

Ewa Matyja

Obraz Morfologiczny Uszkodzeń  
Tkanki Nerwowej i Glejowej Prążkowiec  
i Mózdzku po Podaniu Kwasu Kainowego  
Badania In Vivo i In Vitro

Warszawa 1982

dublet 2584

EWA MATYJA



OBRAZ MORFOLOGICZNY USZKODZEŃ  
TKANKI NERWOWEJ I GLEJOWEJ PRĄŻKOWIA I MOZDŻKU  
PO PODANIU KWASU KAINOWEGO  
BADANIA IN VIVO I IN VITRO

Praca doktorska

Promotor:

Doc. dr hab. med. KRYSZYNA RENKAWEK

Zespół Neuropatologii  
Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN  
W a r s z a w a 1982

Składam gorące podziękowanie Pani Docent dr hab. med. Krystynie Renkawek za opiekę przez cały okres studiów doktoranckich oraz za cenne rady i wskazówki przy opracowywaniu materiału.

Serdecznie dziękuję Panu Profesorowi dr hab. med. Mirosławowi J. Mossakowskiemu, Kierownikowi Zespołu Neuropatologii CMDiK, za ukierunkowanie badań doświadczalnych oraz uwagi merytoryczne, pomocne w nadaniu ostatecznego kształtu pracy.

Pragnę wyrazić wdzięczność Panu Profesorowi dr hab. Maciejowi Grabskiemu za umożliwienie wykonania badań w Pracowni Mikroskopii Elektronowej Inżynierii Materiałowej Politechniki Warszawskiej oraz Panu Inżynierowi Witoldowi Zielińskiemu za szkolenie i pomoc w obsłudze mikroskopu elektronowego.

Wyrazy podziękowania należą się Pani Wandzie Ciesielskiej za przygotowywanie materiału do badań mikroskopowych oraz Pani Elżbiecie Karbownickiej za pomoc techniczną.

Dziękuję Panu Ryszardowi Szopińskiemu, Pani Lucynie Piotrowskiej i Pani Lidii Jeżak za szczególnie starannie wykonaną dokumentację fotograficzną.

Pani Wandzie Dziedzic dziękuję za uważne przepisanie pracy.

Wszystkim moim Koleżankom i Kolegom składam gorące podziękowanie za życzliwość i słowa otuchy, które pomogły mi wytrwać do końca.

## S P I S T R E Ś C I

WSTĘP .....	1
CEL PRACY .....	11
MATERIAŁ I METODY	
Doświadczenie in vivo .....	12
Doświadczenie in vitro .....	15
WYNIKI	
Objawy kliniczne po stereotaktycznym podaniu kwasu kainowego do prądkowia .....	18
Obraz morfologiczny prądkowia po stereotaktycznym podaniu kwasu kainowego - obserwacje w mikroskopie świetlnym .....	19
Obraz ultrastrukturalny prądkowia - materiał kontrolny .....	21
Obraz ultrastrukturalny prądkowia po stereotaktycznym podaniu kwasu kainowego .....	23
Obraz morfologiczny komórek nerwowych i glijowych w hodowli organotypowej prądkowia po podaniu kwasu kainowego .....	40
Obraz morfologiczny komórek nerwowych i glijowych w hodowli organotypowej mózdzku po podaniu kwasu kainowego .....	47
OMÓWIENIE WYNIKÓW .....	52
WNIOSKI .....	74
PIŚMIENICTWO .....	76

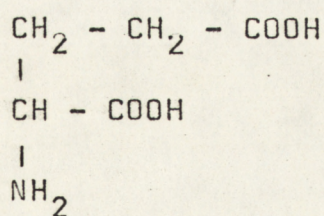
## W S T Ę P

Pojęcie chorób zwyrodnieniowych ośrodkowego układu nerwowego /OUN/ obejmuje układowe procesy patologiczne o niejasnej etiologii, w których dochodzi do postępujących zmian dystroficznych komórek nerwowych i ich wypustek. Uszkodzeniom komórek nerwowych towarzyszy zwykle rozplem i przerost gleju astrocytarnego, a w późniejszym okresie glejoza włóknista. W przebiegu różnych procesów zwyrodnieniowych zajęte są określone okolice mózgu o odrębnej organizacji strukturalno-czynnościowej, co zależy prawdopodobnie od odmiennych mechanizmów neuromediacyjnych lub istotnych różnic metabolicznych.

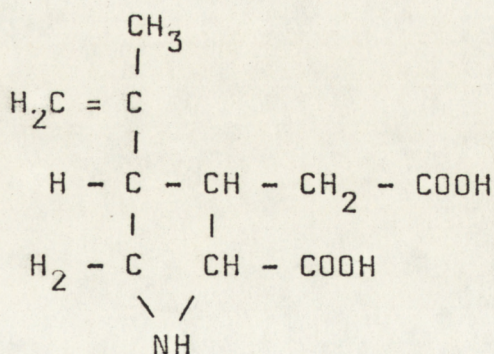
Odkrycie substancji neurotoksycznych, wywołujących wybiórcze uszkodzenie pewnych typów komórek nerwowych w OUN ssaków, stworzyło nowe możliwości badań doświadczalnych nad procesami zwyrodnieniowymi. Przedmiotem szczególnego zainteresowania stał się kwas kainowy, analog strukturalny glutaminianu, zaliczany do tzw. związków pobudzająco-toksycznych /Johnston i wsp. 1974, Olney i wsp. 1974, Biscoe i wsp. 1976, Shinozaki 1978/. Znaczenie analogów strukturalnych glutaminianu wzrosło z chwilą udowodnienia, że L-glutaminian jest nie tylko związkiem uszkadzającym neurony OUN /Olney 1971, Olney i wsp. 1971, 1972, Olney, de Gubareff 1978 a/ lecz stanowi również

potencjalny przekaźnik synaptyczny o właściwościach pobudzających /Curtis i wsp. 1972, Johnson 1972, Curtis, Johnston 1974, Nadler i wsp. 1976, Cox, Bradford 1978/. Spośród poznanych obecnie kilkudziesięciu aminokwasów wykazujących strukturalne podobieństwo do glutaminianu, kwas kainowy odznacza się najsilniej wyrażonym wpływem neurotoksycznym /Watkins 1978, Takemoto 1978/, co zostało wykorzystane w licznych badaniach doświadczalnych.

Kwas kainowy, początkowo zwany kwasem digenowym, został wyizolowany w 1953 roku z glonów morskich *Digenea Simplex* /Murakami i wsp. 1953/ używanych poprzednio do leczenia pasożytniczych zakażeń jelitowych /Shinozaki, Konishi 1970/. Ustalono, że cząsteczka kwasu kainowego zawiera całą cząsteczkę kwasu glutaminowego z nienaruszonymi grupami aktywnymi oraz heterocykliczny pierścień piroli-dynowy.



kwas glutaminowy



kwas kainowy /2-karboxy-3-karboxy-  
metylo-4-izopropylopirolidyna/

Badania doświadczalne na zwierzętach wykazały, że kwas kainowy podany bezpośrednio do mózgu powoduje zniszczenie ciał komórek nerwowych i dendrytów w miejscu iniekcji, natomiast nie uszkadza aksonów oraz zakończeń nerwów aferentnych /McGeer, McGeer 1976, Hattori, McGeer 1977, Coyle i wsp. 1978 a, Divac i wsp. 1978, McGeer, McGeer 1978/. Niektóre komórki nerwowe są bardziej wrażliwe na działanie kwasu kainowego i ulegają wybiórczym uszkodzeniom. Stanowi to zmienną i powtarzalną cechę obrazu neuropatologicznego i występuje po podaniu kwasu kainowego do różnych struktur układu nerwowego, takich jak pień mózgu /Bird i wsp. 1978, Colonnier i wsp. 1979, Denavit-Saubie i wsp. 1980, De Montigny, Lund 1980/, istota czarna /Morelli i wsp. 1980/, gałka biała /DeLong, Coyle 1979, Rieke 1980/, międzymózgowie /Olney, de Gubareff 1978 b/ oraz siatkówka /Schwarcz, Coyle 1977 c, Yazulla, Kleinschmidt 1980, Guarneri i wsp. 1981, Hampton i wsp. 1981, Morgan, Ingham 1981/. Podanie kwasu kainowego do mózdzku *in vivo* /Herndon, Coyle 1977, 1978, Snider, Snider 1979, Tran, Snyder 1979/ i *in vitro* /Seil i wsp. 1978, 1979/ powoduje powstanie wybiórczych zwyrodnień komórek Purkinjego, koszyczkowych, gwiaździstych i Golgi II przy jednoczesnym zaoszczędzeniu komórek ziarnistych. Wyjątkową wrażliwość na działanie kwasu kainowego wykazują ponadto komórki piramidowe pola H3 i H4 zakrętu hipokampa zarówno po bezpośrednim podaniu kwasu kainowego do rogu Amona /Fonnum, Walaas 1978, Schwarcz i wsp. 1978, Munoz, Grossman 1980,

Śmiałowski 1980/, jak i do komory bocznej /Nadler i wsp. 1978 a, b, Nadler 1980 a,b/.

W toku badań doświadczalnych na zwierzętach z użyciem kwasu kainowego otrzymano dwa modele zwierzęce, które znalazły szerokie zastosowanie w pracach morfologicznych oraz badaniach biochemicznych i farmakologicznych. Pierwszy z nich to model stanu padaczkowego uzyskany po mikroiniekcji kwasu kainowego do ciała migdałowatego /Ben-Ari i wsp. 1978, 1979, 1980 b/. Drugi, stanowiący model choroby zwyrodnieniowej jąder podstawy, otrzymano po stereotaktycznym podaniu kwasu kainowego w dawce 0,5-10 nmoli do prążkowiec szczura. Powstające w tym przypadku zmiany w prążkowiecu odpowiadają swym obrazem morfologicznym oraz zmianami enzymatycznymi zaburzeniom stwierdzanym w badaniach pośmiertnych pacjentów z chorobą Huntingtona /McGeer, McGeer 1976, Coyle i wsp. 1977, Coyle 1979, Mason, Fibiger 1979/.

Choroba Huntingtona u ludzi stanowi zaburzenie warunkowane genetycznie, przenoszone przez gen autosomalnie dominujący. Należy ona do grupy chorób zwyrodnieniowych o postępującym przebiegu i zwykle prowadzi do śmierci w ciągu 15 lat od pojawienia się pierwszych objawów klinicznych. W większości przypadków choroba rozpoczyna się między 20 a 50 rokiem życia i manifestuje stopniowo narastającym otępieniem oraz obecnością ruchów mimowolnych. Napięcie mięśniowe jest zazwyczaj obniżone, znane są jednak przypadki tak zwanego typu Westphala, w których rozwija się



zespół hipertoniczno-akinetyczny zbliżony do zespołu Parkinsona /Bruyn 1968/. W przebiegu choroby mogą występować zaburzenia psychiczne w postaci zespołu depresyjnego lub depresyjno-maniakalnego. Istotą procesu patologicznego są narastające zaniki w obrębie jąder podstawy, przy czym najbardziej nasilone zmiany dotyczą jądra ogoniastego i skorupy. W strukturach tych dominują ubytki małych neuronów z towarzyszącym rozplemem komórek glejowych typu astrocytarnego. W przypadkach, w których występuje sztywność mięśni i akineza zwyrodnieniu ulegają również duże neurony prążkowie. Wśród zwyrodniałego neuropilu obecne są pęczki nieuszkodzonych włókien torebki wewnętrznej. Rozległe ubytki komórek nerwowych stwierdzono również w bocznej części gałki bladej oraz w głębokich warstwach kory mózgu /Bruyn 1968, Barbeau 1973, Bruyn 1973, Rozin i wsp. 1976/. W badaniach biochemicznych wykazano znamienne obniżenie poziomu kwasu  $\gamma$ -aminomasłowego /GABA/ oraz spadek aktywności dekarboksylazy kwasu glutaminowego /GAD/ w obrębie tkanek prążkowie, gałki bladej i istoty czarnej, co wskazuje na zwyrodnienie neuronów GABA-ergicznych /Bird i wsp. 1973, Perry i wsp. 1973, Fisher i wsp. 1974, Perry i wsp. 1974, Stahl, Swanson 1974, Bird, Iversen 1977, Ando i wsp. 1979/. W późniejszym okresie choroby pojawia się obniżenie aktywności acetylotransferazy cholinowej w prążkowie, stanowiącej biochemiczny wyznacznik dla neuronów cholinergicznych /McGeer i wsp. 1973, Bird, Iversen 1974, McGeer i wsp. 1976/, natomiast poziom dopaminy oraz aktywność hydroksy-

lasy tyrozyny /TH/ nie ulegają zmianom /Bernheimer, Horynkiewicz 1973, Bunney, Aghajanian 1976/.

W porównaniu z patologią stwierdzoną w obrębie jąder podstawy w chorobie Huntingtona u ludzi, uszkodzenia wywołane jednorazowym podaniem kwasu kainowego do prądkowia szczura wykazują analogiczne ubytki neuronów prądkowia, proliferację gleju oraz obecność niezmiennych zakończeń nerwów aferentnych i wypustek aksonalnych /Coyle, Schwarcz 1976, Hattori, McGeer 1977, Coyle i wsp. 1978 a, b, Divac i wsp. 1978, Coyle 1979/. Zaburzenia biochemiczne stwierdzane w modelu zwierzęcym choroby Huntingtona odpowiadają zmianom biochemicznym typowym dla płasawicy przewlekłej u ludzi i polegają na 70-80% spadku poziomu enzymów syntetyzujących neurotransmitery dla neuronów GABA- i cholinergicznych przy niezmiennym lub nieznacznie podwyższonym poziomie aktywności hydroksylazy tyrozyny /Coyle, Schwarcz 1976, Coyle i wsp. 1977, Fibiger 1977, Schwarcz, Coyle 1977 a, b, Butcher, Rogers 1978, Friedle i wsp. 1978, Mason, Fibiger 1978, Lehmann, Fibiger 1979, Schwarcz i wsp. 1980/. Wyniki uzyskane w badaniach morfologicznych i biochemicznych sugerują więc, że uszkodzenie po kwasie kainowym ograniczone jest do wewnętrznych neuronów GABA- i cholinergicznych, natomiast aksony i zakończenia aksonalne pochodzące od dopaminergicznych neuronów istoty czarnej nie wykazują oznak zwyrodnienia.

Obserwacje mikroskopowo-elektronowe wykazały charakterystyczną kolejność powstawania zmian patologicznych;

najwcześniejsze zmiany zwyrodnieniowe pojawiają się w ciele komórki nerwowej, a następnie obejmują dendryty, małe aksony oraz niektóre kolbki końcowe /Hattori, McGeer 1977/.

Dokładny mechanizm, w jaki kwas kainowy wywiera swój wpływ neurotoksyczny nie jest dotychczas w pełni wyjaśniony. Ogólnie przyjmuje się, że w działaniu kwasu kainowego biorą udział receptory glutaminowe /McGeer i wsp. 1977, Nadler 1979/, a wybiórczość uszkodzeń komórkowych zależy od nadmiernego pobudzenia neuronów posiadających takie receptory /McGeer, McGeer 1976, Biziere, Coyle 1979 a, Johnston i wsp. 1979/. Według tej hipotezy kwas kainowy i inne analogi strukturalne glutaminianu mogą aktywować receptory glutaminowe, powodując przedłużoną depolaryzację błony komórkowej oraz przesunięcia jonowe przekraczające wydolność pompy jonowej przywracającej i utrzymującej prawidłową różnicę potencjałów wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych. Wszystkie te zaburzenia prowadzą w konsekwencji do śmierci komórki. Pozostawienie niezmiennych aksonów i zakończeń synaptycznych zależy prawdopodobnie od rozmieszczenia receptorów glutaminowych wyłącznie na błonie postsynaptycznej dendrytów i perikarionów komórek nerwowych /Schwarcz, Coyle 1977 a, Olney 1978, Beaumont i wsp. 1979/.

Ostatnio przeprowadzone badania wykazały, że glutaminian i kwas kainowy działają na odrębne receptory /Hall i wsp. 1978, Henke, Cuenod 1979, Seil i wsp. 1979, Schwarcz, Köhler 1980/. Wysoka wrażliwość pewnych typów neuronów za-

leży jednak od obecności unerwienia glutaminergicznego, o czym świadczy zmniejszenie efektu toksycznego kwasu kainowego po uszkodzeniu ciągłości drogi glutaminergicznej /Biziere, Coyle 1978 b, Köhler i wsp. 1978, McGeer i wsp. 1978 a, Nadler, Cuthbertson 1980, Streit i wsp. 1980, Nadler i wsp. 1981/. Kwas kainowy może działać poprzez wpływ na uwalnianie glutaminianu, hamowanie jego wychwytu lub też poprzez tworzenie toksycznych metabolitów /Cox, Bradford 1978, McGeer i wsp. 1978 b/. Do otrzymania uszkodzeń komórek nerwowych przez kwas kainowy konieczna jest również obecność samego glutaminianu w tkance /Biziere, Coyle 1979 b/. Nie można wykluczyć istnienia pewnych odrębnych receptorów, swoistych dla kwasu kainowego, wyspecjalizowanych jednocześnie do interakcji z synaptycznie uwalnianym glutaminianem.

