которую входят паркинсоноидальное дрожание и спастическое пора-

жение конечностей — подчеркивая при этом напрашивающуюся аналогию со смешанными формами заболевания у людей, встречающимся на острове Гуам; морфологическую картину общего первичного повреждения нейрона, вторичной дегенерации аксона и изоморфического восстановительного глиоза.

Экспериментальное скрещивание животных с клиническим улучшением позволили доказать исходную гипотезу, что новая генетическая мутация сопряжена с хромосомой x. С 1971 года в культуру были введены все типы скрещиваний, получая иногда неожиданные модификации клинической и морфологической картины. Авторы представляют план исследований, анализирующий обусловленность изменчивости болезни. Отдельные этапы наблюдений являются результатом опытов проводимых совместно природой (клиническое течение) и экспериментатором (подбор скрещиваний, верификация нейрологического заболевания в различных периодах и формах). Обозначая „пролегомены” римской цифрой I, авторы подчеркивают интегральную целостность данного вступления с последующими сообщениями, соответственно обозначенными по порядку.

E. Osetowska, F. Luszawski

I. „PROLEGOMENA” TO EXPERIMENTAL STUDIES ON A HEREDITARY DISEASE OF NERVOUS SYSTEM ON THE „PT” RABBIT MODEL

Summary

„Prolegomena” forms the introduction to a series of investigations on a hereditary disease of nervous system in rabbits with paralytic tremor — genetic symbol „pt”. The authors summarize the facts established upto 1970; the initial clinical picture, consisting of parkinsonoidal tremors and spastic paresis of limbs — emphasizing the analogy to the mixed forms of the disease in men, known to occur on the Guam iceland; primary morphological pattern with generalized primary impairment of neurons, secondary axonal degeneration and isomorphic reparative gliosis.

Experimental matchings of animals with clinical improvement provided evidence of the hypothesis that the new genetic mutation is coupled with the X chromosome. From 1971 on, all types of matchings were introduced into breeding and quite unexpected modifications of morphological and clinical pattern were obtained in several cases. In accordance with the definition of comparative neurology, the particular observation steps result from the experiments performed by the nature (clinical course) and the experimentator (hybrid selections, neuropathological verifications of the disease in various forms and periods). Referring to „Prolegomena” with Roman numeral I, the authors stress the integrity of the introduction with forthcoming communications to be designated in the order of appearance.

PISMIENNICTWO

1. Albert K., Sawicki J.: Przypadek mnogiej ciąży brzusznej u królika „pt” Med. Wet., 1974, 30, 289—290.
2. Chojnacka B.: Zmiany w mózgu u królika z dziedziczną drżączką porażną. Niepublikowana praca doktorska, obrona 1973.
3. Kalinowsky L.: Zur Frage der Friedreich'schen und Marie'schen familiäre Ataxie. Deutsch. Ztschr. Nervenheilk. 1929, 108, 293—310.

4. Kopański W.: Słownik wyrazów obcych i zwrotów obcojęzycznych. Wiedza Powszechna, Warszawa 1967.
5. Nachtsheim H.: Erbpathologie der Nagetiere. In „Pathologie der Laboratoriumstiere, B. II. Ed-s: Cohrs, Jaffé, Meessen. Berlin, Göttingen, Heidelberg, Springer 1958.
6. O'Leary J. K., Fox R. R., Smith J. M., Inukai J.: Ultrastructural alterations in vestibular and cerebellar nuclei of the ataxic rabbit. *J. Comp. Neurol.* 1972, 145, 307—352.
7. Osetowska E.: Nouvelle maladie héréditaire du lapin de laboratoire. *Acta neuropath.* 1967, 8, 331—344.
8. Osetowska E., Wiśniewski H.: Ataxie familiale du lapin, défectueuse de la maladie héréditaire de Sawin-Anders. *Acta neuropath.* 1966, 6, 243—250.
9. Osetowska E., Taraszewska A.: Charakterystyka genetyczna szczepu królików „Łomna”. *Neuropat. Pol.* 1968, 6, 229—239.
10. Osetowska E., Wiśniewski H.: Królik-intersex w rodzinie z dziedziczną drżączką porażną. *Zwierz. Lab.* 1967, 5, 24—34.
11. Osetowska E.: Neuropatologia Karola Schaffera. *Neuropat. Pol.* 1965, 3, 225—230.
12. Osetowska E.: Zapalenia i zwyrodnienia mózgu a wirusy powolne i utajone. *Neuropat. Pol.* 1971, 9, 1—12 (a).
13. Osetowska E.: Neuropatologia ludzi i zwierząt a „wirusy powolne” i wirusy utajone. *Neurol. Neuroch. Pol.* 1971, 5, (21) 741—748 (b).
14. Osetowska E., Krücke W., Wuttke B.: Zerebrale Verkalkungen bei Kaninchen „pt” mit erblichen Erkrankung des ZNS. Aktuelle Probleme der Neuropathologie. Ed. K. Jellinger, Facultas Verl., Wien, 1973, 125—129.
15. Rutczyński M.: Plenność i płodność u królika z dziedziczną drżączką porażną w zależności od obciążenia genetycznego rodziców. Niepublikowana praca doktorska, obrona 1972.
16. Schaffer K.: Über das anatomische Wesen der erblichen Nervenkrankheiten und die Bedeutung der Vererbung. *Mathem. Naturwiss. Anz. Ung. Akad. Wissensch.* 29, Budapest 1929.
17. Schaffer K., Miskolczy D.: Histopathologie des Neurons. Barth, Leipzig 1938.

Adres autorów: Ośrodek Doświadczalny Neurologii Porównawczej CMD i K PAN, ul. Warszawska 126, 05-300 Mińsk Mazowiecki.

EWA OSETOWSKA, FELIKS LUSZAWSKI, ANNA TARASZEWSKA

II. MORFOLOGIA I KLINIKA PORONNYCH I CIĘŻKICH PRZEBIEGÓW CHOROBY U KRÓLIKA „PT” *)

Ośrodek Doświadczalny Neurologii Porównawczej Centrum Medycyny
Doświadczalnej i Klinicznej PAN, Mińsk Maz.
Kierownik: prof. dr E. Osetowska

Wprowadzenie krzyżówek eksperymentalnych i rozwój w czasie dziedzicznej drżączki porażnej (Osetowska, Luszawski 1975) wpłynęły na pojawienie się nowych wariantów klinicznych choroby. Wystąpienie drżeń u królika „pt” nie przesądza już jednoznacznie dalszego przebiegu schorzenia i zmusza do ustalania nowych kryteriów przy kwalifikacji materiału do dalszych etapów badań. Chodzi tu przede wszystkim o uzyskanie właściwego materiału do techniki mikroskopu elektronowego. Zarówno zbieranie tkanki mózgowej w małych blokach, jak i planowane przesyłanie żyjących królików do współpracujących z nami ośrodków w USA wskazują na konieczność takiego doboru zwierząt, ażeby przy dobrym stanie ogólnym przedstawiały one charakterystyczny obraz kliniczny i niewątpliwe zmiany chorobowe w określonych strukturach anatomicznych.

MATERIAŁ I METODA

Pracę wykonano na 60 królikach „pt”, podzielonych wg przebiegu klinicznego na dwie grupy po 30 zwierząt: I — wczesnoporonną oraz II z ciężkim przebiegiem klinicznym. W grupie I wyróżniono trzy podgrupy: A — zwierzęta usypiane w 1—2 dniu po wystąpieniu drżeń; B — zwierzęta usypiane w 1—2 dniu cofania się objawów klinicznych; C — zwierzęta z wyraźną poprawą kliniczną, względnie już bezobjawowe. Szczegółowe dane kliniczne i genetyczne zestawiono w tabeli 1 i 2.

Króliki grupy I zabijano przez podanie dosercowe eunarconu, grupy II w zależności od wieku otrzymywały eunarcon do żyły usznej lub doser-

*) Praca wykonana częściowo w oparciu o pomoc finansową USA, Agreement 05-035-1, NIH, Bethesda.

Tabela 1. Grupa wczesno-poronna

Lp.	Pod. grupa	Nr kat. królika	Po-kole-nie	Rodzice	Wiek prze-zycia	Dni cho-roby	Płeć	Objawy kliniczne
1	A	21/72	F _s	♀ 3148 ♂ 497	11	2	♂	Drugi dzień drzeń: b. silne. Przy skoku opóźnia kkt.
2	A	22/72	F _s	♀ 3140 ♂ 497	11	1	♂	1 dzień: drżenia uszu i ogonka, nasilające się przy bodźcach zew.
3	A	24/72		♀ 2115 ♂ 691	13	1	♀	1 dzień: drżenia równomierne całego ciała.
4	A	25/72	F _s	♀ 906 ♂ 4160	10	1	♂	1 dzień drzeń: kk.. bz
5	A	44/72	F _s	♀ 2114 ♂ 499	10	1	♂	1 dzień drzeń: całego ciała, kk. bz.
6	A	85/72	F _s	♀ 2114 ♂ 3153	11	2	♂	2 dzień drzeń: opóźnia w skoku kkt.
7	A	92/72	F ₇	♀ 108 ♂ 4160	10	2	♂	1 dzień pociąga kkt; 2 — wyraźne drżenia ciała.
8	A	141/72	F _s	♀ 81119 ♂ 60118	11	1	♂	1 dzień drzeń całego ciała.
9	A	142/72	F _s	♀ 81119 ♂ 60118	11	1	♂	1 dzień drzeń całego ciała.
10	A	143/72	F _s	♀ 81119 ♂ 60118	12	2	♀	2 dzień drzeń: 1 dzień uszy i ogon. 2 całe ciało.
11	A	145/72	F _s	♀ 81119 ♂ 60118	12	2	♀	2 dzień drzeń, wyraźne ale umiarkowane.
12	B	99/72	F _s	♀ 9976 ♂ 60118	13	3	♂	Drżał wyraźnie 2 dni kkt. słabsze 2-go dnia 3 — bez drzeń.
13	B	103/72	F ₉	♀ 115 ♂ 5193	14	4	♀	Wyraźne drżenia przez dwa dni, kk. b.z.
14	B	105/72	F _s	♀ 60100 ♂ 5193	18	7	♀	Słabo nasilone drżenia, od 2 dni zanikające, kk. b.z.
15	B	130/72	F _s	♀ 60106 ♂ 5193	14	4	♂	Od 10 dnia drżenia po tym ustające, kkt pociągał 2 dni, po tym odstawia nieco na boku.
16	B	131/72	F _s	♀ 60106 ♂ 5915	14	3	♀	Wyraźne drżenia przez dwa dni, w 3-cim zanikają, kk. b.z.
17	B	132/72	F _s	♀ 60106 ♂ 5915	14	3	♂	Drżenia zanikały po 2 dniach, kkt lekko opóźnia w skoku.

c. d. tabl. I.

Lp.	Pod- grupa	Nr kat. królika	Po- kole- nie	Rodzice	Wiek prze- życia	Dni cho- roby	Płeć	Objawy kliniczne
18	B	134/72	F ₈	♀ 3136 ♂ 5915	17	6	♂	Drżenia od 11 dnia ży- cia. Niedowłady od 3-go. Drżenia słabną, kkt nie- dowładne, pociąga w skoku.
19	B	135/72	F ₈	♀ 60106 ♂ 5915	17	6	♂	Drżenia od 11 dnia, kkt pociąga od 13 dnia, kkt — niedowłady 14-go dnia. Stopniowa popra- wa.
20	B	180/72	F ₈	♀ 2115 ♂ 5193	14	4	♀	Wyraźne drżenia 2 dni. zanikają; widoczne przy bodźcach, kk. — b.z.
21	C	41/72	F ₇	♀ 6096 ♂ 3945	20	9	♀	Drżenia od 11 dnia, od 13 dnia opóźnia kkt. Po 4 dniach poprawa i <i>restitut ad integr.</i>
22	C	71/72	F ₈	♀ 60106 ♂ 4160	19	9	♀	Drżenia od 10—17 dnia, kk. b.z. W dniu uspie- nia norma.
23	C	72/72	F ₈	♀ 60106 ♂ 4160	19	10	♀	Drżenia od 9 dnia. Słab- ną po 6 dniach. Norma.
24	C	75/72	F ₈	♀ 2115 ♂ 497	20	10	♀	Drżenia od 10—15 dnia Opóźnia kkt. 13—17. W dniu uspienia w nor- mie.
25	C	79/72	F ₈	♀ 3136 ♂ 497	29	11	♂	Drżenia i opóźnianie kk przez 15 dni. Od 3 dni b.zm.
26	C	82/72	F ₈	♀ 6198 ♂ 60118	16	4	♀	Wyraźnych drżeń nie było. Przez 2 dni opóz- nianie kkt w skoku. Norma.
27	C	91/72	F ₈	♀ 2114 ♂ 3153	24	13	♀	Drżenia i pociąganie kk przez 10 dni. Norma.
28	C	109/72	F ₈	♀ 3172 ♂ 5188	15	4	♀	Przez 3 dni drżenia, 4 b.z.
29	C	111/72	F ₈	♀ 3137 ♂ 4160	17	5	♀	Drżenia przez 4 dni.
30	C	153/72	F ₈	♀ 6095 ♂ 4160	21	10	♀	Drżenia przez 7 dni, nie- dowłady przez 5 dni, 9 dnia ponownie ślad drżeń. 10 dnia norma.

Tabela 2. Grupa z ciężkim zespołem klinicznym

Lp.	Nr kat. królika	Po-kole nie	Rodzice	Wiek	Dzień choroby	Płeć wg Nr	Objawy kliniczne
1	291/70	F ₅	♀ 6932 ♂ 5913	32 dni	16	♂	Drżenia od 16 dnia życia nasilające się. Porażenia 4 kończyn, odwiedzione, tzw. „samolot”*), odleżyny.
2	295/70	F ₆	♀ 298 ♂ 491	7 tyg.	37	♂	Od 12 dnia drżenia, od 15—18 niedowłady kkt, kkp. Powolne pogarszanie.
3	300/70	F ₅	♀ 6924 ♂ 5715	6 tyg.	30	♂	Porażenie kkt, silne drżenia, pogarsza się.
4	302/70	F ₅	♀ 4915 ♂ 493	2 mies.	47	♂ 70126	Od 14 dnia nasilające się drżenia, kk poz. „samolot”.
5	316/70	F ₅	♀ 4918 ♂ 691	38 dni	24	♂	Od 14 dnia narastające drżenia, kk. „samolot”.
6	318/70	F ₅	♀ 396 ♂ 7965	2 mies.	46	♂ 80163	Od 14 dnia życia nasilające się drżenia, kk. porażone.
7	16/71	F ₈	♀ 60103 ♂ 493	6 tyg.	28	♂	Od 14 dnia drżenia, niedowłady od 20. dnia spast z miokloniami, biegunka.
8	19/71	F ₈	♀ 60113 ♂ 9977	4 tyg.	14	♂	Od 14 dnia drżenia, kończyny w ukl. „samolot”, mioklonie przy pobudzeniu
9	21/71	F ₇	♀ 107 ♂ 497	6 tyg.	31	♀	Od 11 dnia bardzo silne drżenia, kk w 5 dni później „samolot”, pogorszenie.
10	24/71	F ₇	♀ 5077 ♂ 9977	2 mies.	46	♂	Drzeń nie obserwowano. Od 14 dnia niedowład kk, układ „samolot”, mioklonie w pkt.
11	36/71	F ₈	♀ 60104 ♂ 499	6 tyg.	29	♂	Od 14 dnia drżenia grubofaliste, do końca. Kk w 2 dni później, porażenia do układu „samolot”.
12	39/71	F ₇	♀ 3054 ♂ 102	2 i 3/4 mies.	68	♂ 219	Drżenia od 13 dnia nasilające się, kkt — porażone sp. kkt — niedowłady spast.
13	52/71	F ₈	♀ 60106 ♂ 493	4 tyg.	14	♀	Od 14 dnia drżenia b. silne, porażenie kkp, tylne niedowłady. Zap. płuc.
14	57/71	F ₇	♀ 60108 ♂ 102	6 tyg.	28	♂	Od 14 dnia drżenia drobno-faliste, po tyg. niedowłady kk, stan ogólny zły.
15	73/71	F ₇	♀ 109 ♂ 102	2 mies.	47	♂	Od 13 dnia nasilające się drżenia i niedowłady, układ „samolot”.
16	78/71	F ₇	♀ 60101 ♂ 497	5 tyg.	24	♂	Małe drżenia w 11 dniu duże od 15 dnia, kk układ „samolot”, odleżyny.
17	79/71	F ₇	♀ 107 ♂ 691	2 mies.	50	♂	Od 10 dnia drżenia nasilające się, kkt porażone, kkp. niedowłady.

c. d. tabl. 2

Lp.	Nr kat. królika	Po-kole-nie	Rodzice	Wiek	Dzień choroby	Płeć wg Nr	Objawy kliniczne
18	82/71	F ₇	♀ 108 ♂ 5915	2 i 1/2 mies.	64	♂ 4176	Od 12 dnia postępujące drżenia grubofaliste, porażenia kk. „samolot”
19	83/71	F ₇	♀ 107 ♂ 691	2 mies.	51	♀	Drżenia od 14 dnia, od 18 bardzo duże, kk. bezwładne, zapalenie płuc.
20	85/71	F ₆	♀ 11969 ♂ 691	4 mies.	111	♀ 3146	Drżenia od 11 dnia. Niedowład kk. spast. potem wiotkie. Drżenia ustaly w 60 dniu. Niedowład duży, leży na boku, odleżyny.
21	87/71	F ₇	♀ 30510 ♂ 102	2 mies.	48	♂	Od 13 dnia drżenia drobne, od 15 — niedowład sp. kkp, od 4 tyg. porażenie kkt i zadu, kkt wiotkie, odleżyny.
22	93/71	F ₇	♀ 6096 ♂ 497	2 mies.	47	♂ 5194	Od 14 dnia duże drżenia i post. niedowład spast. kk. układ „samolot”.
23	97/71	F ₇	♀ 3051 ♂ 102	2 i 1/2 mies.	63**)	♂ 5191	Od 13 dnia drżenia, od 15 niedowład kkp, potem kkt, układ „samolot”.
24	124/71	F ₇	♀ 5086 ♂ 497	7 tyg.	35	♂	Od 14 dnia drżenia, niedowład, potem porażenie kk.
25	137/71	F ₇	♀ 60100 ♂ 497	2,5 mies.	62**)	♂ 81111	Od 14 dnia drżenia, 17 — niedowład, po 2 mies. zespół „samolot”, odleżyny.
26	58/72	F ₈	♀ 3137 ♂ 4160	4 mies.	102**)	♀	Dopiero w 20 dniu słabe drżenia, potem niedowład, uśpiony w st. poprawy.
27	133/72	F ₈	♀ 3137 ♂ 5188	7 tyg.	40	♀	Od 9 dnia drżenia, w 3 dni później niedowład, potem porażenie sp. kkt i zadu, odleżyny.
28	148/72	F ₈	♀ 2115 ♂ 497	4 mies.	112**)	♂ 4226	Od 12 dnia drżenia, od 16 niedowład kkp, potem kkt w 50 dniu porażony, utrzymywany przy życiu przez ścisłą opiekę pielęgniarstwa (odleżyny).
29	212/72	F ₉	♀ 4169 ♂ 691	3,5	93**)	♀ 82101	W 14 dniu drżenia, w 18 niedowład, większe kkt, spast. Układ „samolot”. Drżenia utrzymują się, odleżyny, biegunka.
30	1/73	F ₆	♀ 6096 ♂ 5915	6 tyg.	30	♂	Drżenia od 12 dnia, od 13 postępujące niedowład, kkt porażone, spast. Zapalenie płuc.

*) Układ „samolot” 4 kończyny porażone są odwiedzione, co pozwala królikowi na czołganie się na brzuchu i klatce piersiowej.

**) Króliki z porażeniem 4 kończyn i zadu utrzymywane są przy życiu przez pielęgnację analogiczną do opieki nad ludźmi.

cowo. U wszystkich zwierząt wykonywano sekcję ogólną, z odnotowaniem zmian w narządach na świeżo (sekcja w godzinę po uśpieniu), po czym narządy mięszone, jak również mózg i rdzeń, przy porażeniach wiotkich także i mięśnia z kk, utrwalono w formalinie. Pomiędzy 14—21 dniem od utrwalenia pobierano skrawki ze zmienionych narządów, oraz z mózgu i rdzenia.

Technika parafinowa, barwienie: H—E, fiolet krezyłu oraz metody: van Gieson, Heidenhain, Holmes, Holzer w modyfikacji Kanzler-Arendta.

WYNIKI

Grupa I

Podgrupa A

W 8 na 11 przebadanych przypadków uchwytne zmiany występują w *nucleus caudatus* i *putamen (striatum)*, w dużych neuronach typu ruchowego śródmózgowia, mostu i opuszki oraz w mózdku i drogach domózdkowych. W dużych komórkach *striatum* widoczne charakterystyczne przerzedzenie chromatyny jądrowej („puste jądra”), tigroliza protoplazmy i zacieranie się granic między protoplazmą i jądrem (ryc. 1a). Małe komórki barwią się nierównomiernie, liczne pomiędzy nimi wykazują tendencje do zacierania się granic protoplazmy w podłożu. Naczynia mają wyraźnie wzmożony rysunek ścian obok rozległego prześiękania przynaczyniowego, rozlewającego się często bez wyraźnej granicy w otaczającej tkance. Oligodendroglej wykazuje wyraźne „halo” obrzękowe (obraz charakterystyczny w przyp. Lp. 1, 2, 3, 4, 5, 9 podgrupy A). Stosunkowo rzadziej widoczna wakuolizacja i zmiany homogenne komórek wzgórza, głównie grupa przyśrodkowych (ryc. 1b, przyp. charakterystyczne 7A, 11A, 9A). Zmiany w dużych komórkach istoty siateczkowatej pnia i opuszki, charakteryzujące się zacieraniem granic między bryłkami tigroidu oraz granic jądra i protoplazmy (ryc. 1c) podobnie jak analogiczne zmiany neuronów jądra ruchowego nerwu V (ryc. 1d) obserwuje się praktycznie we wszystkich przypadkach tej grupy. Podobnie uogólnione są zmiany w mózdku: homogenne rozpływanie w podłożu komórek Purkiniego wraz z reakcją gleju Bergmanna (ryc. 1e). Wśród tego ostatniego pojawiają się często postaci „nagich jąder”. Jako wczesna zmiana charakterystyczna występuje demielinizacja w szypułkach mózdkowych a także dość często demielinizacja korzonków nerwów VIII (ryc. 1f) (również zmiany komórkowe w jądrze Deitersa, rzadziej uszkodzenia *n. cochlearis* (przyp. 8A). Demielinizację dróg mózdkowych łatwo odróżnić od niepełnej mielinizacji istoty białej półkul oraz

piramid na podstawie układowej glejozy izomorficznej. W impregnacji srebrowej komórki Purkiniego wykazują często fragmentację dendrytów. W dwóch przypadkach (6 i 7 A) wyraźne zmiany homogenne w komórkach ruchowych rdzenia szyjnego i lędźwiowego, tamże obrzęk i fragmentacja włókien nerwowych. Zmian w mięśniach w przypadkach tej grupy nie stwierdzono. Nasilenie zmian od przypadku do przypadku jest różne: od minimalnych, w których zmiany uchwytnie są tylko na poszczególnych poziomach i przy ogólnej dobrej znajomości obrazu „pt”, do zmian tak rozległych i nasilonych, że przypominają one obrazy grupy II (przyp. 5 i 11A). W tych dwóch ostatnich przypadkach widoczne są duże obrzęki neuronów w dolnych warstwach kory i obrzękłe neurony we wzgórzu. Naogół jednak w całej tej grupie zmiany w korze są albo ograniczone i minimalne, albo nie występują w ogóle. Tylko w dwóch przypadkach (7 i 11A) obserwowano ograniczone gąbczaste przerzedzenia w skrzyżowaniu nerwów wzrokowych z odpowiednią glejozą Holzera.

Dla całej podgrupy charakterystyczna jest wzmożona przepuszczalność ścian naczyńiowych, jako wczesny objaw patologiczny. Dodatkowy element obrazu stanowią cechy mózgu płodowego: obecność grubej warstwy płodowej ziarnistej zewnętrznej w mózdzku (kilka warstw), gęsty linijno-promienisty układ neuronów kory, zagęszczenie jąder glejowych w istocie białej, przede wszystkim półkul, lecz także i opuszki.

Podgrupa B

W stosunku do podgrupy A, zmiany obserwowane w materiale mózgowym i rdzeniowym przypadków podgrupy B są raczej rozleglejsze topograficznie niż bardziej nasilone strukturalnie. Przede wszystkim znacznie częściej spotyka się zmiany w korze, głównie w warstwach głębokich (ryc. 2a) w postaci obrzęku tigroidu, przerzedzenia chromatyny jądrowej, homogenizacji i zacierania się konturów w podłożu, a także pustych jamek po komórkach rozpadłych. Przynaczyniowo uderzają duże przesieki, wśród gleju korowego spotyka się nagie jądra (przyp. B: 13, 15, 16, 18, 19, 20). Zawsze jednak są to zmiany rozsiane, wymagające w badaniu mikroskopowym starannej oceny. Zmiany w *striatum* przedstawiają się podobnie, jak w grupie A, są bardziej upowszechnione. Spotyka się częściej i wyraźniejsze zmiany w komórkach *pallidum*, szczególnie w jądrze skupiającym duże elementy komórkowe (ryc. 2b). Przy poszczególnych komórkach w protoplazmie tworzą się „łoże” wodniczkowe, w pojedynczych elementach wyraźne wakuole śródplazmatyczne; w podłożu bardzo wyraźna imbicja gąbczasta (przyp. B: 18, 19, 13). Zmiany we wzgó-

rzu dotyczą nadal głównie jąder przyśrodkowych. W komórkach prze-waża obraz przerzedzenia chromatyny jądrowej („puste jądra” — ryc. 2c), zacierania się granic protoplazmy; pojawiają się tendencje obrzękowe, doprowadzające do zlewania się granic między neuronami (przypadki B: 15, 17, 19, 18, 16, 20). Spotyka się też pojedyncze cienie komórek, które rozplynęły się homogenicznie w podłożu. Zmiany te występują częściej niż w korze, zawsze pomiędzy komórkami uszkodzonymi spotyka się stosunkowo dużo neuronów morfologicznie prawidłowych. Zmiany w śródmózgowiu (ryc. 2d), w jądrach siateczkowatych pnia i opuszki (ryc. 2e) są bardziej nasilone niż w podgrupie A i mają większy zasięg.

Wyraźniejsze uszkodzenia poszczególnych neuronów w jądrach ruchowych rdzenia pojawiają się w poszczególnych przypadkach (B: 13, 19, 18). Sporadycznie obserwuje się obrzęk lub sklerotyczne obkurczenie neuronów zwojów międzykręgowych (ryc. 2f). W 4 przypadkach (B — 18, 19, 12, 15) wyraźna rozlana demielinizacja z glejozą lub bardziej ograniczone gąbczaste przerzedzenia w pasmach wzrokowych. Układowe przejaśnienia mieliny w szypułkach mózdkowych oraz w korzonkach NN. III, V, VIII spotyka się we wszystkich przypadkach, podobnie, jak opisane w grupie A zmiany w komórkach Purkiniego.

Podgrupa C

Obraz najbardziej jednolity, z wyjątkiem przypadku C30, gdzie zmiany są rozległe i sprawiają wrażenie świeżych i nasilających się. Poza tym w korze i we wzgórzu, obok zmian podobnych do spotykanych w grupie B, stosunkowo duże pola opustoszeń całkowitych, względnie z cieniami komórek rozplywających się w podłożu. Pola te nie są związane z otoczeniem naczyń krwionośnych (ryc. 3a). W *striatum* obok neuronów uszkodzonych podobnie jak w grupach A i B oraz pustych jamek po komórkach rozpadłych, dużo neuronów prawidłowych. Wyraźne zmiany w paśmie wzrokowym: demielinizację i glejozę włóknistą (ryc. 3b) znaleziono tylko w jednym przypadku (C 24). Zmiany w neuronach istoty siateczkowatej pnia i opuszki są wyraźnie nasilone mniej, tigroliza ma częściej charakter plamisty, przy zachowanych granicach jądra i jego wewnętrznej struktury (ryc. 3c).

Zmiany w jądrach nerwów czaszkowych przedstawiają częściej sklerotyczne obkurczenie (ryc. 3e) niż homogenizację i obrzęk. W pojedynczych przypadkach (C 27, C 24, C 28) zmiany w jądrach podstawy sprawiają wrażenie świeżych i bardziej nasilonych niż w neuronach pnia i opuszki, gdzie obok postaci sklerotycznych spotyka się obrazy regeneracji tigroidu i tylko nieznaczne świeże zmiany komórkowe. W drogach mózdkowych zmiany są podobne, jak w grupach poprzednich, może nieco

mniej nasilone. Natomiast w obrazie komórkowym warstwy Purkiniego częściej występują segmentowe wypadnięcia z wyrównawczym rozplemem gleju (ryc. 3d); komórki Purkiniego wykazują często wewnętrzną homogenizację protoplazmy przy zachowanych granicach jądra i wyraźnym odgraniczeniu od podłoża błoną komórkową. Zmiany naczyniowe są nadal wyraźne, przeważa jednak ograniczony przebieg okołonaczyniowy nad rozlanym nasiąkaniem podłoża. Ściany naczyń wykazują wzmocnienie elementów komórkowych, niekiedy także i włókien łącznotkankowych.

Cechy mózgu płodowego tak wyraźne w podgrupie A, utrzymujące się jeszcze w podgrupie B, w podgrupie C stopniowo zanikają. Najlepiej widoczne to jest w warstwie ziarnistej płodowej mózdzku, która stopniowo z kilku pokładów komórkowych przekształca się w jednowarstwowy obrąbek podoponowy.

Grupa II

Obraz mikroskopowy przypadków z przebiegiem ciężkim jest najbardziej wyrównany topograficznie i strukturalnie. Uszkodzone są wszystkie struktury badane rutynowo, a nasilenie zmian ulega od przypadku do przypadku tylko niewielkim przesunięciom ilościowym. Korę cechuje rozległe uszkodzenie gąbczaste, które powstaje tak w wyniku przesieków okołonaczyniowych, jak i rozpadów neuronalnych, po których pozostają początkowo pojedyncze jamki przedzielone tkanką, potem zaś groniaste układy jamiste (ryc. 4a).

Pomiędzy nimi znajdują się zachowane, mniej lub bardziej uszkodzone neurony. Zniszczenia te nie ograniczają się do warstw głębokich kory, ale przesuwają się stopniowo ku warstwom powierzchniowym. Uszkodzenie wzgórza przedstawia obraz tak typowy, że można go uważać za patognomoniczny. W małych powiększeniach (ryc. 3b) widzi się gąbczaste układy jamek, nakropkowane bądź to resztkami komórkowymi, bądź jądrami obrzękłego oligodendrogleju, wciągającego w wakuolarne przerzedzenia sąsiadujący astroglej. Niepowtarzalny w jakichkolwiek innych jednostkach chorobowych wydaje się obraz komórek wzgórza w dużych powiększeniach (ryc. 3c). Neurony jąder przysiódkowych wzgórza tworzą wieloprzegrodowe pęcherze, czasami jeszcze ograniczone resztkami błony komórkowej, czasami zlewające się w układy wakuoli groniastych z otaczającym oligodendroglejem. Resztki struktury komórkowej rozkładają się nieregularnie w obrębie tych pęcherzowatych tworów. W mniej zaawansowanych przypadkach w jądrach bocznych wzgórza, gdzie neurony są większe i gęściej ułożone, obserwuje się szczególne

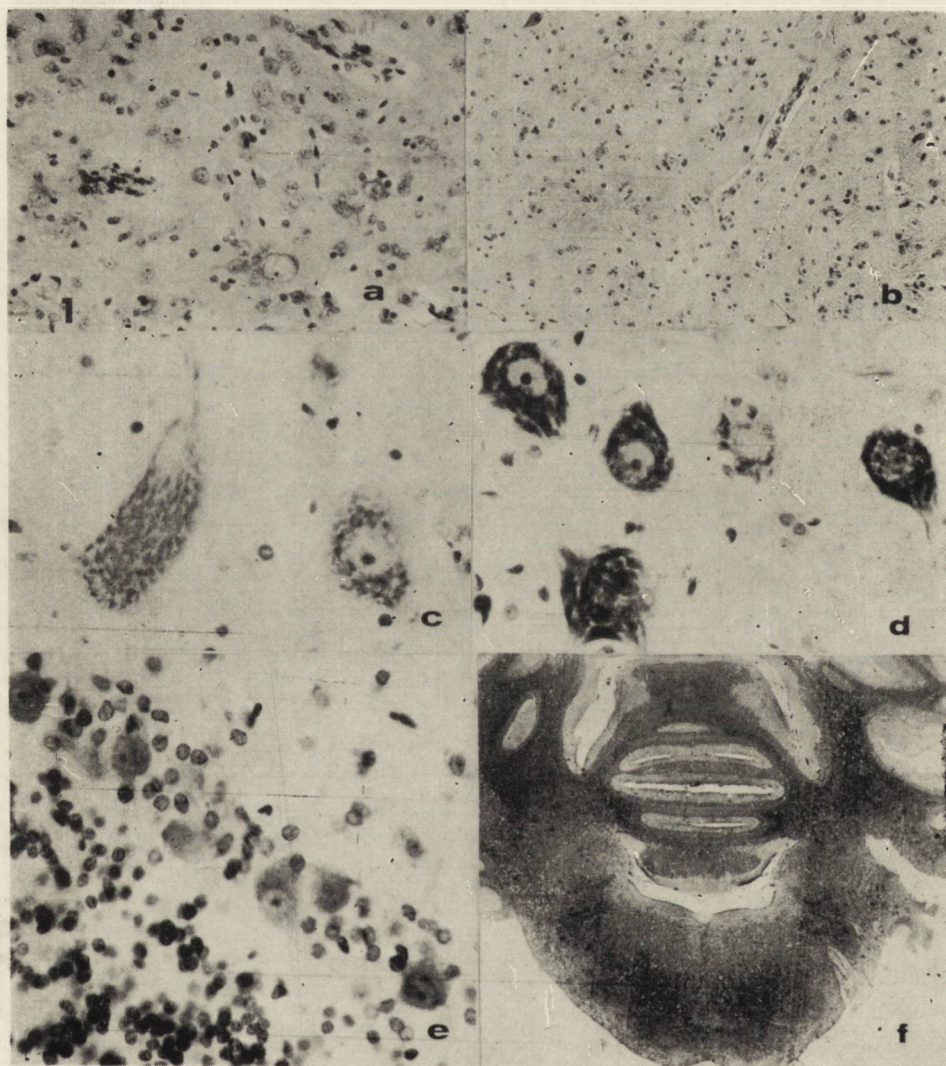
układy neuronalnych syncycjów, powstających przez przyleganie do siebie obrzękłej protoplazmy komórek nerwowych. Rozległe i głębokie uszkodzenia występują także wśród neuronów istoty czarnej, przybierając postaci zarówno rozdętych wakuolarnie „pustych jąder”, jak pęcherzykowatych obrzęków całych komórek (3d). Wszystkie inne uszkodzenia, występujące w *striatum*, *pallidum*, neuronach jąder nerwów czaszkowych, istoty siateczkowatej pnia spotykano w tej grupie podobnie, jak w poprzednich. Zmiany te wykazują tylko znaczne nasilenie i rozpowszechnienie. Jako nowa cecha charakterystyczna i niepowtarzalna w przebiegach krótszych niż 4-ro tygodniowe pojawiają się zwapnienia neuronalne (ryc. 4e). W grupie przypadków przebadanych dla celów niniejszej pracy znaleziono je w 19 przypadkach na 30 (Osetowska i wsp. 1973). W trzech przypadkach ostrych przedłużonych, w których nie było zwapnień neuronalnych znaleziono pojedyncze złogi wapniowe w mięszu nerek. Uszkodzenia w nerwach wzrokowych, skrzyżowaniu i pasmach uderzające już w pobieżnym przeglądzie rutynowym stwierdzono w 15 przypadkach (50%). Mniejsza lub większa demielinizacja dróg długich mózdkowych, dróg piramidowych w opuszcze oraz

Ryc. 1. Grupa wczesno-poronna, 1—2 dzień drżeń, a — *Striatum*: „puste jądra i destrukcja dużych neuronów, nasilające się zmiany homogenne w neuronach małych. Uderzające przesieki okołonaczyniowe. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×. b — Wzgórze: rozpyływanie się obrzękowe protoplazmy pojedynczych neuronów, wśród komórek jeszcze nie uszkodzonych. Fiolet krezyłu. Pow. 75 ×. c i d — Istota siateczkowata opuszki i neurony jądra ruchowego n. V. Zaczynająca się tigróliza oraz rozpyływanie komórek w podłożu. Fiolet krezyłu. Pow. 400 ×. e — Homogenizacja i obrzęk komórek Purkiniego, pobudzenie gleju Bergmanna. Fiolet krezyłu. Pow. 400 ×. f — Zaczynająca się demielinizacja dróg mostowo-mózdkowych. Po prawej demielinizacja korzonka n. V. Heidenhain. Wielkość naturalna.

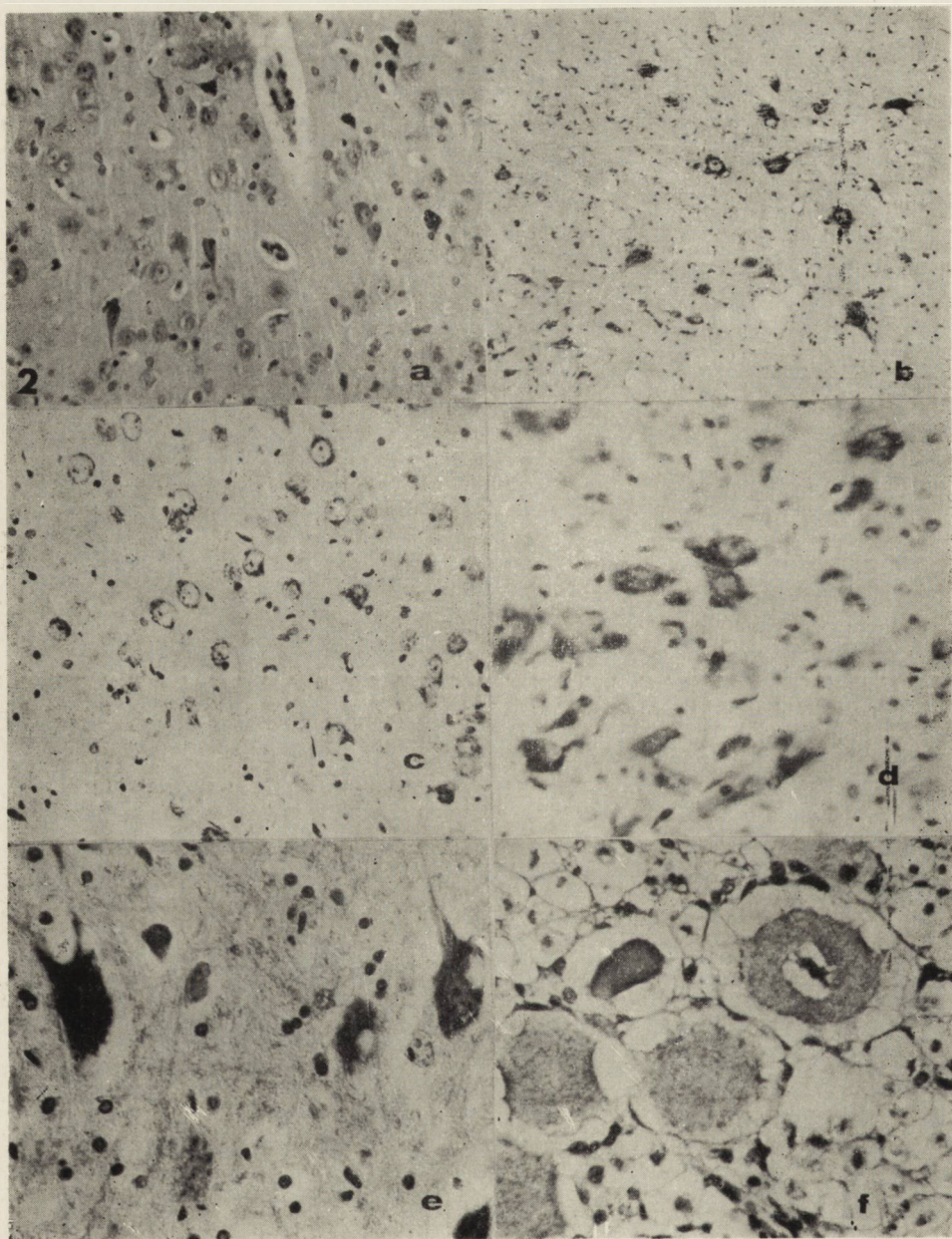
Fig. 1. Early abortive group, 1st, 2nd day of tremors. a — *Striatum*: „empty nuclei” and destruction of large neurons, intensifying homogenic changes in small neurons. Perivascular transudates. Cresyl violet. × 100. b — *Thalamus*: edematous liquefaction of protoplasm in single neurons within a group of nonimpaired cells. Cresyl violet. × 75. c and d — Reticular formation of medulla and neurons of motor nucleus of n. V. Initial phase of tigrolysis and liquefaction of cells in the tissue. Cresyl violet. × 400. e — Homogenization and swelling of Purkinje cells. Proliferation of Bergmann glia. Cresyl violet. × 400. f — Beginning of demyelination in ponto-cerebellar tracts. On the right — demyelination of n. V radix. Heidenhain. Natural size.

Ryc. 2. Grupa wczesno-poronna. „Szczyt” objawowy. a, b, c — Zmiany obrzękowe, wakuolarne i rozpyływanie się wakuolarne w korze mózgowej, w *pallidum* i w przyśrodkowych jądrach wzgórza. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×. d — Homogenne zatarcie struktury w istocie czarnej śródmózgowia. Fiolet krezyłu. Pow. 400 ×. e, f — Pseudowakuole (bez błony ograniczającej) i rozpyływanie się w podłożu neuronów formacji siateczkowatej opuszki; zmiany sklerotyczne i obrzękowe w zwoju międzykręgowym. Fiolet krezyłu. Pow. 400 ×.

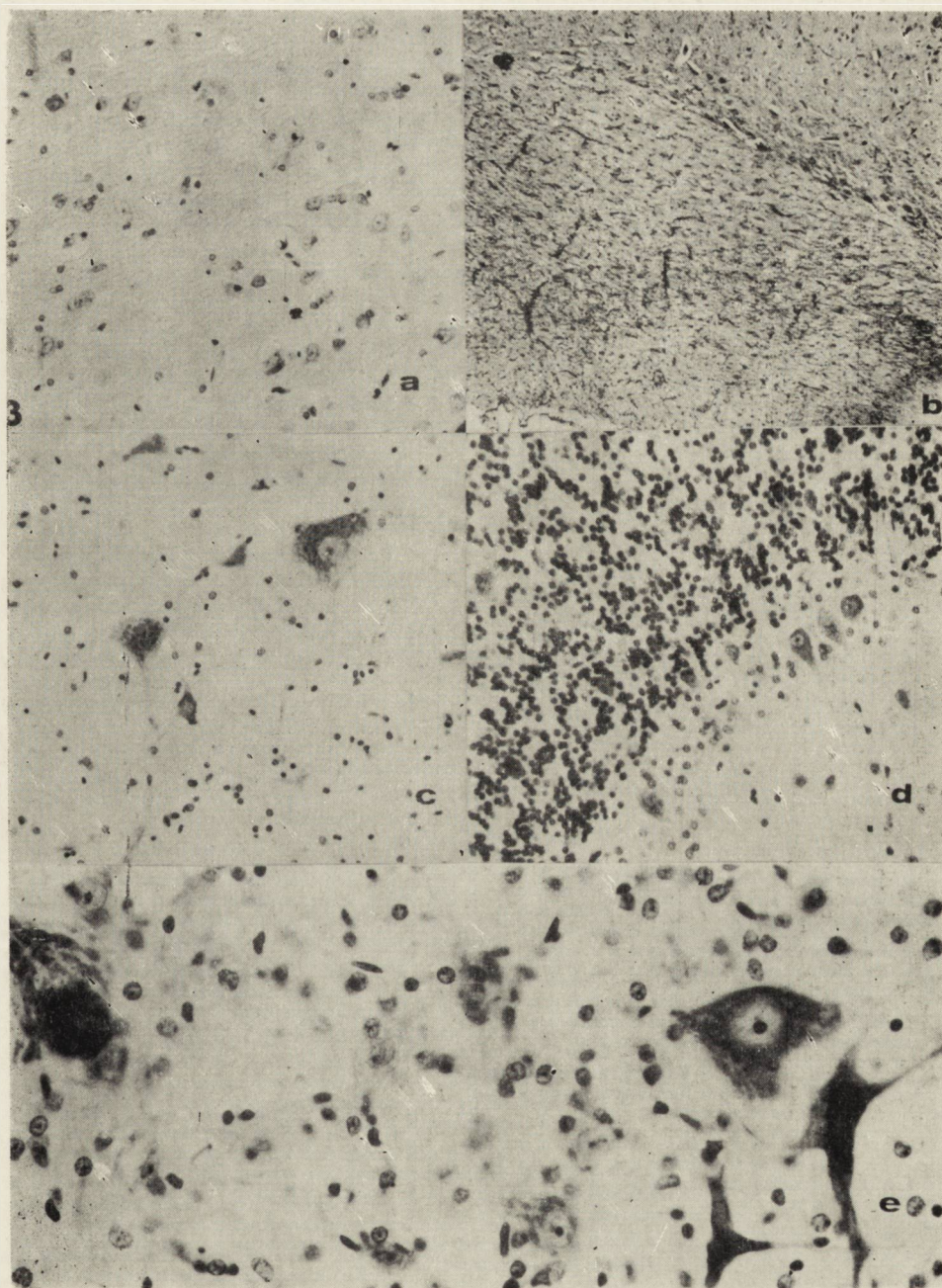
Fig. 2. Early abortive group. „Peak” of symptoms. a, b, c — Vacuolar and edematous changes and vacuolar liquefaction in cerebral cortex, *pallidum* and paracentral nuclei of *thalamus*. Cresyl violet. × 100. d — Homogenic disappearance of the structure in substantia nigra. Cresyl violet. × 400. e, f — Pseudovacoules (without limiting membrane) and liquefaction in the tissue of neurons of reticular formation of medulla; sclerotic and edematous changes in intervertebral ganglion. Cresyl violet. × 400.



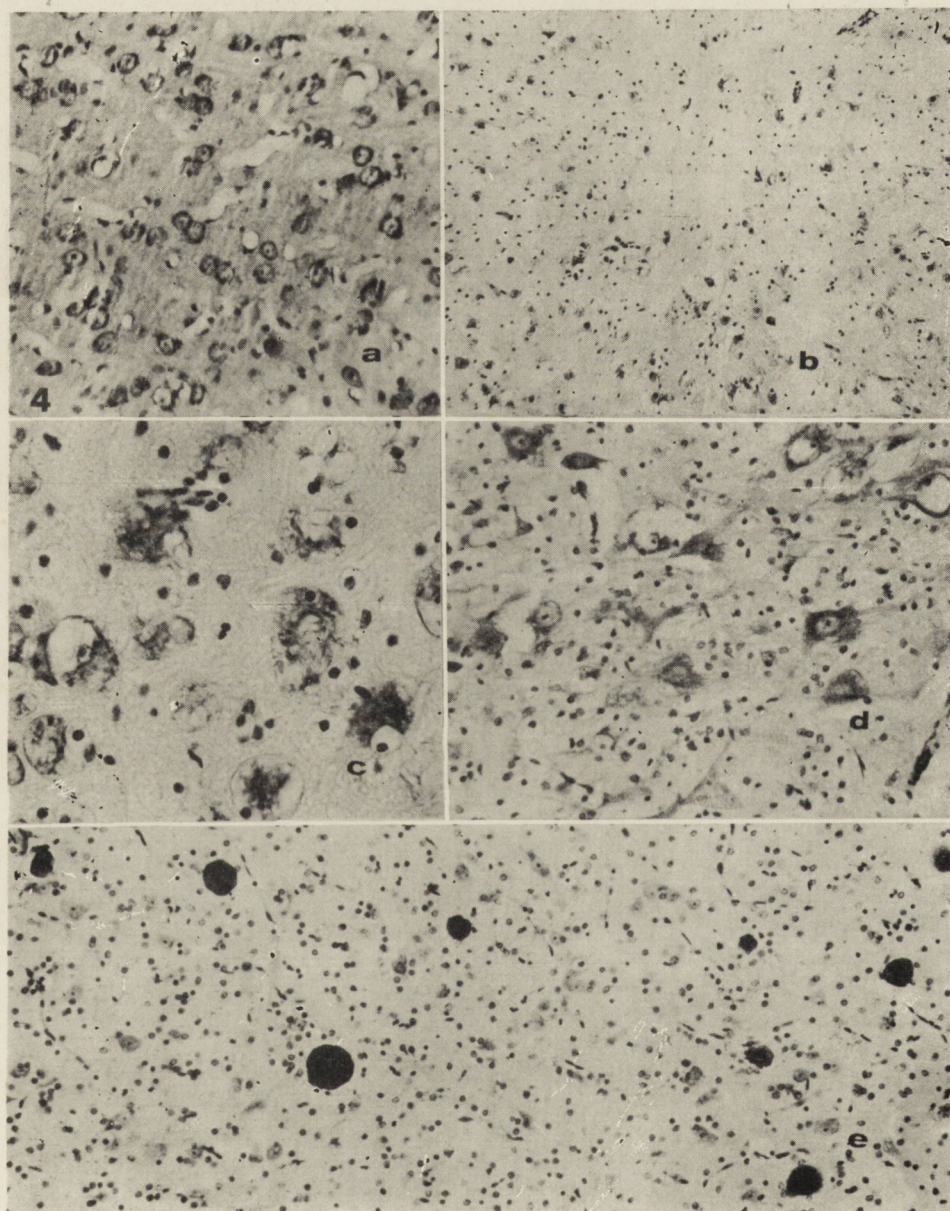
Ryc. 1.



Ryc. 2.



Ryc. 3.



Ryc. 4.

wyraźnych spłowień w bocznych i przednich powrózkach rdzenia występuje prawie w całym przebadanym materiale. Zmiany w neuronach rdzeniowych, a także w przypadkach z przebiegiem przedłużonym opustoszenia w rogach przednich rdzenia widoczne są w licznych przypadkach grupy II. Natomiast wyraźne neuronopochodne zaniki mięśniowe (wzmoczona tkanka łączną międzypęczkowa, zmniejszenie objętości włókien mięśniowych, pomnożenie jąder, przy zachowanym prążkowaniu poprzecznym) stwierdzano tylko sporadycznie.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Nie ulega wątpliwości, że topograficznie grupa II przedstawia materiał niezawodny do badań w ME. Trudno wyobrazić sobie nawet najmniejszy blok tkankowy, który, pobrany w analogicznych przypadkach, nie zawierałby neuronów uszkodzonych. Nasuwa się tu jednak uwaga, że tak doszczętne zniszczenia mogą dać mało interesujące wyniki badań substrukturalnych, podobnie jak to miało miejsce w pierwszych badaniach ME scrapie i całej grupy encefalopatii spongiotycznej: w wakuo-

Ryc. 3. Grupa wczesno-poronna. Poprawa kliniczna, 2–3 dni po ustąpieniu objawów. *a* — Przerzedzenia komórkowe w jądrach wzgórza nie związane z otoczeniem naczyń. Fiolet krezyłu. Pow. 100 \times . *b* — Glejoza włóknista w pasmie wzrokowym. Holzer. Pow. 45 \times . *c* — Zejściowe zmiany w neuronach jądra siateczkowego opuszki. Fiolet krezyłu. Pow. 400 \times . *d* — Odcinkowe wypadnięcie komórek Purkiniego. H-E. Pow. 100 \times . *e* — Zmiany „przewlekłe” (*sclerosis*) w komórkach jądra Deitersa. Widoczne obrzękowe przerzedzenia podłoża po neuronach, które uległy rozplynięciu. H-E. Pow. 400 \times .

Fig. 3. Early abortive group. Clinical improvement, 2–3 days after the retreat of symptoms. *a* — Cellular rarefactions in hypothalamic nuclei, not connected with the surrounding of vessels. Cresyl violet. \times 100. *b* — Fibrous gliosis in optic tract. Holzer. \times 45. *c* — Abortive changes in neurons of reticular formation of medulla. Cresyl violet. \times 400. *d* — Segmental loss of Purkinje cells. H-E. \times 100. *e* — „Chronic changes” (*sclerosis*) in Deiters nucleus cells. Edematous tissue rarefactions. H-E. \times 400.

Ryc. 4. Grupa z przebiegiem ciężkim, przedłużonym. *a* — Kora: przerzedzenia gąbczaste po zanikłych neuronach z częściowym zlewaniem się pojedynczych „oczek” i przesieków okołonacyniowych w układy groniaste. H-E. Pow. 100 \times . *b* — Wzgórze: rozplywanie się neuronów w obrębie pseudo-wakuoli obrzękowych. Imbibicja obrzękowa podłoża. H-E. Pow. 100 \times . *c* — Charakterystyczny obraz uszkodzeń komórkowych wzgórza: wielokomorowe układy groniaste z resztkami rozpadłych komórek. Wyraźny obrzęk oligodendrogleju. Fiolet krezyłu. Pow. 400 \times . *d* — Zniszczenia wśród komórek istoty czarnej, charakterystyczne „puste jądra”. Fiolet krezyłu. Pow. 400 \times . *e* — Patognomoniczne dla królika „pt” zwapnienia neuronów istoty siateczkowej śródmózgowia. Fiolet krezyłu. Pow. 150 \times .

Fig. 4. Group with prolonged severe course. *a* — Cortex: spongy rarefactions. H-E. \times 100. *b* — Thalamus: neurons within edematous pseudovacuaes. Edematous imbibition of the tissue. H-E. \times 100. *c* — Characteristic picture of cellular impairments in thalamus: multicystic cluster-like forms. Pronounced swelling of oligodendroglia. Cresyl violet. \times 400. *d* — Degeneration of substantia nigra cells: characteristic „empty nuclei”. Cresyl violet. \times 400. *e* — Calcifications of neurons of reticular formation of mesencephalon, pathognomonic for „pt” rabbit. Cresyl violet. \times 150.

lach poneuronalnych spotykano tylko z trudem szczątki błon komórkowych, jąder, zniszczonej mieliny. Analiza danych klinicznych tej grupy wskazuje jednak, że zbędne jest wyczekiwanie na stan całkowitego kalektwa i wyniszczenia u zwierząt tak ciężko chorych. Porównanie z danymi klinicznymi grupy IB i C, wskazuje na to, że dwu-trzytygodniowy przebieg bez poprawy neurologicznej daje już gwarancję występującego rozwoju uszkodzeń neuronalnych, przy utrzymującym się jeszcze zróżnicowaniu stopnia uszkodzenia poszczególnych elementów. Jakkolwiek po 15–20-dniowym okresie nie jest jeszcze wykluczona poprawa kliniczna, czy też kilkumiesięczne utrzymywanie się stanu stacjonarnego, układ nerwowy tych zwierząt nie rokuje w żadnym wypadku *restitutio ad integrum*, nawet w takim stopniu, w jakim byłby porównywalny z królikami z zaawansowanym procesem starzenia się „fizjologicznego” (Chojnacka 1973). Do badań w ME, przynajmniej w okresie wstępnym należy więc typować zwierzęta z pełnym zespołem chorobowym, które w 2–3 tygodniu choroby wykazują jeszcze dobry stan ogólny. Świadomie nie pogłębiałyśmy opisu mikroskopowego tej grupy (zwapnienia, uszkodzenia układu wzrokowego) ani nie zatrzymujemy się nad charakterystycznymi spostrzeżeniami genetycznymi, ponieważ jak to zapowiedziano we wstępie, będą one przedmiotem wnikliwszych opracowań cząstkowych.

Grupa wczesno-poronna, interesująca z punktu widzenia korelacji kliniczno-genetycznych, przedstawia liczne wątpliwości prognostyczne, tak minimalnie, że prawie na pewno można by w nich rokować przyszłe fologicznych. W podgrupie A jedne przypadki mają zmiany nasilone tak minimalnie, że prawie na pewno można by w nich rokować przyszłe przebiegi poronne. Inne (wypunktowane w opisach mikroskopowych) przedstawiają stan znacznej destrukcji, nasuwający zarówno przypuszczenie, że zmiany tkankowe poprzedzały wystąpienie objawów klinicznych, jak i prognozę potencjalnej przynależności do grupy II. Podgrupa B nie może być traktowana jednoznacznie ani klinicznie, ani neuropatologicznie. Wczesne zanikanie objawów klinicznych przy dużych (rozległych i nasilonych) uszkodzeniach tkankowych sugeruje ewentualne wtórne zaostżenia, względnie utrwalenie się zespołów zejściowych, szczególnie w przypadkach niedowładów kończyn graniczących z bezwładem. W przebiegach klinicznych, które, chociaż słabnące, utrzymują się przez kilka dni, substrukturalne zmiany neuronalne mogą być zarówno ciekawe, jak i nietrudne do topograficznego ustalenia. Dlatego ta podgrupa nie powinna być *a priori* wykluczona z weryfikacji w ME. Najmniej interesująca wydaje się grupa C, w której obraz mikroskopowy poza zmianami w drogach długich zatracą cechy charakterystyczne. Uszkodzenia neuronalne i wtórne w tej grupie stają się tym podob-

niejsze do banalnych uszkodzeń, towarzyszących innym sprawom chorobowym O U N u królika, im dłuższy jest okres przeżycia od całkowitego ustąpienia objawów klinicznych do badania pośmiertnego. Niemniej trzeba stwierdzić, że różnicowanie diagnostyczne pomiędzy obrazami spotykanymi w tych trzech podgrupach jest praktycznie bardzo trudne. Dla podgrupy A i B w przypadkach skrajnych i przy uwzględnieniu zmian występujących na wszystkich poziomach możliwe jest rozpoznanie przynajmniej przypuszczalne procesu „pt”, ale nie jest możliwe ustalenie okresu choroby (początek czy „szczyt”), chyba, że uwzględni się równocześnie mniejsze lub większe nasilenie cech mózgu płodowego, ale nawet uwzględniając ten współczynnik lepiej jest rozporządzać materiałem o większej rozpiętości czasu przeżycia. Nasuwające się korelacje poronnych przebiegów klinicznych z zaawansowanym pokoleniem oraz obciążeniem genetycznym rodziców, jak również przewaga samców królików poddanych obserwacji zostaną, podobnie jak dla grupy drugiej, omówione obszerniej w osobnym doniesieniu.

WNIOSKI

1. Króliki z przebiegiem klinicznym przedłużonym co najmniej do 2—3 tygodni (w wieku 1—2 miesięcy) przedstawiają najpewniejszy materiał do badań w ME ze względu na rozległe, zaawansowane i patognomoniczne zmiany neuronalne. Do badania powinny być dobierane zwierzęta w dobrym stanie ogólnym.

2. Króliki „pt” w pierwszych dniach choroby i bezpośrednio po „szczycie objawowym” mają bardziej ograniczoną topografię uszkodzeń i różnicę ich nasilenie. Mogą jednak stanowić ciekawy materiał dla ustalenia substrukturalnego rozwoju zmian. Różnicowanie obrazu „wczesnego” i poronnego „szczytu” (z następującą poprawą) nie jest możliwe w mikroskopie świetlnym.

3. Zmiany w mózgu u królika „pt” z ustabilizowaną poprawą kliniczną nie przedstawiają zespołu patognomonicznego w porównaniu z obrazami zejściowymi po innych typach uszkodzeń mózgu u królika.

Praca wykonana przy współudziale technicznym: Anity Brudkowskiej, Giny Hamberg, Jolanty Jagodzińskiej, Jadwigi Kędzierskiej, Anny Kruszewskiej-Ciuchcińskiej, Barbary Nowakowskiej-Rencławowicz i Wandy Ogonowskiej. Dokumentacja fotograficzna: Ryszard Szopiński.

Piśmiennictwo, jak w pracy E. Osetowskiej i F. Luszawskiego: I. „Prolegomena” do badań doświadczalnych nad chorobą dziedziczną układu nerwowego na modelu królika „pt”.

Э. Осетовска, Ф. Лушавски, А. Тарашевска

II. МОРФОЛОГИЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА АБОРТИВНОГО И ТЯЖЕЛОГО ПРОТЕКАНИЯ БОЛЕЗНИ У КРОЛИКА „pt”

Резюме

Были проведены коррелятивные клинико-морфологические исследования 60 кроликов с наследственным дрожательным параличом „pt” (с точки зрения подбора материала для исследований в электронном микроскопе). В I группе был выделен предварительный этап (1—2 день видимого дрожания), „пиковый” этап abortивного течения (1—2 день уменьшения симптомов) и этап решительного клинического улучшения после abortивного течения. Во II группе было исследовано 30 животных с типичным неврологическим комплексом и тяжелым удлинённым течением. Кролики „pt” с клиническим течением удлинённым до 2—3 недель (средний возраст 1—2 месяца) являются самым надёжным материалом для исследований в ЭМ, из-за общих мозговых изменений и патогностической структуры процесса. Для эксперимента должны быть отобраны животные, у которых неврологический комплекс не привел еще к истощению и случайным осложнениям, а также к полному распаду нейронов. Дифференцирование в оптическом микроскопе предварительного этапа болезни (группа IA) и максимальной ее интенсивности abortивного течения (группа IB) не является возможным. Нейрональные изменения на этих этапах болезни не являются такими обобщенными, как в группе II, тем не менее этот материал может быть интересным с точки зрения последовательности развития субклеточных повреждений. Группа с решительной клинической поправкой (IC), после abortивного протекания, не обнаруживает в оптическом микроскопе изменений характерных для процесса. Abortивное клиническое течение выступает у животных в поколениях 7, 8 и 9 и прежде всего в потомстве, у которого родители оба больны. Клинико-генетическая корреляция является предметом дальнейших наблюдений.

E. Osetowska, F. Luszawski, A. Taraszewska

II. MORPHOLOGY AND CLINIC OF ABORTIVE AND SEVERE COURSES OF THE DISEASE IN „PT” RABBIT

Summary

Morphological correlation in 60 rabbits with hereditary paralytic tremor („pt”) was investigated in view of the selection of material for electron microscopic studies. In group I three periods were distinguished: the initial period (1—2 day of discernable tremors), the „peak” period of the abortive course (1—2 day of decreasing of the symptoms) and the period of distinct clinical improvement. Group I comprised 30 animals with a typical neurologic syndrome and severe, prolonged clinical course. The „pt” rabbits with clinical course prolonged to 2—3 weeks (age 1-months) represent the most reliable material for EM examinations in view of generalized cerebral changes and pathognomonic structure of the process. It is suggested to select for the study the animals in which the neurologic syndrome had not yet led to general ematiation and incidental complications or to complete degradation of the examined neurons. Differentiation between

the initial period of disease (group IA) and the „peak” period of abortive course (group IB) by means of light microscope is impossible. The neuronal changes in these stages of the disease, although not as generalized as in group II, may provide interesting material in view of the sequence of development of subcellular impairments. The group with pronounced clinical improvement (I C) following abortive course, shows no changes characteristic of the process. Abortive clinical course was observed recently in generations 7, 8 and 9, mostly in the offspring stemming from both ill parents.

Adres autorów: Ośrodek Doświadczalny Neurologii Porównawczej C.M.DiK.
PAN, ul. Warszawska 126, 05-300 Mińsk Mazowiecki.

EWA OSETOWSKA, ANNA TARASZEWSKA, FELIKS LUSZAWSKI

III. ZMIANY W UKŁADZIE WZROKOWYM U KRÓLIKA „PT”

(DONIESIENIE WSTĘPNE)

Ośrodek Doświadczalny Neurologii Porównawczej Centrum Medycyny
Doświadczalnej i Klinicznej PAN, Mińsk Maz.
Kierownik: prof. dr E. Osetowska

Doniesienie poniższe oparte jest na materiale 24 przypadków scharakteryzowanych klinicznie w pracy Osetowskiej i wsp. (1975). Przypadki te odpowiadają numeracji porządkowej 7A, 11A, 12, 15, 18, 19B oraz 24C grupy z przebiegiem poronnym; pozycjom 1, 2, 9, 11, 13, 15, 16, 17, 21, 22, 23, 26, 28, 29, 30 grupy z przebiegiem klinicznym ciężkim. Zmiany, które opisujemy, określamy jako „uderzające”, ponieważ bez specjalnego zwracania uwagi z naszej strony na układ wzrokowy, uszkodzenia nerwów wzrokowych, skrzyżowania i pasm wzrokowych „uderzyły” nas w rutynowych opisach przypadków bieżących. Tym samym skrawki mózgowe, technika i barwienia są identyczne, jak w pracy II cyklu poświęconego królikowi „pt” (por. także Osetowska, Luszawski 1975). Po pierwszych spostrzeżeniach zaczęto pobierać dodatkowo gałki oczne w celu zapoznania się ze stanem komórek zwojowych w siatkówce. Zastosowano te same barwienia histologiczne, jak również technikę parafinową. Z wyjątkiem jednego przypadku, w którym królik usiłujący „udać się na spacer” (trudno jest mówić o ucieczce królików z takim stanem klinicznym) wpadł wprost na nogi asystenta badającego (czego unikają na ogół króliki zdrowe), nigdy nie udało się nam ustalić klinicznie pewnych zaburzeń widzenia. W badaniach prowadzonych na obecnym etapie spostrzegamy w pewnych przypadkach spowolniałą reakcję źrenic. Poza tym u królika hodowanego w klatce zaburzenia widzenia są doskonale kompensowane przez słuch i węch.

W poniższym protokole zbiorczym zachowano kolejność opisów „historyczną”, a nie anatomiczną. To znaczy, że przedstawiono najpierw dostrzeżone wcześniej zmiany w drogach wzrokowych, uzupełnione później badaniami siatkówki. Poza różnicami w nasileniu, charakter zmian w opisanych strukturach był u wszystkich królików podobny. Dlatego

w opisie protokolarnym i objaśnieniach do rycin nie dodawano wskazówek odwołujących się do poszczególnych przypadków.

WYNIKI

Najwcześniej zauważono uszkodzenia w skrzyżowaniu nerwów wzrokowych i w poziomach sąsiednich. Znacznym odbarwieniom mieliny towarzyszyły zagęszczenia komórkowe gleju i od przypadku martwice parenchymalne, z bezodczynowym rozpadem, niekiedy z udziałem makrofagów (ryc. 1). W pasmach wzrokowych występowało przerzedzenie mieliny, rozlane, dosyć nierównomierne, nie dochodzące nigdy do całkowitej demielinizacji (ryc. 2). Impregnacja srebrowa metodą Holmesa ujawnia nierównomierny obrzęk, korkociągowe poskręcanie, fragmentację i przerzedzenie włókien nerwowych (ryc. 3). Demielinizacja jest widoczna w nerwach wzrokowych prawie zaraz po ich odejściu do siatkówki, towarzyszy jej odpowiednia glejoza włóknista. Ta ostatnia nie jest czysto izomorficzna: wykazuje znaczniejsze nieregularne zagęszczenia koło naczyń oraz w miejscach nasilonego zgąbczenia (ryc. 4). Analogiczne nieostro ograniczone pasma przerzedzenia zwracają uwagę także w znaczniejszych powiększeniach w barwieniu metodą Heidenhaina i to zarówno w nerwach, jak i w pasmach wzrokowych za skrzyżowaniem (ryc. 5). Wzmożenie rysunku włókien łącznotkankowych (przegrody i proliferacja odnaczyniowa) występuje również wyraźnie w odcinkach nerwów zaraz po odejściu od gałki ocznej (ryc. 6). We wszystkich opisanych przypadkach uderza w drogach wzrokowych pierwszego neuronu

Ryc. 1. Zgąbczenia i martwice w nerwach wzrokowych przed skrzyżowaniem. Heidenhain. Pow. 40 ×.

Fig. 1. Spongy degeneration and necroses in optic nerves before chiasma. Heidenhain. × 40.

Ryc. 2. Pasma wzrokowe: rozlane, nierównomierna demielinizacja. Heidenhain. Pow. 45 ×.

Fig. 2. Optic tract: diffuse, irregular demyelination. Heidenhain. × 45.

Ryc. 3. Uszkodzenie włókien nerwowych w nerwie wzrokowym. Holmes. Pow. 600 ×.

Fig. 3. Impairment of nerve fibres in optic nerve. Holmes. × 600.

Ryc. 4. Glejoza włóknista nerwu wzrokowego poniżej odejścia od siatkówki, nasilona przynaczyniowo i w polach gąbczastych przerzedzeń. Kanzler-Arendt. Pow. 45 ×.