Mimo przeprowadzenia licznych badań morfologicznych i biochemicznych istnieją nadal rozbieżności co do wybiórczego działania kwasu kainowego na pewne tylko typy komórek nerwowych oraz co do całkowitej oporności aksonów i zakończeń aksonalnych pochodzących od neuronów położonych poza uszkodzoną strukturą /Wuerthele i wsp. 1978, Nadler 1979, Wooten, Collins 1980/. Zaoszczędzenie znacznej liczby zakończeń nerwów aferentnych i aksonów /Di Chiara i wsp. 1977, Simson i wsp. 1977, Nagy i wsp. 1978/ nie wyklucza możliwości uszkodzenia wypustek aksonalnych po długim okresie przeżycia jako kontynuacji procesów zwyrodnieniowych /Zaczek i wsp. 1978 b/. Przykładem tego są badania Meibacha

i wsp. /1978/ oraz Wuerthela i wsp. /1978/, które wykazały ubytek zakończeń nerwów aferentnych oraz uszkodzeń włókien torebki wewnętrznej po podaniu kwasu kainowego do prążkowiec.

Pełne wyjaśnienie mechanizmu neurotoksycznego działania kwasu kainowego może pomóc w zrozumieniu procesów leżących u podłoża zmian zwyrodnieniowych w chorobie Huntingtona, które prawdopodobnie zależeć mogą od zaburzeń w uwalnianiu glutaminianu lub nadwrażliwości receptorów glutaminowych. Można przypuszczać, że kwas kainowy ze względu na swoje strukturalne podobieństwo do glutaminianu może uszkadzać w sposób bezpośredni lub pośredni połączenia synaptyczne, w których glutaminian pełni rolę potencjalnego neurotransmitera. Dotychczas nie ustalono, czy istnieją synapsy sensu-stricto glutaminergiczne, wydaje się jednak, że w zaburzeniach w układzie glutaminergicznym mogą uczestniczyć elementy presynaptyczne lub postsynaptyczne. Dlatego też przedmiotem obecnych badań prowadzonych na modelu doświadczalnym choroby Huntingtona były zmiany ultrastrukturalne nie tylko w obrębie komórek nerwowych i ich wypustek, ale przede wszystkim zmiany w obrębie połączeń synaptycznych prążkowiec.

Odpowiedź elementów pozaneuronalnych w postaci proliferacji komórek glejowych stanowi powszechne zjawisko towarzyszące różnym procesom patologicznym OUN i występuje zarówno w chorobie Huntingtona, jak i w doświadczeniach z użyciem kwasu glutaminowego i kainowego /Lemkey-Johnston

i wsp. 1976, Coyle i wsp. 1978 a/. Odczyn ze strony gleju astrocytarnego, ze względu na swą korelację ze stopniem uszkodzenia komórek nerwowych, traktowany jest zwykle jako proces wtórny do ubytku neuronów. W strukturach szarych, gdzie dominują astrocyty protoplazmatyczne, dochodzi do przekształcenia gleju protoplazmatycznego we włóknisty z obfitym wytwarzaniem włókien glejowych w cytoplazmie komórek i w konsekwencji do obrazu typowej glejozy włóknistej. Obserwacja zmian glejowych w modelu doświadczalnym choroby Huntingtona in vivo oraz w modelu hodowli tkankowej umożliwiającej obserwację mieszanej populacji neuronalno-glejowej eksplantatu oraz czystej populacji komórek glejowych strefy wzrostu może przyczynić się do zrozumienia udziału gleju w patogenezie procesów zwyrodnieniowych układu nerwowego.

## C E L P R A C Y

Celem pracy była analiza zmian morfologicznych powstających w prążkowie w modelu zwierzęcym choroby Huntingtona uzyskanym po stereotaktycznym podaniu kwasu kainowego do prążkowie dorosłego szczura *in vivo*. Podstawowym zadaniem było określenie zmian ultrastrukturalnych w prążkowie w zależności od czasu przeżycia po iniekcji kwasu kainowego, ze szczególnym uwzględnieniem elementów pre- i postsynaptycznych tworzących różnego typu połączenia synaptyczne.

Celem prowadzonych badań była również obserwacja elementów komórkowych hodowli organotypowej prążkowie poddanej działaniu kwasu kainowego oraz ocena bezpośredniego wpływu toksycznego kwasu kainowego na pozbawione unerwienia korowo-prążkowiego różnego typu komórki nerwowe prążkowie.

Przedmiotem badań było również prześledzenie procesu powstawania glejozy włóknistej w modelu zwierzęcym *in vivo* oraz obserwacja zmian glejowych w warunkach hodowli organotypowej prążkowie i mózdzku oraz próba odpowiedzi na pytanie, czy zmiany morfologiczne w komórkach glejowych są wynikiem bezpośredniego uszkodzenia ich metabolizmu, czy też stanowią proces wtórny powstały w wyniku zwyrodnienia bądź też zaniku komórek nerwowych.

## M A T E R I A Ł I M E T O D Y

### DOŚWIADCZENIE IN VIVO

Badania przeprowadzono na 40 szczurach białych rasy Wistar, obu płci, o ciężarze ciała od 280 do 300 g. Zabieg polegający na stereotaktycznym podaniu kwasu kainowego do prawego prążkowiec prowadzono w znieczuleniu ogólnym wywołanym dootrzewnowym podaniem Nembutalu w dawce 50 mg/kg ciężaru ciała. Zwierzęta umieszczano w aparacie stereotaktycznym, a następnie w linii środkowej głowy przecinano skórę i odpreparowywano ją wraz z okostną. Punkty koordynacyjne prążkowiec według atlasu Kbniga, Klippela /1963/ AP=8,4, ML=2,8, DV=+0,2 otrzymywano poprzez wprowadzenie igły mikrostrzykawki Hamiltona o pojemności 1  $\mu$ l na głębokość 0,2 mm powyżej linii międzyusznej przez otwór wywiercony w pokrywie czaszki w odległości 2,8 mm w prawo od szwu strzałkowego i 8,4 mm do przodu od linii zerowej.

Kwas kainowy /F-my Sigma/ rozpuszczano bezpośrednio przed użyciem do doświadczenia w roztworze fizjologicznym chlorku sodu o pH 7,4, uzyskując stężenie 2,0  $\mu$ g /9,3 nmol/ kwasu kainowego w 1  $\mu$ l 0,9% NaCl. Kwas kainowy w dawce 2,0  $\mu$ g podawano z prędkością 1  $\mu$ l/3 min, po czym pozostawiano igłę w tkance na dalsze 5 minut.



Zwierzęta podzielono na 7 grup doświadczalnych w zależności od czasu przeżycia od momentu podania kwasu kainowego. Okres trwania doświadczenia w poszczególnych grupach wynosił 30 minut, 2 godziny, 24 godziny, 3 dni, 7 dni, 21 dni i 28 dni. Zwierzęta przetrzymywane były w warunkach standardowych otrzymując codziennie pokarm stały i płynny w ilościach pokrywających ich dzienne zapotrzebowanie.

Grupę kontrolną stanowiły szczury, którym podano do prądkowia, według tych samych punktów koordynacyjnych, 1  $\mu$ l czystego roztworu soli fizjologicznej /4 szczury/.

Zwierzęta w odpowiednich grupach doświadczalnych poddawano płytkiej narkozie eterowej, w której wykonywano przezsercową perfuzję roztworem 3,9% aldehydu glutarowego w buforze kakodylowym o pH 7,6. Płyn utrwalający podawano pod stałym ciśnieniem przez lewą komorę do aorty wstępującej, przy jednoczesnym otwarciu prawego przedsionka, po uprzednim podaniu 10 ml fizjologicznego roztworu chlorku sodu z dodatkiem heparyny.

Po wykonaniu perfuzji pobierano materiał do badań morfologicznych. Prowadzono cięcie przez prądkowie w płaszczyźnie czołowej i pobierano skrawki do mikroskopu elektronowego z miejsca wkłucia igły oraz w odległości 1-1,5 mm i 1,5-2 mm od miejsca bezpośredniego podania kwasu kainowego. Materiał kontrolny pochodził z przeciwległego prądkowia oraz z prądkowia szczurów kontrolnych, którym podano czysty roztwór fizjologiczny chlorku sodu.

Materiał przeznaczony do mikroskopu elektronowego utrwalano w 3% roztworze aldehydu glutarowego w buforze kakodylowym o pH 7,2 przez 60 minut, a następnie w 1% czterotlenku osmu w tym samym buforze o temperaturze 4°C również przez 60 minut. Utrwalone skrawki odwadniano w roztworach alkoholu etylowego o wzrastającym stężeniu - początkowo w temperaturze 4°C przez 10 minut, kolejno w 30%, 50%, 60% i 80% etanolu, a następnie w temperaturze pokojowej przez 15 minut w alkoholu 90%, 96% i absolutnym. Materiał przenoszono na 30 minut do tlenku propylenu i przeprowadzano przez trzy kolejne mieszaniny tlenku propylenu z eponem o coraz to wyższym stężeniu eponu, przetrzymując w każdej z nich przez 20 minut. Materiał zatapiano w mieszaninie eponów 812, DDSA i MNO z utrwalaaczem DMP w stężeniu 1,5-2%. Z bloczków eponowych krojono skrawki półcienkie o grubości 1  $\mu$ m i barwiono je 1% błękitem toluidyny. Z wybranych bloczków krojono skrawki ultracienkie na ultramikrotomie LKB 8800 II, które montowano na siatkach i kontrastowano roztworem wodnym octanu uranylu i cytrynianu ołowiu.

Materiał oglądano i fotografowano w mikroskopie elektronowym JEM 100 B przy napięciu przyspieszającym 80 kV. Zdjęcia wykonywano na kliszach ORWO EU-2.

Materiał przeznaczony do mikroskopu świetlnego utrwalano w 10% zobojętnionej formalinie, a następnie odwadniano i zatapiano w parafinie. Z bloczków parafinowych krojono seryjne skrawki o grubości 5-7  $\mu$ , które barwiono

hematoksyliną-eozyną, fioletem krezyłu, oraz według metody Klüvera-Barrery i Holzera.

#### DOŚWIADCZENIE IN VITRO

Badania prowadzono na hodowlach organotypowych prądkowia oraz mózdzku noworodków szczurzych rasy Wistar. Noworodki /8-24 godz. życia/ dekapitowano i przenoszono mózgowie do naczynia zawierającego płynne środowisko wzrostowe składające się z 50% surowicy ludzkiej, 40% płynu wieloelektrolitowego Earle'a, 10% wyciągu z zarodków kurzych otrzymywanego wg metody Parkera /1961/, z dodatkiem glukozy w stężeniu 600 mg/100 ml medium. W powiększeniu lupowym odczielano mózdzek i krojono go poprzecznie na 8-10 skrawków o grubości 1-2 mm.

Jądra podstawy otrzymywano prowadząc kolejno cięcia przez półkule mózgu w płaszczyźnie czołowej. Z przedniej części prądkowia odcinano przylegające warstwy kory i struktury okołokomorowe i krojono tkanekę na skrawki grubości 1,5-2 mm.

Pobrane fragmenty mózdzku i prądkowia /eksplantaty/ umieszczano na szkiełkach podstawowych pokrytych uprzednio żelifikowanym kolagenem otrzymanym według metody podanej przez Borsteina /1958/. Eksplantaty mózdzku hodowano we flaszках Carrela oraz w komorach Maximowa, natomiast eksplantaty pochodzące z prądkowia utrzymywano wyłącznie w wiszącej kropli płynu wzrostowego w komorach Maximowa.

Hodowle inkubowano w temperaturze 36,0-36,5°C. Płynne środowisko wzrostowe o podanym powyżej składzie i pH 7,0-7,3 zmieniano 2 razy w tygodniu po uprzednim wypłukaniu hodowli w płynie wieloelektrolitowym Earle'a przez 5-10 minut.

Kwas kainowy /F-my Sigma/ rozpuszczano w płynie wieloelektrolitowym Earle'a bezpośrednio przed podaniem do płynu wzrostowego. Końcowe stężenie kwasu kainowego w medium wynosiło  $10^{-3}$  oraz  $10^{-4}$  M.

Hodowle organotypowe mózdzku w wieku 0, 3, 7, 14, 21 i 28 dni in vitro /DIV/ inkubowano w płynie odżywczym zawierającym kwas kainowy przez następne 3, 7, 14 i 21 dni, otrzymując 24 grupy doświadczalne: 0/3, 0/7, 0/14, 0/21, 3/3, 3/7, 3/14, 3/21, 7/3, 7/7, 7/14, 7/21, 14/3, 14/7, 14/14, 14/21, 21/3, 21/7, 21/14, 21/21, 28/3, 28/7, 28/14, 28/21.

Hodowle organotypowe prądkowia utrzymywane w warunkach standardowych przez 3, 7, 14 dni poddawano działaniu kwasu kainowego przez 3, 7, 14 i 21 dni, uzyskując następujące grupy doświadczalne: 3/3, 3/7, 3/14, 3/21, 7/3, 7/7, 7/14, 7/21, 14/3, 14/7, 14/14, 14/21.

Kontrole do każdej grupy doświadczalnej stanowiły hodowle w odpowiednim wieku przetrzymywane w warunkach standardowych i barwione w tym samym czasie i przy użyciu tych samych metod przeglądowych.

Uzyskano łącznie wzrost około 350 hodowli organotypowych mózdzku oraz około 300 hodowli prądkowia.

Hodowle obserwowano codziennie w mikroskopie świetlnym. Hodowle wybrane do badań histologicznych płukano trzy-

krotnie przez 10 minut w płynie Locke'a o temp. 36°C, a następnie utrwalano w 10% zobojętnionej formalinie lub w płynie Carnoy'a, odpowiednio do metodyki barwienia. Utrwalone hodowle barwiono błękitem toluidyny oraz według metody Bodiana i Holzera. /Metody histologiczne zostały opracowane i zmodyfikowane dla pozaustrojowej hodowli tkanki nerwowej przez M.R. Murray. Spis metod niepublikowany, dostępny w naszym laboratorium/.

Do badań w mikroskopie elektronowym pobierano hodowle z poszczególnych grup doświadczalnych i kontrolnych. Hodowle przygotowywano do mikroskopu elektronowego według metody podanej dla materiału zwierzęcego pochodzącego z doświadczenia in vivo. Hodowle utrwalano w 3% roztworze aldehydu glutarowego w buforze kakodylowym o pH 7,2, a następnie w 1% czterotlenku osmu, odwadniano w roztworach alkoholu etylowego o wzrastającym stężeniu i zatapiano w mieszaninie eponów. Ultracienkie skrawki kontrastowano octanem uranylu i cytrynianem ołowiu. Materiał opracowywano w mikroskopie elektronowym JEM 100 B i wykonywano zdjęcia na kliszach ORWO EU-2.

## W Y N I K I

### OBJAWY KLINICZNE PO STEREOTAKTYCZNYM PODANIU KWASU KAINOWEGO DO PRĄŻKOWIA

Zwierzęta po wybudzeniu z narkozy wykazywały pobudzenie ruchowe w postaci powtarzających się ruchów głową i przednimi kończynami. Towarzyszyło temu drżenie całego ciała i rytmiczne uderzanie ogonem o podłoże. Najbardziej nasilone zaburzenia ruchowe występujące u około 40% zwierząt /16 szczurów/ polegały na występowaniu napadów uogólnionych drgawek toniczno-klonicznych. Podczas napadów drgawek trwających 10-15 minut część zwierząt użytych do doświadczenia ginęła. U pozostałych zwierząt objawy kliniczne były podobne lecz mniej nasilone. Po upływie 20-30 minut występował okres obniżonej aktywności ruchowej, po którym pojawiały się ponownie krótkotrwałe napady drgawek z przewagą fazy klonicznej. Po 2-3 godzinach od momentu podania kwasu kainowego obserwowano intensywne ruchy obrotowe całego ciała w kierunku przeciwnym do uszkodzonego prążkowie. W ciągu następnych dni zwierzęta stawały się bardziej apatyczne, stwierdzano jednak zaburzenia ruchowe w postaci stereotypowych obrotów ciała w stronę przeciwną do zabiegu.

Przez pierwsze 2 dni większość zwierząt wykazywała obniżone pragnienie i łaknienie. U 5 zwierząt doświadczalnych obserwowano krwawienie z dróg moczowych, natomiast u jednego szczura wystąpiło obfite krwawienie z nosogardzieli.

OBRAZ MORFOLOGICZNY PRĄŻKOWIA  
PO STEREOTAKTYCZNYM PODANIU KWASU KAINOWEGO  
OBSERWACJE W MIKROSKOPIE ŚWIETLNYM

Obraz morfologiczny prążkowiec uszkodzonego przez podanie kwasu kainowego in vivo porównywano z obrazem kontrolnym prążkowiec po stronie przeciwległej do doświadczenia. Dodatkową kontrolę stanowiły zwoje podstawy, do których podano roztwór fizjologiczny chlorku sodu.

Podstawowym składnikiem morfologicznym prążkowiec były małe neurony zawierające jasne, okrągłe jądro z wyraźnie zarysowanym jąderkiem, otoczone wąskim rąbkim cytoplazmy. Występowały również pojedyncze duże komórki nerwowe charakteryzujące się okrągłym jądrem ze stosunkowo dużym jąderkiem oraz obfitą cytoplazmą zawierającą wyraźne ziarnistości Nissla. Obok komórek nerwowych widoczne były jądra astrocytów odznaczające się drobnoziarnistym rysunkiem chromatyny oraz regularnym okrągłym lub owalnym kształtem.