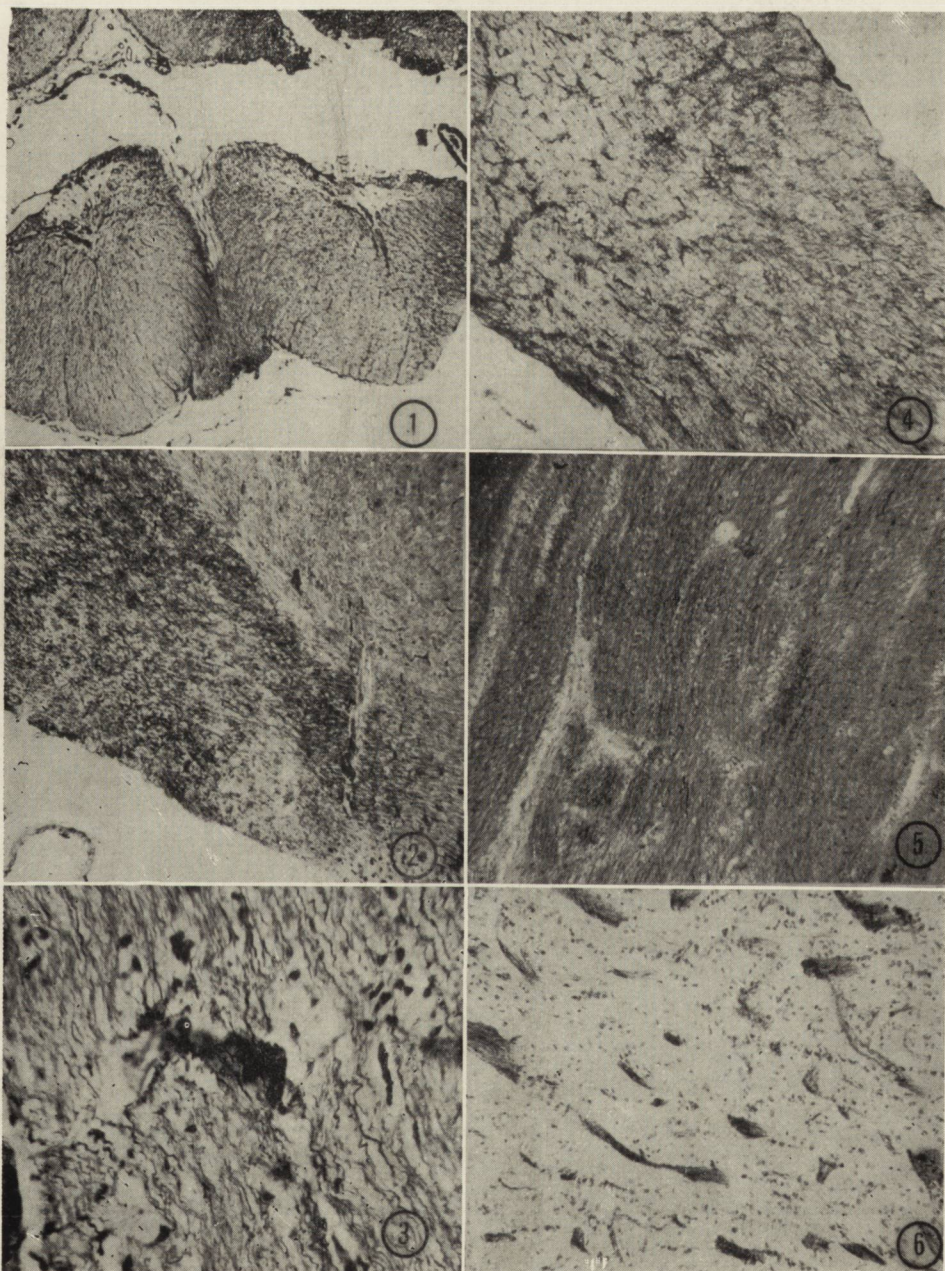
Fig. 4. Fibrous gliosis of optic nerve below deviation from retina, intensified perivascularly and in areas of spongy rarefactions. Kanzler-Arendt. × 45.

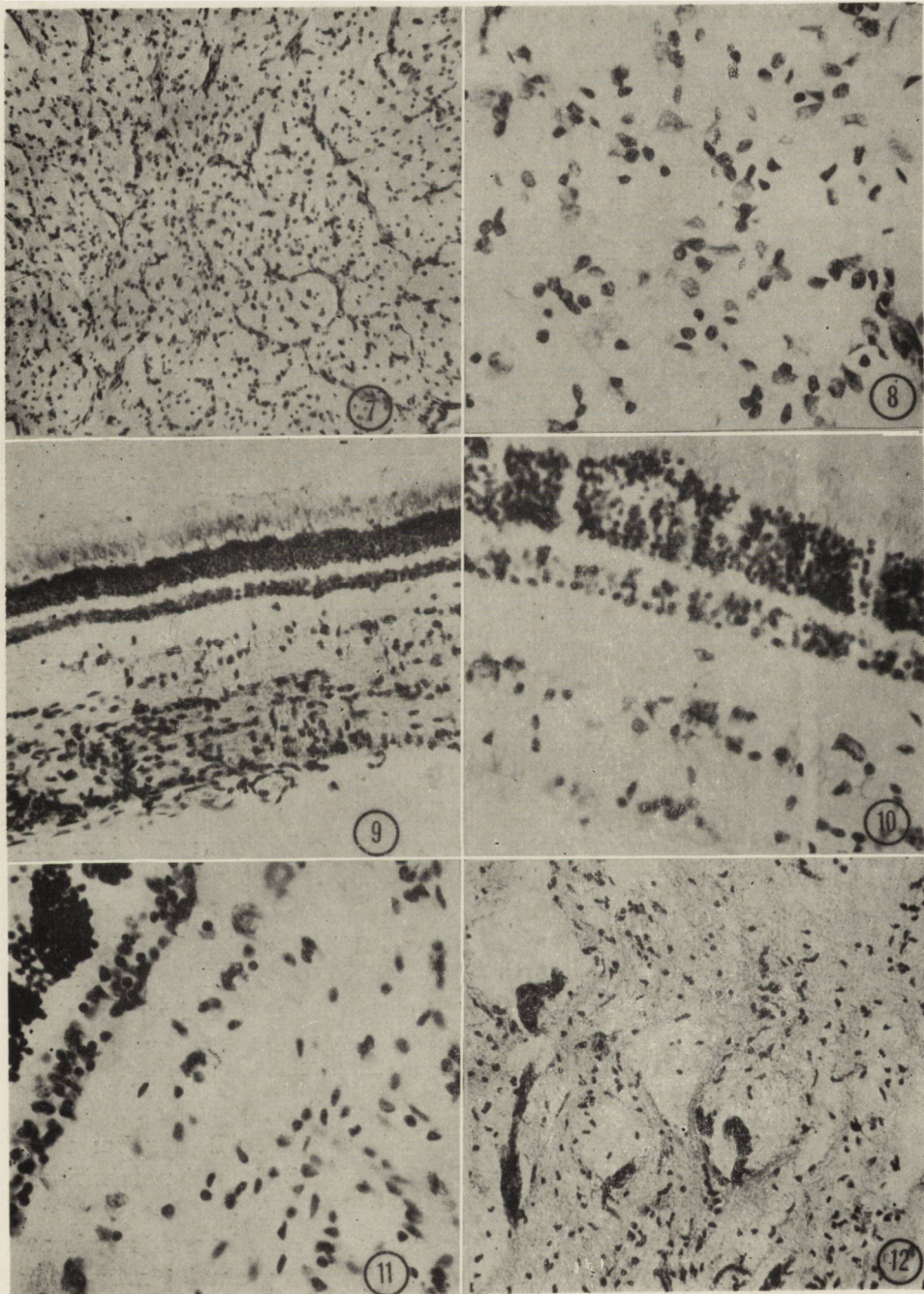
Ryc. 5. Rozlane pasmowate przejaśnienia mieliny dróg wzrokowych poniżej skrzyżowania. Heidenhain. Pow. 400 ×.

Fig. 5. Diffuse streaked bright segments in optic tracts myelin below chiasma. Heidenhain. × 400.

Ryc. 6. Zwiększenie włókien łącznotkankowych, proliferujących odnaczyniowo, nerw wzrokowy bezpośrednio po odejściu od siatkówki. Van Gieson. Pow. 150 ×.

Fig. 6. Increase of connective tissue fibres, proliferating from vessels; optic nerve directly after deviation from retina. Van Gieson. × 150.





wybitne zagęszczenie gleju komórkowego (ryc. 7), w dużych powiększeniach oprócz proliferacji gleju widoczna jest hyperplazja poszczególnych komórek i liczne „nagie jądra” astrocytów typu Alzheimer II (ryc. 8). Rozplem i zagęszczenie warstwy glejowej widoczne jest także w siatkówce. Uszkodzenie komórek zwojowych siatkówki jest rozłożone nierównomiernie. Miejscami układ ich jest zupełnie prawidłowy, z bardzo nielicznymi ubytkami, miejscami jednak widoczne są opustoszenia segmentarne, komórki pozostałe wykazują zaś wakuolarne rozdęcie doprowadzające do zgąbczenia całej warstwy, przy jej równoczesnym obrzęku i poszerzeniu. W komórkach, które jeszcze zachowały się w podłożu widoczne są plamy zhomogenizowanej protoplazmy i fragmenty jąder, rzadziej pojedyncze jądra o względnie zachowanej strukturze. Poziomy na których badano siatkówkę odpowiadają przekrojom gałki w sąsiedztwie odejścia nerwu wzrokowego (ryc. 9, 10, 11). W nerwach wzrokowych na odcinkach najbliższych siatkówki uderzają także rozległe przesieki okołonaczyniowe, analogiczne do obserwowanych w tkance mózgowej w przypadkach wczesnych i z przedłużonym przebiegiem (ryc. 12).

OMÓWIENIE

Opisane i zilustrowane mikrofotograficznie uszkodzenia występują u królika „pt” w 53% przypadków z ciężkim przebiegiem klinicznym,

Ryc. 7. Nerw wzrokowy: zagęszczenie gleju komórkowego. Fiolet krezyłu. Pow. 150 ×.

Fig. 7. Optic nerve: condensation of cellular glia. Cresyl violet. × 150.

Ryc. 8. Glej proliferujący i hipertroficzny, liczne nagie jądra. Fiolet krezyłu. Pow. 600 × preparatu z ryc. 7.

Fig. 8. Proliferating and hypertrophic glia, numerous „naked nuclei”. Cresyl violet. × 600 of Fig. 7.

Ryc. 9. Siatkówka: przerosty komórkowe w warstwie glejowej, opustoszenia i zgąbczenia w warstwie komórek zwojowych. Fiolet krezyłu. Pow. 150 ×.

Fig. 9. Retina: cells hypertrophy in the glial layer, emptiness and spongy degenerations in the ganglion cells layer. Cresyl violet. × 150.

Ryc. 10. Siatkówka: w warstwie komórek zwojowych układy gąbczastych wakuoli, poprzedzielanych cienkimi mostkami zachowanej tkanki. Fiolet krezyłu. Pow. 600 ×.

Fig. 10. Retina: in ganglion cells layer systems of spongy vacuoles, divided by thin bridges of preserved tissue. Cresyl violet. × 600.

Ryc. 11. Siatkówka: resztki komórek zwojowych, homogennej protoplazmy i pojedynczych lepiej zachowanych jąder. Fiolet krezyłu. Pow. 600 ×.

Fig. 11. Retina: remnants of ganglion cells, homogenous cytoplasm and single better preserved nuclei. Cresyl violet. × 600.

Ryc. 12. Nerw wzrokowy bezpośrednio po odejściu od siatkówki: rozlane przesieki okołonaczyniowe i rozlewające się obrzękowe zgąbczenia podłoża. Van Gieson. Pow. 150 ×.

Fig. 12. Optic nerve directly after leaving retina: diffuse perivascular transudates and disseminated edematous spongy degenerations of the tissue. Van Gieson. × 150.

w 23.3% u królika z przebiegiem wczesnoporonnym. W tej drugiej grupie dalszy rozwój uszkodzeń może być zmienny tzn., że w przypadkach z ogólną poprawą kliniczną uszkodzenia te mogą ulec znacznej kompensacji. Przynajmniej na taką możliwość wskazywałyby wyniki doświadczalnego niszczenia siatkówki, przeprowadzonego u królików bardzo młodych i u dorosłych (Zilbert, Riesen 1971). W obu grupach badanego materiału zwierzęta reprezentowały głównie pokolenia 7 i 8. Zwracamy uwagę na ten fakt, ponieważ świadczy on o stosunkowo późnym pojawianiu się w obrazie morfologicznym królika „pt” zmian w układzie wzrokowym. Dalsza obserwacja chorej populacji wykaże czy objaw ten będzie utrzymywał się i nasilał w miarę rozwoju choroby w czasie i „rozrzedzenia” współczynnika wsobności w stadzie przez wprowadzenie nowych krzyżówek.

Jak zaznaczono na początku doniesienia i jak to podkreślamy z naciskiem raz jeszcze, przedstawione odchylenia od normy są tylko sygnalizacją wstępną tego nowego elementu w procesie chorobowym „pt”. Już jednak te rutynowe wyniki wskazują na konieczność przystąpienia do seryjnego przebadania całego układu wzrokowego naszego królika. Tym bardziej, że fizjologia widzenia królika normalnego przedstawia szereg właściwości odrębnych nie tylko w porównaniu z człowiekiem, ale nawet z innymi zwierzętami laboratoryjnymi. Oczy królika położone skrajnie bocznie, w przeciwieństwie np. do „frontalnego układu” oczu u kota, mają całkowicie oddzielne pola widzenia. W wyniku takiego położenia oczu *corpus callosum* królika nie bierze zupełnie udziału w przekazywaniu informacji z pół przynosowych do obu półkul (Choudhury, Gent 1973). Tłumaczy to równocześnie brak współruchów obu gałek ocznych (Collewijn, van der Mark 1972) i wyjaśnia, dlaczego przy znacznym i częstym uszkodzeniu komórkowym kompleksu okoruchowego nie możemy znaleźć u królika „pt” żadnych odpowiedników klinicznych.

W przeciwieństwie do tego fizjologicznego zubożenia okoruchowego, komórki siatkówki u królika mają wybitne i wielorakie zróżnicowanie czynnościowe. Układy związane z selektywnymi czynnościami wzroku mają inne odpowiedniki w neuronach *corpus geniculatum laterale*, inne w *colliculus superior* ciałek czworaczych, wreszcie inne, najdokładniejsze w *area striata* kory wzrokowej. W tej ostatniej pola recepcyjne nie są związane z poszczególnymi warstwami korowymi, lecz rozsiane w niej naprzemiennie (Kao Lliang Chow i wsp. 1971). W takich warunkach fizjostukturalnych uszkodzenie i ubytki neuronów siatkówki u królika „pt” i odpowiadające im transneuralne zaniki w jądrach głębokich i korze wzrokowej mogą dostarczyć licznych cennych wskazówek w wyjaśnieniu złożonej budowy i funkcji układu wzrokowego u królika w ogóle.

Znalezienie tych odpowiedników topograficznych będzie z pewnością pracą bardzo żmudną i długofalową, ale przedstawiającą obiecujące perspektywy dla zrozumienia struktury i funkcji układu nerwowego w normie i patologii. Na razie, można tylko podkreślić, że uszkodzenia znalezione dotychczas przemawiają za postulowaną przez nas (*mutatis mutandis*) analogią pomiędzy dziedziczną drżączką porażną u królika i uogólnionymi zwyrodnieniami dziedzicznymi mózgu u człowieka, w których proces chorobowy obejmuje również neurony siatkówki.

Praca wykonana przy współudziale laboratoryjnym techników Anity Brudkowskiej, Giny Hamberg, Jolanty Jagodzińskiej, Jadwigi Kędzierskiej, Anny Ciuchcińskiej, Wandy Ogonowskiej i Barbary Rencławowicz. Dokumentacja fotograficzna: Ryszard Szopiński.

Э. Осетовска, А. Тарашевска, Ф. Лушавски

III. ИЗМЕНЕНИЯ В ЗРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЕ У КРОЛИКА „pt”

(Предварительное сообщение)

Резюме

В исследованиях мозга, проведенных на популяции кролика „pt”, авторы определили в 24 случаях из 60 исследованных, рассеянные дегенеративные нейроны, повреждение миелина и нервных волокон в зрительных нервах, в перекресте зрительных нервов и зрительном тракте. В случае сильных изменений доходило до губчатости и даже до распада ткани с участием макрофагов, особенно в перекресте. Демиелинизация сопровождалась волокнистым глиозом, клеточным глиозом с гипертрофией астроцитов и многочисленными „голыми ядрами”, кроме того наблюдались очень большие околососудистые трансудаты и гипертрофия соединительной ткани стенок сосудов. Отмечая это изменение, замеченное лишь в пятом поколении кроликов „pt” и представленные главным образом в 7 и 8 поколениях, авторы сообщают о предстоящем серийном исследовании сетчатки и эквивалентов ее ганглиозных клеток в вышестоящих центрах: *corpus geniculatum laterale*, *colliculus superior* и зрительной коре. Селективное разрушение центров сетчатки и вторичная транснейронная могут по мнению авторов не только углубить познание наследственного процесса у кролика „pt”, но также выяснить сложные анатомические связи в системе зрения у здорового кролика. Повреждение зрительной системы при наследственном дрожательном параличе усиливает аналогию этого заболевания с наследственными уасеянными вырождениями мозга у человека, сопровождающихся слепотой.

E. Osetowska, A. Taraszewska, F. Luszawski

III. CHANGES IN THE OPTIC SYSTEM OF „PT” RABBIT

(Preliminary report)

Summary

Routine examinations of brain performed on the population of „pt” rabbits revealed in 24 of 60 cases disseminate degeneration of retina neurons. impairments

of myelin and nerve fibres in optic nerves, chiasma and optic tracts. The cases with more intensive changes were characterized by spongy degeneration and even tissue breakdown with participation of macrophages, in particular in chiasma. Demyelination was accompanied by fibrous gliosis, cellular gliosis with hypertrophy of astrocytes and the presence of numerous „naked nuclei” and in addition by large perivascular transudates and hypertrophy of connective tissue elements in the vascular walls. This change, observed not earlier than in the 5th generation of the „pt” rabbit but represented mostly in the 7th and 8th generation, prompted the authors to initiate serial studies of retina and its homologues in superior centres: *corpus geniculatum laterale*, *colliculus superior* and *visual cortex*.

Selective destruction of retina neurons and secondary transneuronal degenerations could not only contribute to the knowledge about the hereditary process in „pt” rabbits, but also elucidate complex anatomical relations in the optic system of healthy rabbits. The impairment of optic tract in hereditary paralytic tremor increases the analogy of this disease to the hereditary diffuse brain degenerations in men proceeding with blindness.

PIŚMIENICTWO

1. Choudhury B. P., Gent J. P.: The corpus callosum and the rabbit's visual cortex. *Brain Research*, 1973, 52, 433—436.
2. Collewyn H., F. van der Mark: Ocular stability in variable feedback conditions in the rabbit. *Brain Research*, 1972, 36, 47—57.
3. Kao Lliang Chow, R. H. Masland, D. L. Stewart.: Receptive field characteristics of striate cortical neurons in the rabbit. *Brain Research*, 1971, 33, 337—352.
4. Osetowska E., F. Luszawski.: I „Prolegomena do badań doświadczalnych nad chorobą dziedziczną układu nerwowego na modelu królika „pt”. *Neuropat. Pol.*, 1975, XIII, 1, 61—70.
5. Osetowska E., F. Luszawski, A. Taraszewska.: II. Morfologia i klinika poronnych i ciężkich przebiegów choroby u królika „pt”. *Neuropat. Pol.* 1975, XIII, 1, 71—85.
6. Zilbert D. E., A. H. Riesen.: A comparison of the effects of infant and adult retinal lesions upon visual acuity in the rabbit. *Exp. Neurol.* 1971, 33, 445—458.

Adres autorów: Ośrodek Doświadczalny Neurologii Porównawczej C.M.D. i K. PAN, ul. Warszawska 126, 05-300 Mińsk Mazowiecki.

HANNA JĘDRZEJOWSKA, HANNA DRAC, EWA SAWICKA

MECHANIZM POWSTAWANIA ZMIAN TYPU
„ONION-BULBS” W NEUROPATIACH PRZEROSTOWYCH
CHARCOT-MARIE-TOOTH I DEJERINE-SOTTAS *)

Klinika Neurologiczna AM w Warszawie
Kierownik: prof. dr I. Hausmanowa-Petrusewicz

W niektórych przewlekłych polineuropatiach, przede wszystkim w tzw. neuropatii przerostowej, w obrębie pni nerwowych i korzeni rdzeniowych stwierdza się obecność formacji o budowie koncentrycznej, określanых mianem „onion-bulb”. Struktury te opisane po raz pierwszy przez Dejerine’a i Sottasa (1893) stały się, w następnych latach, przedmiotem zainteresowania wielu autorów, jednakże stosowane metody badań nie pozwalały na ostateczne wyjaśnienie składów komórkowych tych struktur, jak również mechanizmu ich powstawania.

Badania mikroskopowo-eletronowe, wprowadzone przed kilkunastu laty do badania nerwów obwodowych, dostarczyły szeregu dodatkowych informacji, wyłaniając jednak wiele nowych problemów. Okazało się, że formacje o koncentrycznym układzie wypustek Schwanna występują w wielu różnych polineuropatiach, są bardzo różnej wielkości (duża ich część jest niewidoczna w mikroskopie świetlnym) oraz wykazują wyraźne różnice w budowie ultrastrukturalnej. Ustalono nadto, że struktura najczęściej spotykana w przerostowych polineuropatiach składa się z koncentrycznych, naprzemiennie ułożonych warstw wypustek komórek Schwanna i kolagenu, wokół włókna mielinowego zazwyczaj zdmielinizowanego lub ulegającego remielinizacji. Powstaje ona w wyniku naprzemiennej de- i remielinizacji włókna (Dyck 1966, Thomas, Lascelles 1967, Weller 1967, Zacks i wsp. 1968, Dyck Gomez 1968, McLeod i wsp. 1971, Pleasure, Towfighi 1972). Jedynie Webster i wsp. (1967) wyrazili pogląd, iż u podstawy powstania tej formacji leży pierwotne zwyrodnienie aksonalne. Polimorfizm struktur o budowie koncentrycznej skłonił nas do wysunięcia przypuszczenia, że istnieją różne mechanizmy prowadzące do ich powstania. W celu wyjaśnienia tego zagadnienia pod-

*) Praca wykonana w ramach problemu węzłowego 09.4.1.4.

jęto badania nad mechanizmem powstawania tych formacji w zależności od rodzaju zmian we włóknach nerwowych.

Przedmiotem niniejszego opracowania jest analiza powstawania koncentrycznych formacji wokół zdemielinizowanego lub remielinizującego się włókna nerwowego w przypadkach neuropatii przerostowych Charcot-Marie-Tooth i Dejerine-Sottas.

MATERIAŁ I METODYKA

Materiał stanowiły wycinki nerwu łydkowego pobrane od 10 chorych hospitalizowanych w Klinice Neurologicznej AM w Warszawie w latach 1968—1972. Wszystkie przypadki należały do grupy genetycznie uwarunkowanych polineuropatii, w których pierwsze objawy choroby pod postacią zniekształcenia stóp i/lub niedowładu mięśni prostowników stóp pojawiły się w pierwszym dziesiątku życia. Obraz kliniczny charakteryzował się objawami strzałkowego zaniku mięśni, współistniejącego w niektórych przypadkach z innymi objawami neurologicznymi i powiększeniem pni nerwowych. We wszystkich przypadkach stwierdzono podwyższony poziom białka w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz wyraźne zwolnienie szybkości przewodzenia we włóknach ruchowych pni nerwów obwodowych w kończynach dolnych i górnych (we wszystkich przypadkach szybkość przewodzenia była poniżej 20 m/sek, z czego w 4 przypadkach — poniżej 10 m/sek). Różnice w obrazie klinicznym i w sposobie dziedziczenia oraz wyniki badań laboratoryjnych stanowiły podstawę podziału przypadków, zgodnie z kryteriami podanymi przez Dycka i Lamberta (1968a, 1968b). Do przerostowej postaci choroby Charcot-Marie-Tooth (HN — CMT) zaliczono 7 przypadków, a do neuropatii przerostowej Dejerine-Sottas (HN — DS) 3 przypadki (tabela 1).

Biopsję nerwu łydkowego o długości 2—3 cm pobierano po nacięciu skóry na zewnętrznej powierzchni podudzia, mniej więcej na wysokości 3 cm powyżej kostki zewnętrznej i w połowie odległości pomiędzy nią a ścięgnem Achillesa. Biopsję całkowitą (obejmującą cały przekrój nerwu) pobrano w 2 przypadkach; biopsję częściową, tzw. pęczkową — w 8 przypadkach.

Badanie morfologiczne nerwu łydkowego obejmowało: jakościowe badanie histologiczne, badanie izolowanych włókien (tzw. włókna czesane) oraz badanie mikroskopowo-elektronowe.

Metody badania histologicznego nerwów obwodowych łącznie z metodą izolowania włókien omówione zostały dokładnie w pracy Jędrzejowskiej i wsp. (1972).

Część pobranego wycinka przeznaczonego do badań mikroskopowo-elektronowych utrwalano w 5—6% roztworze aldehydu glutarowego

Tabela 1. Dane histopatologiczne
Table 1. Histopathological data

Lp. No.	Numer nerwu Nerve	Płeć Sex	Wiek (w latach) Age (in years)	Rozpoznanie kliniczne Clinical diagnosis	Przerost n. łydkowego Hypertrophy of sural nerve	Włókna zdemie- linizowane i re- mielinizujące Demyelinated and remyelinated fibers	„Onion-bulbs”	
							częstość występowania frequency	wielkość size
1	126/71	m	3	M. Charcot-Marie-Tooth	—	+++	—	—
2	43/70	ż	7	j.w.	—	++	—	—
3	10/71	ż	10	j.w.	—	+	—	—
4	37/70	ż	9	j.w.	—	+	+++	ca 10 μ
5	130/69	ż	8	j.w.	—	++	++	10—15 μ
6	172/68	m	10	j.w.	+	++	++	10—15 μ
7	120/72	m	16	M. Dejerine-Sottas	+	+++	+++	10—20 μ
8	92/72	ż	14	j.w.	++	+++	++++	10—20 μ
9	45/72	m	15	M. Charcot-Marie-Tooth	++	++	++++	10—25 μ
10	39/72	m	17	M. Dejerine-Sottas	+++	++	++++	15—25 μ

Legenda — + pojedyncze, niewielkie — single, slight
 Legend ++ średnio liczne, średniego stopnia — moderate number, moderate
 +++ liczne, znaczny — numerous, pronounced
 ++++ b. liczne, wybitny — very numerous, very pronounced

Ryc. 1. Przekrój poprzeczny nerwu łydkowego, przyp. 1. Bardzo liczne zdmielinizowane i remielinizujące włókna, w niektórych włóknach widoczny rozpad mieliny. Gruby skrawek eponowy, barw. met. Pala-Kulczyckiego. Pow. 900 \times .

Fig. 1. Transverse section of sural nerve, case 1. Numerous demyelinated and remyelinated fibers; in some fibers myelin disruption is seen. Thick epon section stained by Pal-Kulczycki meth. \times 900.

Ryc. 2. Przekrój poprzeczny nerwu łydkowego, przyp. 5. Widoczne zdmielinizowane włókna (strzałki czarne) i małe „onion-bulbs” (strzałka biało-czarna). Preparatyka jak na ryc. 1. Pow. 660 \times .

Fig. 2. Transverse section of sural nerve, case 5. Some demyelinated fibres (black arrows) and small onion-bulb formations (white-black arrow). are seen. Preparation as in Fig. 1. \times 660.

Ryc. 3. Dwa kolejne odcinki cienkiego włókna nerwowego z nerwu łydkowego, przyp. 9. Widoczne liczne, krótkie remielinizujące się segmenty oraz odcinki zdmielinizowane (strzałki). Włókno czesane. Pow. 120 \times .

Fig. 3. Two consecutive segments along the length of small teased myelinated fibers from sural nerve, case 9. Numerous short, remyelinated segments and regions devoided of myelin (arrows). \times 120.

Ryc. 4. Przekrój poprzeczny nerwu łydkowego, przyp. 10. Liczne i duże „onion-bulbs” zawierające w centrum włókno mielinowe oraz struktury o budowie koncentrycznej bez wyraźnego aksonu. Gruby skrawek eponowy, barw. błękitem metylenowym. Pow. 900 \times .

Fig. 4. Transverse section of sural nerve, case 10. Numerous large onion-bulb formations containing myelinated fibers in the center and concentrically arranged formations depleted of axons. Thick epon section stained with methylen blue. \times 900.

Ryc. 5. Badanie mikroskopowo-elektronowe, przekrój poprzeczny nerwu łydkowego, przyp. 1 *). Widoczne włókna mielinowe w stadium rozpadu mieliny, zdmielinizowane i remielinizujące. Układ i struktura włókien bezmielinowych (uf) niezmienione z wyjątkiem powstawania wypustek w pobliżu zdmielinizowanego aksonu (strzałka). Pow. 5000 \times .

Fig. 5. Electron micrograph of transverse section of sural nerve, case 1 *). Myelinated fiber with disrupted myelin as well as demyelinated and remyelinated fibers are seen. Structure and pattern of distribution of unmyelinated fibers (uf) is unchanged except for the formation of cytoplasmic processes near demyelinated axon (arrow) \times 5 000.

Ryc. 6. Przekrój poprzeczny włókna ulegającego demielinizacji w nerwie łydkowym, przyp. 1. Duże masy mieliny o prawidłowym układzie blaszek widoczne w cytoplazmie komórki Schwanna. Akson (Ax) nie wykazuje zmian. Wokół komórki Schwanna widoczne warstwy błony podstawnej (strzałka) oraz wypustki komórek Schwanna. Pow. 16 000 \times .

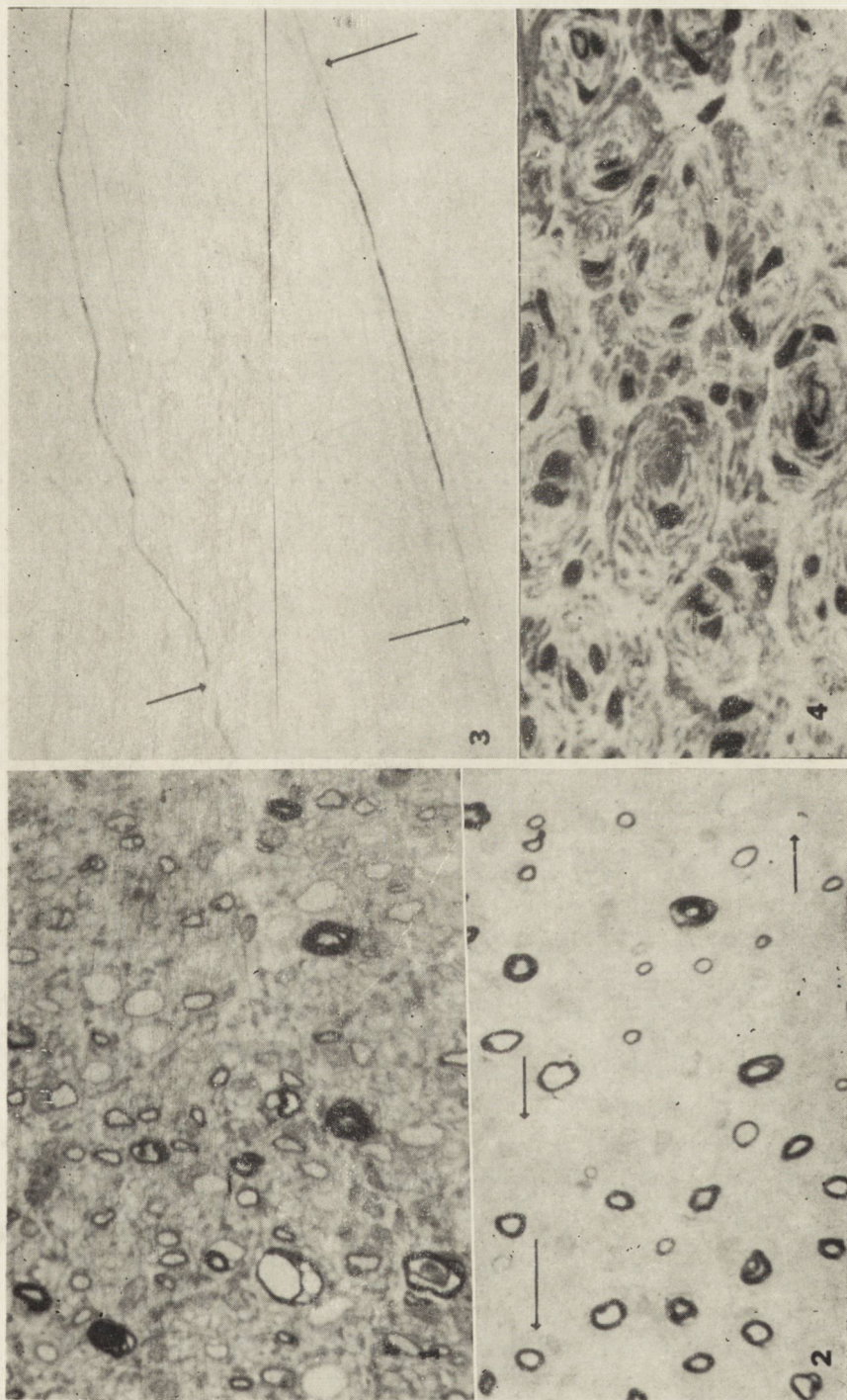
Fig. 6. Transverse section of fiber undergoing demyelination in sural nerve, case 1. Large masses of myelin with normal periodicity of myelin lamellae are seen in Schwann cell cytoplasm. Axon (Ax) does not show abnormalities. Additional layers of basement membrane (arrow) and Schwann cell processes around the Schwann cell. \times 16 000.

Ryc. 7. Pod wspólną błoną podstawną widoczne dwie wypustki komórek Schwanna częściowo ograniczone „własnymi” błonami podstawnymi (strzałki); w jednej z wypustek — remielinizujący akson (Ax). Wokół dodatkowej błony podstawnej i okólnie przebiegające wypustki komórek Schwanna. Nerw łydkowy, przyp. 1. Pow. 13 000 \times .

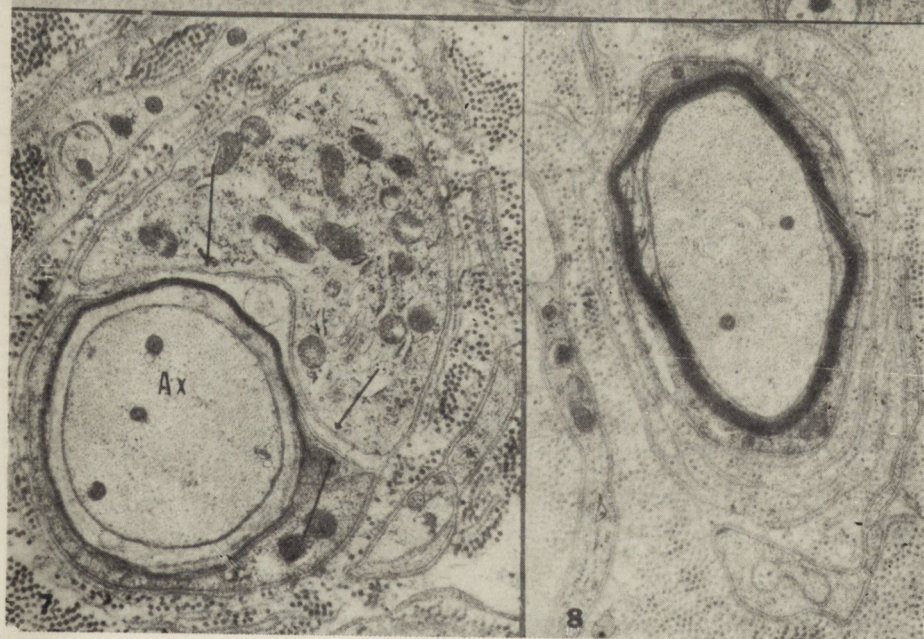
Fig. 7. Under the common basement membrane two Schwann cell processes with „own” basement membranes (arrows) are seen. Within one of the processes — remyelinated axon (Ax). Around additional layers of basement membrane and circumferentially oriented Schwann cell processes. Sural nerve, case 1. \times 13 000.

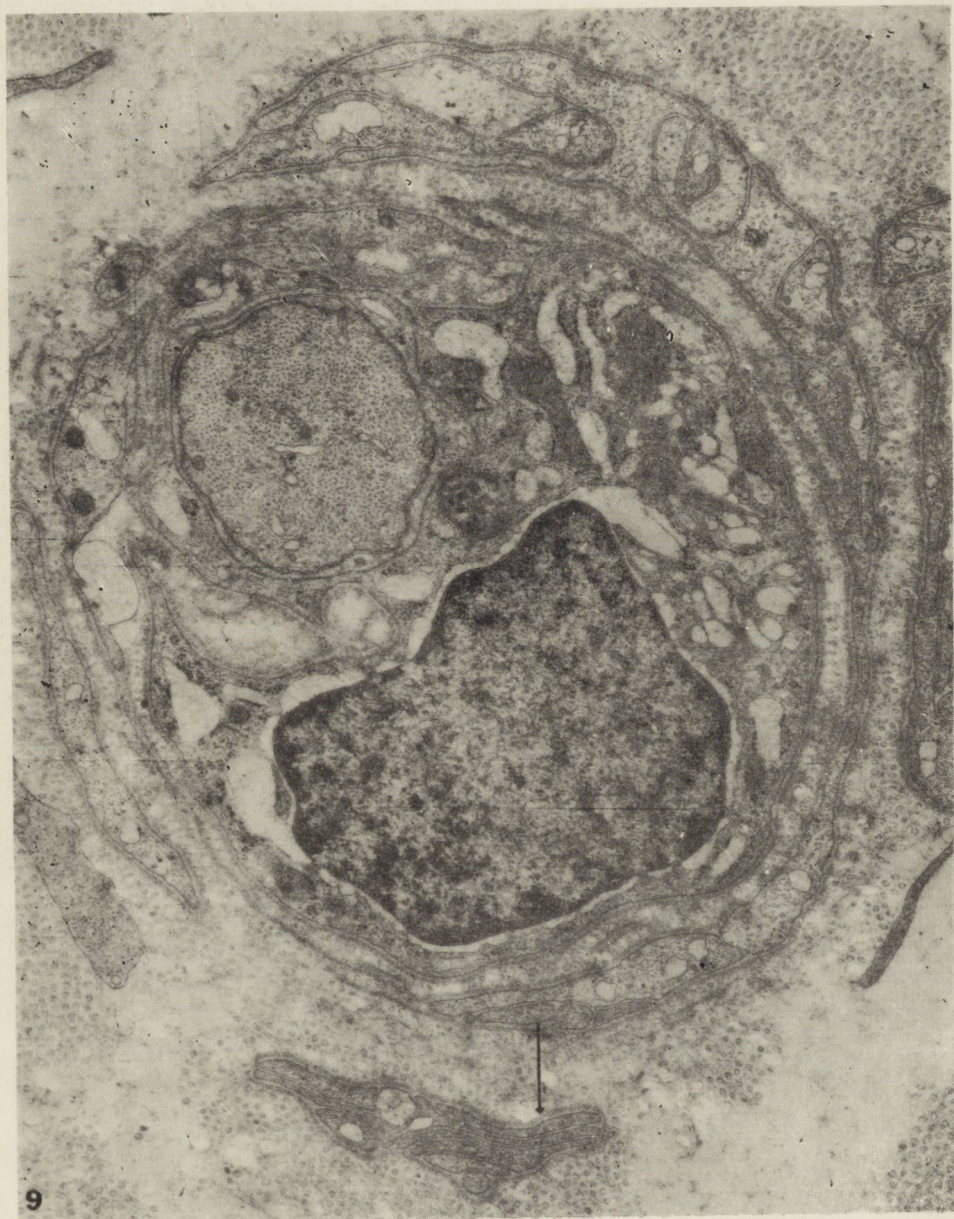
*) Ryciny od 5 do 16 przedstawiają badania mikroskopowo-elektronowe.

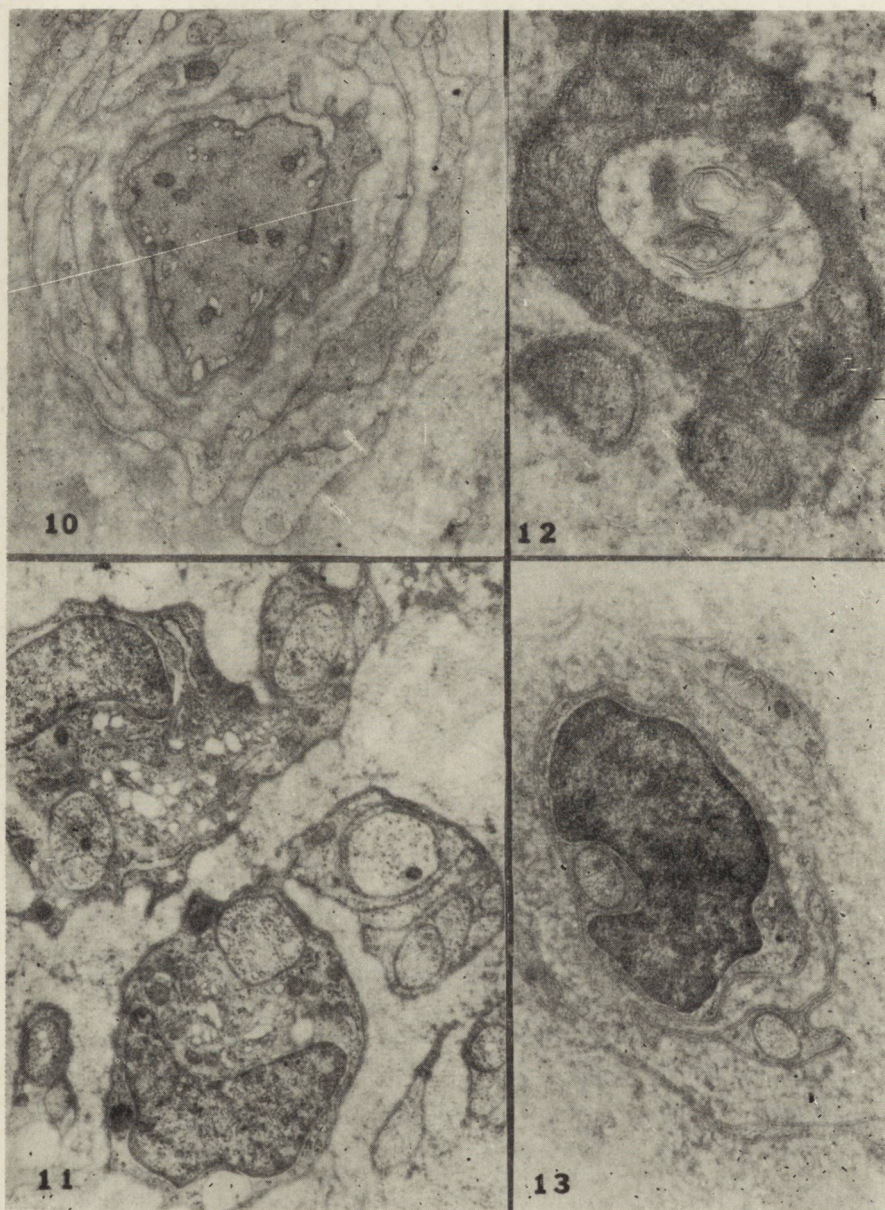
*) Figures from 5 to 16 represent electron-microscope examination.

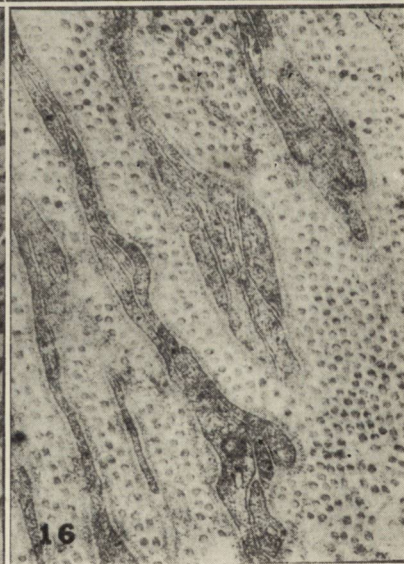
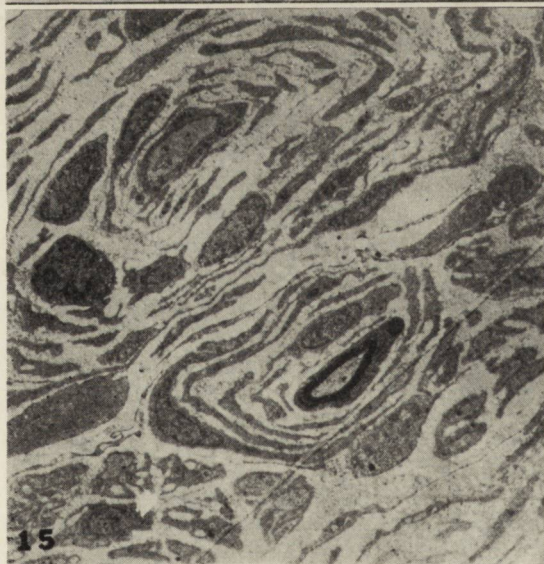
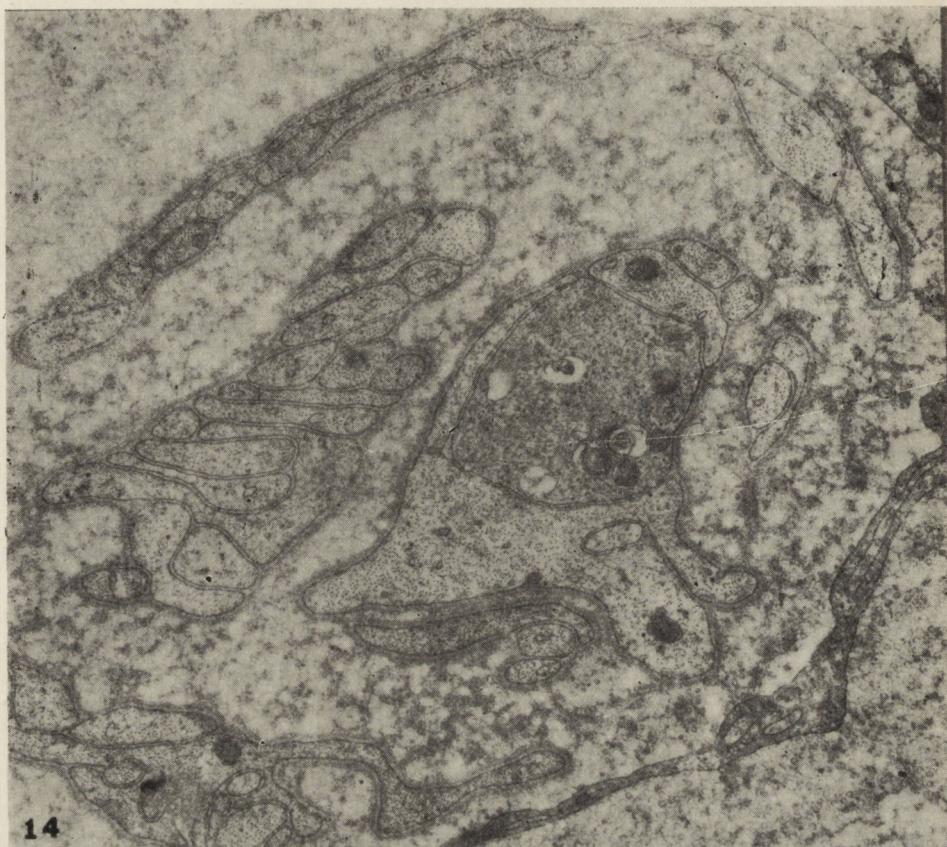












Ryc. 8. Remielinizujący się akson otoczony warstwami złożonymi z podwójnej błony podstawnej. Nerw łydkowy, przyp. 1. Pow. 10.800 \times .

Fig. 8 Remyelinated axon surrounded by layers of double-folded basement membrane. Sural nerve, case 1. \times 10 800.

Ryc. 9. W centrum komórka Schwanna o cechach pobudzenia (poszerzone kanały siatki endoplazmatycznej, wybitny układ Golgiego) zawierająca akson, który zaczyna ulegać remielinizacji. Wokół — różnego typu koncentryczne warstwy wypustek komórek Schwanna (wypustki typu „plate-like” oznaczone strzałką). Najbardziej obwodowo — wypustki fibroblastów. Nerw łydkowy, przyp. 2. Pow. 15.000 \times .

Fig. 9. In the center — activated Schwann cell (dilatation of endoplasmic reticulum, rough endoplasmic reticulum, prominent Golgi complex), containing axon at the initial stage of remyelination. Around — concentrically arranged layers made up from different Schwann cell processes (plate-like processes designed by arrow).

At the periphery — fibroblastic processes. Sural nerve, case 2. \times 15 000.

Ryc. 10. Zdmielinizowany akson oraz kilka różniących się między sobą wypustek komórek Schwanna widoczne pod jedną wspólną błoną podstawną. Wokół — naprzemiennie ułożone warstwy wypustek komórek Schwanna i kolagenu. Nerw łydkowy, przyp. 6. Pow. 10.800 \times .

Fig. 10. Demyelinated axon and processes of Schwann cells differing from one to another under the common basement membrane are seen. Around — concentrically arranged Schwann cell processes with intervening layers of collagen fibrils. Sural nerve, case 6. \times 10 800.

Ryc. 11. Leżące obok siebie dwie bezmielinowe komórki Schwanna o cechach pobudzenia, zawierające jądra. Nerw łydkowy, przyp. 5. Pow. 11 600 \times .

Fig. 11. Close to each other — two activated unmyelinated Schwann cells containing nuclei. Sural nerve, case 5. \times 11 600.

Ryc. 12. Bezmielinowy akson o wyglądzie wodnistym. W aksoplazmie widoczna wielobłoniasta struktura o nieregularnym kształcie. Nerw łydkowy, przyp. 7. Pow. 22.000 \times .

Fig. 12. Unmyelinated axon with watery appearance. Within the axoplasm — irregular multilamellar structure. Sural nerve, case 7. \times 22 000.

Ryc. 13. Wokół bezmielinowej komórki Schwanna koncentrycznie ułożone warstwy złożone z wypustek bezmielinowych komórek Schwanna zawierające aksony. Nerw łydkowy, przyp. 7. Pow. 12.240 \times .

Fig. 13. Unmyelinated Schwann cell is surrounded by concentric layers composed of unmyelinated processes containing axons. Sural nerve, case 7. \times 12 240.

Ryc. 14. Formacja o budowie koncentrycznej, której centrum stanowią wypustki komórek Schwanna ograniczone wspólną błoną podstawną. Nerw łydkowy, przyp. 7. Pow. 16.320 \times .

Fig. 14. Concentrically arranged structure. In the center — Schwann cell processes under common basement membrane. Sural nerve, case 7. \times 16 320.

Ryc. 15. Dwie duże koncentryczne formacje odpowiadające „typowym” onion-bulbs. W środku jednej z nich widoczny zdmielinizowany akson. Nerw łydkowy, przyp. 10. Pow. 2.900 \times .

Fig. 15. Two „typical” onion-bulb formations. Demyelinated axon is seen in the center of one formation. Sural nerve, case 10. \times 2 900.

Ryc. 16. Warstwy utworzone z cienkich, długich wypustek komórek Schwanna w nerwie łydkowym, przyp. 10. Pow. 21.600 \times .

Fig. 16. Layers made up from flattened long Schwann cell processes in sural nerve, case 10. \times 21 600.

w buforze fosforanowym lub kakodylowym o pH 7,4 przez 2—3 godz., następnie krojono na skrawki o średnicy około 0,5 mm, które umieszczano w 1 lub 2% roztworze czterotlenku osmu w buforze fosforanowym lub kakodylowym o pH 7,4 na 2 godz. Po odwodnieniu w alkoholach i acetonie skrawki zatapiano w Eponie. Cienkie skrawki skrawano na ultramikrotomie Reicherta dobarwiano 8% roztworem octanu uranylu i 0,25% roztworem cytrynianu ołowiu. Oglądano w mikroskopie elektronowym JEM 7.

We wszystkich badanych przypadkach przeprowadzono badania histologiczne oraz badania mikroskopowo-elektronowe. Badania włókien czesanych wykonano w 6 przypadkach, jednakże ze względów technicznych ocena ich była miarodajna zaledwie w 3. W każdym z nich oceniano 200 włókien.

Materiał kontrolny dla oceny preparatów czesanych stanowiły trzy nerwy łydkowe pobrane biopsyjnie: od chłopca 4-letniego z nie potwierdzonym podejrzeniem lipidozy, chłopca 6-letniego z porażeniem mózgowym dziecięcym i chłopca 14-letniego z licznymi wadami wrodzonymi układu kostno-stawowego. W wyczesanych z każdego nerwu 100 włóknach nie stwierdzono zmian. Pomiary długości międzywęźli potwierdziły znaną zależność pomiędzy długością międzywęźla a średnicą włókna i skrócenie długości międzywęźli w wieku młodszym w porównaniu do wieku starszego.

Kontrolę dla wyników badań mikroskopowo-elektronowych stanowiły 3 nerwy łydkowe pobrane biopsyjnie: od 13-letniej dziewczynki z padaczką pourazową, od 4-letniego chłopca, u którego wykonane po śmierci badanie histologiczne ośrodkowego układu nerwowego wykazało zmiany typu gąbczastej encefalopatii i od chłopca 7-letniego po przebytym zapaleniu mózgu. Obserwacje mikroskopowo-elektronowe potwierdziły znane dane dotyczące ultrastruktury prawidłowego nerwu łydkowego.

WYNIKI

Wyniki badań histologicznych

We wszystkich przypadkach stwierdzono zmiany we włóknach nerwowych pod postacią demielinizacji lub/i remielinizacji. Zmiany te oceniano z 1,5 μ skrawków eponowych (ryc. 1, 2) oraz w 3 przypadkach — z preparatów czesanych (ryc. 3). Zauważono, że zmiany te dotyczą włókien o różnej średnicy oraz obejmują różną ilość włókien w poszczególnych przypadkach (tabela 1, ryc. 1, 2). W 2 przypadkach poza zmianami typu odcinkowej demielinizacji były widoczne grupy włókien, sprawiające wrażenie regenerujących, po jednej w każdym przypadku.

Zmiany typu „onion-bulbs” były widoczne w 7 przypadkach. Częstość ich występowania i wielkość przedstawiono w tabeli 1. Nasilenie zmian w różnych pęczkach tego samego nerwu było podobne. W nerwach zawierających duże „onion-bulbs” można było odróżnić dwa typy koncentrycznie zbudowanych struktur: jedne z mielinowym włóknem w środku, drugie — pozbawione w centrum wyraźnego aksonu (ryc. 4). Barwienia metachromatyczne przeprowadzane w wszystkich przypadkach nie wykazały obecności substancji barwiącej się metachromatycznie.

Wyniki badań mikroskopowo-elektronowych

Wszystkie przypadki charakteryzowała obecność zdmielinizowanych i ulegających remielinizacji włókien, występowanie formacji koncentrycznych różnej wielkości i budowy oraz rozrost kolagenu. W zależności od częstości występowania i wielkości formacji koncentrycznych materiał podzielono na trzy części: przypadki 1, 2 i 3 reprezentowały wczesny okres procesu chorobowego, przypadki 4, 5, 6 i 7 — średnio zaawansowany i przypadki 8, 9 i 10 — wybitnie zaawansowany (tabela 1).

W nerwach o mało i średnio zaawansowanych zmianach widoczne były włókna ulegające demielinizacji, zdmielinizowane, ulegające remielinizacji i włókna o prawidłowej mielinie (ryc. 5). Stwierdzono, że rozpad mieliny rozpoczyna się w komórce Schwanna bez udziału makrofagów. W wielu komórkach Schwanna znajdowały się duże ilości rozpadającej się mieliny, której poszczególne fragmenty wykazywały niezmieniony układ blaszek mieliny o okresowości 120 Å (ryc. 6). Nie zdołano uchwycić momentu wchodzenia makrofagów do komórki Schwanna; makrofagi widywano bądź w obrębie struktur koncentrycznych, bądź też leżące „luźno” w endoneuralnym kolagenie, przy czym zwracało uwagę, że zawierały one resztki rozpadłej mieliny o całkowicie zatartej budowie. Należy zatem sądzić, że trawienie mieliny odbywało się przez dłuższy czas w cytoplazmie komórki Schwanna.

Komórka Schwanna zdmielinizowanego aksonu wykazywała niekiedy cechy pobudzenia, tj. obecność szorstkiej siatki endoplazmatycznej, rozszerzenie jej kanałów oraz wybitnie rozwinięty układ Golgiego; nierzadko widoczne były cechy przerostu komórki z tworzeniem się wypustek. Zmiany takie były często widoczne w okresie remielinizacji (ryc. 9). Zarówno w stadium demielinizacji jak i remielinizacji błona podstawna ograniczała jedną komórkę Schwanna, lub częściej — komórkę i szereg wypustek, nierzadko znacznie różniących się między sobą (ryc. 10). Niekiedy, otoczone wspólną błoną podstawną wypustki Schwanna i komór-

ka macierzysta posiadały własne błony podstawne (ryc. 7). Komórki Schwanna zdmielinizowanych lub ulegających remielinizacji aksonów leżały „luźno” w endoneuralnym kolagenie, bądź też, co widywano częściej, otoczone były warstwami błony podstawnej lub wypustkami komórek Schwanna (ryc. 5, 8, 9, 10). W powstawaniu warstw wokół zdmielinizowanego aksonu brały udział zarówno mielinowe jak i bezmielinowe komórki Schwanna. Budowa tych warstw była bardzo różna. Niektóre składały się z grubych, nieregularnych wypustek i nie zawierały aksonów (ryc. 10), inne złożone były z cienkich wypustek, w których niekiedy były widoczne bezmielinowe aksony (ryc. 5, 8). Pozbawione aksonów, cienkie wypustki przybierały często postać wypustek typu „plate-like” (ryc. 9). Jednakże w wielu koncentrycznych formacjach wypustki tworzące warstwę tak bardzo różniły się między sobą, że trudno je było zaliczyć do jednego z powyższych typów. Niekiedy wszystkie warstwy były podobnie zbudowane (ryc. 10), częściej jednak występowały obok siebie różne typy warstw (ryc. 9). Z reguły między warstwami wypustek komórek Schwanna widoczne były błony podstawne; nierzadko stanowiły one przedłużenie warstwy wypustek (ryc. 9). Niestalą składową formacji koncentrycznych były fibroblasty (ryc. 9).

Zmiany we włóknach bezmielinowych wyrażały się przede wszystkim tworzeniem wypustek, które otaczały zdmielinizowane i ulegające remielinizacji aksony mielinowe (ryc. 5). Nadto były widoczne inne cechy pobudzenia bezmielinowych komórek Schwanna; spotykano również obrazy sugerujące ich podziały (ryc. 11). Zmiany w aksonach bezmielinowych były rzadziej widoczne. Polegały one na nagromadzeniu nieprawidłowych organelli (tzw. gęste i wielobłoniaste ciała) lub „wodnistym” wyglądzie aksonu (ryc. 12). Rozplem włókien bezmielinowych był wyraźniejszy i jak się zdaje, zachodził wcześniej w pobliżu zdmielinizowanych aksonów niż w miejscach odległych. Niemniej w obszarach odległych widywano włókna bezmielinowe o cechach pobudzenia, jak również spotykano koncentryczne struktury zbudowane w całości z włókien bezmielinowych (ryc. 13). Znacznie rzadziej natrafiano na jeszcze inny rodzaj formacji koncentrycznych, a mianowicie na takie, których część centralną stanowiły wypustki komórek Schwanna typu mielinowego, nie zawierające jednak aksonu (ryc. 14).

Zgodnie z przyjętym mianownictwem formacje koncentryczne, posiadające w swym centrum włókno mielinowe, nazwać będziemy w dalszej części pracy „onion-bulb”, natomiast pozostałe formacje koncentryczne będziemy określać mianem „inne formacje koncentryczne”. Porównując zmiany w przypadkach mało i średnio zaawansowanych stwierdzić można, że różniły się one występowaniem liczniejszych i większych „onion-bulb”, obecnością innych formacji koncentrycznych, wyraź-

niejszymi zmianami we włóknach bezmielinowych oraz znaczniejszym rozrostem kolagenu w przypadkach średnio zaawansowanych.

Grupa o bardzo zaawansowanych zmianach charakteryzowała się obecnością bardzo licznych i dużych „onion-bulbs” i innych formacji koncentrycznych oraz masywnym rozrostem kolagenu (ryc. 15). W przypadkach tych zwracało uwagę, że wszystkie wypustki, zarówno te, które otaczały włókna mielinowe, jak i biorące udział w budowie innych formacji koncentrycznych, miały podobną budowę: były długie, wąskie i z reguły nie zawierały aksonów (ryc. 16). Niezmienione włókna bezmielinowe widoczne były jedynie w obszarach pomiędzy koncentrycznymi formacjami.

OMÓWIENIE

Przedstawione obserwacje dotyczą przypadków neuropatii przerostowych Charcot-Marie-Tooth i Dejerine-Sottas, w których na pierwszy plan wysuwają się zmiany typu odcinkowej demielinizacji i remielinizacji uważane powszechnie za wyraz pierwotnego uszkodzenia komórki Schwanna. Ostatnio Dyck i wsp. (1974) wysunęli przypuszczenie, że w tych chorobach, podobnie jak się to dzieje ich zdaniem w bardzo wielu neuropatiach, dochodzi do wtórnego uszkodzenia mielinę na skutek zmian w aksonie. Najbliższa przyszłość pokaże, czy hipoteza wysunęta przez Dycka i wsp. okaże się słuszna. Nie możemy w tej sprawie zajmować stanowiska, bowiem materiał nasz nie był badany w tym kierunku.

Przeprowadzone przez nas badania potwierdziły przede wszystkim pogląd, że najczęściej spotykana formacja o budowie koncentrycznej powstaje w wyniku demielinizacji i remielinizacji włókna.

Przy ocenie procesu demielinizacji w tych schorzeniach warto zwrócić uwagę, że początkowo przebiega on bez udziału makrofagów — rozpad i trawienie mielinę odbywają się w cytoplazmie komórki Schwanna. Dopiero w późniejszym okresie procesu chorobowego w uprzątnięciu resztek mielinę biorą udział makrofagi. Proces ten przebiega zatem podobnie do demielinizacji zachodzącej w doświadczalnym błoniczym zapaleniu wielonerwowym (Webster 1964) i doświadczalnej neuropatii ołowiczej (Lampert, Schochet 1968), a różni się wyraźnie od procesu obserwowanego w *polyradiculoneuritis* Guillain-Barré (Wiśniewski i wsp. 1969) i w nawrotowym idiopatycznym zapaleniu wielonerwowym (Prineas 1971), w którym rozpad mielinę zapoczątkowują napływowe komórki jednojądrzaste.

Po okresie demielinizacji rozpoczyna się proces remielinizacji, zachodzący jak wykazały liczne badania, dzięki rozplemowi komórek Schwanna. Uważa się, że komórka Schwanna zdemielinizowanego międzywęźla ulega podziałowi; ponadto proliferują komórki przyległych między-

węzli, a odległe komórki Schwanna migrują do ckołicy zdmielinizowanego odcinka. Cytoplazma wypustek przyległych komórek Schwanna kurczy się po zakończeniu procesu remielinizacji, pozostawiając błony podstawne w poprzednim miejscu (Weller 1967, Ballin, Thomas 1969, Lyon 1969). W wyniku powtarzania się tego procesu wokół zdmielinizowanego aksonu pozostaje wiele warstw błony podstawnej — obraz spotykany często w naszym materiale, w przypadkach o zmianach mało zaawansowanych. Jeśli cytoplazma wypustek nie powraca w całości do swej macierzystej komórki, wokół zdmielinizowanego aksonu widoczne są koncentrycznie ułożone warstwy złożone z wypustek komórek Schwanna, których przedłużenie stanowi błona podstawna, co obserwowano bardzo często w obrębie zarówno małych jak i dużych „onion-bulbs”. Innym źródłem koncentrycznie przebiegających warstw złożonych z wypustek komórek Schwanna jest podział komórki remielinizującego się aksonu i usuwanie na zewnątrz nowoutworzonych komórek, które mogą ulegać dalszemu podziałowi. Mechanizm taki postuluje Dyck (1969), a obserwowane przez nas obrazy (np. ryc. 8) wydają się potwierdzać tę hipotezę. Przybyłe z odległości komórki Schwanna stanowią, jak się powszechnie uważa, jeszcze jedno źródło koncentrycznych warstw wokół zremielinizowanego aksonu.

Wydaje się zatem pewne, że koncentrycznie przebiegające warstwy złożone z wypustek komórek Schwanna powstają z komórek mieliniowych. Zagadnieniem dyskusyjnym jest, czy komórki bezmielinowe biorą udział w powstawaniu warstw w obrębie onion-bulb. Np. Dyck i wsp. (1970) uważają, że włókna bezmielinowe nie tylko nie odgrywają większej roli w powstawaniu „onion-bulbs”, ale nie ulegają żadnym zmianom w neuropatiach przerostowych. Innego zdania są Weller (1967, 1968) i Ochoa (1969, 1970). Ochoa i Mair (1969) przypuszczają, że koncentrycznie przebiegające warstwy powstają w wyniku przemieszczania się włókien bezmielinowych w kierunku remielinizującego się aksonu. Autorzy ci, nawiązując do prac Evansa i Murraya (1954) sugerują, że zjawisko to może być podobne do zachodzącego podczas regeneracji mieliniowych aksonów, kiedy regenerujące bezmielinowe aksony zmieniają kierunek wzrostu i towarzyszą włóknom mieliniowym. Te ostatnie obserwacje zostały potwierdzone w ostatnich latach badaniami mikroskopowo-elektronowymi (King, Thomas 1971). Przeprowadzone przez nas badania zdają się świadczyć, że włókna bezmielinowe są wyraźnie wciągnięte w proces chorobowy. Już we względnie wczesnym okresie choroby widywano włókna bezmielinowe o cechach pobudzenia, powstawanie wypustek otaczających zdmielinizowane aksony, obrazy świadczące o przebytych podziałach tych komórek. W bardziej zaawansowanych przypadkach nierzadko były widoczne zmiany zwyrodnieniowe w bezmieli-

nowych aksonach oraz wypustki typu „plate-like”, które zdaniem Ochoa (1970) i innych odpowiadają pasmom Büngnera, typu bezmielinowego. Te ostatnie stanowiły niekiedy warstwy „onion bulb”. W obszarach odległych od zdmielinizowanych aksonów włókna bezmielinowe tworzyły koncentryczne formacje odpowiadające najprawdopodobniej „plakom” opisanym przez Marie i Bertranda (1918), a następnie obserwowanym przez różnych autorów w neuropatiach przerostowych (Thomas, Lascelles 1967).

W badanym materiale, obok onion-bulbs i struktur koncentrycznych złożonych z włókien bezmielinowych natrafiano niekiedy na formacje koncentryczne, których centrum stanowiły wypustki mielinowych komórek Schwanna, otoczone wspólną błoną podstawną. Mechanizm powstawania tych formacji nie jest jasny — możliwe, że doszło w nich do zaniku centralnie położonego mielinowego aksonu, jednak dowodu na potwierdzenie tego przypuszczenia nie możemy przedstawić.

Przeprowadzone badania upoważniają zatem do twierdzenia, że w omawianych postaciach neuropatii przerostowych włókna bezmielinowe ulegają zmianom i mogą brać udział w powstawaniu zarówno „onion-bulbs”, jak i innych formacji koncentrycznych. Prawdopodobnie włókna bezmielinowe, leżące bliżej zdmielinizowanego aksonu uczestniczą w budowie „onion-bulbs”, natomiast znajdujące się w oddali tworzą „własne” formacje koncentryczne. Obserwowane różnice w budowie poszczególnych „onion-bulbs” i innych formacji koncentrycznych wydają się zatem zależeć od różnego stopnia wciągnięcia w proces chorobowy mielinowych i bezmielinowych komórek Schwanna. Pewne różnice w morfologii „onion-bulbs” mogą również zależeć od przewagi odczynu proliferacyjnego miejscowych lub migrujących mielinowych komórek Schwanna.

Autorki składają serdeczne podziękowanie doc. dr med. R. Aleksandrowiczowi za pobieranie wycinków nerwu łydkowego.

Г. Енджеёвска, Г. Драц, Е. Савицка

МЕХАНИЗМ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ИЗМЕНЕНИЙ ТИПА „ONION-BULBS”
ПРИ ГИПЕРТРОФИЧЕСКИХ НЕВРОПАТИЯХ ШАРКО-МАРИ-ТУС
И ДЕЖЕРИН-СОТТА

Резюме

Целью работы было определение механизма возникновения изменений типа „onion-bulb”, а также оценка иных структур концентрического строения в голени нерве, взятом у больных гипертрофической невропатией типа Шарко-Мари-Тус и Дежерин-Сотта. 10 случаев служили материалом для исследований.

Исследования показали, что:

1. Возникновение „типичных” onion-bulbs связано с демиелинизацией и ремиелинизацией нервного волокна.

2. В образовании концентрических слоев в области onion-bulb участвуют в равной степени как миелиновые, так и безмиелиновые клетки Шванна.

3. Другие образования с концентрической структурой построены из безмиелиновых клеток Шванна или из миелиновых клеток, в которых по всей вероятности дошло до исчезновения центрального аксона.

4. По всей вероятности, в образовании onion-bulb участвуют безмиелиновые волокна, лежащие вблизи демиелинизированного аксона, в то время как более отдаленные волокна образуют „собственно” концентрические образования.

5. Различия, наблюдаемые в строении отдельных onion-bulb и других концентрических структур, обусловлены по видимому различным участием в болезненном процессе миелиновых и безмиелиновых клеток Шванна. Кроме того определенные различия в морфологии onion-bulbs могут зависеть от перевеса пролиферационной реакции местных или мигрирующих клеток Шванна.

H. Jędrzejowska, H. Drac, E. Sawicka

THE MODE OF FORMATION OF „ONION-BULBS” IN
CHARCOT-MARIE-TOOTH AND DEJERINE-SOTTAS HYPERTROPHIC
NEUROPATHIES

Summary

The aim of the work was the evaluation of the mechanism of formation of „onion-bulbs” and other concentric structures in sural nerves of patients with hypertrophic neuropathy of Charcot-Marie-Tooth and Dejerine-Sottas types. The material was derived from 10 cases. The studies revealed the following:

1. The formation of „typical” onion-bulbs is related to alternate demyelination and remyelination of nerve fibre.

2. Both the myelinated and unmyelinated Schwann cells participate in the formation of concentric layers within the onion-bulbs.