W prążkowiec, do którego podano roztwór fizjologiczny chlorku sodu nie obserwowano zmian morfologicznych.

W jednym tylko przypadku stwierdzono zmiany pochodzenia naczyniowego w postaci świeżego krwotoku oraz nieznaczny wzrost ilości komórek glejowych w miejscu mechanicznego uszkodzenia tkanki.

Po podaniu kwasu kainowego do prążkowie przez pierwsze 24 godziny doświadczenia nie obserwowano wyraźnych zmian morfologicznych. Dopiero w trzecim dniu doświadczenia struktura prążkowie wykazywała cechy znacznego uszkodzenia w postaci rozlanego zaniku perikarionów komórek nerwowych /ryc. 1a, 1b/. Najbardziej nasilone zmiany zwyrodnieniowe dotyczyły neuronów położonych bezpośrednio w miejscu podania kwasu kainowego w promieniu 1-1,5 mm wokół punktu wkłucia igły. W uszkodzonej tkance stwierdzano całkowity ubytek ciał komórek nerwowych z zachowaniem jąder komórek glejowych oraz włókien torebki wewnętrznej i pęczków striato-pallidarnych. Zmiany mikroskopowe stwierdzone na seryjnie krojonych skrawkach obejmowały prawie całe prążkowie oraz boczną część gałki bladej. W brzusznych częściach prążkowie obecne były natomiast pojedyncze duże komórki nerwowe.

Proces zwyrodnieniowy dotyczył również neuronów położonych w głębokich warstwach kory mózgu przylegających do uszkodzonego prążkowie.

Po upływie 7 dni od momentu podania kwasu kainowego w obrębie zanikłego prążkowie stwierdzono pomnożenie ilości komórek glejowych /ryc. 2a, 2b/. W następnych grupach doświadczalnych odczyn ze strony gleju wyraźnie nasilał się,



dając w 21 i 28 dniu obraz typowej glejozy włóknistej /ryc. 3 a/. Jednocześnie obserwowano obkurczenie tkanek prążkowania oraz poszerzenie układu komorowego. W preparatach barwionych metodą Holzera uwidoczniono gęstą siatkę włókien glejowych. Nadal zachowane były pęczki włókien mielinowych.

W tym samym okresie stwierdzano pomnożenie ilości komórek glejowych w głębokich warstwach kory mózgu oraz zwyrodnienie komórek piramidowych sektora H3 i H4 w przedniej części hipokampa po stronie iniekcji /ryc. 3 b/.

#### OBRAZ ULTRASTRUKTURALNY PRĄŻKOWIA

##### MATERIAŁ KONTROLNY

W obrazie mikroskopowo-elektronowym prążkowania dominowały komórki nerwowe charakteryzujące się dużym, okrągłym lub lekko owalnym jądrem położonym w centralnej części perikarionu. Jądro otoczone było wąskim rąbkiem cytoplazmy zawierającej nieliczne, krótkie zbiorniki siatki śródplazmatycznej szorstkiej, wolne rybosomy i polirybosomy oraz drobne mitochondria. Ponadto stałym elementem cytoplazmatycznym były liczne luźno rozrzucone neurotubule /ryc. 4/. Obok powyżej opisanych komórek nerwowych, określonych jako tzw. średnie neurony prążkowania, obserwowano pojedyncze duże neurony z obfitą cytoplazmą bogatą w organella komórkowe. Jądro dużych neuronów odznaczało się regularnym, owalnym lub okrągłym zarysem otoczki jądrowej i zawierało ubogą

ilość chromatyny oraz wyraźnie zarysowane jąderko. W cytoplazmie części perikarialnej komórki występowały liczne, duże mitochondria, dobrze rozwinięty aparat Golgiego oraz kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej tworzące regularne, rzędowe układy. Stałym składnikiem cytoplazmy były również neurotubule /ryc. 5/.

W otaczającym neuropilu obserwowano liczne synapsy akso-dendrytyczne i akso-kolcowe oraz pojedyncze synapsy akso-somatyczne. Większość zakończeń aksonalnych zawierała małe, okrągłe, elektronowo-jasne pęcherzyki synaptyczne i tworzyła asymetryczne połączenie z dystalnymi odcinkami dendrytów lub kolców dendrytycznych /ryc. 6/. Spotykano również kolbki synaptyczne zawierające ciemne pęcherzyki lub drobne pęcherzyki wypełnione ziarnistą zawartością.

Drugim, obok komórek nerwowych, składnikiem prądkowia były komórki glejowe reprezentowane głównie przez astrocyty protoplazmatyczne /ryc. 7/. Jądra komórek glejowych charakteryzowały się regularnym, owalnym kształtem i zawierały ubogą ilość równomiernie rozproszonej chromatyny. W obrębie jasnej cytoplazmy stwierdzono skąpą ilość organelli cytoplazmatycznych pod postacią krótkich kanałów siatki śródplazmatycznej szorstkiej, pojedynczych wolnych rybosomów oraz mitochondriów. Czasem obecne były drobne lizosomy lub ciała gęste. Bardzo rzadko spotykano natomiast struktury włókniste w postaci pojedynczych gliofilamentów lub gliotubuli.

OBRAZ ULTRASTRUKTURALNY PRĄŻKOWIA  
PO STEREOTAKTYCZNYM PODANIU KWASU KAINOWEGO

I g r u p a d o ś w i a d c z a l n a - 30 minut przeżycia po stereotaktycznym podaniu kwasu kainowego do prążkowiec.

Po upływie 30 minut od momentu mikroinjektacji kwasu kainowego do prążkowiec pojawiały się pierwsze dostrzegalne zmiany ultrastrukturalne komórek nerwowych oraz dystalnych odcinków wypustek dendrytycznych. W tym samym okresie doświadczenia obserwowano również zmiany morfologiczne w komórkach glejowych.

W miejscu podania kwasu kainowego obecne były liczne obkurczone neurony z ciemną, elektronowo-gęstą cytoplazmą. Zarysy jądra komórkowego oraz perikarionów komórek nerwowych stawały się nieregularne. W cytoplazmie obserwowano wyraźne zagęszczenie organelli komórkowych, zwłaszcza wolnych rybosomów. Najbardziej uderzającą zmianą ultrastrukturalną stanowiło obrzmienie mitochondriów prowadzące do przejaśnienia macierzy lub zepchnięcia grzebieni mitochondrialnych na obwód /ryc. 8/. W przypadku zaawansowanego uszkodzenia mitochondriów i całkowitej utraty grzebieni powstawały różnej wielkości wakuole otoczone podwójną błoną. W cytoplazmie neuronów obok obrzmiiałych mitochondriów występowały również ciemne, wydłużone mitochondria z prawidłowo zachowanym rysunkiem macierzy.

Drugim składnikiem obrazu ultrastrukturalnego było poszerzenie kanałów siatki śródplazmatycznej szorstkiej, co łącznie z uszkodzeniem mitochondriów prowadziło do całkowitej wakuolizacji cytoplazmy komórek nerwowych /ryc. 9/. Obrzmienie mitochondriów występowało również poza perikarionami komórek nerwowych. Obrzmiałe, znacznie powiększone mitochondria obecne były zwłaszcza w dystalnych odcinkach wypustek dendrytycznych, stanowiących część post-synaptyczną /ryc. 10/. Pomimo uszkodzenia dendrytów post-synaptycznych, elementy presynaptyczne nie wykazywały zmian morfologicznych i zawierały liczne prawidłowe pęcherzyki synaptyczne. Utworzone połączenia synaptyczne akso-dendrytyczne miały widoczne zagęszczenia pre- i post-synaptyczne.

Charakterystyczną cechą obrazu ultrastrukturalnego był prawidłowy wygląd wypustek aksonalnych oraz proksymalnych odcinków drzewa dendrytycznego. Zachowane były również prawidłowe synapsy akso-kolcowe oraz akso-somatyczne.

Równocześnie z pojawieniem się pierwszych zmian morfologicznych w komórkach nerwowych, występowały nieprawidłowości ultrastrukturalne w gleju astrocytarnym. Astrocyty przybierały wygląd tzw. "komórek wodnistych", co sprawiało, że cytoplazma ich wyraźnie odcinała się od elektronowo-gęstej cytoplazmy neuronów /ryc. 11/. Czasami cytoplazma astrocytów była prawie zupełnie opustoszała i zawierała jedynie pojedyncze wolne rybosomy, poszerzone

kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej oraz liczne zmienione mitochondria /ryc. 12/. Powyżej opisane zmiany dotyczyły wyłącznie komórek glejowych typu astrocytarnego, natomiast oligodendrocyty nie wykazywały nieprawidłowości strukturalnych.

II grupa doświadczalna - 2 godziny po stereotaktycznym podaniu kwasu kainowego.

W 2-giej godzinie doświadczenia obserwowano postępujące zmiany zwyrodnieniowe komórek nerwowych. W dalszym ciągu obecne były liczne ciemne, obkurczone neurony ze zwakuolizowaną cytoplazmą. Szczególne nagromadzenie wakuoli występowało w części perikarialnej komórek nerwowych ulegając wyraźnemu zmniejszeniu w miejscu przejścia cytoplazmy w wypustkę aksonalną /ryc. 13/. Zwyrodniałe neurony otoczone były przez obrzmiałe wypustki glejowe okołoneuronalne, przybierające postać pustych struktur pozbawionych jakichkolwiek elementów śródplazmatycznych. W otaczającym neuropilu obecne były ponadto liczne obrzmiałe wypustki komórkowe pochodzące od komórek nerwowych i glejowych. Odcinki należące do drzewa dendrytycznego odznaczały się regularnym, owalnym zarysem podczas gdy wypustki glejowe położone pomiędzy poszczególnymi elementami neuropilu przybierały często nieregularne kształty, odpowiednio do otaczających je struktur.

W niektórych komórkach nerwowych zmiany zwyrodnieniowe były bardziej zaawansowane i dotyczyły również jądra

komórkowego. Proces kariolizy jądra polegał na kondensacji chromatyny w postaci gęstych elektronowo grudek położonych w centrum jądra. W otaczającej cytoplazmie występowały pojedyncze poszerzone kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej, wakuole oraz uszkodzone mitochondria.

Nieliczne duże komórki nerwowe, charakteryzujące się równoległym układem kanałów siatki śródplazmatycznej szorstkiej tworzącym typowe ziarnistości Nissla, nie wykazywały wyraźnych zmian morfologicznych. Występujące w cytoplazmie tych komórek mitochondria wykazywały czasami nieznaczne przejaśnienie macierzy lub zepchnięcie grzebieni mitochondrialnych na obwód. Nasilenie zmian patologicznych w mitochondriach było tu jednak nieporównywalnie mniejsze niż w poprzednio opisanych małych komórkach nerwowych.

Komórki glejowe i ich wypustki wykazywały bardziej nasilone zmiany morfologiczne w porównaniu z I grupą doświadczalną. Nadal dominującym obrazem uszkodzenia astrocytów było obrzmienie ich cytoplazmy oraz skąpa ilość organelli komórkowych /ryc. 14/. W elektronowo-rzadkiej cytoplazmie występowały pojedyncze zwyrodniałe mitochondria z zatartym rysunkiem macierzy oraz liczne struktury pęcherzykowe i błoniaste. Ponadto kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej ulegały poszerzeniu i tworzyły wakuole, na obwodzie których występowały zgrupowania rybosomów. Podobnie wypustki glejowe wykazywały cechy nasilonego obrzmienia i tworzyły rozdęte struktury prawie całkowicie pozba-

wione organelli komórkowych. Pomiedzy elementami neuropilu widoczne byly rowniez znacznie powiekszone, jasne przestrzenie, w ktorych obecne byly zwyrodniale mitochondria, liczne wakuole oraz ciała wielopęcherzykowe i błoniaste /ryc. 15/.

III grupa doświadczalna - 24 godziny po stereotaktycznym podaniu kwasu kainowego do prązkowia.

Po 24 godzinach doświadczenia zarówno komórki nerwowe jak i otaczający je neuropil wykazywały gwałtownie postępujące zmiany zwyrodnieniowe.

Większość komórek nerwowych wykazywała rozrzedzenie cytoplazmy oraz jej zubożenie w organelle komórkowe. W obrębie elektronowo-rzadkiej cytoplazmy obecne były poszerzone kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej, zwyrodniałe mitochondria oraz liczne, różnej wielkości pęcherzyki i wakuole. Pomiedzy uszkodzonymi elementami cytoplazmatycznymi występowały pojedyncze ciemne mitochondria z wyraźnym rysunkiem macierzy, wolne rybosomy oraz liczne neurotubule. W niektórych komórkach obecny był ponadto luźno leżący, drobnoziarnisty materiał pochodzący z rozpadu elementów cytoplazmatycznych. Jądro komórkowe wykazywało kondensację chromatyny w postaci ciemnych, gęstych elektronowo grudek oraz rozwarstwienie blaszek podwójnej otoczki jądrowej /ryc. 16/. Czasami stwierdzano znaczne

rozrzedzenie chromatyny jądrowej. W przypadku zaawansowanego procesu kariolizy obserwowano zagęszczenie chromatyny w centrum perikarionu oraz całkowity zanik otoczki jądrowej. Na obwodzie perikarionu obecne były zwyrodniałe organelle komórkowe.

Najbardziej nasilone zmiany zwyrodnieniowe neuronów występowały w miejscu bezpośredniego podania kwasu kainowego. W obwodowych częściach prądkowia obserwowano komórki nerwowe z częściowo lub całkowicie zwakuolizowaną skąpą cytoplazmą, przypominające małe neurony w poprzednich grupach doświadczalnych. Ponadto spotykano pojedyncze komórki nerwowe reprezentujące duże neurony prądkowia i charakteryzujące się obfitą cytoplazmą zawierającą prawidłowo wyglądające mitochondria, liczne kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej oraz neurotubule.

W neuropilu otaczającym zwyrodniałe komórki nerwowe widoczne były liczne obrzmiała, puste struktury stanowiące wypustki komórek nerwowych i glejowych. Znamienną cechą obrazu ultrastrukturalnego była obecność licznych prawidłowo zachowanych zakończeń presynaptycznych, bogatych w pęcherzyki synaptyczne i tworzących połączenia ze zwyrodniałymi dendrytami. Część dendrytów postsynaptycznych była obrzmiała, większość jednak ulegała obkurczeniu i wykazywała zwiększenie gęstości elektronowej /ryc. 17/. Zagęszczenie postsynaptyczne w obrębie tak uszkodzonych synaps wydawało się intensywniejsze niż zagęszczenie presynaptyczne. Ponadto synapsy aksokolcowe



wykazywały obkurczenie kolców dendrytycznych z zatarciem zagęszczenia postsynaptycznego. Niektóre wypustki dendrytyczne były obrzmiałe i zawierały w części centralnej nagromadzenie pęcherzyków, struktur błoniastych lub uszkodzonych mitochondriów /ryc. 18/. Stwierdzano również obecność licznych pustych struktur zajmujących duże przestrzenie neuropilu. Część z takich struktur zawierała skupienia błon, wakuoli oraz zwyrodniałych organelli komórkowych /ryc. 19/.

Zmiany obserwowane w komórkach glejowych i ich wypustkach w dalszym ciągu polegały na obrzmieniu cytoplazmy, uszkodzeniu mitochondriów oraz nieznacznym poszerzeniu kanałów siatki śródplazmatycznej szorstkiej /ryc. 20/. W niektórych astrocytach posiadających jasną, opustoszałą cytoplazmę obecne były rozdęte kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej wypełnione amorficzną substancją. W tym samym okresie doświadczenia występowało obrzmienie okołonaczyniowych wypustek glejowych /ryc. 21/.

IV grupa doświadczalna - 3 dni przeżycia po stereotaktycznym podaniu kwasu kainowego do prądkowia.

Po upływie 3 dni od momentu iniekcji kwasu kainowego struktura prądkowia wykazywała cechy znacznego uszkodzenia. Stwierdzano ubytek perikarionów większości komórek nerwowych oraz nasilone zmiany zwyrodnieniowe wypustek

dendrytycznych, połączeń synaptycznych oraz pojedynczych włókien aksonalnych. Pomiedzy luźno leżącymi elementami neuropilu obecne były liczne zwyrodniałe fragmenty komórek nerwowych oraz ich wypustek. Resztki zwyrodniałych neuronów tworzyły bezkształtne masy zawierające trudne do zidentyfikowania struktury błoniaste oraz drobnoziarnisty materiał pochodzący prawdopodobnie z rozpadu chromatyny.

W zwyrodniałym prądkowiu obecne były tylko pojedyncze duże neurony z obfitą cytoplazmą zawierającą równolegle ułożone kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej, tworzące typowe ziarnistości Nissla. Jednak nawet w tych komórkach, znajdujących się w miejscu iniekcji kwasu kainowego, występowały zmiany morfologiczne w postaci rozrzedzenia karioplazmy, miejscowego poszerzenia przestrzeni okołojądrowej lub nieznacznego poszerzenia kanałów siatki śródplazmatycznej szorstkiej. Mitochondria były zwykle niezmięnione i tylko w pojedynczych przypadkach wykazywały obrzmienie i utratę grzebieni mitochondrialnych. Poza tym w cytoplazmie występowały liczne drobne wakuole i luźno rozrzucone neurotubule /ryc. 22/.