3. Other formations of a concentric structure are composed of unmyelinated Schwann cells or of myelinated cells in which centrally situated axon probably underwent atrophy.

4. It seems plausible that the unmyelinated fibres that are situated close to the demyelinated axon participate in the onion-bulbs formation, whereas the distant ones form their „own” concentric formations.

5. The observed differences in the structure of the particular onion-bulbs and other concentric formations appear to be related to varying involvement in the pathological process of myelin and unmyelinated Schwann cells. Moreover, some morphological differences between the onion-bulbs may be attributable to the predominance of the proliferative reaction of either local or migrating Schwann cells.

PIŚMIENNICTWO

1. Ballin R. H. M., Thomas P. K.: Electron microscope observations on demyelination and remyelination in experimental, allergic neuritis. Part II. Remyelination J. Neurol. Sci., 1969, 8, 225—237.

2. Dejerine J., Sottas J.: Sur la nevríte interstitielle hypertrophique et progressive de l'enfance. *Comp. Rend. Séanc. Mém. Soc. Biol.*, 1893, 45, 63—96.
3. Dyck P. J.: Histologic measurement and fine structure of biopsied sural nerve: norma and in peroneal muscular atrophy, hypertrophic neuropathy, and congenital sensory neuropathy. *Mayo Clin. Proc.*, 1966, 41, 742—774.
4. Dyck P. J.: Experimental hypertrophic neuropathy. *Arch. Neurol. (Chic)*, 1969, 21, 73—95.
5. Dyck P. J., Ellefson R. D., Lais A. C., Smith R. C., Taylor W. F., Van Dyke R. A.: Histologic and lipid studies of sural nerve in inherited hypertrophic neuropathy: preliminary report of a lipid abnormality in nerve and liver in Dejerine-Sottas disease. *Mayo Clin. Proc.*, 1970, 45, 286—327.
6. Dyck P. J., Gomez M. R.: Segmental demyelination in Dejerine-Sottas disease: light, phase-contrast and electron microscopic study. *Mayo Clin. Proc.*, 1968, 43, 280—296.
7. Dyck P. J., Lais A. C., Offord K. P.: The Nature of Myelinated nerve fiber degeneration in dominantly inherited hypertrophic neuropathy. *Mayo Clin. Proc.*, 1974, 49, 34—39.
8. Dyck P. J., Lambert E. H.: Lower motor and primary sensory neuron diseases with peroneal muscular atrophy. I Neurologic, genetic and electrophysiologic findings in hereditary polyneuropathies. *Arch. Neurol. (Chic)* 1968a, 18, 603—618.
9. Dyck P. J., Lambert E. H.: Lower motor and primary sensory neuron diseases with peroneal muscular atrophy. II Neurologic, genetic and electrophysiologic findings in various neuronal degenerations. *Arch. Neurol. (Chic)*, 1968b, 18, 619—625.
10. Evans D. H. L., Murray J. G.: Regeneration of non-medullated nerve fibres. *J. Anat.*, 1954, 88, 465—480.
11. Jędrzejowska H., Sawicka E., Drac H., Glinka Z.: Metody badania histologicznego nerwów obwodowych. *Neuropat. Pol.*, 1972, X, 87—98.
12. King R. H. M., Thomas P. K.: Electron microscope observation on aberrant regeneration of unmyelinated axons in the vagus nerve of the rabbit. *Acta Neuropath. (Berl.)*, 1971, 18, 150—159.
13. Lampert P. W., Schochet S. S.: Demyelination and remyelination in lead neuropathy. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1968, 27, 527—545.
14. Lyon G.: Ultrastructural study of a nerve biopsy from a case of infantile chronic neuropathy. *Acta Neuropath. (Berl.)*, 1969, 13, 131—142.
15. Marie P., Bertrand I.: Contribution à l'anatomie pathologique de la névrite hypertrophique familiale. *Ann. Med.*, 1918, 5, 209, 238.
16. McLeod J. G., Prineas J. W., Walsh J. C.: Onion bulb formations in chronic polyneuropathies. *Proc. Aust. Assoc. Neurologists*, 1971, 8, 125—130.
17. Ochoa J.: Electron microscope observations on unmyelinated fibers in normal and pathological human nerves. VIth Internat. Congress of Neuropath. Masson et Cie Edit. Paris, 1970, 589—610.
18. Ochoa J., Mair W. G. P.: The normal sural nerve. II Changes in the axons and Schwann cells due to ageing. *Acta Neuropath. (Berl.)*, 1969, 13, 217—239.
19. Pleasure D. E., Towfighi J.: Onion bulb neuropathies. *Arch. Neurol. (Chic)*, 1972, 26, 289—301.
20. Prineas J. W.: Demyelination and remyelination in recurrent idiopathic polyneuropathy. *Acta Neuropath. (Berl.)*, 1971, 18, 34—57.
21. Thomas P. K., Lascelles R. G.: Hypertrophic neuropathy. *Quart. J. Med.*, 1967, 36, 223—238.

22. Webster H. F., Schröder J. M., Asbury A. K., Adams R. D.: The role of Schwann cells in the formation of „onion-bulbs” found in chronic neuropathies. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1967, 26, 276—299.
23. Weller R. O.: An electron microscopic study of hypertrophic neuropathy of Dejerine and Sottas. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 1967, 30, 111—125.
24. Weller R. O., Gupta T. K.: Experimental hypertrophic neuropathy. An electron microscope study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 1968, 31, 34—42.
25. Wiśniewski H., Prineas J., Raino C. S.: A ultrastructural study of experimental demyelination and remyelination. I. Acute experimental allergic encephalomyelitis in the peripheral nervous system. *Lab. Investig.*, 1969, 21, 105—118.
26. Zacks S. I., Lipshutz H., Elliott F.: Histochemical and electron microscopic observations on „onion-bulb” formations in a case of hypertrophic neuritis of 25 years duration with onset in childhood. *Acta Neuropath. (Berl.)*, 1968, 11, 157—173.

Adres autorek: Klinika Neurologiczna AM, ul. Oczki 6, 02-007 Warszawa.

JANINA RAFAŁOWSKA

W SPRAWIE PROCESU STARZENIA SIĘ W RDZENIU KRĘGOWYM *)

Klinika Neurologiczna AM w Warszawie

Kierownik: prof. dr hab. I. Hausmanowa-Petrusewicz

Proces starzenia się stał się w ostatnich latach problemem interesującym wielu badaczy. Jednakże przejawy morfologiczne tego procesu w układzie nerwowym są trudne do oceny ze względu na liczne czynniki, wpływające w wieku starczym na tkankę nerwową. Nakładanie się zmian naczyniopochodnych, hemodynamicznych i metabolicznych uniemożliwia często wyodrębnienie cech, które można byłoby odnieść wyłącznie do procesu starzenia się.

Do zmian określonych jako starcze w istocie szarej półkul mózgowych zalicza się blaszki starcze, zmiany komórkowe typu Alzheimer'a, zwyrodnienie barwikowe komórek i zmniejszenie się ich ilości, nagromadzenie ciałek skrobiowatych i inne (Braunmühl 1957). Ze zmianami starczymi w istocie szarej rdzenia kręgowego wiąże się m.in. ubytek komórek rogu przedniego związany z rozpadem komórek ze zwyrodnieniem barwikowym (Stern 1936, Braunmühl 1957). Bardzo nasilone zwyrodnienie barwikowe komórek w istocie szarej półkul mózgowych oraz ich ubytek przejawia się często licznymi objawami klinicznymi. Dotyczy to zarówno wieku starczego, jak i szeregu chorób układu nerwowego występujących w różnym wieku. W przeciwieństwie do mózgu, zwyrodnienie barwikowe komórek rogów przednich rdzenia, nawet bardzo zaawansowane, nie ma właściwie odpowiednika w obrazie klinicznym. Dlatego też wydawała się interesująca próba oceny ilościowej komórek rogu przedniego w przypadkach zmarłych w wieku starczym.

Metody ilościowe stosowano często do oznaczania liczby komórek nerwowych w korze mózgowej człowieka i zwierząt (Economo 1929 — cyt. wg Towera, Schariff 1953, Tower 1954, Brizzee i wsp. 1964, Schade i wsp. 1964, Hang 1967). Oparte są one w większości na określeniu objętości i powierzchni komórek oraz ich gęstości w skrawku tkanki (Scha-

*) Praca wykonana w ramach problemu węzłowego Nr 09.4.1.4.4.

riff 1953, Schade i wsp. 1964, Hang 1967). Liczby uzyskiwane przez większość autorów były na ogół liczbami bezwzględными. Oceny liczby i wielkości komórek dokonywano również w rogu przednim rdzenia kręgowego małp i kotów (Sprague 1951, Schade 1964). Na materiale ludzkim bezwzględną liczbę komórek w niektórych jądrach komórkowych rogu przedniego uzyskano w rdzeniu zmarłych z powodu ostrego zapalenia rogów przednich rdzenia (Sharrard 1962).

Mała liczba prac dotyczących oceny ilościowej komórek rogów przednich człowieka wynika prawdopodobnie z ograniczonych wiadomości na temat lokalizacji w rogu przednim komórek, związanych z odpowiednimi mięśniami. Większość badań dotyczących grup komórkowych dla różnych mięśni wykonywano na materiale doświadczalnym. Oceniano np. lokalizację i liczbę komórek ze zwyrodnieniem osiowym po przecięciu nerwów obwodowych u różnych ssaków (Marinesco 1901, Sprague 1951, Romanes 1964, Nyberg-Hansen 1965, Cierny, Zlatos 1972, Ruttkay-Nedecka i wsp. 1972). Istnieje atlas cytoarchitektoniki całego rdzenia kręgowego kotów (Rexed 1954, 1964) i części lędźwiowo-krzyżowej rdzenia (Romanes 1951). Mimo podobieństwa w lokalizacji grup komórek ruchowych w rdzeniu (Romanes 1964) u ludzi, psów, kotów istniejące różnice chociażby w zarysach rogów przednich i tylnych, nie pozwalają na wykorzystywanie wyników badań doświadczalnych w odniesieniu do materiału ludzkiego. Dokładny schemat lokalizacji różnych grup komórek ruchowych rogu przedniego dla różnych mięśni u człowieka, oparty na danych Sharrarda (1955) obejmuje tylko odcinek lędźwiowo-krzyżowy rdzenia kręgowego.

Do oznaczania liczby komórek wybrano odcinek C_8 — Th_1 rdzenia kręgowego, a w jego obrębie — grupę komórek, związaną z nerwem łokciowym. Grupę tę wybrano przede wszystkim dlatego, że ocena elektrofizjologiczna nerwu obwodowego, ma często istotne znaczenie kliniczne. Komórki związane z nerwem łokciowym pojawiają się w odsiebnej części odcinka C_8 jako grupa zatylno-boczna (Bochenek, Reicher 1963), którą wiąże się z unerwieniem najbardziej odsiebnej części kończyny (Riley 1943, Sharrard 1962, Guttman 1969). Występuje ona jedynie w obrębie dolnej połowy odcinka C_8 oraz w odcinku Th_1 rdzenia kręgowego. Umiejscowiona jest grzbietowo od ciągnącej się od poziomu C_6 grupy komórek, związanej z nerwem pośrodkowym. Zresztą, zgodnie ze zdaniem autorów, zajmujących się lokalizacją tych obu jąder u psa i kota, nie tworzą one ściśle odgraniczonych grup komórkowych (Marinesco 1901, Ruttkay-Nedecka i wsp. 1972).

Brak dokładnych danych odnośnie lokalizacji jądra nerwu łokciowego, jego początku i końca, różne zarysy rogu przedniego odcinka C_8 i Th_1 w różnych atlasach; wnikanie komórek związanych prawdopodobnie

z jądrem n. pośrodkowego do jądra nerwu łokciowego i na odwrót oraz różna wielkość komórek ruchowych rogu przedniego (Romanes 1964, Rexed 1964, Nyberg-Hansen 1965, Peterson 1966, Campa, Engel 1970), uwarunkowało wybór metody ilościowej, pozwalającej jedynie na względną ocenę liczby komórek ruchowych w jądrze nerwu łokciowego w przypadkach starczych i kontrolnych.

MATERIAŁ I METODY

Materiał stanowiło 7 przypadków osób w wieku 80—93 lat zmarłych wskutek udarów mózgowych. Do grupy kontrolnej zaliczono 3 przypadki osób zmarłych w wieku 15, 37 i 49 lat z powodu chorób nie dotyczących rdzenia kręgowego. Rozpoznanie kliniczne przypadków kontrolnych: dystrofia mięśniowa postępująca, krwotok do układu komorowego i zapalenie wielomięśniowe.

Do badania pobrano odcinek C_8 — Th_1 rdzenia kręgowego. Autopsji dokonywano 9—28 godzin po zgonie. Rdzeń kręgowy utrwalano w 10% roztworze zobojętnionej formaliny przez okres 7—10 dni, następnie pobierano dolną połowę odcinka C_8 oraz odcinek Th_1 . Każdy zatopiony w parafinie bloczek krojono seryjnie na skrawki $\pm 10 \mu$ grubości. W większości przypadków umieszczano na 1-nym szkiełku po 3 skrawki, w paru przypadkach po 3—5 skrawków. Barwiono hematoksyliną-eozyną preparaty na co 3-cim szkiełku, uzyskując w ten sposób kolejne 3 skrawki co 60—100 μ .

W analogiczny sposób wykonano 3. niepełne serie skrawków z przypadków kontrolnych.

W 100 skrawkach z każdego przypadku (starczego oraz z 3-ch kontrolnych) liczono w jądrze zatylno-bocznym obu rogów przednich duże komórki ruchowe z widocznym jądrem i jąderkiem, jak również wszystkie widoczne komórki. Przy obliczaniu wydzielono w miarę możliwości w jądrze zatylno-bocznym grupę zewnętrzną — dla mm prostowników i wewnętrzną — dla mm zginaczy (Sharrard 1962). Ze względu na to, że średnica jąderka nie przekraczała 6 μ , a grubość skrawka wynosiła $\pm 10 \mu$, komórkę z jąderkiem oceniano tylko jeden raz. Liczba, dotycząca dużych komórek ruchowych z widocznym jądrem i jąderkiem stanowi więc w zasadzie liczbę bezwzględną. W przeciwieństwie do tej grupy, liczba obejmująca wszystkie komórki w danym jądrze komórkowym jest wartością względną. Mieszczą się w niej wszystkie komórki widoczne na kolejnych 3-ch skrawkach. Ponieważ wielkość dużych komórek ruchowych jest różna, tylko część oglądanych komórek powtarza się na wszystkich skrawkach. Ogólna więc liczba komórek w grupie zewnętrznej lub wewnętrznej jądra zatylno-bocznego jest lic-

bą względną, a błąd w ocenie liczby komórek dotyczy zarówno grupy przypadków starczych, jak grupy kontrolnej.

W związku z możliwością zmniejszenia się komórki nerwowej w wieku starczym (Jervis 1971, Ochta i wsp. 1973) w 100 dużych komórkach ruchowych rogów przednich (łącznie z jądrem n. łokciowego) z każdego przypadku starczego i przypadków kontrolnych mierzono długą oś komórki. Długa oś może pośrednio wskazywać na wielkość komórki. Ponieważ technika opracowania materiału histopatologicznego powoduje kurczenie się elementów komórkowych (Rexed 1944, Schade 1964), uzyskany wymiar długiej osi komórki jest mniejszy niż w materiale świeżym, nieutrwalonym i niezabarwionym; jest więc wy-
miarem względnym. Błąd jednak jest ten sam zarówno w przypadkach starczych, jak kontrolnych.

W opracowaniu statystycznym materiału *) posługiwano się testem na porównanie dwóch frakcji i testem na porównanie dwóch średnich z prób niepowiązanych

$$u = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}}}$$

x_1 — średnia liczba komórek przypadająca na 1 skrawek w przypadkach starczych

x_2 — średnia liczba komórek przypadających na 1 skrawek w przypadkach kontrolnych

S_1^2 — wariancja liczby komórek w grupie starczej

S_2^2 — wariancja liczby komórek w grupie kontrolnej

n_1 — liczebność skrawków w grupie starczej (700)

n_2 — liczebność skrawków w grupie kontrolnej (300)

Dla oceny rozkładu wielkości osi długiej komórek w obu badanych grupach obliczono χ^2 (Sawicki 1974).

WYNIKI

Obraz morfologiczny

We wszystkich oglądanych przypadkach grupy starczej stwierdzono mniej lub bardziej rozległe ubytki komórek ruchowych, częściej dotyczące grupy zewnętrznej jądra zatylno-bocznego (ryc. 1). Ubytki te stwierdzano na przestrzeni od 30 do \pm 300 μ . Niekiedy w ich pobliżu widoczne było stwardniałe lub zwłókniałe naczynie krwionośne. Po-

*) Opracowanie statystyczne materiału wykonała mgr S. Czerwińska.

dobne, chociaż mniej rozległe ubytki spotykano również w przypadkach kontrolnych. Okolice ubytków komórkowych nie wykazywały odczynu gleyowego ani mezodermalnego (ryc. 2), lub też odczyn ten był niewielki (ryc. 1). We wszystkich przypadkach grupy starczej stwierdzono bardzo nasilone zwyrodnienie barwikowe komórek ruchowych. Dotyczyło to niekiedy całego jądra zatylno-bocznego albo też grupy zewnętrznej lub wewnętrznej. Miejscami, zamiast komórek ruchowych widoczne były jedynie grudki lipofuscyny (ryc. 2). Oprócz zwyrodnienia barwikowego niektóre komórki wykazywały zmiany przewlekłe (ryc. 4) i tigrolizę (ryc. 5). Sporadycznie zmiany w komórkach przypominały schorzenie osiowe (ryc. 6). Jeden raz natrafiono na komórkę zbliżoną do komórki Picka.

We wszystkich przypadkach naczyń wewnątrzrdzeniowe wykazywały mniejsze lub większe stwardnienie lub zwłóknienie. Często w okolicy tętniczek w części środkowej rogu przedniego lub w okolicy spoidła przedniego widoczne było rozrzedzenie tkanki, czasem z pojedynczymi limfocytami oraz makrofagami, obładowanymi hemosyderyną (ryc. 7).

Zarówno w przypadkach grupy starczej, jak w materiale kontrolnym można było niekiedy wyraźnie wyodrębnić w jądrze zatylno-bocznym grupę zewnętrzną i wewnętrzną (ryc. 8). W licznych skrawkach granica pomiędzy tymi grupami była całkowicie zatarta, dlatego nie oceniano statystycznie stosunku wzmiankowanych wyżej grup komórkowych. Stwierdzono ponadto, że na niektórych skrawkach jądro zatylno-boczne jest wyraźnie odgraniczone od jądra nerwu pośrodkowego (ryc. 9). Dość często jednak trudno jest wydzielić oba te jądra (ryc. 10).

Wyniki ilościowe

Dane odnośnie liczby komórek w jądrze zatylno-bocznym w przypadkach starczych i kontrolnych zestawiono w tabeli 1. Wykazuje ona, że w większości przypadków starczych zarówno liczba komórek z widocznym jądrem i jąderkiem, jak też całkowita liczba komórek jest mniejsza niż w przypadkach kontrolnych.

W grupie kontrolnej przypada na jeden skrawek dwukrotnie więcej komórek niż w grupie starczej i różnica ta jest statystycznie znamienne (tabela 2). Różnicę pomiędzy obu grupami wykazuje również porównanie średnich całkowitej liczby komórek przypadających na 1 skrawek w grupie starczej i kontrolnej (różnice między średnimi oceniano testem na porównanie dwóch średnich z prób niepowiązanych — Sawicki, 1974).

W grupie przypadków starczych jest mniejszy odsetek komórek praw-

Tabela 1. Liczba komórek ruchowych w jądrze zatylno-bocznym w przypadkach starczych i kontrolnych

Table 1. Number of motor cells in the retro-postero-lateral nucleus in senile and control cases

Lp. No	Płeć Sex	Wiek lata Age years	Zespół kliniczny Clinical syndrome	Prawe jądro n. łokciowego Nucleus n. ulnaris dextri		Lewe jądro n. łokciowego Nucleus n. ulnaris sin.	
				grupa zewnątrzna pars externa	grupa wewn. pars interna	grupa zewnątrzna pars externa	grupa wewn. pars interna
1	M	86	<i>Hemiplegia dx.</i>	66*(417)**	103 (746)	40 (336)	102 (770)
2	M	80	<i>Hemiplegia sin.</i>	51 (351)	93 (655)	58 (364)	114 (712)
3	K	93	<i>Hemiplegia sin.</i>	55 (280)	100 (622)	56 (330)	120 (718)
	F						
4	K	88	<i>Hemiplegia dx.</i>	64 (327)	109 (511)	42 (257)	103 (641)
	F						
5	K	87	<i>Hemiplegia dx.</i>	82 (398)	124 (708)	71 (376)	141 (792)
	F						
6	K	83	<i>Hemiplegia sin.</i>	53 (295)	115 (772)	49 (300)	87 (634)
	F						
7	M	80	<i>Hemiplegia sin.</i>	45 (295)	190 (1022)	38 (295)	176 (1082)
8	M	15	<i>Dystrophia musculorum progressiva</i>	103 (425)	162 (772)	107 (449)	209 (1084)
9	K	37	<i>Haemorrhagia ad ventriculos</i>	65 (304)	187 (988)	88 (351)	208 (1092)
	F						
10	M	49	<i>Polymyositis</i>	109 (392)	274 (1006)	104 (418)	313 (1121)

* — liczba komórek z widocznym jądrem i jąderkiem
number of cells with visible nuclei and nucleoli

** — liczba wszystkich widocznych w danej grupie komórek
number of all visible cells in the cells group

Ryc. 1. Przyp. 4. Znaczny ubytek komórek ruchowych w jądrze zatylno-bocznym, zwłaszcza w grupie zewnętrznej. Nikła reakcja gleju komórkowego. H-E. Pow. 100 ×.
Fig. 1. Case 4. Marked loss of motoneurons of retro-postero-lateral nucleus, particularly in its outer part. Slight glial reaction. H-E. × 100.

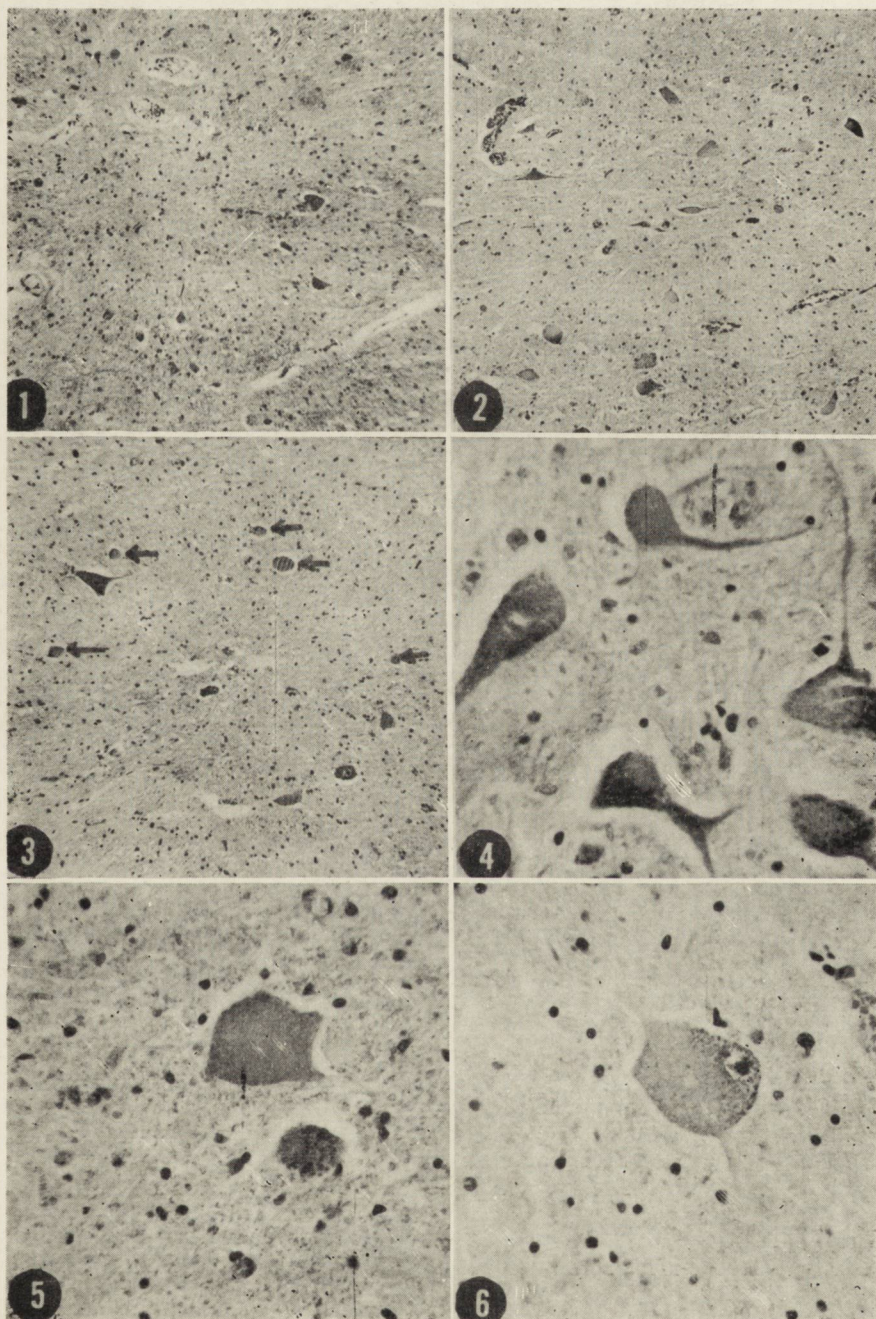
Ryc. 2. Przyp. 4. Nagromadzenie lipofuscyny w komórkach jądra nerwu łokciowego. Brak komórkowego odczynu glejowego. H-E. Pow. 100 ×.
Fig. 2. Case 4. Accumulation of lipofuscin in motoneurons of retro-postero-lateral nucleus. Absence of glial reaction. H-E. × 100.

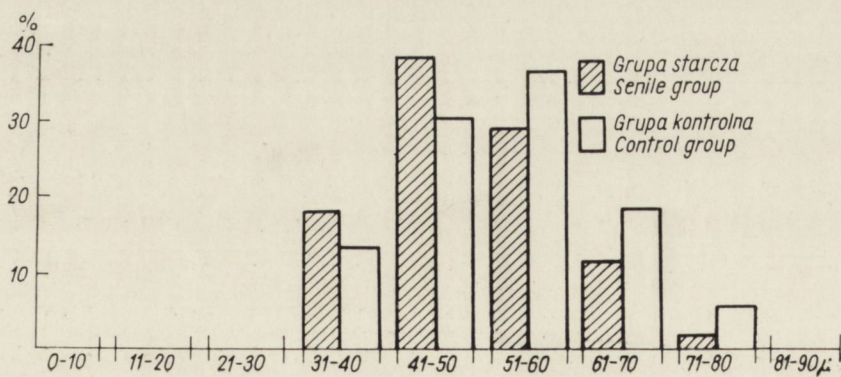
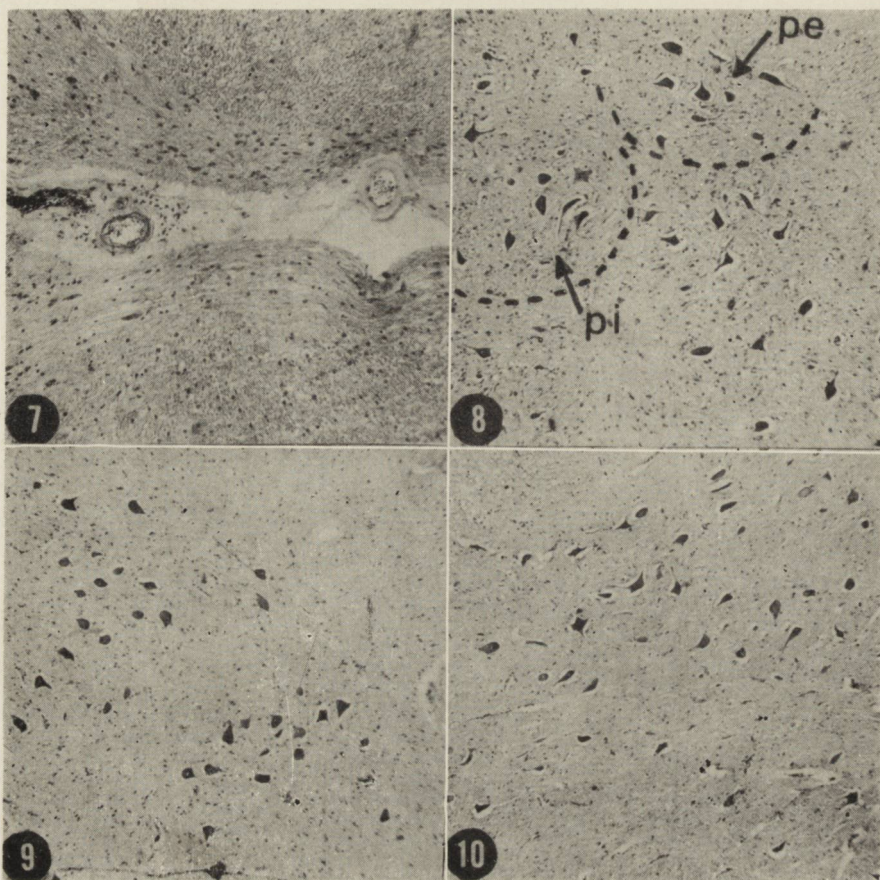
Ryc. 3. Przyp. 4. Zwyródnienie barwikowe komórek ruchowych jądra nerwu łokciowego. Widoczne grudki lipofuscyny. H-E. Pow. 100 ×.
Fig. 3. Case 4. Lipofuscin degeneration of motoneurons of retro-postero-lateral nucleus. Granules of aging pigment are seen. H-E. × 100.

Ryc. 4. Przyp. 7. Zmiany przewlekłe komórek jądra nerwu łokciowego. H-E. Pow. 400 ×.
Fig. 4. Case 7. Chronic cell degeneration in ulnar nerve nucleus. H-E. × 400.

Ryc. 5. Przyp. 2. Tigroliza komórek ruchowych. H-E. Pow. 400 ×.
Fig. 5. Case 2. Tigrylosis of motoneurons. H-E. × 400.

Ryc. 6. Przyp. 2. Schorzenie osiowe komórki jądra nerwu łokciowego. H-E. Pow. 400 ×.
Fig. 6. Case 2. Central chromatolysis of motoneuron of retro-postero-lateral nucleus. H-E. × 400.





Ryc. 11.

dopodobnie prawidłowych, wśród ogólnej liczby komórek (tab. 3). Porównanie liczby komórek w lewym i prawym jądrze nerwu łokciowego oraz odsetka komórek tego jądra w obu badanych grupach nie wykazuje natomiast istotnych różnic. Reasumując więc ocena liczbowa komórek w jądrze nerwu łokciowego grupy przypadków starczych i kontrolnych wykazuje statystycznie znamienne zmniejszenie liczby komórek w przypadkach starczych.

Pomiary długości osi dużych komórek ruchowych rogu przedniego wykazały wartości uwidocznione w tabeli 4. Tabela ta wskazuje na większy odsetek komórek o osi dłuższej 30—50 μ w grupie przypadków starczych, a w grupie przypadków kontrolnych większą liczbę komórek o osi dłuższej powyżej 50 μ . Również średnie wartości osi dłuższej komórek w przypadkach starczych są mniejsze niż w przypadkach kontrolnych. Średnia wielkość dłuższej osi komórek w całej grupie przypadków starczych wynosi 49,5 μ (odchylenie standardowe 10,3 μ) a w grupie przypadków kontrolnych 53,93 μ (odchylenie standardowe 10,32 μ). Różnica ta jest statystycznie znamienna ($p < 0,001$). Porównane grupy różnią się istotnie ($p < 0,001$) pod względem rozkładu odsetkowego komórek w zależności od ich długości osi. W skrawkach z grupy przypadków starczych przeważają komórki mniejsze. Komórki, których oś długa nie przekraczała 50 μ występowały w grupie starczej w 57,4%, natomiast w grupie kontrolnej w 39,0% (wykres 1).

OMÓWIENIE

Przyjmuje się, że zanik komórek ruchowych rogu przedniego rdzenia w wieku starczym może być dwójakiego pochodzenia: tzw. nieusystema-

Ryc. 7. Przyp. 4. Jamka okołonaczyniowa w obrębie podstawy rogu przedniego okołospoidłowo. H-E. Pow. 100 \times .

Fig. 7. Case 4. Small perivascular lacuna in the pericommissural part of anterior horn. H-E. \times 100.

Ryc. 8. Przyp. 5. Wyraźne oddzielenie grupy zewnętrznej (pe) i wewnętrznej (pi) jądra zatylno-bocznego. H-E. Pow. 60 \times .

Fig. 8. Case 5. Outer (pe) and inner (pi) groups of retro-postero-lateral nucleus distinctly separated. H-E. \times 60.

Ryc. 9. Przyp. 5. Wyraźne odgraniczenie jądra nerwu łokciowego od jądra nerwu pośrodkowego. H-E. Pow. 60 \times .

Fig. 9. Case 5. Distinct borderline between the nucleus of ulnar nerve and nucleus of median nerve. H-E. \times 60.

Ryc. 10. Przyp. kontrolny. Zatarcie granicy pomiędzy jądrem nerwu łokciowego i pośrodkowego. H-E. Pow. 60 \times .

Fig. 10. Control case. No distinct borderline between the nucleus of ulnar nerve and nucleus of median nerve.

Ryc. 11. Histogram osi dłuższej komórek w przypadkach starczych i kontrolnych.

Fig. 11. Histogram of long axis of cells in the senile and control group.