Duże neurony prądkowia obserwowane w obwodowych częściach prądkowia nie wykazywały na ogół zmian ultrastrukturalnych. W obszarach tych obserwowano jednak pojedyncze komórki nerwowe dużych rozmiarów z obfitą cytoplazmą zawierającą organella komórkowe wykazujące mniejsze lub większe oznaki zwyrodnienia. Neurony te odznaczały się

płatowatym jądrem, licznymi mitochondriami oraz neurotubulami i neurofilamentami. Nie miały one zwykle dobrze rozwiniętych układów siatki śródplazmatycznej szorstkiej, zawierały natomiast krótkie rozdęte kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej, tworzące niekiedy wakuole posiadające resztki przylegających rybosomów.

Charakterystyczną zmianą ultrastrukturalną było uszkodzenie wypustek dendrytycznych, dotyczące zarówno dendrytów postsynaptycznych jak i środkowych odcinków drzewa dendrytycznego. Występowały liczne obrzmiałe dendryty pozbawione całkowicie organelli komórkowych i zawierające jedynie fragmenty błon mitochondrialnych oraz resztki rozpadłych neurotubul /ryc. 23/. W niektórych wypustkach dendrytycznych obecne były rozdęte, obrzmiałe mitochondria, wakuole i ciała błoniaste.

W zmienionym neuropilu obserwowano liczne uszkodzone połączenia synaptyczne, przy czym zwyrodnienie ograniczało się prawie wyłącznie do części postsynaptycznej. Zmiany dotyczyły zarówno kolców dendrytycznych jak i dystalnych odcinków dendrytów. Stwierdzono trzy rodzaje zwyrodnienia części postsynaptycznej. Prawie wszystkie kolce dendrytyczne ulegały znacznemu obkurczeniu, tworząc wąski pasek zagęszczonej elektronowo cytoplazmy, przylegający do kolbki aksonalnej. Drugi typ zmian zwyrodnieniowych dotyczył dystalnych odcinków dendrytów i polegał na ich przejaśnieniu oraz zubożeniu w organella komórkowe. Często w poszerzonym dendrycie postsynaptycznym

zanikały wszystkie wewnętrzne struktury i widoczne było jedynie zagęszczenie postsynaptyczne oraz drobnoziarnisty materiał pochodzący z rozpadu neurotubul /ryc. 24/. Trzecim rodzajem zmian części postsynaptycznej było obkurczenie dystalnych odcinków dendrytycznych. W ten sposób powstawały ciemne dendryty o dużym zagęszczeniu elektronowym cytoplazmy. Zawierały one rozmyte kontury błon mitochondrialnych oraz drobnoziarnisty lub drobnowłóknisty materiał /ryc. 25/. Czasami w części postsynaptycznej występowały liczne pęcherzyki i wakuole oraz struktury o budowie blaszkowatej /ryc. 26/. Większość synaps akso-somatycznych nie wykazywała zmian w obrębie cytoplazmy stanowiącej część postsynaptyczną. Czasami obserwowano jednak tuż przy błonie postsynaptycznej obecność poszerzonych kanałów siatki śródplazmatycznej /ryc. 27/.

Charakterystyczną cechą uszkodzenia różnego typu połączeń synaptycznych było zachowanie prawidłowo wyglądających kolbek aksonalnych, z którymi kontaktowały się zwyrodniałe elementy postsynaptyczne. Jedynie w centrum iniekcji obserwowano pojedyncze kolbki synaptyczne, w których występowało obrzmienie aksoplazmy oraz skupienie pęcherzyków tuż przy błonie synaptycznej. Czasami pęcherzyki synaptyczne gromadziły się w pewnej odległości od szczeliny synaptycznej, a zmieniona w ten sposób kolbka aksonalna tworzyła połączenie ze zwyrodniałym kolcem dendrytycznym /ryc. 28/. W pojedynczych przypadkach stwierdzano obkurczenie i wzrost gęstości elektronowej

aksoplazmy oraz zagęszczenie pęcherzyków synaptycznych /ryc. 29/.

We fragmentach tkanki pobranej 1,5-2 mm od miejsca podania kwasu kainowego obserwowano obok prawidłowo zachowanych synaps akso-somatycznych również niezmienione synapsy akso-dendrytyczne posiadające symetryczne zagęszczenia pre- i postsynaptyczne.

W uszkodzonym prądkowiu prawie wszystkie odcinki aksonów otoczone osłonką mielinową nie wykazywały zmian. Tylko pojedyncze zmielinizowane aksony wykazywały nagromadzenie zmienionych, ciemnych mitochondriów oraz obecność polimorficznych ciał o budowie blaszkowatej lub wielobłoniastej /ryc. 30/.

W 3-dniowej grupie doświadczalnej zmianom zwyrodnieniowym komórek nerwowych i ich wypustek towarzyszyły nasilone zmiany glejowe. Polegały one zarówno na obrzmieniu cytoplazmy astrocytów, jak i tworzeniu struktur włóknkowych. Stwierdzono liczne astrocyty z optycznie przejrzystą cytoplazmą zawierającą pojedyncze mitochondria oraz wyraźnie uformowane pęczki gliofilamentów /ryc. 31/. W niektórych komórkach glejowych nagromadzenie gliofilamentów było bardzo znaczne i zmiany włókniste dominowały nad obrzmieniem astrogleju.

V g r u p a d o ś w i a d c z a l n a - 7 dni przeżycia po stereotaktycznym podaniu kwasu kainowego do prążkowie.

Po upływie 7 dni od podania kwasu kainowego uszkodzone prążkowie zawierało jedynie luźno leżące fragmenty neuropilu, pomiędzy którymi znajdowały się resztki zwyrodniałych komórek nerwowych oraz liczne astrocyty włókniste. Znamiennej cechą obrazu morfologicznego była ponadto obecność drobnych, ciemnych komórek mikrogleju z cechami fagocytozy. Komórki te odznaczały się nieregularnym zarysem jąder ze skupieniami chromatyiny pod otoczką jądrową oraz ciemną cytoplazmą zawierającą liczne wydłużone kanały siatki śródplazmatycznej oraz wolne rybosomy. Wypustki mikroglejowe otaczały wyrodniewające neurony i fagocytowały resztki rozpadłej tkanki /ryc. 32/. Często w cytoplazmie tych komórek obecne były ciała gęste, kule tłuszczu lub wakuole wypełnione sfagocytowanym materiałem.

W obrębie zniszczonego prążkowie widoczne były pojedyncze, całkowicie zwyrodniałe komórki zawierające grudki skondensowanej chromatyiny jądrowej otoczonej fragmentami otoczki jądrowej oraz liczne drobne wakuole i struktury błoniaste.

W materiale pochodzącym z obwodowych części prążkowie obserwowano pojedyncze duże neurony z owalnym lub okrągłym jądrem oraz obfitą cytoplazmą zawierającą równoległe układy kanałów siatki śródplazmatycznej szorstkiej

/ryc. 33 a/. W pojedynczych dużych komórkach nerwowych stwierdzano dyskretne zmiany ultrastrukturalne mitochondriów. Czasami występowało ich obrzmienie i tworzenie konglomeratów z kolbkowatymi poszerzeniami całkowicie pozbawionymi grzebieni mitochondrialnych /ryc. 33 b/.

Nadal dominującą zmianą ultrastrukturalną było uszkodzenie elementów postsynaptycznych z tym, że przeważało elektronowo-gęste zwyrodnienie i obkurczenie zarówno kolców dendrytycznych jak i dystalnych odcinków dendrytów postsynaptycznych /ryc. 34/. Większość kolbek aksonalnych przylegających do zwyrodniałych części postsynaptycznych nie wykazywała uszkodzenia. Niektóre dendryty ulegały całkowitemu rozpadowi z pozostawieniem resztek błon mitochondrialnych i zagęszczenia postsynaptycznego otoczonego przez niezmienione kolbki aksonalne /ryc. 35/. Jedynie w nielicznych kolbkach synaptycznych obserwowano powiększenie pęcherzyków synaptycznych zbitych w konglomeraty i położonych w pewnej odległości od szczeliny synaptycznej /ryc. 36/. Czasami stwierdzano również zaciemnienie mitochondriów oraz zatarcie budowy ich macierzy. Niektóre kolbki synaptyczne zawierały kłaczkowaty materiał lub wykazywały cechy obrzmienia i zmniejszenie ilości pęcherzyków synaptycznych przy szczelinie synaptycznej. Często do błony cytoplazmatycznej prawidłowych kolbek aksonalnych wypełnionych licznymi pęcherzykami przylegały dendryty, lecz nie tworzyły one typowego zagęszczenia postsynaptycznego. Liczne prawidłowo wyglądają

jące kolbki aksonalne istniały więc niezależnie od wypustek dendrytycznych. Niektóre zakończenia aksonalne wykazywały nieprawidłowości morfologiczne w postaci nagromadzenia pęcherzyków w centrum obrzmałej wypustki /ryc. 37/. Występowały również wypustki aksonalne zawierające drobne ciała blaszkowate i błoniaste oraz powiększone pęcherzyki z ciemnym rdzeniem otoczonym przez jasne halo.

Charakterystyczną cechą 7 dniowego przeżycia po podaniu kwasu kainowego była obecność licznych komórek glejowych wykazujących cechy typowych astrocytów włóknistych, posiadających cytoplazmę wypełnioną licznymi gliofilamentami /ryc. 38/. W niektórych komórkach glejowych obwodowe części cytoplazmy wykazywały zaawansowane obrzmienie, natomiast gliofilamenty układały się w pęczki w pobliżu jądra komórkowego.

W okołonaczyniowych wypustkach astrocytów stwierdzano również obecność gliofilamentów oraz poszerzone kanały siatki śródplazmatycznej i obrzmałe mitochondria /ryc. 39/.

VI i VII grupa doświadczalna -  
21 i 28 dni przeżycia po stereotaktycznym podaniu kwasu kainowego do prądkowia.

W obu grupach doświadczalnych obserwowano podobne zmiany morfologiczne, w których dominowało intensywne gromadzenie dużej ilości gliofilamentów w cytoplazmie



astrocytów. W 21 dniu doświadczenia w uszkodzonym neuropilu występowały pojedyncze komórki mikrogleju fagocytujące produkty rozpadu tkanki. Po upływie 4 tygodni nie obserwowano już komórek mikrogleju, obecne były jednak nadal resztki zwyrodniałych komórek nerwowych i ich wypustek.

W miejscu podania kwasu kainowego nie stwierdzano obecności komórek nerwowych. Dopiero w odległości 1,5-2 mm od centrum uszkodzenia obecne były pojedyncze przetrwałe duże neurony prążkowiec. Zawierały one okrągłe lub lekko owalne jądro oraz obfitą cytoplazmę z licznymi mitochondriami, dobrze rozwiniętym aparatem Golgiego, równoległe ułożonymi kanałami siatki śródplazmatycznej szorstkiej oraz luźno rozrzuconymi neurotubulami /ryc. 40/. W otaczającym neuropilu występowały liczne niezmiernie kolbki synaptyczne, pojedyncze prawidłowo zbudowane połączenia synaptyczne o symetrycznych zagęszczeniach pre- i postsynaptycznych oraz pozostałe, nieliczne zwyrodniałe elementy neuropilu. Niektóre duże neurony zawierały w cytoplazmie drobne pęcherzyki wypełnione elektrownowo-gęstą, ciemną substancją oraz poszerzone kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej. W neuropilu obserwowano liczne kolbki synaptyczne wypełnione pęcherzykami synaptycznymi. Znaczna część prawidłowo wyglądających kolbek nie tworzyła jednak połączeń z elementami postsynaptycznymi. Niektóre zakończenia aksonalne wykazywały uszkodzenie mitochondriów lub powiększenie pęcherzyków

synaptycznych. Pojedyncze kolbki synaptyczne ulegały częściowej lub całkowitej mielinizacji /ryc. 41/.

Obserwowano również struktury otoczone prawidłowo zbudowaną mieliną, zawierające zwyrodniałe mitochondria, fragmenty błon mitochondrialnych oraz kłaczkowaty lub drobnoziarnisty materiał. Niektóre z tych struktur stanowiły zwyrodniałe dendryty lub fragmenty komórek nerwowych, które uległy wtórnej mielinizacji. Jedynie nieliczne z nich, położone wśród prawidłowych zmielinizowanych włókien, należały do zwyrodniałych aksonów. Przeważająca większość zmielinizowanych aksonów nie wykazywała jednak nieprawidłowości morfologicznych. Obserwowano natomiast liczne niezmielinizowane, poszerzone wypustki aksonalne zawierające dużą ilość ciemnych mitochondriów, ciał gęstych oraz struktur o budowie blaszkowatej i wielobłoniastej. Ciała polimorficzne o podobnej budowie spotykano również w mniejszych wypustkach komórek nerwowych, zawierających pojedyncze pęcherzyki synaptyczne, co świadczyć mogło o ich przynależności do zakończeń synaptycznych. W otaczającym neuropilu obecne były ponadto liczne struktury mielinopodobne.

Najbardziej znamiennej cechą obrazu mikroskopowego prążkowiec po upływie 21, a zwłaszcza 28 dni od momentu podania kwasu kainowego, była obecność licznych komórek glejowych posiadających cechy typowych astrocytów włóknistych. Komórki te, wykazujące masywne gromadzenie gliofilamentów w cytoplazmie i w wypustkach, stanowiły pod-

stawowy składnik komórkowy uszkodzonej tkanki. Jądra komórek glejowych charakteryzowały się lekko pofałdowanym zarysem otoczki oraz lekko ziarnistą chromatyną tworzącą niewielkie zagęszczenie pod otoczką jądrową. Cytoplazma astrocytów wypełniona była obfitą ilością gliofilamentów tworzących zbite pęczki i pasma przebiegające w różnych kierunkach /ryc. 42/. Pomiedzy pasmami gliofilamentów wypełniającymi znaczną część cytoplazmy obecne były pojedyncze krótkie kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej, wolne rybosomy i mitochondria. Czasami mitochondria pozabawione były grzebieni i zawierały drobnoziarnisty materiał. Wypustki astrocytów położone pomiędzy elementami neuronalnymi neuropilu zawierały również dużą ilość gliofilamentów oraz pojedyncze wydłużone mitochondria.

Obserwowane w ciągu całego doświadczenia zmiany glejowe ograniczały się wyłącznie do gleju astrocytarnego, natomiast oligodendrocyty nie wykazywały zmian morfologicznych. Charakteryzowały się one owalnym lub okrągłym jądrem z grudkowatymi zagęszczeniami chromatyny oraz elektronowo gęstą cytoplazmą zawierającą liczne zbiorniki siatki śródplazmatycznej, dużą ilość wolnych rybosomów, mitochondria oraz gliotubule /ryc. 43/.

OBRAZ MORFOLOGICZNY KOMÓREK NERWOWYCH I GLEJOWYCH  
W HODOWLI ORGANOTYPOWEJ PRĄŻKOWIA  
PO PODANIU KWASU KAINOWEGO

W hodowlach organotypowych prążkowie w ciągu 48 godzin obserwacji w mikroskopie świetlnym widoczne były pierwsze, niezróżnicowane komórki glejowe wyrastające z eksplantatu do strefy wzrostu. Przez pierwsze dni wzrostu *in vitro* wieniec wzrostu był niewielki /ryc. 44/. Dopiero po upływie 7 dni utrzymywania eksplantatu w standardowych warunkach hodowli pozaustrojowej ilość komórek wywędrujących do strefy wzrostu znacznie wzrastała, a eksplantat ulegał wyraźnemu ścięczeniu. W drugim tygodniu wzrostu *in vitro* tkanka przybierała charakterystyczny "plackowaty" wygląd wywołany powstawaniem skupień komórek nerwowych, poprzedzielanych pasmami utworzonymi przez gęsto ułożone komórki glejowe /ryc. 45/.

W pierwszym tygodniu wzrostu komórki glejowe wykazywały cechy niezróżnicowanego gleju z małą ilością wypustek. Dopiero między 7 a 14 dniem wzrostu *in vitro* w pobliżu eksplantatu i w odległej strefie wzrostu występowały typowe astrocyty. Równocześnie z dojrzewaniem komórek glejowych przebiegał proces różnicowania komórek nerwowych. Po upływie 10-12 dni wyróżniano skupienia małych i dużych neuronów otoczone licznymi komórkami glejowymi, reprezentowanymi głównie przez astrocyty protoplazmatyczne /ryc. 46/.

Po podaniu kwasu kainowego do środowiska odżywczego hodowli eksplantat zawierający mieszaną populację komórek nerwowych i glejowych nie wykazywał wyraźnych zmian w mikroskopie świetlnym, natomiast w obrębie strefy wzrostu hodowli obserwowano masywne wyrastanie komórek glejowych. Przy barwieniu metodą Holzera wykazano intensywne wybarwienie włókien glejowych w strefie wzrostu typowe dla astrocytów włóknistych /ryc. 47/.

W mikroskopie elektronowym w ciągu pierwszych trzech dni obserwowano w eksplantacie mało zróżnicowane komórki nerwowe wykazujące cechy niedojrzałości w postaci dużego jądra otoczonego wąskim rąbkim cytoplazmy zawierającym nieliczne organelle komórkowe. W części perikarialnej neuronów obecne były wolne rybosomy, pojedyncze krótkie kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej, niezbyt liczne mitochondria oraz słabo rozwinięty aparat Golgiego.

Po upływie 6 dni pojawiały się komórki z obfitszą cytoplazmą i liczniejszymi organellami komórkowymi. Po 10 dniach *in vitro* proces różnicowania komórek był na tyle zaawansowany, że można było zidentyfikować kilka odrębnych typów neuronów o odmiennych cechach morfologicznych. Wyraźną przewagę w dojrzałej hodowli uzyskiwały komórki nerwowe średnich rozmiarów, wśród których można było wyróżnić kilka podtypów w zależności od wyglądu jądra i obfitości organelli komórkowych. Najliczniejsze neurony typu I stanowiły komórki z centralnie położonym owalnym jądrem otoczonym skąpą ilością cytoplazmy zawierającej stosunkowo

małą ilość organelli komórkowych /ryc. 48/. Neurony typu II reprezentowane były przez większe komórki z obfitą cytoplazmą bogatą w rybosomy, luźno rozrzucone kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej, mitochondria, dobrze rozbudowany aparat Golgiego oraz liczne neurotubule i lizosomy. Pojedyncze neurony typu III posiadały charakterystyczne duże nieregularne jądro z licznymi wcięciami otoczki jądrowej. Typ IV komórek nerwowych stanowiły nieliczne duże neurony, których cechą różnicującą były równoległe układy siatki śródplazmatycznej szorstkiej, odpowiadające typowym ciałkom Nissla /ryc. 49/.

Komórki glejowe eksplantatu w pierwszym tygodniu *in vitro* charakteryzowały się okrągłym lub owalnym jądrem o nierównomiernie rozmieszczonej chromatynie tworzącej niekiedy zagęszczenia imitujące jąderko. Cytoplazma komórek glejowych była jasna i zawierała małą ilość organelli komórkowych takich jak rybosomy, mitochondria, kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej oraz aparat Golgiego. W ich cytoplazmie występowały niekiedy pojedyncze lizosomy oraz nieliczne gliofilamenty i gliotubule.

W okresie pierwszego tygodnia wzrostu *in vitro* komórki glejowe nie miały gliofilamentów i niekiedy były trudne do odróżnienia od mało dojrzałych komórek nerwowych. Cechą różnicującą niedojrzałe komórki glejowe i nerwowe była znacznie większa gęstość elektronowa jądra i cytoplazmy neuronów, wynikająca z dużej ilości chromatyny jądrowej oraz obecności licznych rybosomów wolnych i związanych

z kanałami siatki śródplazmatycznej. W okresie 7-14 dni wzrostu *in vitro* komórki glejowe przybierały postać astrocytów protoplazmatycznych. Charakteryzowały się obecnością owalnego lub okrągłego jądra z równomiernie rozmieszczoną chromatyną oraz jasną, elektronowo-rzadką cytoplazmą, zawierającą wolne rybosomy, pojedyncze mitochondria i dobrze rozbudowany aparat Golgiego /ryc. 50/. Bardzo rzadko obserwowano pojedyncze gliofilamenty lub gliotubule. Typowe komórki gleju włóknistego występowały sporadycznie i zawierały niewielką ilość luźno rozrzuconych gliofilamentów.

Po podaniu kwasu kainowego do płynu wzrostowego zmiany ultrastrukturalne obejmowały prawie wyłącznie komórki glejowe i polegały na gromadzeniu dużej ilości struktur włóknistych w cytoplazmie astrocytów protoplazmatycznych. Komórki nerwowe eksplantatu nie wykazywały nieprawidłowości morfologicznych bez względu na wiek hodowli użytych do doświadczenia oraz czas ekspozycji na działanie kwasu kainowego. W obrębie eksplantatu obserwowano jedynie nieswoiste zmiany zwyrodnieniowe w pojedynczych komórkach nerwowych reprezentujących różne typy morfologiczne, w tym również duże neurony prążkowie. W uszkodzonych komórkach nerwowych występowały liczne ciała gęste oraz zmienione mitochondria pozbawione grzebieni. Obserwowano również nieliczne neurony odznaczające się głębokimi wcięciami otoczki jądrowej powodującymi częściowe lub całkowite oddzielenie fragmentów jądra. Pojedyncze

neurony typu II wykazywały rozrzedzenie cytoplazmy, uszkodzenie mitochondriów, poszerzenie zbiorników siatki śródplazmatycznej szorstkiej oraz obecność ciał o budowie wielobłoniastej i wielopęcherzykowej /ryc. 51/. Pomędzy uszkodzonymi elementami cytoplazmy zawsze występowały liczne neurotubule. Zmiany zwyrodnieniowe dotyczyły również pojedynczych dużych neuronów, których cytoplazma zawierała poszerzone kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej, obrzmiałe mitochondria oraz ciała wielobłoniaste. Zdecydowana większość komórek nerwowych nie wykazywała jednak żadnych zmian ultrastrukturalnych.

Znamienną cechą obrazu morfologicznego po podaniu kwasu kainowego do medium były zmiany glejowe polegające na rozplemie komórek glejowych oraz tworzeniu w ich cytoplazmie nadmiernej ilości elementów włóknistych.

W grupie hodowli poddanych działaniu kwasu kainowego na okres 3 dni, po okresie wzrostu hodowli przez 3 dni w warunkach standardowych, większość komórek glejowych była niezmienniona. Jedynie pojedyncze astrocyty wykazywały pierwsze oznaki toksycznego uszkodzenia. Cytoplazma komórek glejowych stawała się obrzmiała i prawie całkowicie pozbawiona organelli komórkowych. W niektórych komórkach występowały uszkodzone mitochondria o ciemnej, zatartej strukturze macierzy i pojedyncze nieznacznie poszerzone kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej. Niekiedy obecne były również gliofilamenty oraz mniej lub bardziej wykształcone gliotubule /ryc. 52/.



Podobne zmiany morfologiczne występowały w hodowlach poddanych działaniu kwasu kainowego po 7 dniowym okresie wzrostu w warunkach standardowych *in vitro*. Po upływie 3 dni od momentu podania kwasu kainowego obserwowano znaczne uszkodzenie mitochondriów polegające na zatarciu struktury macierzy i zaniku grzebieni, aż do wytworzenia okrągłych tworów otoczonych podwójną błoną. W większości komórek występowało poszerzenie zbiorników siatki śródplazmatycznej oraz wytworzenie ciał wielobłonniastych lub wielopęcherzykowych. Jednocześnie pojawiły się gliofilamenty i pojedyncze gliotubule. Część uszkodzonych astrocytów posiadała jasną, prawie całkowicie pozbawioną organelli komórkowych cytoplazmę zawierającą nieliczne wolne rybosomy, zwyrodniałe mitochondria, wakuole oraz delikatne włókienka glejowe /ryc. 53/.

Po 7 dniach działania kwasu kainowego na hodowle w wieku 7 dni *in vitro* obserwowano już intensywne tworzenie gliofilamentów. Nadal dominującym obrazem uszkodzenia komórek glejowych było obrzmienie ich cytoplazmy oraz skąpa ilość uszkodzonych organelli komórkowych. Obok zwyrodniałych mitochondriów i pojedynczych rozdętych zbiorników siatki szorstkiej występowały liczne cienkie gliofilamenty oraz pojedyncze gliotubule. W cytoplazmie niektórych astrocytów liczba gliotubuli była znaczna i one właśnie stanowiły podstawowy element cytoplazmatyczny komórki /ryc. 54/.

Najbardziej nasilone zmiany glejowe obserwowano w hodowlach zróżnicowanych, utrzymywanych w warunkach standardowych przez okres 14 dni, po upływie którego eksplantat poddawany był działaniu kwasu kainowego. Po 3 dniowej ekspozycji na działanie kwasu kainowego zmiany morfologiczne obejmowały większość komórek glejowych i polegały na gromadzeniu nadmiernej ilości struktur włóknistych w cytoplazmie astrocytów /ryc. 55/. Znaczna część astrocytów protoplazmatycznych ulegała w ten sposób przekształceniu w glej włóknisty, zawierający zbite pęczki i pasma gliofilamentów.

W ciągu następnych dni doświadczenia w grupie hodowli 14 dniowych, eksponowanych następnie przez 14 dni na działanie kwasu kainowego, w obrazie ultrastrukturalnym dominowało masywne gromadzenie struktur włóknistych. W odległej strefie wzrostu obecne były liczne, leżące obok siebie, astrocyty włókniste posiadające cytoplazmę całkowicie wypełnioną gliofilamentami /ryc. 56/.

We wszystkich grupach doświadczalnych komórki oligodendrogleju oraz mielina nie wykazywały zmian morfologicznych /ryc. 57/.

OBRAZ MORFOLOGICZNY KOMÓREK NERWOWYCH I GLEJOWYCH  
W HODOWLI ORGANOTYPOWEJ MOZDZKU  
PO PODANIU KWASU KAINOWEGO

W ciągu pierwszych dni obserwacji in vitro wieniec wzrostu był niewielki i zawierał niezróżnicowane komórki glejowe. Po upływie 7 dni eksplantat tkankowy otoczony był już obfitą strefą wzrostu, w której występowały młode, niezróżnicowane komórki glejowe. Po upływie 10-12 dni wzrostu in vitro eksplantat ulegał ścięnczeniu i widoczne były liczne komórki nerwowe otoczone komórkami glejowymi. W odległej strefie wzrostu można było wyróżnić astrocyty i oligodendrocyty.

Po podaniu kwasu kainowego do płynu wzrostowego obserwowano przerzedzenie warstwy korowej eksplantatu w porównaniu z hodowlami kontrolnymi utrzymywanymi w warunkach standardowych. W strefie wzrostu zaznaczał się rozplam komórek glejowych intensywnie wybarwiających się przy zastosowaniu metody Holzera.

Obserwacje mikroskopowo-elektronowe wykazały uszkodzenie komórek Purkinjego oraz nasilone zmiany glejowe, analogiczne do zmian włóknistych obserwowanych po podaniu kwasu kainowego do hodowli prądkowia. Zmiany zwyrodnieniowe komórek nerwowych dotyczyły wybiórczo dużych komórek Purkinjego, natomiast komórki ziarniste mózdzku nie wykazywały nieprawidłowości morfologicznych. Uszkodzenie komórek Purkinjego obserwowano przede wszystkim w hodowlach

poddanych długotrwałej ekspozycji na działanie kwasu kainowego od początku wzrostu *in vitro* /0-3 DIV/.

W cytoplazmie neuronów stwierdzano obecność licznych, różnokształtnych wakuoli, ciał wielobłoniastych i optycznie gęstych oraz ciemnych mitochondriów z zartartą strukturą macierzy /ryc. 58/. Czasami mitochondria ulegały całkowitemu zwyrodnieniu z wytworzeniem wakuoli wypełnionych drobnoziarnistym materiałem i otoczonych podwójną błoną. Ponadto obserwowano poszerzenie kanałów siatki śródplazmatycznej szorstkiej. Zaawansowane zmiany zwyrodnieniowe komórek Purkinjego występowały dopiero po 7 dniowym lub dłuższym okresie działania kwasu kainowego. W cytoplazmie uszkodzonych neuronów obecne były zwykle pojedyncze luźno leżące neurotubule. W hodowlach utrzymywanych przez 21 i 28 dni w środowisku kwasu kainowego obserwowano pojedyncze zwyrodniałe komórki Purkinjego oraz liczne prawidłowo zachowane komórki ziarniste.

We wszystkich grupach doświadczalnych najistotniejsze nieprawidłowości dotyczyły komórek glejowych typu astrocytarnego. W hodowlach kontrolnych, nawet po długim okresie utrzymywania w warunkach standardowych, w cytoplazmie astrocytów nie obserwowano znacznej liczby gliofilamentów. Po podaniu kwasu kainowego do płynu wzrostowego występowało gromadzenie dużej ilości struktur włóknistych w cytoplazmie perikarijalnej i wypustkach komórek glejowych. Najbardziej zaznaczone zmiany glejowe występowały w hodowlach poddanych działaniu kwasu kaino-

wego w 14 dniu wzrostu *in vitro* tzn. po okresie różnicowania komórek glejowych na astrocyty i oligodendrocyty. Zmiany dotyczące komórek glejowych występowały zarówno w mieszanej neuronalno-glejowej populacji eksplantatu, jak i w odległej strefie wzrostu zawierającej czystą populację komórek glejowych.

W grupie hodowli utrzymywanych w środowisku zawierającym kwas kainowy od początku wzrostu /0 DIV/ pierwszą dostrzegalną zmianą w komórkach glejowych było poszerzenie kanałów siatki śródplazmatycznej szorstkiej /ryc. 59/. Po krótkiej 3 i 7 dniowej ekspozycji na działanie kwasu kainowego, mimo znacznego uszkodzenia organelli komórkowych w cytoplazmie niedojrzałych astrocytów nie obserwowano tworzenia gliofilamentów. Dopiero w grupie hodowli 0/14 i 0/21 dni pojawiała się znaczna ilość gliofilamentów zarówno w cytoplazmie jak i w wypustkach astrocytów położonych w strefie wzrostu hodowli. Towarzyszyło temu znaczne rozdęcie krótkich kanałów siatki szorstkiej śródplazmatycznej oraz uszkodzenie mitochondriów. W jasnej, wodnistej cytoplazmie obecne były pojedyncze wolne rybosomy oraz liczne drobne pęcherzyki /ryc. 60/. Cytoplazma niektórych astrocytów wypełniona była całkowicie pęcherzykami oraz rozdętymi zbiornikami siatki szorstkiej.

Zmiany o podobnym charakterze stwierdzano w hodowlach poddanych działaniu kwasu kainowego w 7 dniu *in vitro*. Po upływie 3 i 7 dni ekspozycji na kwas kainowy występowało już wyraźne poszerzenie kanałów siatki śródplazmatycznej

szorstkiej, powiększenie mitochondriów oraz pojedyncze, delikatne gliofilamenty /ryc. 61/. Po upływie 21 dni doświadczenia cytoplazma niektórych komórek glejowych wykazywała nagromadzenie znacznej ilości dużych mitochondriów /ryc. 62/. Podobne zmiany morfologiczne w postaci poszerzenia kanałów siatki śródplazmatycznej szorstkiej, uszkodzenia mitochondriów oraz tworzenia delikatnych włókienek glejowych obserwowano również w dzielących się astrocytach /ryc. 63/.

Jak zaznaczono powyżej, najbardziej nasilone zmiany glejowe występowały w hodowlach poddanych działaniu kwasu kainowego po 14 dniu wzrostu w warunkach standardowych. W grupie 14/3 i 14/7 widoczne było rozdęcie zbiorników siatki śródplazmatycznej szorstkiej oraz obecność nielicznych gliofilamentów /ryc. 64/. W hodowlach 14 dniowych, poddanych działaniu kwasu kainowego przez następne 14 dni, występowało masywne gromadzenie struktur włóknistych układających się w pęczki lub luźno rozrzuconych pomiędzy organellami komórkowymi /ryc. 65/. Obok licznych gliofilamentów stwierdzano znaczne poszerzenie kanałów siatki śródplazmatycznej szorstkiej i wypełnienie ich drobnoziarnistą, amorficzną substancją /ryc. 66/. W wypustkach komórek glejowych widoczne były również równoległe ułożone gliofilamenty. Kolejną zmianą morfologiczną w komórkach z typowym jądrem astrocytarnym były zmiany zwyrodnieniowe polegające na wypełnieniu cytoplazmy licznymi wakuolami, pęcherzykami, ciałami optycznie gęstymi oraz dużą ilością

struktur o budowie blaszkowatej /ryc. 67/. Pomiedzy nagromadzonymi ciałami polimorficznymi o budowie błoniastej lub blaszkowatej można było rozpoznać resztki zachowanych grzebieni mitochondrialnych oraz pojedyncze kanały siatki szorstkiej śródplazmatycznej.

W grupie hodowli poddanych działaniu kwasu kainowego w 21 i 28 DIV przez okres 3, 7, 14 lub 21 dni komórki glejowe wykazywały uszkodzenie mitochondriów, poszerzenie kanałów siatki szorstkiej oraz tworzenie struktur włóknistych. Ponadto obserwowano nasilone zmiany zwyrodnieniowe astrocytów zwłaszcza w obrębie eksplantatu. W jasnej, elektronowo-rzadkiej cytoplazmie obecne były pojedyncze mitochondria, liczne wakuole i opłaszczone pęcherzyki. Nawet w astrocytach wykazujących zaawansowane zmiany zwyrodnieniowe obserwowano obecność licznych gliofilamentów.

## OMÓWIENIE WYNIKÓW

Obraz otrzymanych uszkodzeń strukturalnych prążkowania, powstających pod wpływem kwasu kainowego w doświadczeniu *in vivo*, charakteryzował się zmianami zwyrodnieniowymi komórek nerwowych oraz współistniejącym odczynem ze strony gleju astrocytarnego. Powyższe zmiany stanowią istotę procesu neuropatologicznego zarówno choroby Huntingtona u ludzi /Bruyn 1968/, jak i modelu zwierzęcego tej choroby /Hattori, McGeer 1977, Schwarcz, Coyle 1977 a, b, Coyle i wsp. 1978 a, b, Divac i wsp. 1978/. Podobieństwo uszkodzeń sugeruje więc możliwość istnienia analogicznych mechanizmów stanowiących podłoże procesu zwyrodnieniowego w przebiegu schorzenia uwarunkowanego genetycznie oraz zmian powstających pod wpływem strukturalnego analogu glutaminianu.