Tabela 2. Liczba komórek prawidłowych przypadająca na jeden skrawek w grupie starszej i kontrolnej

Table 2. Number of normal cells in one section in senile and control group

	Grupa starcza Senile group	Grupa kontrolna Control group	P
<i>Nucleus n. ulnaris dextri pars externa</i>	0,594*±0,594**	0,92±1,101	<0,001
<i>Nucleus n. ulnaris dextri pars interna</i>	1,19±1,117	1,99±1,56	<0,001
<i>Nucleus n. ulnaris sinistri pars externa</i>	0,51±0,71	1,00±1,00	<0,001
<i>Nucleus n. ulnaris sinistri pars interna</i>	1,20±1,11	2,43±1,74	<0,001

* — średnia liczba komórek prawidłowych
arithmetic mean of normal cells

** — odchylenie standardowe
standard deviation

Tabela 3. Odsetek komórek z widocznym jądrem i jąderkiem na ogólną liczbę komórek w grupie starszej i kontrolnej

Table 3. Percent of cells with visible nuclei and nucleoli in senile and control group

	Grupa starcza Senile group	Grupa kontrolna Control group	P
<i>Nucleus n. ulnaris dextri pars externa</i>	17,6%	24,7%	<0,001
<i>Nucleus n. ulnaris dextri pars interna</i>	16,6%	21,6%	<0,001
<i>Nucleus n. ulnaris sinistri pars externa</i>	15,7%	24,6%	<0,001
<i>Nucleus n. ulnaris sinistri pars interna</i>	15,8%	22,1%	<0,01

tyzowany zanik pochodzenia naczyniowego oraz zanik przyrównywany do ubytku komórek, obserwowanego w starczym zaniku mózgu (Stern 1936). Mimo dużych zmian w ścianach naczyń, stwierdzonych w naszych przypadkach, zmiany naczynio-pochodne w postaci opustoszeń okołonaczyniowych lub zatok okołonaczyniowych były nieznaczne i podobnie, jak w doniesieniach innych autorów, zlokalizowane w podstawie rogu przedniego (Fieschi i wsp. 1970), lub w jego środkowej części. Jądro zatylno-boczne zlokalizowane jest w obszarze unaczynionym zarówno przez

Tabela 4. Rozkład odsetkowy komórek w zależności od ich osi długiej w przypadkach starczych i kontrolnych

Table 4. Percent distribution of cells according to their long axis in senile and control cases

Nr No.	Wiek Age	Liczba komórek (\times) w zależności od osi długiej Number of cells (\times) according to long axis					Średnia wielkość (μ) i odchylenie standardowe Average magnitude \pm SD
		30—40 μ	41—50 μ	51—60 μ	61—70 μ	71—80 μ	
1	86	16%	45%	28%	10%	1%	48,88 \pm 12,03
2	80	22%	39%	25%	14%	—	48,60 \pm 9,47
3	93	17%	40%	32%	10%	1%	49,68 \pm 8,62
4	88	19%	26%	33%	15%	7%	51,80 \pm 11,74
5	87	14%	36%	29%	19%	2%	52,06 \pm 10,49
6	83	19%	40%	32%	9%	—	48,72 \pm 9,30
7	80	22%	47%	27%	4%	—	46,81 \pm 7,77
8	15	9%	30%	41%	19%	1%	54,25 \pm 11,33
9	37	6%	30%	36%	21%	7%	53,16 \pm 8,43
10	49	10%	32%	34%	15%	9%	54,38 \pm 11,24

gałąź środkową odchodzącą od t. rdzeniowej przedniej, jak i gałęzie obwodowe odchodzące od naczyń tętniczych na powierzchni rdzenia kręgowego. Ubytek komórek nie dotyczy wybiórczo tego jądra, bowiem jak wykazuje nasz materiał, odsetek komórek jądra n. łokciowego wśród pozostałych komórek rogu przedniego w przypadkach z grupy starczej nie różni się od przypadków kontrolnych. Zanik komórek jest więc procesem rozlanym w przeciwieństwie do występujących w przebiegu miażdżycy naczyń rdzenia nieregularnych, asymetrycznych ubytków komórek współistniejących z glejozą (Hughes, Brownell 1966, Sander 1900). Większość grup komórek ruchowych zlokalizowana jest w okolicy zaopatrywanej przez dwa wzmiankowane wyżej źródła unaczynienia. Zanik komórek w tej okolicy może więc być związany z zaburzeniami hemodynamicznymi. Jednakże badanie dwóch tylko segmentów rdzenia, nie zaliczanych zresztą do okolic „wrażliwych” (Corbin 1961) nie pozwala na jakiegokolwiek wnioski odnośnie zaburzeń hemodynamiki jako jedyne go czynnika odpowiedzialnego za ubytek komórek. Przyczyna powstawania i gromadzenia się w komórkach, w miarę starzenia się, barwika wieku — lipofuscyny, nie jest znana. U osobników z miażdżycą w wieku starczym stwierdzono zmniejszenie zapożrzebowania na tlen, obniżenie przepływu mózgowego i zużytkowania glukozy (Dastur i wsp. 1971) oraz zmniejszoną syntezę białek (Perezi, Moode 1970). Dane te zdają się wskazywać

na upośledzenie procesów przemian komórkowych i potwierdzają, liczne hipotezy, wiążące proces nagromadzenia się lipofuscyny z organelami komórkowymi (Strehler 1964). Obniżenie przemiany komórkowej stanowi prawdopodobnie zarówno przyczynę, jak skutek zwyrodnienia barwikowego komórki. Narastająca ilość lipofuscyny w komórce może doprowadzić do zwyrodnienia komórki i jej rozpadu. Rozlany zanik komórek rogu przedniego, przejawiający się prawie dwukrotnie mniejszą liczbą komórek może więc pozostawać w związku ze zwyrodnieniem barwikowym komórek, stwierdzonym w naszym materiale. Podobny ubytek komórek wykazany został zresztą w korze zawoju czołowego górnego u osobników w wieku starym (Brody 1970).

Zmniejszona liczba komórek wraz ze zmniejszeniem ich wielkości szczególnie w porównaniu z grupą kontrolną wskazuje pośrednio na zmniejszenie się wielkości komórki w wieku starym. Wydaje się, że odpowiada to zanikowi prostemu komórki nerwowej, spotykanemu w starym mózgu (Jervis 1971) oraz w zwoju międzykręgowym (Ochta i wsp. 1973). Zmniejszona liczba komórek wraz ze zmniejszeniem ich wielkości stanowi więc przejaw zaniku starczego, obserwowanego nie tylko w układzie nerwowym, ale w mięśniach (Gutmann i wsp. 1968), w narządach wewnętrznych i kościach (Anderson 1966). Sharrard (1962) wykazał na materiale dotyczącym ostrego zapalenia rogów przednich rdzenia, że wystarczy ponad 40% działających komórek ruchowych, aby siła mięśnia była prawidłowa. Dane te zdają się tłumaczyć fakt, że zanik starczy przejawiający się prawie dwukrotnie mniejszą liczbą komórek rogu przedniego w odcinku $C_8 - Th_1$ rdzenia kręgowego w porównaniu z przypadkami kontrolnymi, nie powoduje prawie żadnych objawów klinicznych. Zmniejszona liczba komórek ruchowych wraz ze zmianami aksonalnymi w pniu nerwu obwodowego (Rafałowska i wsp.) może powodować stwierdzane niekiedy osłabienie lub zniesienie odruchów skokowych i kolanowych u osobników w wieku starym.

WNIOSKI

Badania odcinka $C_8 - Th_1$ rdzenia kręgowego w 7 przypadkach starych wykazały, że proces starzenia się rogu przedniego rdzenia kręgowego przejawia się:

1. Statystycznie znamionym spadkiem liczby dużych komórek ruchowych w jądrze zatylno-bocznym w stosunku do przypadków kontrolnych.
2. Zmniejszeniem się wielkości komórek ruchowych rogu przedniego: histogram wielkości osi długiej komórek rogu przedniego wykazał spadek liczby komórek największych i przesunięcie spektrum w lewo.

Я. Рафаловска

К ВОПРОСУ О ПРОЦЕССЕ СТАРЕНИЯ В СПИННОМ МОЗГЕ

Резюме

Было проведено исследование серийных срезов отрезков C₈—Th₁ спинного мозга у людей, умерших от удара мозга в старческом возрасте (80—93 года, 7 случаев) и умерших в возрасте 15, 37 и 49 лет. В ста срезах каждого случая подсчитывали в заднебоковом ядре количество больших двигательных клеток с видимыми ядром и ядрышком, а также измеряли длинную ось в ста двигательных клетках спинного мозга. Было обнаружено статистически достоверное уменьшение количества двигательных клеток в задне-боковом ядре по сравнению с контрольной группой. Гистограмма величин длинной оси клеток указывает на уменьшение числа самых крупных клеток и на сдвиг спектра влево, что свидетельствует о уменьшении в старческом возрасте величины двигательных клеток в переднем роге. Во всех случаях старческой группы была обнаружена отчетливая пигментная дегенерация двигательных клеток и иногда — различной интенсивности изменения, напоминающие хроническое заболевание нейронов. Глиальная реакция была незначительна. Сосуды обнаруживали склеротические и фиброзные изменения, выраженные в различной степени. В некоторых случаях наблюдались изменения сосудистого происхождения в виде мелких околососудистых разрежений ткани вокруг сосудов, расположенных очень характерно в средней части переднего рога или в области комиссуры. Обнаруженные изменения расценивались как проявление старения.

J. Rafałowska

HISTOPATHOLOGICAL ALTERATIONS IN VENTRAL HORN OF SPINAL CORD WITH AGING

Summary

Specimens from C₈ and Th₁ segments of spinal cord of 7 patients who died in the age of 80 — 93 years of vascular insult were subjected to histopathological examination. In 100 sections of each senile case and in 3 control younger cases the motoneurons of retro-postero-lateral nucleus with visible nuclei and nucleoli were counted. The study revealed a significant loss of motoneurons in the ulnar nerve nucleus in elder cases. In each case long axes of 100 cell bodies were measured. The mean length of the long cell axis in the senile group was lower (49.51 μ) than in the control group (53.93 μ), the difference being statistically significant. Histogram of the length of long axis of anterior horn cells revealed a reduction in number of the largest cells and an increase of the number of small motor cells. This points to a decrease of size of motor cells in the senile cases. The above changes may be interpreted to be the feature of aging of the anterior horn of spinal cord.

PIŚMIENNICTWO

1. Anderson W. A. D.: Zanik starczy w: W. A. D. Anderson, Patologia, PZWL, Warszawa 1966, T. I. rozdz. 4, str. 71

2. Braunmühl A. V.: Pathologisch — anatomische Befunde bei der senilen Involution und senilen Entartung. Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie, Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1957, t. XIII/1, A, 339—639.
3. Brizzee K. R., Vogt J., Kharetchko X.: Postnatal Changes in Glia Neuron Index with a Comparison of Methods of Cell Enumeration in the white Rat. Progress in Brain Research, Vol. 4 Growth and Maturation of the Brain, D. P. Purpura, J. P. Schade, Elsevier, Publ. Comp., Amsterdam, London, New York, 1964, 136—146.
4. Brody H.: Structural Changes in the Aging Nervous System. Interdiscipl. Topics Geront. Karger, Basel, München, New York, 1970, 7, 9—21.
5. Campa J. F., Engel W. K.: Histochemistry of motor neurons and interneurons in the cat lumbar spinal cord. Neurology, 1970, 20, 559—568.
6. Corbin J. L.: Anatomie et pathologie artérielles de la moelle. Masson et Cie, Paris, 1961, 90—99.
7. Cierny G., Zlatos J.: On the question of the localization of the motor cells in the spinal cord. Folia Morphol. 1972, XX, 3, 228—231.
8. Dastur D. K., Lane M. H., Hansen D. B., Kety S. S., Butler R. N., Perlin S., Sokoloff L.: Effects of aging on cerebral circulation and metabolic in Man. W: Human aging: a biological and behavioral study. National Institute of Mental Health, Bethesda, 1971, 59—78.
9. Fieschi C., Gottfried A., De Carolis V.: Ischemic lacunae in the spinal cord of arteriosclerotic subjects. J. Neurol. Neurosurg. Psychiat., 1970, 33, 138—146.
10. Gutmann E., Hanzlíková, V., Jakoubek B.: Changes in the neuromuscular system during old age. Exp. Geront. 1968, 3, 141—146.
11. Guttman L.: Clinical symptomatology of spinal cord lesions. W: Handbook of Clinical Neurology, P. J. Vinken, G. W. Bruyn, North-Holland Publishing Camp. Amsterdam, 1969, t. 2, 204—205.
12. Hang H.: Über die exakte Feststellung der Anzahl Nervenzellen pro Volumeneinheit des Cortex cerebri, zugleich ein Beispiel für die Durchführung genauer Zählungen. Acta Anat., 1967, 67, 53—73.
13. Hughes J. T., Brownell B.: Spinal Cord Ischemia Due to Arteriosclerosis. Arch. Neurol., 1966, 2, 189—202.
14. Jervis G. A.: Senile Dementia. W: Pathology of the Nervous System, Ed. J. Mincler, McGraw-Hill Book Company, New York, 1971, t. II, 1379—1385.
15. Marinesco M. G.: Recherches expérimentales sur les localisation motrices spinales. Rev. Neurol., 1901, 9, 578—591.
16. Nyberg-Hansen R.: Anatomical demonstration of gamma motoneurons in the cat's spinal cord. Exp. Neurol., 1965, 13, 71—81.
17. Ochta M., Dyck P. J., O'Brien P. C.: Histometric evaluation of first sacral ganglion of man. 1974 w druku.
18. Perez V. J., Moore B. W.: Biochemistry of the Nervous System in Aging. Interdiscipl. Topics Geront. Karger, Basel-München-New York, 1970, 7, 22—45.
19. Peterson R. P.: Cell size and rate of protein synthesis in ventral horn neurones. Science, 1966, 153, 3742, 1413—1414.
20. Rafałowska J., Drac H., Rowińska K.: Korelacja szybkości przewodzenia impulsów ruchowych z obrazem histopatologicznym nerwu obwodowego i rogu przedniego rdzenia kręgowego u osobników w wieku starym. Praca przygotowana do druku.

21. Rexed B.: Contributions to the knowledge of the postnatal development of the peripheral nervous system in man. A study of the bases and scope of systematic investigation into the fibre size in peripheral nerves. *Acta Psychiat. (Kbh.)*, 1944, Supp. 33.
22. Rexed B.: A cytoarchitectonic atlas of the spinal cord in the cat. *J. Comp. Neurol.*, 1954, 100, 2, 297—379.
23. Rexed B.: Some aspects of the cytoarchitectonics and Synaptology of the Spinal Cord. W: *Organization of the spinal cord. Progress in Brain Research.* Elsevier Publ. Comp. Amsterdam, New York, 1964, 11, 58—92.
24. Riley H. A.: An atlas of the basal ganglia, brain stem and spinal cord. Williams-Wilkins Comp., Baltimore, 1943, 552.
25. Romanes G. J.: The motor cell columns of the lumbosacral spinal cord of the cat. *J. Comp. Neurol.*, 1951, 94, 313—364.
26. Romanes C. J.: The Motor Pools of the Spinal Cord. W: *Organisation of the spinal cord. Progress in Brain Research*, Ed. J. C. Eccles, J. P. Schade, Elsevier P. C. Amsterdam, London, New York, 1964, 11, 93—119.
27. Ruttkay-Nedecká E., Cierný G., Osvaldová M., Zlatos J.: Localization of the Motor Cells of Median Nerve of the Cat. *Folia Morphol. (Praga)* 1972, XX, 3, 241—242.
28. Sander M.: Untersuchungen über die Altersveränderungen im Rückenmark. *Deutsch. Zeitschr. f. Nervenheilk.* 1900, 17, 369—396.
29. Sawicki F.: *Elementy statystyki dla lekarzy.* PZWL, Warszawa, 1974.
30. Schädé J. P.: On the volume and surface area of spinal neurons. W: *"Organization of the spinal cord". Progress in Brain Research*, Ed. J. C. Eccles, J.P. Schädé, Elsevier P. C., Amsterdam, London, New York, 1964, 11, 261—277.
31. Schädé J. P., Van Backer H., Colon E.: Quantitative Analysis of Neuronal Parameters in the Maturing Cerebral Cortex. W: *Growth and Maturation of the Brain, Progress in Brain Research*, D. P. Purpura, J. P. Schädé, Elsevier Pub. Comp. Amsterdam, London, New York 1964, 4, 150—175.
32. Shariff G. A.: Cell counts in the primate cerebral cortex. *J. Comp. Neurol.* 1953, 98, 3, 381—400.
33. Sharrard W. J. W.: The distribution of the permanent paralysis in the lower limb in poliomyelitis. *J. Bone It Surg.* 1955, 37B, 540—558.
34. Sharrard W. I. W.: Poliomyelitis and the anatomy of the motor cell columns in the spinal cord. VII Symposium Européen Poliomyélite Oxford, E. A. P., Brussels 1962, 241—245.
35. Sprague J. M.: Motor and propriospinal cells in the thoracic and lumbar ventral horn of the rhesus monkey. *J. Comp. Neurol.* 1951, 95, 1, 103—123.
36. Stern K.: Beitrag zur Histopathologie des senilen Rückenmarks. *Z.f.d. Ges. Neurol. Psych.*, 1936, 155, 543—554.
37. Strehler B. L.: On the histochemistry and ultrastructure of age pigment. *Advances in Gerontology*, Ed. B. L. Strehler, Academic Press, New York, 1964, 1, 343—384.
38. Tower D. B.: Structural and functional organization of mammalian cerebral cortex: the correlation of neurone density with brain size. *J. Comp. Neurol.*, 1954, 101, 1, 19—52.

Adres autorki: Klinika Neurologiczna A.M., 02-007 Warszawa, Oczki 6.

KATARZYNA KUCHARSKA-DEMCZUK

OBRAZ CYTOLOGICZNY PŁYNU MÓZGOWO-RDZENIOWEGO W NIEKTÓRYCH WIRUSOWYCH ZAPALENIACH OPON MÓZGOWO-RDZENIOWYCH I MÓZGU

Klinika Chorób Zakaźnych Instytutu Chorób Wewnętrznych PAM w Szczecinie
Kierownik: doc. dr B. Trzaska

Jedną z metod umożliwiających poznanie charakteru zmian toczących się w układzie nerwowym, a zwłaszcza w oponach mózgowo-rdzeniowych (m.-rdz.) jest badanie cytologiczne płynu m.-rdz. Istotny postęp w badaniach cytologicznych płynu m.-rdz. wiąże się z wprowadzeniem przez Sayka (1960) udoskonalonego typu komory sedymentacyjnej, w której zachodzi proces powolnego osadzania komórek płynu m.-rdz.

Celem pracy była ocena zmian cytologicznych płynu m.-rdz. oraz ich dynamiki w niektórych wirusowych zapaleniach opon m. rdz. i mózgu, a mianowicie: w świnkowym zapaleniu (ś.z.) opon m.-rdz. i mózgu, limfocytarnym zapaleniu (l.z.) opon i mózgu o nie ustalonej etiologii wirusowej i w kleszczowym zapaleniu mózgu (kzm) u ludzi dorosłych.

MATERIAŁ I METODY

Badano 54 chorych: 10 kobiet (k.) i 44 mężczyzn (m.) w wieku od 14 do 57 lat, leczonych w Klinice Chorób Zakaźnych PAM w Szczecinie w latach 1971/72. W zależności od ustalonego rozpoznania chorych podzielono na trzy grupy, w dwóch czynnik etiologiczny był znany, w trzeciej był nie ustalony.

W grupie I było 20 chorych na ś.z. opon (3 k., 17 m.) w wieku od 14 do 54 lat. W jednym przypadku obserwowano ciężki przebieg choroby. U 11 chorych stwierdzono średnio-ciężki, a u 8 pozostałych lekki przebieg choroby. W tej grupie chorych poziom białka w płynie m.-rdz. wynosił od 16 mg% do 200 mg% (średnio 51 mg%), ilość komórek od 11 do 638 w mm³ (średnio 132), poziom cukru od 23 mg% do 79 mg% (średnio 50 mg%).

W grupie II obserwowano 30 chorych na l.z. opon m.-rdz. i mózgu o etiologii nie ustalonej, prawdopodobnie wirusowej (6 k., 24 m.) w wieku od 14 do 57 lat. Rozpoznanie l.z. opon m.-rdz. ustalono po wykluczeniu ropnego i nieropnego bakteryjnego zapalenia opon oraz po wykluczeniu obocznego zapalenia opon o etiologii niezakaźnej. Dla wykluczenia leptospiroz i kzm przebiegających często pod postacią łagodnego l.z. opon m.-rdz., u wszystkich chorych wykonano badania serologiczne w kierunku tych schorzeń. W tej grupie chorych przebieg choroby był ciężki u 3 osób, średnio-ciężki u 9, a u pozostałych lekki. Większość przypadków l.z. opon m.-rdz. i mózgu obserwowano w późnych miesiącach letnich i wczesnych jesiennych, co odpowiada sezonowemu szczytowi zachorowań enterowirusowych. W naszych warunkach epidemiologicznych zakażenia enterowirusowe układu nerwowego w tej porze roku są najczęstsze (Kańtoch i wsp. 1972), co pozwala na przypuszczenie, że w tej grupie chorych mieliśmy do czynienia z zakażeniami wywołanymi głównie przez wirusy z grupy Coxsackie i ECHO.

Badania rutynowe płynu m.-rdz. u tych chorych wykazały: poziom białka od 18 mg% do 237 mg% (średnio 71 mg%), ilość komórek od 20 do 1416 w mm³ (średnio 269), poziom cukru od 37 mg% do 76 mg% (średnio 55 mg%).

W grupie III obserwowano 4 mężczyzn w wieku od 14 do 27 lat, u których rozpoznanie kzm potwierdzono dodatnimi odczynami serologicznymi (odczyn zahamowania hemaglutynacji z wirusem kzm w mianach od 1/10 do 1/320). Przebieg choroby u tych chorych określono jako średnio-ciężki. Poziom białka w płynie m.-rdz. wynosi od 33 mg% do 150 mg%, ilość komórek od 17 do 1666 w mm³, poziom cukru wahał się od 34 mg% do 38 mg%. Wszyscy badani zostali wypisani w stanie dobrym.

Dla celów porównawczych, między innymi dla porównania dynamiki zmian cytologicznych w płynie mózgowo-rdzeniowym, wyodrębniono w zależności od okresu choroby i nasilenia objawów klinicznych trzy okresy chorobowe: okres I między 1—7 dniem choroby odpowiadający ostrej fazie choroby z największym nasileniem objawów, okres II między 8—14 dniem choroby i okres powyżej 14 dnia choroby, odpowiadający wczesnemu i późniejszemu okresowi zdrowienia.

Grupę kontrolną stanowiło 10 osób (4 k., 6 m.) w wieku od 15 do 47 lat, u których dostępnymi metodami badań wyłączono zmiany zapalne i inne organiczne schorzenia układu nerwowego. U tych osób poziom białka w płynie m.-rdz. wynosił od 14 do 33 mg%, cytoza od 1 do 3 komórek w mm³ płynu, a poziom cukru od 59 mg% do 71 mg%.

Badania cytologiczne płynu m.-rdz. wykonywano w komorze osadowej własnej konstrukcji wg zasady Sayka (1960). Średnica wewnętrzna

cyindra komory wynosiła 15 mm, wysokość 35 mm. Osadzanie komórek odbywało się w temperaturze pokojowej, a czas osadzania wynosił średnio 20—30 min. Płyn do badania w ilości 1 ml pobierano bezpośrednio do komory, podczas nakłucia lędźwiowego. Preparaty suszono na powietrzu przez 3 min., a następnie barwiono wg metody May-Grünwald-Giemsy w modyfikacji Szydłowskiej i Junikiewicz (1971). Uzyskane osady oceniano ilościowo przez obliczanie procentowego składu komórkowego i jakościowo. Ogółem wykonano 115 badań cytologicznych płynu m.-rdz., w tym 105 u chorych i 10 u osób z grupy kontrolnej.

WYNIKI

Wyniki badań cytologicznych płynu m.-rdz. w poszczególnych grupach chorych zestawiono w tabelach 1, 2 i 3.

W badanych osadach płynu m.-rdz. u chorych stwierdzono następujące elementy komórkowe: komórki (k.) limfoidalne (ryc. 1, 2), formy przejściowe k. limfoidalnych (ryc. 3), k. monocytarno-retikularne (ryc. 4, 5), k. plazmatyczne (ryc. 6), makrofagi (ryc. 7, 8, 9), granulocyty obojętnochłonne (gr. ob.) ryc. 10), zasadochłonne i kwasochłonne k. dwujądrazte (ryc. 11) i formy podziałowe (ryc. 12). Dla dokonania charakterystyki zmian cytologicznych i porównań w grupach konieczne było wyodrębnienie zespołów cytologicznych w zależności od przewagi jednych form komórkowych nad innymi. Wyodrębniono następujące zespoły odczynów komórkowych, których zestawienie przedstawia tabela 4: 1) zespół limfoidalny z przewagą k. limfoidalnych i form przejściowych limfoidalnych; 2) monocytarno-retikularny z przewagą form monocytarnych i komórek siateczki; 3) limfoidalno-plazmocytarny z przewagą postaci limfoidalnych, plazmatycznych oraz przejściowych; 4) limfoidalno-granulocytarny, w którym udział gr. ob. przekraczał 40% wszystkich komórek osadu; 5) mieszany, w którym nie udało się stwierdzić wyraźniejszej przewagi jednego rodzaju elementów komórkowych nad innymi.

Średnie odsetkowe wartości frakcji białkowych płynu m.-rdz. u chorych na l.z. opon z jednoczesnym odczynem plazmatyczno-komórkowym w płynie i bez tego odczynu w porównaniu z grupą kontrolną poddano analizie statystycznej przy użyciu testu t-Studenta. Wyniki tych badań zestawiono w tabeli 5.

Największe zmiany cytologiczne tak ilościowe jak i jakościowe stwierdzono w ostrym okresie choroby i wczesnym okresie zdrowienia. Najczęściej stwierdzanymi patologicznymi elementami komórkowymi były formy przejściowe k. limfoidalnych. Formy te przypominały komórki spotykane w mononukleozie zakaźnej lub formy niedojrzałe z charak-

Tabela 1. Wyniki badań cytologicznych płynu m.-rdz. u chorych na świnkowe zapalenie opon m.-rdz. i mózgu
 Table 1. Results of cytological examination of CSF in mumps meningo-encephalitis patients

Rodzaj elementów komórkowych Type of cellular elements	Okres choroby — Liczba badań Period of the disease — Number of examinations								
	I — 16			II — 9			III — 8		
	LO	%	X	LO	%	X	LO	%	X
Komórki limfoidalne Lymphoidal cells	16	42—95	63	9	56—91	76	8	51—96	78
Komórki monocytarno-retikularne Monocyte-reticular cells	16	1—50	16	9	3—31	14	8	3—20	10
Formy przejściowe Transient forms	16	1—50	17	9	1—15	8	8	1—16	7,5
Komórki plazmatyczne Plasmatic cells	5	1— 3	1	1	9	—	—	—	—
Makrofagi — Macrophages	9	1— 5	1,5	4	1—10	3	6	1—12	6
Granulocyty obojętnochłonne Neutrophile granulocytes	12	1—45	5	2	<1	1	2	1— 5	3
Granulocyty kwasochłonne Acidophile granulocytes	6	1	1	1	2	—	—	—	—
Granulocyty zasadochłonne Basophile granulocytes	2	<1	—	—	—	—	1	<1	—
Mitozy komórkowe Cell mitoses	3	<1	—	1	<1	—	1	<1	—
Komórki dwujądrazte Binucleate cells	4	<1	—	—	—	—	3	<1	—

I — ostry okres choroby 1—7 dni
 acute period 1—7 days

II — wczesny okres zdrowienia 8—14 dni
 early recovery period 8—14 days

III — późniejszy okres zdrowienia 15—28 dni
 later recovery period 15—28 days

LO — liczba osadów płynów m.-rdz. w których stwierdzono obecność określonych elementów komórkowych
 number of CSF pellets in which the presence of the respective cellular elements was noted

Tabela 2. Wyniki badań cytologicznych płynu m.-rdz. u chorych na limfocytarne zapalenie opon m.-rdz. i mózgu o etiologii nie ustalonej

Table 2. Results of cytological examinations of CSF in patients with lymphocytic meningo-encephalitis of unknown ethiology

Rodzaj elementów komórkowych Type of cellular elements	Okres choroby — Liczba badań Period of the disease — Number of examinations								
	I — 19			II — 19			III — 24		
	LO	%	X	LO	%	X	LO	%	X
Komórki limfoidalne Lymphoidal cells	19	1—93	52	19	18—85	61	24	25—100	72
Komórki monocytarno-retikularne Monocyte-reticular cells	19	3—73	23	19	7—73	21	24	1—50	17
Formy przejściowe Transient forms	19	1—16	8	19	1—61	12	24	1—24	9
Komórki plazmatyczne Plasmatic cells	12	1—17	3	9	1—8	3	9	1—4	1,5
Makrofagi — Macrophages	16	1—12	3	16	1—14	4,5	16	1—24	5
Granulocyty obojętnochłonne Neutrophile granulocytes	17	1—53	13	7	1—30	5	5	1—20	6
Granulocyty kwasochłonne Acidophile granulocytes	7	1—2	1	3	1—7	3	7	1—3	2
Granulocyty zasadochłonne Basophile granulocytes	6	<1		3	<1		2	<1	
Mitozy komórkowe Cell mitoses	2	<1		3	<1		2	<1	
Komórki dwujądrazte Binucleate cells	1	<1		6	<1		3	<1	

I — ostry okres choroby 1—7 dni
acute period 1—7 days

II — wczesny okres zdrowienia 8—14 dni
early recovery period 8—14 days

III — późniejszy okres zdrowienia 15—48 dni
later recovery period 15—48 days

LO — liczba osadów płynów m.-rdz., w których stwierdzono obecność określonych elementów komórkowych
number of CSF pellets in which the presence of the respective cellular elements was noted

Tabela 3. Wyniki badań cytologicznych płynu m.-rdz. u chorych na kleszczowe zapalenie mózgu

Table 3. Results of cytological examinations of CSF in tick-borne encephalitis patients

Rodzaj elementów komórkowych Type of cellular elements	Okres choroby — Liczba badań Period of the disease — Number of examinations						
	I — 1		II — 2		III — 7		
	LO	%	LO	%	LO	%	X
Komórki limfoidalne Lymphoidal cells	1	24	2	25—50	7	18—91	76
Komórki monocytarno-retikularne Monocyte-reticular cells	1	44	2	10—15	7	1—33	14
Formy przejściowe Transient forms	1	7	2	9—50	4	2—11	6
Komórki plazmatyczne Plasmatic cells	1	2	2	1	1	<1	
Makrofagi — Macrophages	1	2	—	—	4	1—2	
Granulocyty obojętnochłonne Neutrophile granulocytes	1	<1	2	1—10	2	1—38	
Granulocyty kwasochłonne Acidophile granulocytes	1	<1	—	—	—	—	
Granulocyty zasadochłonne Basophile granulocytes	—	—	—	—	—	—	
Mitozy komórkowe Cell mitoses	—	—	—	—	—	—	
Komórki dwujądrazte Binucleate cells	—	—	—	—	—	—	

I — ostry okres choroby — 3 dzień
acute period — 3rd day

II — wczesny okres zdrowienia — 10 dzień
early recovery period — 10th day

III — późniejszy okres zdrowienia — 18—65 dni
later recovery period — 18—65 days

LO — liczba osadów płynów m.-rdz., w których stwierdzono obecność określonych elementów komórkowych
number of CSF pellets in which the presence of the respective cellular elements was noted

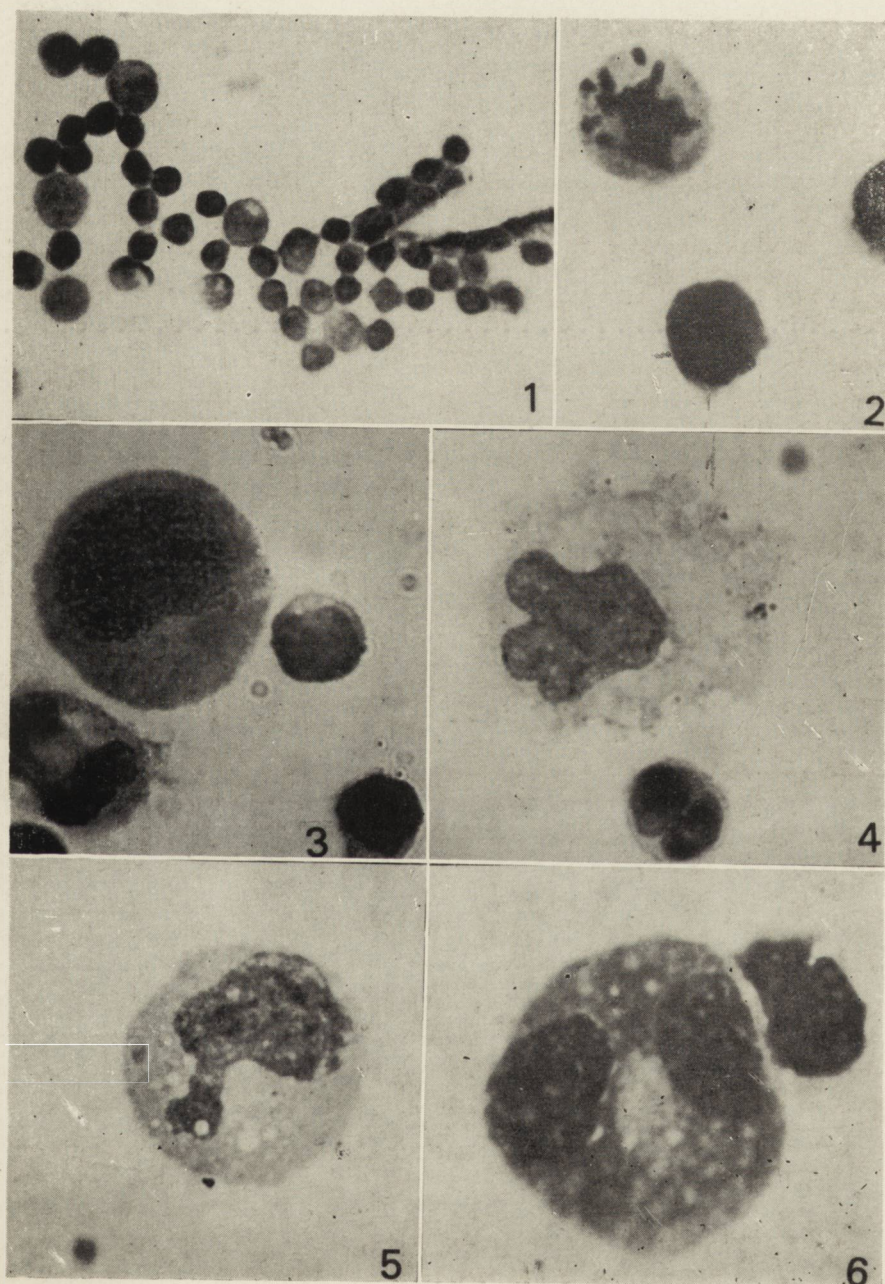
Tabela 4. Zespoły odczynów cytologicznych płynów m.-rdz. w badanych grupach chorych w zależności od okresu choroby
Tabela 4. Syndromes of cytological reactions of CSF in the examined groups of patients in relation to the period of the disease