Dawkę kwasu kainowego zastosowaną w doświadczeniu *in vivo* wybrano w oparciu o wyniki uzyskane w poprzednio przeprowadzonych badaniach biochemicznych, które wykazały, że kwas kainowy w ilości 2  $\mu$ g podany stereotaktycznie do prążkowania wywołuje maksymalny spadek wyznaczników dla neuronów GABA-ergicznych i cholinergicznym /Coyle, Schwarcz 1976, Schwarcz, Coyle 1977 a/. Podanie większej ilości kwasu kainowego prowadzi jedynie do gwałtownego wzrostu śmiertelności zwierząt przy nieznacznym wpływie



na stopień uszkodzeń morfologicznych i zaburzeń biochemicznych /Coyle i wsp. 1978 b/.

Otrzymane w obecnej pracy zmiany morfologiczne obserwowane w mikroskopie świetlnym nie ograniczały się do miejsca podania kwasu kainowego lecz obejmowały również strukturę zakrętu hipokampa oraz głębokie warstwy kory czołowej sąsiadującej z uszkodzonym prążkowiem. Podobne odległe zmiany od miejsca iniekcji opisywano w szeregu innych prac doświadczalnych z użyciem kwasu kainowego w modelu zwierzęcym /Coyle i wsp. 1978 a, Nicklas i wsp. 1979 b, Barring i wsp. 1980, Pisa i wsp. 1980, Schwob i wsp. 1980/. Powstawanie odległych uszkodzeń stwarza pewne wątpliwości co do wybiórczego działania kwasu kainowego na strukturę prążkowiec. Wydaje się, że rozległość uszkodzeń jak i nasilenie oraz zasięg zmian miejscowych zależą od wielu czynników, takich jak ilość podanego kwasu kainowego /McGeer, McGeer 1978/, rodzaj stosowanej narkozy /Nelson i wsp. 1978, Zaczek i wsp. 1978 a/ oraz gatunek zwierząt użytych do doświadczenia /Sanberg i wsp. 1979/. Zwyródnienie neuronów kory mózgu przylegającej do uszkodzonego prążkowiec zależy najprawdopodobniej od dyfuzji niewielkich ilości kwasu kainowego. Inny jest prawdopodobnie mechanizm zwyródnienia komórek piramidowych zakrętu hipokampa, ponieważ jak wykazano, stężenie kwasu kainowego dyfundującego do tego pola nie osiąga stężenia toksycznego /Scherer-Singler, McGeer 1979/. Struktury limbiczne są szczególnie wrażliwe

zarówno na działanie kwasu kainowego podanego stereotaktycznie do rogu Amona /Schwarcz i wsp. 1978/ jak i do komory bocznej /Nadler i wsp. 1978 a, 1980 a, b/. Zwyródnienie komórek piramidowych hipokampa występuje często również w uszkodzeniach anoksyjnych i w stanie padaczkowym u ludzi /Meldrum, Brierley 1972, Brierley 1976/. Należy więc podkreślić znaczenie czynnika hipoksyjnego w powstawaniu zmian patologicznych w doświadczeniach z kwasem kainowym, ponieważ częstym objawem klinicznym są drgawki, a nawet stan padaczkowy /Ben-Ari i wsp. 1979, 1980 a, b/. W trakcie obecnych badań doświadczalnych obserwowano występowanie drgawek toniczno-klonicznych, które mogą prowadzić do uszkodzeń komórek nerwowych stanowiących zjawisko wtórne do napadów drgawkowych /Ben-Ari i wsp. 1978/. Na podstawie uzyskanych wyników można sądzić, że w patomechanizmie zwyrodnień komórek piramidowych hipokampa odgrywają rolę zarówno zaburzenia przepływu krwi, niedotlenienie wywołane stanem drgawkowym, jak i dyfuzja podanego stereotaktycznie do prążkowie kwasu kainowego. Za bezpośrednim uszkodzeniem komórek przez kwas kainowy przemawia występowanie zmian patologicznych po stronie iniekcji oraz brak uszkodzeń w polu H1 i w komórkach Purkinjego mózdzku stanowiących cechę charakterystyczną uszkodzeń hipoksyjnych /Palladini i wsp. 1979/.

W badaniach ultrastrukturalnych prążkowie uszkodzonego przez stereotaktyczne podanie kwasu kainowego w doświadczeniu in vivo wykazano postępujące zmiany zwyrod-

nieniowe komórek nerwowych i ich wypustek. W obrazie mikroskopowo-elektronowym dominowało zwyrodnienie komórek nerwowych odpowiadających tzw. neuronom średniej wielkości oraz wypustek protoplazmatycznych w obrębie dystalnych odcinków dendrytów postsynaptycznych i kolców dendrytycznych. W miejscu bezpośredniego podania kwasu kainowego zmiany zwyrodnieniowe obejmowały wszystkie bez wyjątku typy komórek nerwowych. Wywołane jest to prawdopodobnie dużym stężeniem środka neurotoksycznego w miejscu iniekcji. Zmiany zwyrodnieniowe poza centrum iniekcji dotyczyły średniej wielkości komórek nerwowych prądkowia, zachowane były natomiast pojedyncze duże neurony z obfitą cytoplazmą bogatą w kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej. Podobną oporność dużych neuronów prądkowia na działanie kwasu kainowego wykazał Krammer i wsp. /1979/ przy podaniu dawki 2 µg kwasu kainowego. W obserwacjach przeprowadzonych w różnych odległościach od centrum iniekcji w prądkowiu można było prześledzić charakterystyczną kolejność w powstawaniu zmian morfologicznych zaczynających się od obkurczenia perikarionów komórek nerwowych średniej wielkości, zagęszczenia organelli komórkowych, zmian zwyrodnieniowych jądra i składników cytoplazmy, prowadzących aż do całkowitego zaniku neuronów. Początkowe obkurczenie cytoplazmy stanowiło najprawdopodobniej morfologiczny wykładnik przedłużonej depolaryzacji błon komórkowych /Olney i wsp. 1972, Olney 1978/. Pojawiające się natomiast po 2 godzinach doświadczenia z kwasem kainowym obrzmienie

mitochondriów i poszerzenie kanałów siatki śródplazmatycznej szorstkiej, prowadzące do obrazu wakuolizacji cytoplazmy, stanowi zmianę morfologiczną charakterystyczną zarówno dla toksycznego działania kwasu kainowego, jak i jednosodowego glutaminianu /Olney i wsp. 1972/ oraz występuje w różnych typach anoksji i hipoksji /Webster, Ames 1965, Brown, Brierley 1972/. Ze względu na to, że podstawowy typ neuronów prądkowia stanowią neurony kolczyste średniej wielkości /Mori 1966, Adinolfi, Pappas 1968, Kemp, Powell 1971, Fox i wsp. 1971/72 a, b, Mensah, Deadwyler 1974, Pasik i wsp. 1976, Lu, Brown 1977, Dray 1979, Pasik i wsp. 1979, Dimova i wsp. 1980/ i większość z nich ma charakter neuronów cholinergicznych /Lynch i wsp. 1972, McGeer i wsp. 1976/ lub GABA-ergicznych /McGeer, McGeer 1975/, obraz zmian zwyrodnieniowych otrzymany po zastosowaniu kwasu kainowego stanowi histologiczne potwierdzenie poprzednich prac biochemicznych wykazujących obniżenie neuromediatorów choli- i GABA-ergicznych.

Równocześnie z pierwszymi oznakami uszkodzeń w obrębie perikarionów średnich komórek nerwowych obserwowano zmiany zwyrodnieniowe neuropilu. W początkowym okresie /do 24 godzin/ dotyczyły one przede wszystkim wypustek dendrytycznych, które przybierały postać obrzmiałych, puszystych struktur, zachowujących regularne zarysy oraz wykazujących często obecność postsynaptycznych zagęszczeń. Powyższe uszkodzenia wykazują podobieństwo do obrzmienia dendrytów komórek zakrętu hipokampa, opisanych przez Nad-

lera i wsp. /1980/ po podaniu kwasu kainowego do komory bocznej mózgu. Obrzmienie wypustek komórek nerwowych zakrętu hipokampa w materiale Nadlera i wsp. /1980/ dotyczyło jednak przede wszystkim środkowych odcinków drzewa dendrytycznego, przy jednoczesnym elektronowo gęstym zwyrodnieniu kolców dendrytycznych. W przedstawionym obecnie materiale doświadczalnym najwcześniejsze zmiany polegały głównie na obrzmieniu całości dendrytów, natomiast obkurczenie większości kolców dendrytycznych występowało dopiero po upływie 3 dni od momentu podania kwasu kainowego.

Najbardziej uderzającą cechą obrazu ultrastrukturalnego uszkodzeń w późniejszym okresie obserwacji po podaniu kwasu kainowego stanowiło zwyrodnienie zakończeń postsynaptycznych. W licznych pracach doświadczalnych, polegających głównie na podaniu kwasu kainowego do prądkowia, nie obserwowano wyraźnych uszkodzeń połączeń synaptycznych. Jedynie Hattori i McGeer /1977/ wykazali zwyrodnienie małych asymetrycznych i pojedynczych symetrycznych synaps. Obserwowane przez nich uszkodzenia dotyczyły jednak większości kolbek aksonalnych, co nie zostało potwierdzone w obecnych badaniach mikroskopowo-elektronowych.

Zwyrodnienie elementów postsynaptycznych w przedstawianym własnym materiale doświadczalnym dotyczyło zarówno kolców dendrytycznych, jak i dystalnych odcinków dendrytów postsynaptycznych. Elementy stanowiące część postsynaptyczną stawały się obkurczone i przedstawiały obraz nasilonego zwyrodnienia w postaci elektronowo gęstych struktur.

Niektóre dendryty wykazywały nadal cechy nasilonego obrzmienia. W większości przypadków zwyrodniałe elementy postsynaptyczne kontaktowały się z prawidłowo zachowanymi kolbkami aksonalnymi. Obecność resztek zwyrodniałych części postsynaptycznych aż do 21 i 28 dnia doświadczenia wynika prawdopodobnie z ich zachowanego związku z nieuszkodzonymi zakończeniami presynaptycznymi tworzącymi czynnościową całość, co według niektórych autorów daje możliwość ich przetrwania /Di Chiara i wsp. 1977, Nagy i wsp. 1978/. Podobnie Olney i de Gubareff /1978 c/ wykazali obecność fragmentów błon postsynaptycznych przylegających do nieuszkodzonych zakończeń nerwów aferentnych po uszkodzeniu prądkowia przez kwas kainowy.

Na podstawie przeprowadzonych badań morfologicznych zaobserwowano, że zmiany zwyrodnieniowe dotyczące części postsynaptycznych występują głównie w synapsach akso-kolcowych, w których kolbka synaptyczna zawierająca małe, okrągłe pęcherzyki tworzy asymetryczne połączenie z kolcami dendrytycznymi. Powyższe synapsy reprezentują według Hattori i wsp. /1976/ oraz Ribak i wsp. /1976/ typ cholinergiczny i GABA-ergiczny i stanowią najliczniej występujące połączenia synaptyczne w prądkowiu /Pasik i wsp. 1979/. Przy całkowitym zwyrodnieniu elementów postsynaptycznych zagęszczenie postsynaptyczne staje się niewidoczne wskutek znacznego obkurczenia cytoplazmy, co z kolei stwarza trudności w dokładnym określeniu rodzaju połączenia synaptycznego.

Obserwowano ponadto zachowane synapsy akso-somatyczne i pojedyncze akso-dendrytyczne posiadające symetryczne zagęszczenie pre- i post-synaptyczne, które mogą odpowiadać połączeniom typu V i IX spośród opisanych 9 typów synaps prądkowia /Hassler, Chung 1976, Hassler i wsp. 1977, Chung 1979/. Według Chunga /1979/ synapsy te utworzone są prawdopodobnie przez boczne odgałęzienia aksonów pochodzących od wewnętrznych neuronów prądkowia. Z badań własnych wynika, że część postsynaptyczną, która nie uległa uszkodzeniu, stanowią duże neurony prądkowia nie wykazujące zmian morfologicznych.

W przeciwieństwie do rozległych uszkodzeń postsynaptycznych większość kolbek aksonalnych zachowuje prawidłowy obraz morfologiczny. Prawdopodobnie kolbki te stanowią zakończenia nerwów aferentnych, pochodzących od neuronów położonych poza uszkodzonym prądkowiem. Stwierdzony brak zmian morfologicznych w zakończeniach presynaptycznych może tłumaczyć wyniki prac biochemicznych wykazujących niezmienny poziom neuromediatorów neuronów dopaminergicznych po podaniu kwasu kainowego do prądkowia /Coyle, Schwarz 1976, Butcher, Rogers 1978, Schwarcz i wsp. 1980/. W materiale własnym obserwowano niekiedy uszkodzenie pojedynczych kolbek presynaptycznych, co należałoby tłumaczyć możliwością uszkodzenia połączeń międzykomórkowych po masowym uszkodzeniu prądkowia przez kwas kainowy w miejscu iniekcji.

Uzyskane zmiany morfologiczne sugerują, że efekt toksyczny kwasu kainowego związany jest z obecnością specyficznych miejsc receptorowych zlokalizowanych na elementach postsynaptycznych. Przemawiają za tym badania biochemiczne Simona i wsp. /1976/ wykazujące obecność specyficznych miejsc wiązania kwasu kainowego w prążkowie szczura. Ponadto stwierdzono, że liczba miejsc zdolnych do wiązania kwasu kainowego ulega wyraźnej redukcji zarówno po uprzednim podaniu tego związku do prążkowie szczura w modelu doświadczalnym choroby Huntingtona, jak i w jądrze ogoniastym w mózgach pacjentów z chorobą Huntingtona /Henke 1979, Henke, Cuenod 1979, London i wsp. 1981/. Ze względu na to, że dowody na istnienie korowo-prążkowiowej drogi glutaminergicznej /McGeer i wsp. 1977/ wiążą się z obecnością populacji postsynaptycznych miejsc receptorowych dla glutaminianu wydaje się, że kwas kainowy jako analog strukturalny kwasu glutaminowego uszkadza komórki nerwowe prążkowie, działając pośrednio lub bezpośrednio na receptory i pulę metaboliczną glutaminianu. Należy więc przypuszczać, że ubytek komórek nerwowych w procesie zwyrodnieniowym jądra ogoniastego w modelu zwierzęcym choroby Huntingtona zależy od zaburzeń w układzie glutaminergicznym. Ponadto z przedstawionej pracy wynika, że obserwowane zmiany w obrębie połączeń synaptycznych, ograniczone prawie wyłącznie do elementów postsynaptycznych, wskazują na zwyrodnienie komórek nerwowych i stanowią wynik zaburzeń stymulacji postsynaptycznej.



Ze względu na to, że dotychczasowe badania elektronowo-mikroskopowe w chorobie Huntingtona u ludzi pochodzą ze skąpego materiału biopsyjnego /Sluga-Gasser 1966, Roizin i wsp. 1974, Tellez-Nagel i wsp. 1974/ i dotyczą głównie kory mózgu i istoty białej, trudno jest porównać obecnie uzyskane wyniki z obrazem procesu zwyrodnieniowego jądra ogoniastego w mózgach ludzi. Badania przeprowadzone przez Roizina i wsp. /1976/ na podstawie 1 przypadku biopsyjnego wykazały uszkodzenie elementów cytoplazmatycznych komórek nerwowych prądkowia, dotyczące głównie jądra i jąderka oraz układów błon siatki szorstkiej i gładkiej. Ponadto stwierdzono wzrost liczby mitochondriów i zmiany w obrębie ich macierzy oraz obecność licznych ziaren lipofuscyny. W dostępnym piśmiennictwie nie spotykano opisu zwyrodnienia elementów postsynaptycznych, co może wynikać zarówno z ubogiej ilości materiału biopsyjnego jak i z faktu, że choroba Huntingtona jest procesem długotrwałym, w którym narastające w ciągu wielu lat zmiany zwyrodnieniowe prowadzą do ubytku komórek nerwowych i zaniku zwyrodniałych elementów neuropilu. Podanie do prądkowia szczura kwasu kainowego powoduje natomiast powstanie gwałtownych zmian zwyrodnieniowych, które w ciągu 3 dni obejmują większość neuronów i ich wypustek. W doświadczeniu z kwasem kainowym, po 21 i 28 dniach przeżycia, liczba zwyrodniałych komórek nerwowych i części postsynaptycznych ulega wyraźnemu zmniejszeniu wskutek fagocytozy produktów rozpadu. Późny okres doświadczenia

wyduje się bardziej przypominać zmiany morfologiczne stwierdzone post mortem w chorobie Huntingtona u ludzi w momencie zaawansowanego procesu zwyrodnieniowego.

W odróżnieniu od badań przeprowadzonych in vivo, ujawniających rozległe zmiany zwyrodnieniowe neuronów prążkowiego po podaniu kwasu kainowego, w hodowli organotypowej prążkowiego nie otrzymano specyficznych uszkodzeń komórek nerwowych i ich wypustek. Stanowi to prawdopodobnie następstwo wyizolowania tkanki z otaczających ją struktur oraz niewykształcenia w warunkach in vitro połączeń synaptycznych. Panula i wsp. /1979/ wykazali jednak brak toksycznego działania kwasu kainowego na morfologię komórek nerwowych nawet po uzyskaniu prawidłowych synaps w hodowli /Panula 1980/, co sugeruje, że uszkodzenia neuronów zależą przede wszystkim od połączenia korowo-prążkowiego. Brak wyraźnych zmian morfologicznych w komórkach nerwowych prążkowiego in vitro stanowi potwierdzenie poprzednich badań, wykazujących zależność neurotoksyczności kwasu kainowego od zachowania ciągłości drogi korowo-prążkowiej /Biziere, Coyle 1978, McGeer i wsp. 1978 a, Biziere, Coyle 1979 b/, w której rolę neurotransmitera spełnia glutaminian /Spencer 1976, Divac i wsp. 1977, Kim i wsp. 1977/. Jak wykazano, wrażliwość niedojrzałych neuronów prążkowiego in vivo na działanie kwasu kainowego wzrasta wraz z rozwojem unerwienia glutaminergicznego tych komórek i w ciągu 3 tygodni osiąga poziom stwierdzany u zwierząt dorosłych /Campochiaro,

Coyle 1978/. Obserwowany w obecnych badaniach brak uszkodzeń komórek nerwowych w hodowli prążkowiec, poddanej działaniu kwasu kainowego nawet po uzyskaniu przez nie dojrzałości morfologicznej, wynikać może jedynie z pozbawienia eksplantatu unerwienia pochodzącego z kory. Jak wykazały badania Seila i Woodwarda /1980/, możliwość neurotoksycznego działania kwasu kainowego istnieje nawet przy braku glutaminergicznych włókien aferentnych. Stwierdzane obecnie niewielkie uszkodzenia neuronów prążkowiec wywołane są prawdopodobnie bezpośrednim kontaktem neuronów ze środowiskiem wzrostowym zawierającym duże stężenie kwasu kainowego. Przemawia za tym nieswoisty charakter zmian zwyrodnieniowych, dotyczących pojedynczych komórek nerwowych należących do różnych typów morfologicznych m. in. do dużych neuronów prążkowiec.

W badaniach prowadzonych na hodowli organotypowej mózdzku *in vitro* obserwowano uszkodzenie komórek Purkiniego, przy zachowaniu prawidłowej morfologii komórek ziarnistych. Wybiórcze uszkodzenie neuronów Purkiniego wykazuje podobieństwo do zmian morfologicznych wykazanych w doświadczeniach *in vivo* /Herndon, Coyle 1977, Snider, Snider 1979, Tran, Snyder 1979, Foster, Roberts 1980/ oraz w warunkach hodowli pozaustrojowej *in vitro* /Seil i wsp. 1979/. Zaoszczędzenie komórek ziarnistych wynika prawdopodobnie z faktu, że stanowią one neurony glutaminergiczne /Young i wsp. 1974, Hudson i wsp. 1976, Sandoval, Cotman 1978/ tworzące połączenia synaptyczne ze

wszystkimi neuronami mózdzku z wyjątkiem innych komórek ziarnistych. Wybiórcze zwyrodnienie komórek Purkinjego zdawałoby się potwierdzać hipotezę dotyczącą działania kwasu kainowego poprzez receptory glutaminowe /Harndon, Coyle 1977, Seil i wsp. 1978/. Obserwowane we własnym materiale zmiany morfologiczne komórek Purkinjego pojawiały się jednak bardzo wcześnie tzn. przed osiągnięciem dojrzałości morfologicznej komórek nerwowych i wytworzeniem połączeń synaptycznych. Wydaje się więc, że toksyczność kwasu kainowego nie zależy wyłącznie od jego właściwości pobudzających receptory glutaminowe. Potwierdzeniem tego są badania Seila i wsp. /1978/, które wykazały brak uszkodzeń komórek nerwowych przy próbie stymulacji komórek hodowli za pomocą kwasu glutaminowego.

Drugim, obok procesu zwyrodnieniowego neuronów i ich wypustek, składnikiem obrazu neuropatologicznego prążkowie i mózdzku po podaniu kwasu kainowego były zmiany glejowe. Polegały one głównie na gromadzeniu w cytoplazmie astrocytów znacznej ilości włókien glejowych. Zarówno w doświadczeniu *in vivo*, jak i w warunkach hodowli pozaustrojowej odpowiedź ze strony gleju wykazywała daleko idące podobieństwa i prowadziła do powstania obrazu typowej glejozy włóknistej. Intensywną proliferację komórek glejowych po podaniu kwasu kainowego do prążkowie spostrzegali uprzednio Coyle i Schwarcz /1976/, Hattori i McGeer /1977/ oraz Coyle i wsp. /1978 a/. Zmiany te autorzy interpretowali jednak jako późną i wtórną odpo-

wieź gleju powstającą w wyniku znacznych ubytków komórek nerwowych.

W materiale uzyskanym we własnych doświadczeniach *in vivo* wykazano, że wczesne zmiany ultrastrukturalne astrocytów pojawiają się w ciągu krótkiego okresu po podaniu kwasu kainowego. W pierwszej grupie doświadczalnej po 30 minutach przeżycia występowało już zaawansowane obrzmienie cytoplazmy astrocytów i ich wypustek. Patologia glejowa postępowała więc równoległe do procesu zwyrodnieniowego komórek nerwowych. Wczesne zmiany glejowe wykazują podobieństwo do obrzmienia stwierdzonego przez Herndona i *wsp.* /1980/ w komórkach gleju Bergmana po podaniu kwasu kainowego do mózdzku. Autorzy sugerują, że wczesne obrzmienie gleju powstaje w wyniku magazynowania wody w cytoplazmie astrocytów, w wyniku pierwotnej depolaryzacji komórek nerwowych prowadzącej do wzrostu poziomu potasu w przestrzeni pozakomórkowej. Zaobserwowane we własnym materiale obrzmienie gleju dotyczyło zarówno wypustek glejowych okołoneuronalnych jak i komórek glejowych oraz ich wypustek położonych pomiędzy prawidłowo jeszcze zachowanymi elementami neuropilu. Pierwotne zmiany depolaryzacyjne komórek nerwowych mogą wywoływać szybką i rozległą odpowiedź tkanki glejowej /Hösl i *wsp.* 1979, 1981/. Istnieje jednak możliwość, że kwas kainowy działając bezpośrednio na komórki glejowe, wywołuje zmiany metaboliczne prowadzące do przesunięć jonowych i magazynowania wody w cytoplazmie astrocytów. Mechanizm ten wydaje się tym bardziej prawdo-

podobny, że obrzmieniu cytoplazmy komórek glejowych towarzyszyło powiększenie mitochondriów, poszerzenie kanałów siatki śródplazmatycznej szorstkiej oraz obecność wakuoli lub struktur błoniastych. Powyższe zmiany świadczą o istnieniu dodatkowych nieprawidłowości w strukturze organelli komórkowych. W odróżnieniu od obecnie stwierdzonych wczesnych zmian glejowych Nadler i wsp. /1980 a/ po podaniu kwasu kainowego do zakrętu hipokampa nie obserwowali innych zmian ultrastrukturalnych w obrębie astrocytów poza obrzmieniem ich cytoplazmy i na tej podstawie utrzymywali, że obrzmienie gleju jest wtórne do uszkodzeń komórek nerwowych. Na podstawie obecnych wyników wydaje się również, że sugerowana przez Nadlera i wsp. /1980 a/ zależność obrzmienia astrocytów od reakcji fagocytarnej gleju nie znajduje uzasadnienia ze względu na to, że mimo nasilonego obrzmienia astrocyty nie przejawiały wyraźnych właściwości fagocytarnych.

W późniejszym okresie doświadczenia *in vivo* znamioną właściwość komórek glejowych stanowiło intensywne wytwarzanie i gromadzenie dużej ilości struktur włóknistych. Już w 3-cim dniu doświadczenia w wodnistej cytoplazmie astrocytów uwidaczniały się pierwsze gliofilamenty. Po upływie 7 dni występowały liczne astrocyty o typowych cechach morfologicznych astrocytów włóknistych zawierających w cytoplazmie znaczną ilość gliofilamentów. Po upływie 2 i 3 tygodni po podaniu kwasu kainowego w obrazie morfologicznym prądkowia dominowały astrocyty posiadające

nagromadzenie elementów włóknistych w cytoplazmie komórkowej i wypustkowej. Fakt, że astrocyty włókniste stanowią w tym okresie podstawowy składnik strukturalny uszkodzonej tkanki, wynika zarówno z rozplemu komórek glejowych, jak i wskutek ubytku komórek nerwowych i obkurczenia neuropilu. Intensywna glejoza włóknista, rozwijająca się od 7 dnia doświadczenia, odpowiada wzrostowi poziomu syntezy białek stwierdzonemu w okresie 5-10 dni po podaniu kwasu kainowego do prądkowia /Singh i wsp. 1978 a, b, Jakubovic i wsp. 1979/. Astrocyty o zmienionym metabolizmie komórkowym, powstającym pod wpływem kwasu kainowego, nabierają pewnych swoistych właściwości, które różnią je od komórek glejowych obecnych w warunkach prawidłowych. Mają one bowiem, jako komórki pochodzące z mózgu zwierząt dorosłych, zdolność do życia w warunkach hodowli tkankowej i utrzymywania in vitro przez 10 dni, czego nie posiadały astrocyty pochodzące od tych samych zwierząt bez uprzedniego podania kwasu kainowego /Singh, Alstytne 1978/.

Obok komórek glejowych typu astrocytarnego w 7 dniu doświadczenia in vivo obecne były liczne małe, ciemne komórki zawierające w cytoplazmie długie kanały siatki śródplazmatycznej, wakuole oraz kule tłuszczu. Na podstawie cech ultrastrukturalnych komórki te należy zaliczyć do szeregu mikroglejowego /Mori, Leblond 1969, Blakemore 1972/. Pojawienie się znacznej liczby komórek o identycznej morfologii stwierdzano po podaniu kwasu kainowego do zakrętu hipokampa /Murabe i wsp. 1980, Nadler 1980,

Murabe i wsp. 1981/. Przeprowadzone badania nie pozwalają na pełną interpretację pochodzenia komórek mikrogleju po podaniu kwasu kainowego, wydaje się jednak, że jak sugeruje Murabe i wsp. /1980/, mogą one pochodzić z populacji komórek mikrogleju obecnej w OUN, a ich wzrost stanowi typową reakcję na rozpad tkanki.

W badaniach *in vitro* przeprowadzonych w hodowli organotypowej prądkowia i mózdzku pobranych z noworodków szczurzych wykazano, że po podaniu kwasu kainowego do płynu wzrostowego zachodzi intensywny proces produkcji gliofilamentów w cytoplazmie astrocytów. Zmiany glejowe *in vitro* pozwalają na określenie reakcji gleju na działanie kwasu kainowego jako glejozy włóknistej, analogicznej do zmian włóknistych występujących *in situ*. Metoda hodowli tkankowej pozwoliła jednak na dokładniejsze przesledzenie dynamiki procesu oraz sekwencji czasowej powstawania zmian patologicznych w astrocytach.

Wczesne zmiany ultrastrukturalne w hodowli obejmujące niedojrzałe formy komórek glejowych polegają na gromadzeniu powiększonych mitochondriów, wakuoli oraz poszerzeniu kanałów siatki śródplazmatycznej szorstkiej. W tym okresie w hodowli organotypowej mózdzku nie obserwuje się jeszcze wyraźnego tworzenia gliofilamentów. Komórki stopniowo nabierają zdolności do tworzenia struktur białkowych, czego morfologicznym wykładnikiem jest znaczne rozdęcie kanałów siatki szorstkiej. Obraz zmian patologicznych jest krańcowo różny w porównaniu z hodowlami



kontrolnymi i zaobserwowane zmiany mają nie tylko charakter ilościowy ale i jakościowy.

Najbardziej intensywne gromadzenie struktur włóknistych w cytoplazmie komórek glejowych obserwowano po podaniu kwasu kainowego w 14 dniu wzrostu *in vitro*. W 2-tygodniowych hodowlach, w których wyróżnić można było zróżnicowane astrocyty i oligodendrocyty, po 3-dniowej ekspozycji na działanie kwasu kainowego większość astrocytów zawierała bardzo liczne gliofilamenty ułożone w pęczki lub rozrzucone luźno w cytoplazmie. Nieco inaczej przebiegał proces tworzenia struktur włóknistych w komórkach glejowych hodowli organotypowej prądkowia, w której elementy włókniste pod postacią gliofilamentów oraz gliotubuli występowały nawet w mało zróżnicowanych komórkach glejowych po 3-dniowym okresie działania kwasu kainowego. Struktury włóknienkowe, rzadziej struktury tubularne, stanowią charakterystyczny element składowy cytoplazmy komórek dojrzałego gleju gwiaździstego zarówno w warunkach *in vivo* jak i *in vitro* /Vaughn, Pease 1967, Raine 1973, Murabe, Sano 1981/, natomiast w niedojrzałych komórkach glejowych występują na ogół sporadycznie /Palay 1964, Wendle-Smith i wsp. 1966, Vaughn, Peters 1967/. Ponadto rzadko w hodowli, jak i *in vivo*, obserwuje się glej włóknisty w większości struktur szarych mózgu, w których liczba komórek gleju protoplazmatycznego znacznie przewyższa liczbę komórek gleju włóknistego /Caley, Maxwell 1968, Peters i wsp. 1976, King, Schwyn 1970/.

Prążkowie należy do struktur o wybitnej przewodze gleju protoplazmatycznego. Pojawienie się więc nadmiernej ilości filamentów i tubuli w komórkach niedojrzałego gleju w hodowli prążkowie należy ocenić jako istotną zmianę metaboliczną o charakterze zmian zarówno ilościowych, jak i jakościowych, wywołanych bezpośrednim podaniem kwasu kainowego.

Najbardziej wyraźne przekształcenie gleju protoplazmatycznego w glej włóknisty uzyskano jednak w dojrzałych hodowlach prążkowie, a więc podobnie jak w hodowlach mózdzku po okresie różnicowania komórek glejowych na odrębne postacie morfologiczne astrocytów i oligodendrocytów /Renkawek 1972/. Zmiany morfologiczne po kwasie kainowym dotyczą wyłącznie populacji komórek gwiaździstych, podczas gdy komórki oligodendrogleju i mielina pozostają niezmienione. Proces tworzenia filamentów glejowych w hodowli prążkowie i mózdzku jest zasadniczo podobny, z tym że najwcześniejsze gliofilamenty w komórkach prążkowie pojawiają się wcześniej niż w analogicznych wiekiem komórkach glejowych mózdzku. Ponadto obraz glejozy włóknistej w prążkowie wydaje się być bardziej nasilony i obejmuje większą populację rosnących komórek glejowych niż po podaniu takiej samej dawki kwasu kainowego do płynu wzrostowego mózdzku. Maksymalne nagromadzenie elementów filamentarnych w dojrzałych astrocytach wskazuje na to, że procesowi tworzenia struktur białkowych odpowiada powoli narastające zaburzenie

w przemianie białkowej, czego potwierdzeniem może być stwierdzony po długotrwałym działaniu kwasu kainowego wzrost syntezy białek /Singh i wsp. 1978 a, b/.