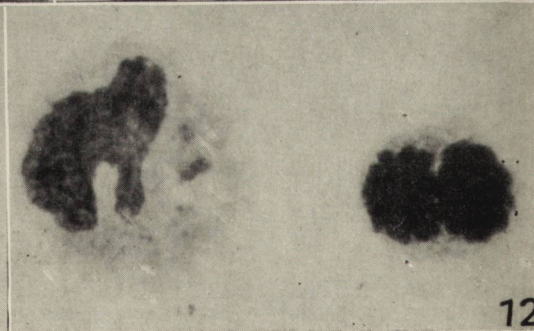
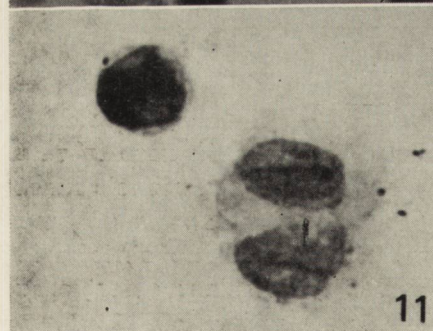
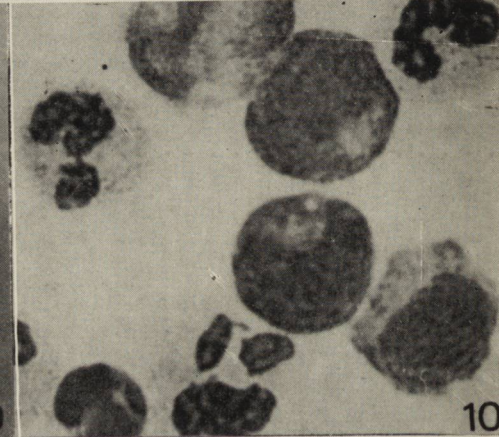
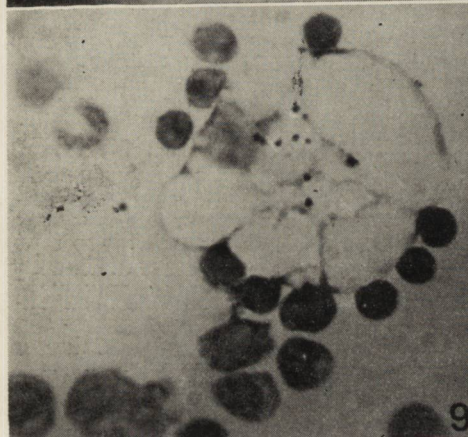
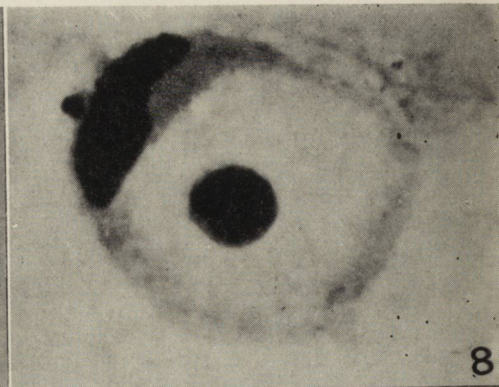
Zespół cytologiczny Cytological syndromes	Świnkowe zapalenie opon m.-rdz. Mumps meningitis			Limfocytarne zapalenie opon Lymphocytic meningitis			Kleszczowe zapalenie mózgu Tick-born encephalitis		
	Okres choroby — Liczba badań Period of the disease — Number of examinations								
	I — 16	II — 9	III — 8	I — 19	II — 19	III — 24	I — 1	II — 2	III — 7
Zespół limfoidalny Lymphoidal syndrome	12	8	8	10	13	21	—	2	6
Zespół monocytarno-retikularny Monocytic reticular syndrome	2	1	—	4	2	2	—	—	—
Zespół limfoidalno-plazmocytny Lymphoidal-plasmocytic syndrome	1	—	—	1	1	—	—	—	—
Zespół limfoidalno-granulocytny Lymphoidal granulocytic syndrome	1	—	—	1	1	—	—	—	—
Zespół mieszany Mixed syndrome	—	—	—	3	2	1	1	—	1

Tabela 5. Średnie odsetkowe wartości frakcji białek płynu m.-rdz. z jednoczesnym odczynem plazmatyczno-komórkowym i bez odczynu u chorych na limfocytarne zapalenie opon m.-rdz. i mózgu o etiologii nie ustalonej

Table 5. Mean percentage values of CSF proteins fractions with and without plasmocellular reaction in patients with lymphocytic meningo-encephalitis of unknown ethiology

Płyn mózgowo-rdzeniowy CSF	Liczba badań Number of examinations	Badania w dniach od—do Days of examinations	Średni poziom białka całkowitego w mg % Mean total protein level (mg %)	Komórki plazmatyczne w osadzie % Plasmatic cells in pellet (%)	Prealbuminy Prealbumines	Albuminy Albumines	Globuliny		Globulines	
							α_1	α_2	β	γ
Norma pracowni Laboratory norm	10	—	28,6	—	$3,6 \pm 0,6$	$50,1 \pm 1,3$	$8,7 \pm 0,7$	$8,6 \pm 0,6$	$15,4 \pm 0,8$	$13,4 \pm 2,4$
Płyn m.-rdz. z odczynem plazmatyczno-komór- kowym CSF with plasmocellular reaction	20	3—27	97,2	1—17	$1,9 \pm 0,3$ $P < 0,05$	$55,0 \pm 2,75$ $P > 0,05$	$8,7 \pm 1,3$ $P > 0,05$	$7,3 \pm 1,0$ $P > 0,05$	$12,5 \pm 0,7$ $P < 0,05$	$14,9 \pm 1,2$ $P > 0,05$
Płyn m.-rdz. bez odczy- nu plazmatyczno-ko- mórkowego CSF without plasmocel- lular reaction	14	3—27	78,0	—	$1,6 \pm 0,3$ $P < 0,05$	$53,8 \pm 1,25$ $P > 0,05$	$7,5 \pm 0,8$ $P > 0,05$	$7,6 \pm 0,6$ $P > 0,05$	$13,1 \pm 0,9$ $P > 0,05$	$16,2 \pm 1,9$ $P > 0,05$





terystyczną silną zasadochłonnością cytoplazmy i dużym jądrem, często ułożonym brzeżnie (ryc. 3). Termin formy przejściowe przyjęto wg mianownictwa Sayka oraz Olischer i Sayk (1960, 1967). Najwyższe wartości odsetowe tych komórek obserwowano pod koniec I i na początku II okresu choroby zarówno u chorych na ś.z. jak i na l.z. opon m.-rdz. W przypadkach o ciężkim przebiegu w okresach największego nasilenia objawów, jak również w okresach zaostrzeń choroby, obserwowano niskie wartości odsetkowe form przejściowych przy dużym udziale k. monocytarno-retikularnych i makrofagów. W okresie poprawy stanu chorego następował spadek odsetka gr. ob. i wzrost odsetka form przejściowych, k. monocytarno-retikularnych i makrofagów. Wzrastała również aktywność fagocytarna makrofagów. Makrofagi najczęściej zawierały

Ryc. 1. Komórki limfoidalne w limfocytnym zapaleniu opon m.-rdz. Widoczne charakterystyczne rozmieszczenie i układ komórek. Pow. 900 X.

Fig. 1. Lymphoidal cells of characteristic arrangement in lymphocytic meningitis. X 900

Ryc. 2. Komórka limfoidalna w limfocytnym zapaleniu opon m.-rdz. wykazująca duże zmiany zwyrodnieniowe jądra. Pow. 1350 X.

Fig. 2. Lymphoidal cell in lymphocytic meningitis displaying large degenerative changes in the nucleus. X 1350.

Ryc. 3. Forma przejściowa komórki limfoidalnej w świnkowym zapaleniu opon m.-rdz. Pow. 1350 X.

Fig. 3. Transient form of lymphoidal cell in a case of mumps meningitis. X 1350.

Ryc. 4, 5. Komórki monocytarno-retikularne we wczesnym okresie zdrowienia w limfocytnym zapaleniu opon. Ryc. 4 — widoczny limfocyt o nieprawidłowym kształcie jądra podobny do tzw. amitotycznej postaci limfocyta (hematogonium) krwi obwodowej. Pow. 1350 X.

Fig. 4, 5. Monocyto-reticular cells in the early recovery period in lymphocytic meningitis. Fig. 4 — lymphocyte with irregular shaped nucleus. The cell resembles so-called amitotic form of lymphocyte (hematogonium) in the blood. X 1350.

Ryc. 6. Dwujądrzysta komórka plazmatyczna w limfocytnym zapaleniu opon m.-rdz. Pow. 1350 X.

Fig. 6. Binucleated plasmocytic cell in a case of lymphocytic meningitis. X 1350.

Ryc. 7, 8 i 9. Makrofagi w limfocytnym zapaleniu opon m.-rdz. Pow. 1350 X.

Ryc. 7 — makrofagi wykazujące aktywność fagocytarną — ostry okres choroby.

Ryc. 8. makrofag zawierający pochłoniętego limfocyta tzw. limfofag. Ryc. 9 — makrofag w późniejszym okresie zdrowienia zawierający ziarnistości, prawdopodobnie resztki sfagocytowanych jąder limfocytów.

Fig. 7, 8 and 9. Macrophages in lymphocytic meningitis. X 1350. Fig. 7 — the macrophages demonstrate phagocytic activity — acute period of the disease.

Fig. 8 — a macrophage containing and absorbed lymphocyte (so-called lymphophage). Fig. 9. — a macrophage containing granulations, probably remnants of phagocytized lymphocytic nuclei — later period of recovery.

Ryc. 10. Komórki limfoidalne i granulocyty obojętnochłonne w ostrym okresie kleszczowego zapalenia mózgu. Pow. 1350 X.

Fig. 10. Lymphoidal cells and neutrophils in a case of tick-born encephalitis — acute period of the disease. X 1350.

Ryc. 11. Dwujądrzysta komórka retikularna — ostry okres limfocytnego zapalenia opon m.-rdz. Pow. 1350 X.

Fig. 11. Binucleate reticular cell — acute period of lymphocytic meningitis. X 1350.

Ryc. 12. Forma podziałowa (stadium telofazy) komórki plazmatycznej w ostrym okresie limfocytnego zapalenia opon m.-rdz. Pow. 1350 X.

Fig. 12. Plasmocytic cell — mitotic form (telophasis) — in the acute period of lymphocytic meningitis. X 1350.

pochłonięte limfocyty lub produkty ich rozpadu. Erytrofagi stwierdzano tylko u nielicznych chorych na świnkowe i limfocytarne zapalenie opon. Również granulocytofagi obserwowano rzadko. W przypadkach, w których choroba przedłużała się, obserwowano często większe odczyny plazmatyczno-komórkowe w I i II okresie choroby oraz długie utrzymywanie się k. plazmatycznych w osadach płynu. W III okresie choroby odczyny plazmatyczno-komórkowe częściej spotykano w płynach chorych na l.z. opon. Jak wynika z danych zestawionych w tabeli 5, stwierdzony niewielki wzrost frakcji gamma globulin w płynie m.-rdz. u chorych na l.z. opon nie jest znamienny statystycznie i jak się wydaje, nie jest związany z obecnością k. plazmatycznych.

Wykazano pewne podobieństwo w dynamice zmian cytologicznych w poszczególnych grupach chorych, polegające na wzroście zespołów limfoidalnych w okresie zdrowienia oraz na spadku innych zespołów komórkowych. Dynamika tych zmian w płynie chorych na ś. z. opon jest szybsza i wyraźniejsza niż w przypadkach l.z. opon m.-rdz. i kzm. U większości chorych na ś.z. opon można było wyodrębnić, jakkolwiek nieswoisty to przecież dość charakterystyczny, obraz cytologiczny płynu m.-rdz. pod postacią zespołu limfoidalnego. U chorych na l.z. opon zespół limfoidalny występował często, nie był jednak zespołem dominującym. W tej grupie chorych częściej występowały inne zespoły odczynów komórkowych, a szczególnie zespoły monocytarno-retikularne i mieszane, które u chorych na ś.z. opon występowały rzadko bądź nie występowały wcale. Zespoły limfoidalno-plazmocytarne i limfoidalno-granulocytarne w ś.z. opon stwierdzano tylko w ostrym okresie choroby, natomiast w l.z. opon i kzm wykazywano je jeszcze w okresie zdrowienia.

Badania cytologiczne płynu m.-rdz. w grupie kontrolnej wykazały jedynie obecność limfocytów (rednio 76,5%) i monocytów (średnio 23,5%).

OMÓWIENIE

Obrazy cytologiczne płynu m.-rdz. w zakaźnych zapaleniach opon m.-rdz. oraz niezakaźnych podrażnieniach opon (np. w mocznicy, porażeniu słonecznym lub w odczynowym podrażnieniu opon w następstwie rozpadu tkanki mózgowej itp.) mogą wykazywać duże podobieństwo niezależnie od etiologii, stąd wartość diagnostyczna badania cytologicznego jest ograniczona (Bischoff 1960, 1963; Dowżenko 1968, Jager, Hartog 1969, Kolar, Zemann 1968, Olischer, Sayk 1967, Sayk 1960). Można jednak w oparciu o obraz cytologiczny płynu wydzielić zespoły kliniczne zapalenia opon (Bischoff 1960, 1963; Scholz, Summer 1970), jak również dokonać różnicowania niektórych zapaleń opon, zwłaszcza gruźli-

czego i l.z. (Bischoff 1960, 1963; Mazalton, Bean 1970, Olischer, Sayk 1967, Sayk 1960, Seidel-Kołodziej 1964).

W badanych grupach chorych stwierdzono, że zmiany cytologiczne nie miały cech swoistych, co jest zgodne ze spostrzeżeniami innych autorów (Bischoff 1960, Mazalton, Bean 1970, Olischer, Sayk 1967, Sayk 1960, Scholz, Summer 1970). Spośród patologicznych form komórkowych najczęściej obserwowano tzw. formy przejściowe k. limfoidalnych i plazmatycznych. Formy te są morfologicznie podobne do komórek znajdujących w krwi obwodowej i nazwanych przez Klimę (1961) odczynowymi formami limfocytów (Reaktionsformen). Inni autorzy, jak np. Kolar i Zemann (1968), Scholz i Summer (1970), Bischoff (1960), czy Eneström (1965) używają dla określenia tych komórek innych nazw, co wynika z braku ujednoliconego mianownictwa w cytologii płynu m.-rdz. Wg Sayka (1960) i innych autorów (Bischoff 1960, Olischer, Sayk 1967) formy przejściowe komórek limfoidalnych płynu m.-rdz. są morfologicznym wyrazem odczynu obronnego układu nerwowego na działanie czynnika zakaźnego i występują w różnych stanach zapalnych opon, niezależnie od etiologii..

W badanych przypadkach nasilenie występowania form przejściowych było zależne od okresu choroby jak i w pewnym stopniu od czynnika etiologicznego. Szczególnie duży odsetek tych form obserwowano w ostrym okresie ś.z. opon w odróżnieniu od l.z. opon, w którym odsetek tych komórek był charakterystyczny dla wczesnego okresu zdrowienia.

Duże znaczenie diagnostyczne przypisuje się odczynom plazmatycznym w płynie m.-rdz., zwłaszcza w stwardnieniu rozsianym, kile układu nerwowego i w niektórych schorzeniach nowotworowych. Obecność komórek plazmatycznych stwierdzano również w ostrych i przewlekłych stanach zapalnych opon m.-rdz. o etiologii wirusowej i bakteryjnej (Bischoff, Dowżenko, Eneström, Olischer i Sayk, Sayk, Péter). Quadra, Esselier i Knittel (cyt. wg Peter 1967) obserwowali jednocześnie występowanie odczynu plazmatyczno-komórkowego i eozynofilii w płynie m.-rdz. w alergicznych schorzeniach układu nerwowego. Podobne odczyny w przewlekłych zapaleniach opon stwierdzili Sayk (1960) i Bischoff (1960). Jak wiadomo, komórki plazmatyczne odgrywają główną rolę w wytwarzaniu przeciwciał, stąd też zainteresowanie wielu badaczy aktywnością immunologiczną tych komórek również w płynie m.-rdz. wyrażającą się wzrostem globulin gamma w białkach płynu. Wzrost globulin gamma łącznie z odczynem plazmatyczno-komórkowym stwierdzono w węgryzacji opon (Peter 1967), w kile oponowo-mózgowej (Bischoff 1960), Sayk 1960), w stwardnieniu rozsianym (Bischoff 1960, Sayk 1960, Seidel-Kołodziej 1965). Stwierdzane dość często k. plazmatyczne w płynie badanych chorych na l.z. opon m.-rdz. prawdopodobnie były nieczynne im-

munologicznie, bowiem w równocześnie wykonanych elektroforegramach białek płynu nie stwierdzono statystycznie znamiennego wzrostu globulin gamma.

Odczyn granulocytarny w płynie m.-rdz. jest zawsze objawem patologicznym, świadczącym m.in. o uszkodzeniu bariery krew-płyn (Bischoff 1960, 1963; Dowżenko 1952, Eneström 1965, Jager, Hartog 1969, Kolar, Zemann 1968, Mazalton, Bean 1970, Olischer, Sayk 1967, Sayk 1960, Scholz, Summer 1970). Duży odczyn granulocytarny, tak charakterystyczny dla ropnych i nieropnych bakteryjnych zapaleń opon, rzadko występuje w wirusowych zapaleniach opon i zwykle w ostrym okresie choroby (Bischoff 1960, 1963; Mazalton, Bean 1970, Olischer, Sayk 1967, Sayk 1960, Scholz, Summer 1970). W badaniach własnych stwierdzono niewielki, krótkotrwały odczyn granulocytarny, wyraźniejszy i częstszy w innych l.z. opon niż w ś.z. U chorych, u których przebieg choroby był szczególnie ciężki, a także w okresach zaostrzeń, odsetek gr. ob. był wysoki (do 53% wszystkich komórek osadu). Podobną dynamikę stwierdzili niektórzy autorzy w gruźliczym zapaleniu opon (Bischoff 1963, Sayk 1960, Seidel-Kołodziej 1964) oraz Scholz i Summer (1970) w nawrotach i zaostrzeniach ropnych zapaleń opon.

Odczyny monocytarno-retikularne stwierdzane często w wirusowych zapaleniach opon występują również w fazie zdrowienia w bakteryjnych ropnych i nieropnych zapaleniach opon. Zakażenia wirusowe charakteryzuje duży polimorfizm form monocytarno-retikularnych oraz obecność makrofagów zawierających pochłonięte limfocyty — tzw. limfofagów (Bischoff 1960, 1963; Kolar, Zemann 1968, Olischer, Sayk 1967, Sayk 1960). W materiale własnym we wczesnych i późniejszych okresach zdrowienia stwierdzano wyraźne odczyny monocytarno-retikularne oraz objawy pobudzenia układu fagocytarnego. W pojedynczych przypadkach l.z. opon oraz rzadziej w ś.z. stwierdzano obecność erytrofagów jako dowód towarzyszącego zapaleniu krwawienia podpajęczynówkowego. Rola i znaczenie erytrofagów w diagnostyce krwawień podpajęczynówkowych jest ogólnie znana (Bischoff 1960, 1963; Dowżenko 1968, Hejka 1968, Hryckiewicz 1970, Sayk 1960). Scholz i Summer (1970) wykazali ich obecność w ciężkich ropnych krwotocznych zapaleniach opon i mózgu u dzieci. W dostępnym piśmiennictwie brak danych na temat występowania erytrofagów w płynie m.-rdz. chorych na ś.z. lub inne l.z. opon. Formy podziałowe oraz komórki dwu- i wielojądrzaste towarzyszą często procesom nowotworowym ośrodkowego układu nerwowego (Sayk 1960), w wirusowych zapaleniach opon spotykano je rzadko (Olischer 1966, Sayk 1960). W badanych neuroinfekcjach w ostrym okresie choroby i wczesnym okresie zdrowienia u nielicznych chorych wykazywano obecność tych komórek w cytogramach płynu.

Zbyt mała liczba badań płynu m.-rdz. w przypadkach kzm nie daje dostatecznej podstawy do wnioskowania i nie może stanowić materiału do dyskusji. Wydaje się jednak, że obraz cytologiczny w tej chorobie odpowiada bardziej zmianom stwierdzanym w l.z. opon niż w ś.z. Dotyczy to głównie dużego udziału granulocytów w odczynie zapalnym w ostrym okresie choroby, jak również dynamiki zmian cytologicznych.

WNIOSKI

1. W badanych przypadkach neuroinfekcji wirusowych u osób dorosłych obraz cytologiczny płynu m.-rdz. zmienia się w zależności od fazy choroby.

2. Opierając się na dynamice zmian obrazu cytologicznego płynu, można wnioskować o aktywności procesu zapalnego toczącego się w układzie nerwowym, co może mieć poważne znaczenie kliniczne.

3. Na podstawie wykonanych badań cytologicznych nie udało się wykazać swoistości obrazów cytologicznych płynu w badanych grupach chorych.

4. Różnice w obrazie cytologicznym płynu, chociaż są w poszczególnych grupach dość wyraźne, nie mogą być pomocne dla bliższego określenia czynnika etiologicznego.

5. Nie stwierdzono współzależności między występowaniem komórek plazmatycznych w płynie, a zmianami elektroforetycznymi frakcji białkowych płynu u chorych na limfocytarne zapalenie opon o nie ustalonej etiologii wirusowej.

K. Кухарска-Демчук

ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА СПИНОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ НЕКОТОРЫХ ВОСПАЛЕНИЯХ ОБОЛОЧЕК СПИННОГО И ГОЛОВНОГО МОЗГА У ВЗРОСЛЫХ ЛЮДЕЙ

Резюме

В работе представлены цитологические изменения спино-мозговой жидкости при воспалениях оболочек спинного и головного мозга после свинки, при лимфоцитарном воспалении оболочек спинного и головного мозга вероятно вирусного происхождения и при клещевом воспалении мозга. Цитологические исследования были проведены в камере собственной конструкции методом осаждения согласно принципу Сейка. Цитологическая картина обнаруживала различия, зависмые от фазы заболевания и в некоторой степени от этиологического фактора. Была обнаружена взаимозависимость между клиническим состоянием и морфологической картиной жидкости, позволяющая судить об активности воспалительного процесса. Цитологические исследования позволили

также глубже вникать в патогенез исследованных нейроинфекций, что в свою очередь позволяет определять наличие субарахноидальных кровотечений, которые не удавалось обнаружить другими методами исследований. В работе было также показано, что клеточно-плазматические реакции, обнаруживаемые часто при лимфоцитарных воспалениях оболочек, не сопровождаются изменениями в электрофореграммах белков жидкости, в особенности во фракции гамма-глобулинов.

K. Kucharska-Demczuk

CYTOLOGICAL CHANGES IN THE CEREBROSPINAL FLUID IN CERTAIN CASES OF MENINGO-ENCEPHALITIS OF VIRAL ORIGIN

Summary

The cytological changes in cerebrospinal fluid (CSF) and their dynamics in cases of mumps meningo-encephalitis, lymphocytic meningo-encephalitis of undetermined etiology (probably viral) and tick-born encephalitis are presented and discussed. CSF was examined by the Sayk's sedimentation method in a sedimentation chamber of own modification.

Differences in cytograms depend on the period of the disease and, to some degree, on the etiological factor. A correlation was found between the clinical stage and the morphological picture of CSF providing conclusions concerning the activity of inflammatory process. The cytological investigations permitted also to recognize more distinctly the pathogenesis of neuroinfections examined and facilitated the diagnosis of coexisting subarachnoidal bleedings which could not be detected by other methods. The plasmocytic reactions, ascertained quite often in cases of lymphocytic meningitis, were not accompanied by the changes in electrophorograms of CSF proteins particularly in the gamma globulin fraction.

PISMIENNICTWO

1. Bischoff A.: Der derzeitige Stand der Liquor Cytodiagnostik, Schweiz. Med. Wschr., 1960, 18, 479—487.
2. Bischoff A.: L'examen cytologique du liquide cephalorachidien par la méthode de sédimentation et de filtration, Rev. Neurol., 1963, 108, 567—575.
3. Dowżenko A.: Badanie i diagnostyka płynu mózgowo-rdzeniowego, PZWL, Warszawa 1952.
4. Dowżenko A.: Współczesne kierunki badań w zakresie cytologii i biochemii płynu mózgowo-rdzeniowego, Neur. Neurochir. Pol., 1968, 2, 453—460.
5. Eneström S.: Some aspects of technique and clinical evaluation of CSF cytology, Acta Neurol. Scand., 1965, 41 suppl. 13, 153—159.
6. Hejka Z.: Obraz morfologiczny płynu mózgowo-rdzeniowego w krwotokach podpajęczynówkowych, Neurol. Neurochir. Pol., 1968, 2, 535—541.
7. Hryckiewicz D.: Znaczenie badania makrofagów w płynie mózgowo-rdzeniowym w krwawieniach podpajęczynówkowych, Roczn. PAM, Szczecin 1970, 16, 445—459.
8. Jager H.: Cytology of the cerebrospinal fluid examined with the sedimentation technique after Sayk, J. Neurol. Sci., 1969, 9, 155—177.

9. Kańtoch M., Magdzik W., Głowacka H., Dobrowolska H.: Obserwacje nad ekologią enterowirusów w Polsce, *Przegl. Epidemiol.*, 1972, 26, 345—352.
10. Klima R.: Zur Morphologie und klinischen Pathologie der lymphatischen Reaktion, *Schweiz. Med. Wschr.*, 1961, 91, 1165—1169.
11. Kolar O., Zemmann W.: Spinal fluid cytomorphology, *Arch. Neurol.*, 1968, 18, 44—51.
12. Mazalton A., Bean J.: Diagnostic cytologique des méningites à liquide clair par la technique de Suta, *Ann. Méd. Interne*, 1970, 121, 341—346.
13. Olischer R.: Verschiedene Zellreaktionen im Liquor cerebrospinalis, w „Symposion über die Zerebrospinalflüssigkeit”, Rostok, G. Fischer Verl., Jena 1966, 63—77.
14. Olischer R., Sayk J.: Liquor insbesondere Zellbefunde bei Meningitiden, *Fortschr. Neurol. Psychiat.*, 1967, 35, 453—474.
15. Péter A.: The plasma cells of the cerebrospinal fluid, *J. Neurol. Sci.*, 1967, 4, 227—239.
16. Sayk J.: Cytologie der Cerebrospinalflüssigkeit, G. Fischer Verl., Jena 1960.
17. Scholz H., Summer K.: Klinischdiagnostischer Wert liquorzytologischer Befunde bei Entzündungen der Meningen, *Wien. Z. Nervenhk.*, 1970, 28, 283—305.
18. Seidel-Kołodziejowa A.: Wartość badania osadu płynu mózgowo-rdzeniowego metodą Sayka dla różnicowania gruźliczego i limfocytarnego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, *Gruźlica*, 1964, 32, 297—303.
19. Seidel-Kołodziejowa A.: Występowanie komórek plazmatycznych a zmiany białkowe w płynie mózgowo-rdzeniowym w stwardnieniu rozsianym, *Neurol. Neurochir. Psych. Pol.*, 1965, 15, 65—70.
20. Szydłowska H., Junikiewicz E.: Modyfikacja niektórych sposobów barwienia składników morfotycznych płynu mózgowo-rdzeniowego, *Neuropat. Pol.*, 1971, 9, 377—381.

Adres autorki: Klinika Chorób Zakaźnych Instytutu Chorób Wewnętrznych PAM, ul. Arkońska 4, 71—455 Szczecin.

LUBOMIRA DYDYK, JERZY KANSY

PRZYPADEK MEGALENCEFALII Z MIKROPOLIGYRIĄ

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

Kierownik Zespołu: Prof. dr M. J. Mossakowski

Oddział Pediatryczny Centralnego Szpitala Klinicznego WAM

Ordynator Oddziału: Dr med. J. Kansy

Współistnienie kilku wad rozwojowych jest zjawiskiem często powtarzającym się. Wśród nich skojarzenie megalencefalii z mikropoligyrą należy do rzadko spotykanych. Wielkomózgowie może być wyrazem uogólnionego, harmonijnego powiększenia całego narządu; może wystąpić w przypadku zaburzeń rozwojowych (Norman 1963) lub w przypadkach niektórych chorób zwyrodnieniowych układu nerwowego: w zwyrodnieniu gąbczastym istoty białej van Bogaerta — Bertranda (van Bogaert, Bertrand 1967), w dziecięcej gangliozydozie G_{M1} i G_{M2} , w chorobie Alexandra (Crome 1953, Friede 1964), może też być związane z nieprawidłowym rozlanym przerostem gleju, przechodzącym niekiedy w bujanie nowotworowe (Ostertag 1956).

Zaburzenia rozwojowe kory mózgu występują pod postacią agyrii, pachygyrii i mikrogyrii. Agyrię charakteryzuje prawie całkowity brak uzwojenia kory; pachygyrię — poszerzenie i spłaszczenie zawojów, zaś mikrogyrię nie tylko ich zmniejszenie lecz również pomnożenie. Stąd nazwa mikropoligyria nadana tej wadzie przez Schoba (1930). Bielschowsky (1914), a następnie Crome (1952) zwrócili uwagę, że w każdej z wymienionych nieprawidłowości rozwojowych spotyka się czterowarstwową korę mózgu, podobną do tej, jaka występuje u 50—100 mm zarodka ludzkiego (Dekaban 1959) i że są to zaburzenia o jednakowej patogenezie, jednak różniące się stopniem nasilenia obserwowanych zmian.

OPIS PRZYPADKU

Dziecko płci męskiej, wagi 3.200 g, urodzone z drugiej ciąży około 6 tygodni przed przewidywanym terminem porodu. Rodzice młodzi, zdrowi. Pierwsza ciąża zakończona porodem niewczesnym. Dziecko wy-

kazywało po urodzeniu małą ruchliwość, nie chciało ssać. Podejrzewano wylew śródczaszkowy lub wodogłowie. W 3 miesiącu życia było leczone w Oddziale Pediatrycznym Szpitala WAM w Warszawie z powodu wieloogniskowego zapalenia płuc, które ustąpiło po leczeniu sigmamycyną. Stwierdzono wówczas wielkogłowie, z powodu którego dziecko zostało ponownie przyjęte do szpitala w wieku 5 miesięcy. Badanie przedmiotowe wykazało: głowa duża, szew strzałkowy szerokości 1 cm, okresowo obecny objaw zachodzącego słońca. W zakresie narządów wewnętrznych nie stwierdzono odchyień od stanu prawidłowego. Dno oczu: tarczki nerwu wzrokowego jasno-różowe, o granicach wyraźnych; naczynia tętnicze i żyłne bez zmian, siatkówka na obwodzie o budowie znacznie rozrzedzonej. Zapis EEG: w odprowadzeniach tylnych zaznaczały się obustronne zmiany pod postacią zbyt wolnej i wysokonapięciowej czynności podstawowej. Płyn mózgowo-rdzeniowy zarówno z nakłucia lędźwiowego jak z nakłucia komór prawidłowy. Wentrikulografia: wprowadzenie 20 ml powietrza do prawej komory dało obraz minimalnego wodogłowa wewnętrznego. W ciągu następnych tygodni wystąpiły stany gorączkowe, które utrzymywały się mimo stosowania różnych antybiotyków. Zgon nastąpił w 7 miesiącu życia dziecka wśród objawów obustronnego wieloogniskowego zapalenia płuc.

Wynik badania anatomo-patologicznego: obrzęk płuc, wada serca w postaci otworu międzykomorowego. Rozszerzenie całego serca. Zastój krwi w narządach wewnętrznych. Ślad płynu przesiękowego w jamach opłucnowych i w jamie otrzewnowej. Wybroczyny podnasilrdziowe i podopłucnowe. Płacikowe zapalenie przykręgosłupowych części obu płuc. Odczyn zapalny śledziony i węzłów chłonnych. Waga mózgu nieutrwalonego 1420 g.

Badanie neuropatologiczne. Sekcja mózgu utrwalonego w formalinie wykazała: półkule mózgu duże, pień mózgu i mózdzek wielkości odpowiadającej wiekowi dziecka. Płaty potyliczne nasuwały się na mózdzek przemieszczając go ku przodowi. Stwierdzono nieprawidłowe uzwojenie kory, która miała ziarnisty wygląd, szczególnie po lewej stronie. Głęboka bruzda Sylwiusza ciągnęła się daleko ku tyłowi kończąc się na wysokości połowy mózdku. Po stronie prawej stosunki były podobne, ale mniej wyraźnie zaznaczone. Na przekrojach czołowych uwidaczniała się szeroka kora z dodatkowymi pofałdowaniami zakrętów. Jama przegrody przezroczystej była rozdęta. Mózdzek wykazywał niekształcenie, spowodowane uciskiem płatów potylicznych na namiot.

Do badania mikroskopowego pobrano wycinki z półkul mózgu, pnia mózgu i mózdku. Zastosowano technikę parafinową. Skrawki barwiono hematoksyliną-eozyną, fioletem krezyłu i według metody Heidenhaina.

Wynik badania mikroskopowego: na wszystkich przekrojach przechodzących przez półkule mózgu stwierdzono nieprawidłowości uzwojenia w postaci licznych, drobnych zakrętów wnikaających w głąb istoty białej (ryc. 1). Liczba ich wzrastała ku tyłowi półkul mózgowych (ryc. 2). Zakręty powierzchowne były oddzielone płytkimi rowkami, natomiast zawoje leżące głębiej były połączone wspólną warstwą drobinową (ryc. 3 i 4). Kora mózgu wykazywała brak sześciowarstwowego zróżnicowania (ryc. 5). Nasilenie zaburzeń w budowie warstwowej kory było różne w poszczególnych zakrętach, dotyczyło jednak wszystkich płatów. Często obserwowano zróżnicowanie kory na cztery warstwy: drobinową, komórkową zewnętrzną (komórek ziarnistych i piramidowych), ubogokomórkową i komórkową wewnętrzną (komórek różnokształtnych — ryc. 6). Neurony kory mózgu przedstawiały się prawidłowo. Kora amonalna, kora mózdzku i pozostałe struktury szare nie wykazywały zmian. W istocie białej nad dolnym rogiem komory bocznej stwierdzono małe ognisko heterotopii komórkowej. Mielinizacja w stosunku do wieku dziecka była nieco opóźniona, ale przebiegająca w prawidłowej kolejności w poszczególnych strukturach mózgu (ryc. 7), pnia i mózdzku (ryc. 8).

OMÓWIENIE

W przedstawionym przypadku już wstępne badanie makroskopowe, określające wielkość i ciężar mózgowia, prowadziło do rozpoznania megalencefalii. Badaniem mikroskopowym stwierdzono nieprawidłowości w uzwojeniu półkul mózgowych i budowie warstwowej kory mózgu, małe ognisko heterotopii komórkowej i opóźniony proces mielinizacji przy braku zmian w komórkach nerwowych i w istocie białej. W związku z powyższym istniejące wielkomózgowie zaliczono do przypadków megalencefalii związanej z zaburzeniami rozwojowymi.

Rozpoznanie mikropoligirii oparte było na charakterystycznych nieprawidłowościach uzwojenia i warstwowej budowy kory, będących następstwem zaburzeń rozwojowych. Według Monakowa (1926) czterowarstwowa kora powstaje jako wynik zahamowania migracji i różnicowania się komórek nerwowych. U człowieka migracja neuroblastów z okołokomorowej warstwy rozrodczej w kierunku kory odbywa się pomiędzy drugim i piątym miesiącem życia płodowego. W szóstym miesiącu życia płodowego kora mózgu ulega zróżnicowaniu na sześć warstw. Badania doświadczalne przeprowadzone na myszach wykazały, że każda nowa warstwa kory powstaje powierzchnie do utworzonej poprzednio, czyli że najwcześniej migrują komórki warstw leżących bliżej istoty białej (Angevine i Sidman 1961, 1962; Angevine 1963). Zaobserwowano rów-

nież, że duże neurony migrują wcześniej, np. komórki Betza i Purkinje-go zjawiają się pierwsze w odpowiednich polach. Wspomniani autorzy przypuszczają, że w podobny sposób odbywa się migracja w mózgu ludzkim. Czynnikiem powodujący zaburzenie migracji jest nie znany. W przypadku mikropoligirii brano pod uwagę wirus cytomegalii, pewną rolę przypisuje się również zaburzeniom przemiany aminokwasów (cyt. według Hanaway i wsp. 1968).

Opisany przypadek zaliczyliśmy do grupy tzw. późnych wad rozwojowych, dotyczących najmłodszych filogenetycznie struktur szarych kresomózgowia, ze względu na niemal wybiórcze uszkodzenie *neopalium* i rodzaj nieprawidłowości uzwojenia oraz budowy wewnętrznej kory mózgowej.

Л. Дыдык, Е. Канси

СЛУЧАЙ МЕГАЛЕНЦЕФАЛИИ С МИКРОПОЛИГИРИЕЙ

Резюме

Авторы описали случай ребенка мужского рода с мегаленцефалией и микрополигией, который умер в возрасте 7 месяцев на воспаление легких. Микроскопическое исследование мозга показало патологическое строение коры мозга, а также опоздание миелинизации и отдельные огнива гетеротопии в белом веществе. По мнению авторов, этот случай относится к группе так называемых поздних нарушений развития.

L. Dydyk, J. Kansy

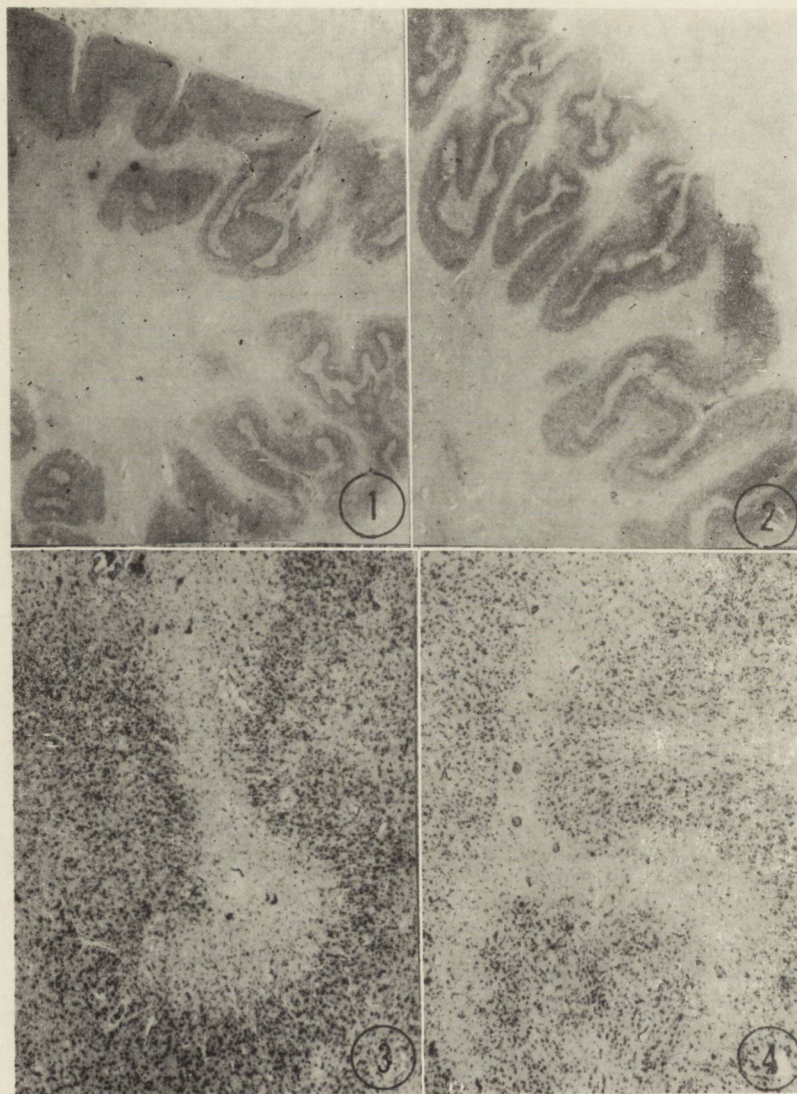
MEGALENCEPHALY WITH POLYMICROGYRIA — CASE REPORT

Summary

The authors presented a case of a male child with megalencephaly and polymicrogyria who at the age of 7 months died of pneumonia. Microscopic examination of the brain revealed abnormal structure of cerebral cortex, the presence of heterotopic focus and delayed myelination in the white matter. In authors' opinion the presented case belongs to the group of so-called late developmental malformations.

PIŚMIENNICTWO

1. Angevine J. B., Sidman R. L.: Autoradiographic study of cell migration during histogenesis of cerebral cortex in the mouse. *Nature*, 1961, 192—766.
2. Angevine J. B., Sidman R. L.: Autoradiographic study of histogenesis in the cerebral cortex of the mouse (abstract). *Anat. Rec.* 1962, 142—210.
3. Angevine J. B.: Autoradiographic study of the histogenesis in the hippocampal formation of the mouse (abstract). *Anat. Rec.* 1963, 145—201.



Ryc. 1. Nieprawidłowe uzwojenie w płacie czołowym. Fiolet kryzylu. Pow. lupowe.

Fig. 1. Convolutional abnormality in frontal lobe. Cresyl violet. Magn. glass.

Ryc. 2. Nieprawidłowe uzwojenie w płacie ciemieniowym. Fiolet kryzylu. Pow. lupowe.

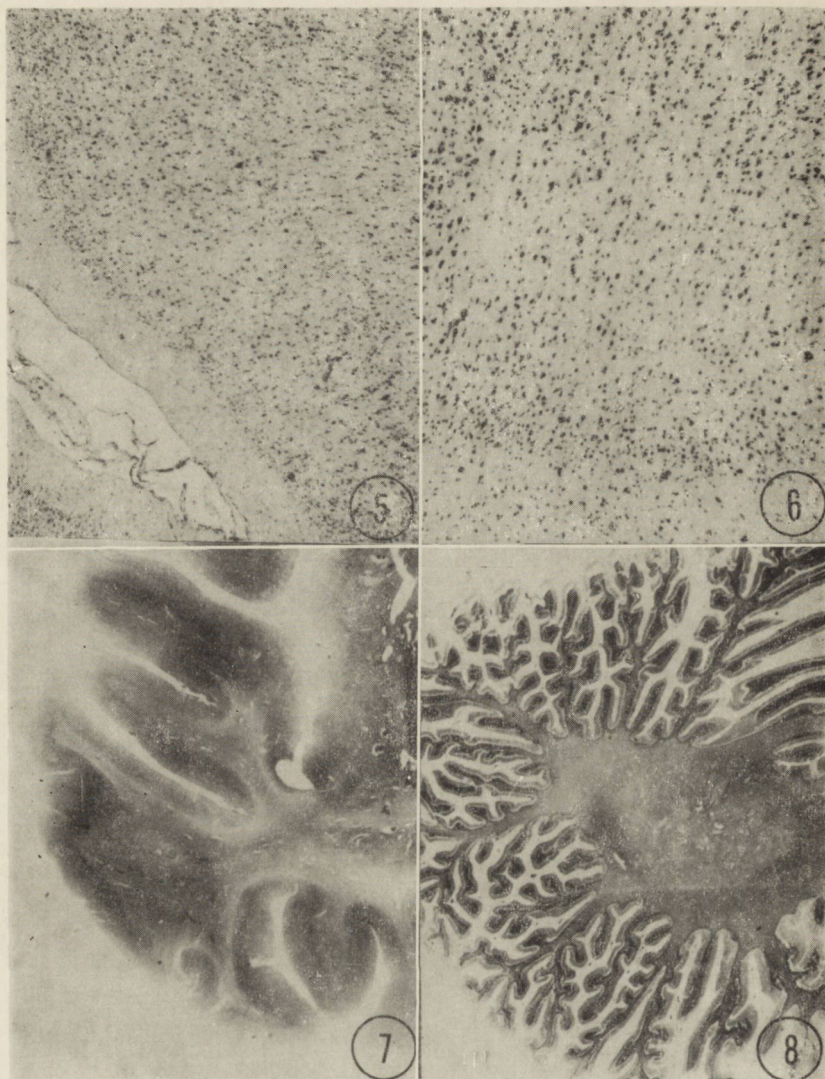
Fig. 2. Convolutional abnormality in parietal lobe. Cresyl violet. Magn. glass.

Ryc. 3. Zawoje kory płata ciemieniowego. Fiolet kryzylu. Pow. 30 ×.

Fig. 3. Gyri of frontal cortex. Cresyl violet. × 30.

Ryc. 4. Zawoje kory płata ciemieniowego. Fiolet kryzylu. Pow. 30 ×.

Fig. 4. Gyri of parietal cortex. Cresyl violet. × 30.



Ryc. 5. Niezróżnicowana warstwowo kora płata czołowego. Fiolet krezyłu. Pow. 30 ×.

Fig. 5. Nondifferentiated cortex of frontal lobe. Cresyl violet. × 30.

Ryc. 6. Czterowarstwowa kora płata ciemieniowego. Fiolet krezyłu. Pow. 60 ×.

Fig. 6. Four-layer cerebral cortex of parietal lobe. Cresyl violet. × 60.

Ryc. 7. Opóźniona mielinizacja w istocie białej płata skroniowego. Met. Heidenhaina. Pow. lupowe.

Fig. 7. Delayed myelination in temporal white matter. Heidenhain meth. Magn. glass.

Ryc. 8. Opóźniona mielinizacja w istocie białej półkuli mózdzku. Met. Heidenhaina. Pow. lupowe.

Fig. 8. Delayed myelination in cerebellar white matter. Heidenhain meth. Magn. glass.

4. Bielschowski M.: Handbuch der Neurologie, Berlin, 1914, Band IV.
5. Bogaert Van L., Bertrand I.: Spongy Degeneration of the Brain in Infancy. North-Holand Publishing Company, Amsterdam, 1967, 120—121.
6. Crome L.: Microgyrie. J. of Pathology and Bacteriology, 1952, 64, 479—495.
7. Crome L.: Megalencephaly associated with hyaline panneuropathy. Brain, 1953, 76, 215—228.
8. Dekaban A.: Developmental Anatomy and Physiology of the Central Nervous System from Birth to Two Years of Age. In: Neurology of Infancy. Baltimore, 1959, 1—37.
9. Friede R. L.: Alexander's Disease. Arch. Neurol. 1964, 11, 414—442.
10. Hanaway J., See Ik Lee, Netsky N. C.: Pachygyria: relation of findings to modern embriologic concepts. Neurology (Minneapolis), 1968, 18, 8, 791—799.
11. Monakow V.: Biologisches u. Morphogenet. uber die Microcephalia vera. Schweiz. Arch. f. Neur. u. Psych., 1926, 18.
12. Norman R. M.: Malformations of the nervous system, birth injury and diseases of early life. Greenfield's Neuropathology, 1963, 324—440.
13. Schob F.: Pathologische Anatomie der Idiotie. In: Handbuch des Geisteskrankheiten, ed. O. Bumke, Berlin, 1930. Vol. XI, Part VII.
14. Ostertag B.: Die Einzelformen der Verbildungen. Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie und Histologie. O. Lubarsch, F. Henke, R. Rössle. Springer-Verlag, 1956, XIII/4, 363—601.

Adres autora: Zespół Neuropatologii, ul. Pasteura 3, Warszawa

BOŻENA GALAS-ZGORZALEWICZ

AKTYWACJA I INKORPORACJA AMINOKWASÓW WE FRAKCJACH PODKOMÓRKOWYCH W ROZWOJU ONTOGENETYCZNYM MÓZGU KRÓLIKA

STRESZCZENIE PRACY HABILITACYJNEJ

Klinika Neurologii Instytutu Chorób Układu Nerwowego i Narządów Zmysłów
Akademii Medycznej w Poznaniu

Badania procesów biosyntezy białka w rozwijającym się układzie nerwowym były wielokrotnie przeprowadzane w różnych układach bezkomórkowych (Fellous i wsp. 1973, Johnson 1968, Wender, Zgorzalewicz 1969, Zgorzalewicz 1973 a, b). Powszechnie przyjęto koncepcję, że w miarę postępu w rozwoju układu nerwowego następuje znaczne obniżenie procesów biosyntezy białka, jakkolwiek dotąd nie jest wyjaśniony mechanizm tego zjawiska.

W badaniach własnych podjęto przeto próbę wykazania współzależności między intensywnością aktywacji 20 aminokwasów naturalnie występujących w białkach i inkorporacji ^{14}C leucyny i ^{14}C fenyloalaniny do białek niektórych frakcji podkomórkowych mózgu a dojrzewaniem morfologicznym ośrodkowego układu nerwowego. Badania przeprowadzano w okresach rozwojowych mających istotne znaczenie dla rozwoju organizmu a w szczególności podczas mielinizacji włókien nerwowych. Stosując technikę rozdziału białek osłonki mielinowej na żelu poliakrylamidowym, prześledzono przebieg procesów biosyntezy poszczególnych białek mieliny w różnych okresach od podania piętna izotopowego.

MATERIAŁ I METODY

Badania dotyczyły królików w 1, 12, 30, 48 i 180 dniu życia pozapłodowego. Włączenie znakowanej jednolicie ^{14}C leucyny i ^{14}C fenyloalaniny do nierozpuszczalnych białek frakcji pomitochondrialnej istoty szarej i białej mózgu królika przeprowadzano posługując się metodą podaną

przez Johnsona (1968). Badania aktywności syntetaz amino acylo sRNA * wykonywano we frakcji pH 5, preparowanej według sposobu opisanego przez Szafrąńskiego i Sułkowskiego (1958) w tych samych stadiach, stosując metodę zależnej od aminokwasów wymiany ^{32}PPi z ATP według De Moss i Novelliego (1956). Wbudowywanie ^{14}C leucyny i ^{14}C fenyloalaniny do białek osłonki mielinowej przeprowadzano *in vitro* posługując się metodą podaną przez Rawlins i Smith (1971) i *in vivo* według metody Smith (1972). Mielinę izolowano przez ultrawirowanie w gradencie nieciągłym gęstości sacharozy w oparciu o sposób podany przez Nortona (1971). Kontrolę czystości uzyskanej frakcji mielinowej przeprowadzano przy użyciu mikroskopu elektronowego. Białka mielinę rozdzielano elektroforetycznie na 12% żelu poliakrylamidowym w obecności dodecylu-siarczanu sodowego (SDS) stosując metodę opisaną przez Waechnełda i Mandla (1972), przystosowaną do badań w rozwijającym się układzie nerwowym (Zgorzalewicz i wsp. 1974). Pomiar radioaktywności poszczególnych skrawków żelu przeprowadzano posługując się sposobem Tishler i Epstein (1968). Masę cząsteczkową białek osłonki mielinowej oznaczano metodą Weber i Osborn (1969). Stężenie białka w badanych frakcjach podkomórkowych oznaczano metodą Lowry i wsp. (1951). W każdej grupie wieku przeprowadzono po 6 badań i wyniki przedstawiono w postaci średnich \pm błąd standardowy. Przy opracowaniu statystycznym wyników stosowano rozkład t-Studenta, testy analizy wariancji oraz badano korelację i regresję liniową.

Wyniki badań biochemicznych porównano z kryteriami dojrzewania somatycznego (Palladin 1955), jak również z rozwojem niektórych wykładników morfologicznych a w szczególności procesu mielinizacji (Wender, Zgorzalewicz 1969).

WYNIKI

Inkorporacja ^{14}C leucyny i ^{14}C fenyloalaniny do białek frakcji pomitochondrialnej była najintensywniejsza u zwierząt jednodniowych, po czym następowało znaczne obniżenie tego procesu. Wyniki uzyskane u królików 48 dniowych nie wykazywały istotnych różnic w porównaniu z wartościami uzyskanymi u zwierząt dojrzałych (Zgorzalewicz 1973 b). We wszystkich badanych okresach rozwojowych stwierdzano znamienne większą radioaktywność właściwą białek istoty szarej niż białej. Wykazano również w oparciu o przeprowadzoną analizę wariancji, że rozpatrywany model wbudowywania tych dwóch prekursorów do białek frakcji pomitochondrialnej wykazuje potęgową zależność względem czasu tak dla istoty szarej jak i białej mózgu.

*) 6.1.1. ligazy 1 — aminokwas: sRNA (AMP).

Aktywność właściwa 20 badanych syntetaz amino acylo sRNA wykazywała znaczne różnice w zależności od rodzaju aktywowanego aminokwasu. U noworodków znaczną aktywność wykazywały enzymy aktywujące aminokwasy z alifatycznym łańcuchem bocznym, w szczególności syntetaza walilo sRNA. Stwierdzono nieco mniejszą aktywność tych syntetaz, które aktywują aminokwasy zawierające grupy hydroksylowe lub atom siarki. Aktywność syntetazy swoistej dla kwasu glutaminowego była mniejsza niż dla glutaminy. Syntetaza arginylo sRNA w pierwszym dniu życia królika wykazywała znaczną aktywność w przeciwieństwie do pozostałych syntetaz swoistych dla aminokwasów zasadowych. Syntetaza tryptofanylo sRNA wykazywała największą aktywność właściwą w grupie enzymów aktywujących aminokwasy aromatyczne. W miarę dojrzewania ośrodkowego układu nerwowego zarówno w korze mózgowej jak i w istocie białej stwierdzano spadek aktywności właściwej poszczególnych syntetaz amino acylo sRNA. Stosując frakcję regresji względem czasu na przykładzie syntetazy leucylo sRNA i fenyloalaniny sRNA wykazano, że spadek ten udaje się opisać modelem paraboli 3 stopnia (Zgorzalewicz 1973 a).

Mielina izolowana sposobem Nortona (1971) w obrazie mikroskopowo-elektronowym wykazywała obecność licznych typowych blaszek mielinowych. Wykazano, że poczynając od 12 do 30 dnia życia pozapłodowego następuje największy przyrost białka ogólnego mielin. U królików 30 dniowych stwierdzono też największą radioaktywność właściwą białka mielin w badaniach *in vitro* na skrawkach tkanki nerwowej inkubowanych przez 2 godziny w medium zawierającym ^{14}C lecynę lub ^{14}C fenyloalaninę (Zgorzalewicz 1973 c). Badając włączanie tych 2 prekursorów do poszczególnych białek osłonki mielinowej po podaniu ich do zbiornika wielkiego wykazano, że najwyższą radioaktywność właściwą wykazywało białko Wolfgrama (1966), niższą proteolipid, a następnie białko opisane przez Agrawala i wsp. (1972) i białko zasadowe. Masa cząsteczkowa wynosiła dla białka Wolfgrama $5.5 \cdot 10^4$ daltonów, dla proteolipidu $2.3 \cdot 10^4$, dla białka Agrawala $2.1 \cdot 10^4$, dla białka zasadowego $1.7 \cdot 10^4$ daltonów. W badaniach inkorporacji ^{14}C leucyny i ^{14}C fenyloalaniny do poszczególnych białek mielin po 2, 6 i 12 godzinach od podania aminokwasów drogą nakłucia podpotylicznego wykazano, że po 6 godzinach występowało największe wbudowywanie piętna, aby po 12 godzinach ulec obniżeniu w stopniu zależnym od rodzaju białka mielinowego. Proces ten najintensywniej przebiegał w białku Wolfgrama a najteowolniej w białku zasadowym. Zarówno w badaniach *in vitro* jak i *in vivo* radioaktywność właściwa białka osłonki mielinowej była wyższa po podaniu ^{14}C leucyny niż ^{14}C fenyloalaniny, przy czym zaznaczyły się również różnice w proporcjach wbudowanego piętna pomiędzy poszczególnymi białkami mielinowymi.

DYSKUSJA

Najintensywniejszą aktywację aminokwasów we frakcji pH 5 i inkorporację ^{14}C leucyny i ^{14}C fenyloalaniny do białek frakcji pomitochondrialnej mózgu królika stwierdzono w okresie noworodkowym. W okresie tym występuje glioza mielinizacyjna (Wender i wsp. 1969), wydłużanie się wypustki osiowej i tworzenie połączeń synaptycznych jak również rozwój sieci dendrytów (Wender 1972). Mielinizacja aksonów występująca u królika w największym nasileniu około 30 dnia życia pozapłodowego (Wender, Zgorzalewicz 1969) przypada na okres obniżania się biosyntezy białka w tych układach bezkomórkowych. Uzyskane wyniki wskazują ponadto, że obniżenie włączania ^{14}C aminokwasów do białek rozwijającego się układu nerwowego jest wynikiem zmniejszającej się wraz z wiekiem aktywności enzymów aktywujących aminokwasy. Potwierdza to spostrzeżenie Fellous i wsp. (1973) dotyczące spadku aktywności syntetazy leucylo sRNA w mózgu pomiędzy 9 a 50 dniem życia pozapłodowego szczura i rozszerza je poprzez wykazanie obniżenia aktywności swoistej enzymów aktywujących wszystkie 20 aminokwasów w toku rozwoju ontogenetycznego.

Przeprowadzone badania biosyntezy białka w osłonce mielinowej wykazały, że dynamika wbudowywania piętna izotopowego w przedziale czasu objętym badaniem zależy od wieku zwierzęcia. Badania Rawlins i Smith (1971) wykazały również znaczny spadek inkorporacji *in vitro* ^{14}C leucyny do białek mieliny szczura występujący pomiędzy 25 dniem a 2 miesiącem życia pozapłodowego. Stwierdzony rozkład radioaktywności właściwej, zależny od rodzaju białka i czasu, jaki upłynął od podania radioaktywnych prekursorów, jest częściowo porównywalny z wynikami badań Smith (1972) nad wbudowywaniem się ^{14}C leucyny i ^{14}C glicyny do białek osłonki mielinowej izolowanej z mózgu szczurów 38 dniowych po 1 i 3 dniach od podania do zbiornika wielkiego tych radioizotopów. Największą radioaktywność właściwą i najszybszą przemianę wykazywało białko Wolfgrama a następnie w kolejności proteolipid i białko zasadowe (Zgorzalewicz 1974).

Zastosowana w badaniach własnych biosyntezy białek mieliny technika elektroforezy na żelu poliakrylamidowym (Zgorzalewicz i wsp. 1974), o większej zdolności rozdzielczej niż dotąd stosowane metody ilościowego rozdzielu białek osłonki mielinowej (Smith 1972, Wolfgram 1966), umożliwiła porównywanie radioaktywności właściwej poszczególnych białek mieliny poczynając już od 12 dnia życia pozapłodowego królika. Uzyskane wyniki wykazały w przeciwieństwie do przyjętych powszechnie poglądów, że osłonka mielinowa jest metabolicznie czynna, a proces tworzenia jej składowych białkowych jest jednym z wykładników dojrzewania układu nerwowego.

WNIOSKI

1. Aktywacja i inkorporacja aminokwasów w układzie bezkomórkowym mózgu królika jest najintensywniejsza w okresie noworodkowym.
2. Procesy biosyntezy białka w ośrodkowym układzie nerwowym królika ulegają znacznemu obniżeniu w toku rozwoju ontogenetycznego.
3. W rozwijającym się układzie nerwowym kora mózgowa wykazuje znamienne wyższą niż istota biała aktywację i inkorporację aminokwasów.
4. Wbudowywanie znakowanych węglem aminokwasów do białek osłonki mielinowej wykazuje istotne różnice w zależności od wieku królika i rodzaju białka mielinowego.
5. Najwyższą radioaktywność właściwą po podaniu prekursorów wykazuje białko Wolfgroma, a następnie kolejno niższą proteolipid, białko Agrawala i białko zasadowe.

PIŚMIENNICTWO

1. Agrawal H. C., Burton R. M., Fishman M. A., Mitchell R. F., Prensky A. L.: Partial characterization of a new myelin protein component. *J. Neurochem.* 1972, 19, 2083—2089.
2. De Moss J. A., Novelli G. D.: An amino acid dependent exchange between ^{32}P labeled inorganic pyrophosphate and ATP in microbial extracts. *Biochim biophys. Acta* 1956, 22 49—61.
3. Fellous A., Francon J., Nunes J.: Protein synthesis by high aggregated and purified polysomes from young and adult rat brain. *J. Neurochem.* 1973, 21, 211—222.
4. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. biol. Chem.* 1951, 193, 265—275.
5. Johnson T. C.: Cell-free protein synthesis by mouse brain during early development. *J. Neurochem.* 1968, 15, 1189—1194.
6. Norton W. T.: Recent developments in the investigation of purified myelin. *Chemistry and Brain Development*. Wyd. Paleoletti R., Davison A. N., Plenum Press N. Y. 1971, 13, 327—337.
7. Palladin A. V.: Metabolism of nucleic acids in the brain during the development. *Biochemistry of the developing nervous system*. Wyd. Waelsch H. Acad. Press N. Y. 1955, 177—200.
8. Rawlins F. A., Smith M. E.: Myelin synthesis in vitro: a comparative study of central and peripheral nervous tissue. *J. Neurochem.* 1971, 18, 1861—1870.
9. Smith M. E.: The turnover of myelin proteins. *Neurobiology* 1972, 2, 35—40.
10. Szafrński P., Sułkowski E.: Activation of amino acids in various organs of the guinea pig. *Acta biochim. pol.* 1959, 6, 133—141.
11. Tishler P. V., Epstein C. J.: A convenient method of preparing polyacrylamide gels for liquid scintillation spectrometry. *Anal. Biochem.* 1968, 22, 89—98.
12. Waehneldt T. V., Mandel P.: Isolation of rat brain myelin, monitored by polyacrylamide gel electrophoresis of dodecyl sulfate — extracted proteins. *Brain Research* 1972, 40, 419—436.

13. Weber K., Osborn N.: The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate — polyacrylamide gel electrophoresis. *J. biol. Chem.* 1969, 244, 4406—4412.
14. Wender M., Kozik M., Owsianowski M.: A histoenzymatic study of neuroglia during myelination of the rabbit brain. *Folia histochem. cytochem.* 1969, 7, 135—150.
15. Wender M., Zgorzalewicz B.: Activation of amino acids in the developing rabbit brain. *Folia Biol.* 1969, 17, 159—166.
16. Wender M.: Maturation of neurons in the light of cytoenzymatic studies. *Intern. J. Neuroscience* 1972, 4, 131—136.
17. Wolfgram F.: A new proteolipid fraction of the nervous system. *J. Neurochem.* 1966, 13, 461—470.
18. Zgorzalewicz B.: Activity of sRNA amino acyl synthetases in ontogenic development of rabbit brain. *Biol. Neonate* 1973 a, 23, 161—170.
19. Zgorzalewicz B.: Cell-free protein synthesis in ontogenic development of rabbit brain. IX Intern. Congress of Biochemistry, Stockholm 1973 b, 200.
20. Zgorzalewicz B.: Włączanie ^{14}C leucyny i ^{14}C fenyloalaniny do białek osłonki mielinowej mózgu królika w rozwoju ontogenetycznym. XI Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, Białystok 1973 c, 131.
21. Zgorzalewicz B., Neuhoff V., Waehneltd T. V.: Rat myelin proteins. Compositional changes in various regions of the nervous system during ontogenic development. *Neurobiology* 1974, 4, 265—276.
22. Zgorzalewicz B.: Biosynteza białek mieliny w rozwijającym się układzie nerwowym królika. XII Zjazd Pol. Tow. Biochem., Warszawa, 1974, 159—160.

Adres autorki: Klinika Neurologii Instytutu Chorób Układu Nerwowego i Narządów Zmysłów AM, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań.

T R E Ś C

M. J. Mossakowski, Z. Kraśnicka, K. Renkawek: Wpływ glutaminianu sodu na obraz morfologiczny i histochemiczny gliopatii wywołanej przez amoniak i malonian sodu w warunkach hodowli <i>in vitro</i>	1
W. Sieiński: Badania nad patomorfologią mózgu w doświadczalnej ostrej chorobie popromiennej	11
I. B. Zelman, A. Pronaszko-Kurczyńska: Zmiany zawartości glikogenu w mózgu szczura w encefalopatii ouabainowej	21
Z. M. Rap, G. Szumańska, B. Gajkowska: Wpływ doświadczalnego „krwotoku podpajęczynówkowego” na gromadzenie się glikogenu w układzie podwzgórzowo-przysadkowym u królika	33
A. Danielewicz-Kotowicz: Zmiany mikroskopowo-elektronowe w przysadce szczura po adrenalectomii oraz po podaniu ACTH. II. Płat nerwowy przysadki	49
E. Osetowska, F. Luszawski: I. „Prolegomena” do badań doświadczalnych nad dziedziczną chorobą układu nerwowego na modelu królika „pt”	61
E. Osetowska, F. Luszawski, A. Taraszewska: II. Morfologia i klinika poronnych i ciężkich przebiegów choroby u królika „pt”	71
E. Osetowska, A. Taraszewska, F. Luszawski: III. Zmiany w układzie wzrokowym u królika „pt” (doniesienie wstępne)	87
H. Jędrzejowska, H. Drac, E. Sawicka: Mechanizm powstawania zmian typu „onion bulbs” w neuropatiach przerostowych typu Charcot-Marie-Tooth i Dejerine-Sottas	93
J. Rafałowska: W sprawie procesu starzenia się w rdzeniu kręgowym	107
K. Kucharska-Demczuk: Obraz cytologiczny płynu mózgowo-rdzeniowego w niektórych wirusowych zapaleniach opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu	121
L. Dydyk, J. Kansy: Przypadek megalencefalii z mikropoligurią	137
B. Gałas-Zgorzalewicz: Aktywacja i inkorporacja aminokwasów we frakcjach podkomórkowych w rozwoju ontogenetycznym mózgu królika (streszczenie pracy habilitacyjnej)	143

СОДЕРЖАНИЕ

М. Я. Моссаковский, З. Красьницка, К. Ренкавек: Влияние глутамата натрия на морфологическую и гистохимическую картину глиопатии, вызванной аммиаком и малонатом натрия в условиях культуры <i>in vitro</i>	1
В. Сеиньски: Исследования патоморфологии мозга при экспериментальной болезни вызванной облучением. I. Гистологические, гистохимические и гистоэнзиматические изменения	11
И. Б. Зельман, А. Пронашко-Курчиньска: Изменения в содержании гликогена в мозгу крысы в энцефалопатией оуабайновой	21
З. М. Рап, Г. Шуманьска Б. Гайковска: Влияние экспериментального субарахноидального кровотечения на отложение гликогена в гипоталамо-типофизарной системе	33
А. Данелевич-Котович: Изменения наблюдаемые в электронном микроскопе в гипофизе крысы после адреналектомии, и также после введения АКТГ. II Задняя доля гипофиза	49
Э. Осетовска, Ф. Лушавски: I. „Пролегомены” к экспериментальным исследованиям наследственных болезней нервной системы на модели кролика „рт”	61
Э. Осетовска, Ф. Лушавски, А. Тарашевска: II. Морфология и клиническая картина abortивного и тяжелого протекания болезни у кролика „рт”	71
Э. Осетовска, А. Тарашевска, Ф. Лушавски: III. Умения в зрительной системе у кролика „рт” (предварительное сообщение)	87
Г. Енджеёвска, Г. Драц, Е. Савицка: Механизм возникновения изменений типа „onion-bulbs” при гипертрофических невропатиях Шарко-Мари-Тус и Дежерин-Сотта	93
Я. Рафаловска: К вопросу о процессе старения в спинном мозге	107
К. Кухарска-Демчук: Цитологическая картина спинномозговой жидкости при некоторых воспалениях оболочек сринного и головного мозга у взрослых людей	121
Л. Дыдык, Е. Канси: Случай мегалоэнцефалии с микрополигией	137
Б. Галас-Згожалевич: Активация и инкорпорация нуклеиновых кислот в подклеточных фракциях в онтогенетическом развитии кролика (резюме докторской диссертации)	143

CONTENTS

M. J. Mossakowski, Z. Kraśnicka, K. Renkawek: Effect of sodium glutamate on the morphology and histochemistry of experimental gliopathy induced <i>in vitro</i> by ammonia and sodium malonate	1
W. Sieniński: Studies on pathomorphology of the brain in experimental acute postirradiative disease. Histological, histochemical and histoenzymatic changes	11
I. B. Zelman, A. Pronaszko-Kurczyńska: Glycogen content in rat brain in ouabain encephalopathy	21
Z. M. Rap, G. Szumańska, B. Gajowska: Influence of „experimental sub-arachnoid haemorrhage” on the occurrence of glycogen in the hypothalamo-hypophyseal system of rabbits	33
A. Danielewicz-Kotowicz: Electron microscopic changes in rat hypophysis after adrenalectomy and administration of ACTH. II. Neuronal lobe of hypophysis	49
E. Osetowska, F. Luszawski: I. „Prolegomena” to experimental studies on a hereditary disease of nervous system on the „pt” rabbit model	61
E. Osetowska, F. Luszawski, A. Taraszewska: II. Morphology and clinic of abortive and severe courses of the disease in „pt” rabbit	71
E. Osetowska, A. Taraszewska, F. Luszawski: III. Changes in the optic system of „pt” rabbit (preliminary report)	87
H. Jędrzejowska, H. Drac, E. Sawicka: The mode of formation of the „onion-bulbs” in Charcot-Marie-Tooth and Dejerine-Sottas hypertrophic neuropathies	93
J. Rafałowska: Histopathological alterations in ventral horn of spinal cord with aging	107
K. Kucharska-Demczuk: Cytological changes in the cerebrospinal fluid in certain cases of meningo-encephalitis and encephalitis of viral origin	121
L. Dydyk, J. Kansy: Megalencephaly with polymicrogyria — case report	137
B. Galas-Zgorzalewicz: Activation and incorporation of amino acids during the ontogenetic development of rabbit brain	143

WARUNKI PRENUMERATY

Cena prenumeraty krajowej:

rocznie — zł 100.—

półrocznie — zł 50.—

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

Prenumeratorzy indywidualni w terminie do 10 dnia miesiąca poprzedzającego okres prenumeraty mogą opłacać prenumeratę w urzędach pocztowych i u listonoszy, lub dokonywać wpłat na konto PKO Nr 1-6-100020 — R.S.W. „Prasa — Książka — Ruch” CKPiW, ul. Towarowa 28, 00-958 Warszawa.

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

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

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

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

Indeks 36910/36668

Zakł. Graf. „Tamka”. Z. 2. Zam. 547. Pap. ilustr. kl. III g. 80 g. B1.

Nakład 487 + 23 egz. Ark. druk. 9,5 + 0,5 + 2,125. B-34.