O ile doświadczenia *in vivo* nie pozwalają na jednoznaczne określenie zależności zmian glejowych od zwyrodnienia komórek nerwowych, o tyle badania przeprowadzone w warunkach hodowli tkankowej świadczą o tym, że glejoza włóknista jest procesem pierwotnym, niezależnym od ubytku neuronów i stanowi reakcję na toksyczne działanie kwasu kainowego. Dowodem na bezpośredni wpływ kwasu kainowego na komórki glejowe są niewielkie ubytki komórek Purkiniego w hodowli mózdku oraz praktycznie brak zwyrodnienia neuronów w hodowli organotypowej prądkowia. Ponadto glejozę włóknistą obserwowano zarówno w mieszanej neuronalno-glejowej populacji eksplantatu, jak i w odległej strefie wzrostu zawierającej czystą populację komórek glejowych, co sugeruje, że glej gwiaździsty nabiera pewnych swoistych właściwości metabolicznych po podaniu kwasu kainowego. Bez względu na możliwość istnienia związku pomiędzy uszkodzeniem neuronów a odpowiedzią komórek glejowych *in situ*, przedstawione wyniki uzyskane w warunkach hodowli tkankowej potwierdzają opinię Seila i wsp. /1978/ oraz Lovella i Jonesa /1980/ sugerującą, że zmiany glejowe nie mogą być tłumaczone wyłącznie działaniem toksycznym kwasu kainowego w stosunku do komórek nerwowych. Możliwość bezpośredniego wpływu kwasu kainowego na komórki glejowe potwierdzają również badania izo-

enzymów glikolitycznych gleju i neuronów przeprowadzone przez Zis i wsp. /1980/, które wykazały wczesne uszkodzenie enzymów w gleju, wyprzedzające glejozę wykrywaną za pomocą badań morfologicznych. Ponadto Nicklas i wsp. /1979 a, b/ stwierdzili wzrost syntetazy glutaminy w uszkodzonym prądkowiu, co w związku z glejową lokalizacją tego enzymu /Garfinkel 1966, Martinez-Hernandez i wsp. 1977/, przemawiać może nie tylko za nasiloną proliferacją komórek glejowych, lecz również za zmianami w metabolizmie tkanki glejowej powstającymi po kwasie kainowym. Ze względu na to, że syntetaza glutaminy znajduje się prawie wyłącznie w komórkach glejowych szeregu astrocytarnego /Martinez-Hernandez i wsp. 1977, Norenberg, Martinez-Hernandez 1979, Schousboe i wsp. 1979/ wzrost tego enzymu po podaniu kwasu kainowego stanowi odzwierciedlenie zmian morfologicznych, które jak wykazały obecne badania ultrastrukturalne dotyczą wyłącznie astrocytów. Wyniki uzyskane in vivo i in vitro pozwalają na traktowanie reakcji komórek glejowych na działanie kwasu kainowego jako procesu niezależnego od ubytku i zwyrodnienia komórek nerwowych, lecz procesu stanowiącego wynik bezpośredniego wpływu toksycznego kwasu kainowego. W ostatnich latach udowodniono, że istnieją dwie pule glutaminianu i zarówno neurony jak i glej biorą udział w jego metabolizmie /Berl i wsp. 1968, Balazs i wsp. 1973, Berl i wsp. 1973, Henn i wsp. 1974, Balcar i wsp. 1977, Hamberger i wsp. 1978, Patel i wsp. 1982/. Wydaje się

więc, że kwas kainowy, ze względu na swe strukturalne podobieństwo do glutaminianu, może wpływać zarówno na metabolizm i uwalnianie glutaminianu w komórkach nerwowych, jak i glejowych, a gromadzenie nadmiernej ilości elementów włóknistych w cytoplazmie astrocytów jest morfologicznym wykładnikiem zaburzeń w przemianie białkowem

W N I O S K I

1. Uzyskany obraz uszkodzeń morfologicznych po stereotaktycznym podaniu kwasu kainowego do prążkowie jest zbliżony do zmian morfologicznych występujących w chorobie Huntingtona.
2. Charakterystyczną cechą uszkodzeń po kwasie kainowym jest wybiórcze zwyrodnienie części postsynaptycznych dendrytów, co dowodzi, że u podłoża zmian zwyrodnieniowych neuronów leży nadmierna stymulacja miejsc postsynaptycznych. Należy sądzić, że kwas kainowy, będąc analogiem glutaminianu, powoduje zaburzenia w układzie glutaminergicznym i wpływa na receptory glutaminowe zlokalizowane na błonie postsynaptycznej.
3. Uszkodzenie neuronów prążkowie występuje przy zachowaniu ciągłości połączeń prążkowie z formacjami szarymi, głównie z korą mózgu. Wiarygodność tych spostrzeżeń potwierdza brak uszkodzeń komórek nerwowych prążkowie w hodowli organotypowej na skutek pozbawienia eksplantatu połączeń korowo-prążkowiowych i niewykształcenia połączeń synaptycznych.
4. Uszkodzeniom komórek nerwowych prążkowie *in vivo* towarzyszą nasilone zmiany komórek glejowych prowadzące

do stopniowego przekształcania się gleju protoplazmatycznego w glej włóknisty. Równoczesowość i nasilenie tych zmian nasuwa przypuszczenie o możliwości bezpośredniego uszkodzenia metabolizmu astrocytów przez kwas kainowy.

5. Nadmierne gromadzenie elementów włóknistych w astrocytach *in vitro*, obserwowane zarówno w mieszanej, neuronalno-glejowej populacji eksplantatu zawierającej nieuszkodzone komórki nerwowe, jak i w pozbawionej neuronów strefie wzrostu, pozwala wnioskować, że reakcja glejowa na działanie kwasu kainowego stanowi proces niezależny od zwyrodnienia neuronów, natomiast jest wyrazem bezpośredniego wpływu kwasu kainowego na metabolizm glutaminowy i białkowy astrocytów.
6. Zdolność do tworzenia nadmiernej ilości elementów włóknistych w komórkach glejowych *in vitro* uwarunkowana jest stopniem ich dojrzałości oraz zróżnicowaniem na poszczególne typy komórkowe. Świadczy o tym gromadzenie struktur filamentarnych wyłącznie w astrocytach, przy braku jakichkolwiek uszkodzeń w komórkach oligodendrogleju.

P I Ś M I E N N I C T W O

1. Adinolfi A.M., Pappas G.D.: The fine structure of the caudate nucleus of the cat. *J. Comp. Neurol.* 1968, 133, 167-184
2. Ando N., Gold B.I., Bird E.D., Roth R.H.: Regional brain levels of  $\gamma$ -hydroxybutyrate in Huntington's disease. *J. Biochem.* 1979, 32, 617-632
3. Balazs R., Patel A., Richter D.: Metabolic compartments in the brain: their properties and relation to morphological structures. W: *Metabolic Compartmentation in the Brain*. R. Balazs, J.E. Cremer /Eds/. MacMillan, London 1973, 167-183
4. Balcar V.J., Borg J., Mandel P.: High-affinity uptake of L-glutamate and L-aspartate by glial cells. *J. Neurochem.* 1977, 28, 87-93
5. Barbeau A.: Biochemistry of Huntington's chorea. *Adv. Neurol.* 1973, 1, 473-516
6. Baring M.D., Walters J.R., Eng N.: Action of systemic apomorphine on dopamine cell firing after neostriatal kainic acid lesion. *Brain Res.* 1980, 181, 214-218
7. Beaumont K., Maurin Y., Resine T.O., Fields J.Z., Spokes E., Bird E.D., Yamamura H.J.: Huntington's disease and its animal model: alteration in kainic acid binding. *Life Sci.* 1979, 24, 809-816



8. Ben-Ari Y., Tremblay E., Ottersen O.P., Naquet R.: Evidence suggesting secondary epileptogenic lesions after kainic acid: pretreatment with diazepam reduce distant but not focal brain damage. *Brain Res.* 1978, 165, 362-365
9. Ben-Ari Y., Lagowska J., Tremblay E., Le Gal La Salle G.: A new model of focal status epilepticus: intra-amygdaloid application of kainic acid elicits repetitive secondarily generalized convulsive seizures. *Brain Res.* 1979, 163, 176-179
10. Ben-Ari Y., Tremblay E., Ottersen O.P., Meldrum B.S.: The role of epileptic activity in hippocampal and remote cerebral lesions induced by kainic acid. *Brain Res.* 1980 a, 191, 79-97
11. Ben-Ari Y., Tremblay E., Ottersen O.P.: Injection of kainic acid into the amygdaloid complex of the rat: an electrographic, clinical and histological study in relation to the pathology of epilepsy. *Neuroscience* 1980 b, 5, 515-528
12. Berl S., Niklas W.J., Clarke D.D.: Compartmentation of glutamic acid metabolism in brain slices. *J. Neurochem.* 1968, 15, 131-140
13. Bernheimer H., Horynkiewicz O.: Brain amines in Huntington's chorea. W: *Advances in Neurology*. A. Barbeau, T.N. Chase, G.W. Paulson /Eds/. Raven Press, New York 1973, 525-531

14. Bird E.D., Mackay A.V.P., Rayner C.N., Iversen L.L.:  
Reduced glutamic-acid decarboxylase activity of post-  
-mortem brain in Huntington's chorea. *Lancet* 1973, i,  
1090-1092
15. Bird E.D., Iversen L.L.: Huntington's chorea: post-  
-mortem measurement of glutamic-acid decarboxylase,  
choline acetyltransferase and dopamine in basal ganglia.  
*Brain* 1974, 97, 457-472
16. Bird E.D., Iversen L.L.: Neurochemical findings in  
Huntington's chorea. W: *Essays in Neurochemistry and  
Neuropharmacology*. M.B.H. Youdim, W. Lovenberg, D.F.  
Sharman, J.R. Lagando /Eds/ 1977, 1, 177-195
17. Bird S.J., Gulley R.L., Wenthold R.J.: Kainic acid  
injections result in degeneration of cochlear nucleus  
cells innervated by the auditory nerve. *Science* 1978,  
202, 1087-1089
18. Biscoe T.J., Evans R.H., Headley P.M., Martin M.R.,  
Watkins J.C.: Structure-activity relations of excita-  
tory amino acids on frog and rat spinal neurons.  
*Br. J. Pharmacol.* 1976, 58, 373-382
19. Biziere K., Coyle J.T.: Influence of corticostriatal  
afferents on striatal kainic acid neurotoxicity.  
*Neurosci. Lett.* 1978, 8, 303-310
20. Biziere K., Coyle J.T.: Localization of receptors for  
kainic acid on neurons in the internuclear layer of  
retina. *Neuropharmacol.* 1979 a, 18, 409-415

21. Biziere K., Coyle J.T.: Effects of cortical ablation on the neurotoxicity and receptor binding of kainic acid in striatum. *J. Neurosci. Res.* 1979 b, 4, 383-398
22. Blakemore W.F.: Microglial reaction following thermal necrosis of the rat cortex: an electron microscope study. *Acta Neuropathol.* 1972, 21, 11-22
23. Borstein M.B.: Reconstituted rat-tail collagen used as substrate for tissue culture on coverslip in Maximow slides and roller tubes. *Lab. Invest.* 1958, 7, 134-137
24. Brierley J.B.: Cerebral hypoxia. W: Greenfield's Neuro-pathology. W. Blackwood, J.A.N. Corsellis /Eds/, Edward Arnold, London 1976, 43-86
25. Brown A.W., Brierley J.B.: Anoxic-ischemic cell changes in rat brain. Light microscopic and fine structural observations. *J. Neurol. Sci.* 1972, 16, 59-84
26. Bruyn G.W.: Huntington's chorea: historical, clinical and laboratory synopsis. W: Handbook of Clinical Neurology, Disease of Basal Ganglia. P.J. Vinken, G.W. Bruyn /Eds/, North-Holland Publ., Amsterdam 1968, 6, 299-377
27. Bruyn G.W.: Neuropathological changes in Huntington's chorea. *Advanc. Neurol.* 1973, 1, 399-403
28. Bunney B.S., Aghajanian G.K.: Dopaminergic influence in the basal ganglia: evidence for striato-nigral feedback regulation. W: The Basal Ganglia. Yahr M.D. /Ed./, Raven Press, New York 1976, 249-269

29. Butcher L.L., Rogers R.C.: Histochemical effects of kainic acid on neostriatal dopamine and acetylcholinesterase. *Europ. J. Pharmacol.* 1978, 50, 287-289
30. Calay D.W., Maxwell D.S.: An electron microscope study of the neuroglia during postnatal development of the rat cerebrum. *J. Comp. Neurol.* 1968, 133, 45-69
31. Campochiaro P., Coyle J.T.: Ontogenetic development of kainate neurotoxicity: correlates with glutamatergic innervation. *Proc. Nat. Acad. Sci. /Wash./* 1978, 75, 2025-2029
32. Chung J-W.: Striatal synapses and their origin. *Appl. Neurophysiol.* 1979, 42, 21-24
33. Colonnier M., Steriade M., Landry P.: Selective resistance of sensory cells of the mesencephalic trigeminal nucleus to kainic acid - induced lesions. *Brain Res.* 1979, 172, 552-556
34. Coyle J.T., Schwarcz R.: Lesion of striatal neurons with kainic acid provides a model for Huntington's chorea. *Nature /Lond./* 1976, 263, 244-246
35. Coyle J.T., Schwarcz R., Bennett J.P., Campochiaro P.: Clinical, neuropathological and pharmacological aspects of Huntington's disease: correlates with a new animal model. *Prog. Neuro-Psycho-Pharmacol.* 1977, 1, 13-30
36. Coyle J.T., Molliver M.E., Kuhar M.J.: In situ injection of kainic acid: a new method for selectively lesioning neuronal cell bodies while sparing axons of passage. *J. Comp. Neurol.* 1978 a, 180, 301-324

37. Coyle J.T., McGeer E.G., McGeer P.L., Schwarcz R.:  
Neostriatal injections: a model for Huntington's  
chorea. W: Kainic Acid as a Tool in Neurobiology.  
E.G. McGeer, J.W. Olney, P.L. McGeer /Eds/, Raven  
Press, New York 1978 b, 139-161
38. Coyle J.T.: An animal model for Huntington's disease.  
Biol. Psychiat. 1979, 14, 251-276
39. Cox D.W.G., Bradford H.F.: Uptake and release of  
excitatory amino acid neurotransmitters. W: Kainic  
Acid as a Tool in Neurobiology. E.G. McGeer, J.W.  
Olney, P.L. McGeer /Eds/, Raven Press, New York 1978,  
71-93
40. Curtis D.R., Kuggan A.W., Felix D., Johnston G.A.R.,  
Trebecis A.K., Watkins J.C.: Excitation of mammalian  
neurons by acidic amino acids. Brain Res. 1972, 41,  
283-301
41. Curtis D.R., Johnston G.A.R.: Amino acid transmitters  
in the mammalian central nervous system. Ergeb. Physiol.  
Biol. Chem. Exp. Pharmacol. 1974, 69, 97-188
42. DeLong M., Coyle J.T.: Globus pallidus lesions in the  
monkey produced by kainic acid: histologic and beha-  
vioural effects. Appl. Neurophysiol. 1979, 42, 95-97
43. Denavit-Saubie M., Riche D., Champagnat J., Velluti  
J.C.: Functional and morphological consequences of  
kainic acid microinjections into a pontine respiratory  
area of the cat. Neuroscience 1980, 5, 1609-1620

44. De Montigny C., Lund J.P.: A microiontophoretic study of the action of kainic acid and putative neurotransmitters in the rat mesencephalic trigeminal nucleus. *Neuroscience* 1980, 5, 1621-1628
45. Di Chiara G., Porceddu M.L., Fratta W., Gessa G.L.: Postsynaptic receptors are not essential for dopaminergic feedback regulation. *Nature /Lond./* 1977, 267, 270-272
46. Dimova R., Vuillet J., Seite R.: Study of the rat neostriatum using a combined Golgi - electron microscope technique and serial sections. *Neuroscience* 1980, 5, 1581-1596
47. Divac I., Fonnum F., Storm-Mathisen J.: High affinity uptake of glutamate in terminals of corticostriatal axons. *Nature /Lond./* 1977, 266, 377-378
48. Divac I., Markowitsch H.J., Pritzel M.: Behavioral and anatomical consequences of small intrastriatal injections of kainic acid in the rat. *Brain Res.* 1978, 151, 523-532
49. Dray A.: The striatum and substantia nigra: a commentary on their relationships. *Neuroscience* 1979, 4, 1407-1439
50. Fibiger H.C.: Kainic acid lesions of the striatum: a pharmacological and behavioral model of Huntington's disease. *In: Kainic Acid as a Tool in Neurobiology.* E.G. McGeer, J.W. Olney, P.L. McGeer /Eds/, Raven Press, New York 1978, 161-176

51. Fisher R., Norris J.W., Gilka L.: GABA in Huntington's chorea. *Lancet* 1974, i, 506
52. Fonnum F., Walaas I.: The effects of intrahippocampal kainic acid injections and surgical lesions on neurotransmitters in hippocampus and septum. *J. Neurochem.* 1978, 31, 1173-1181
53. Foster A.C., Roberts P.J.: Morphological and biochemical changes in the cerebellum induced by kainic acid *in vivo*. *Neurochemistry* 1980, 34, 1191-1200
54. Fox C.A., Andrade A.W., Hillman D.E., Schwyn R.C.: The spiny neurons in the primate striatum: a Golgi and electron microscopic study. *J. Hirnforsch.* 1971/1972 a, 11, 181-201
55. Fox C.A., Andrade A.N., Schwyn R.C., Rafols J.A.: The aspiny neurons and the glia in the primate striatum. A Golgi and electron microscopic study. *J. Hirnforsch.* 1971/1972 b, 13, 341-362
56. Friedle N.M., Kelley P.H., Moore K.E.: Regional brain atrophy and reductions in glutamate release and uptake after intrastriatal kainic acid. *Br. J. Pharmacol.* 1978, 63, 151-158
57. Garfinkel D.: A simulation study of the metabolism and compartmentation in brain of glutamate, aspartate, Krebs cycle and related metabolites. *J. Biol. Chem.* 1966, 241, 3918-3929

58. Guarneri P., Corda M.G., Concas A., Biggio G.: Kainic acid - induced lesion of rat retina: differential effect on cyclic GMP and benzodiazepine and GABA receptors. *Brain Res.* 1981, 209, 216-221
59. Hall J.G., Huks T.P., McLennon H.: Kainic acid and glutamate receptor. *Neurosci. Lett.* 1978, 8, 171-175
60. Hampton C.K., Garcia Ch., Redburn D.A.: Localization of kainic acid - sensitive cells in mammalian retina. *J. Neurosci. Res.* 1981, 6, 99-113
61. Hassler R., Chung J.W.: The discrimination of nine different types of synaptic boutons in the fundus striati /nucleus accumbens septi/. *Cell Tiss. Res.* 1976, 168, 489-505
62. Hassler R., Chung J.W., Wagner A., Rinne V.: Experimental demonstration of intrinsic synapses in cat's caudate nucleus. *Neurosci. Lett.* 1977, 5, 117-121
63. Hattori T., McGeer P.L., McGeer E.G.: Synaptic morphology in the neostriatum of the rat: possible serotonergic synapse. *Neurochem. Res.* 1976, 1, 451-467
64. Hattori T., McGeer E.G.: Fine structural changes in the rat striatum after local injections of kainic acid. *Brain Res.* 1977, 129, 174-180
65. Henn F.A., Goldstein M.N., Hamberger A.: Uptake of the neurotransmitter candidate glutamate by glia. *Nature /Lond./* 1974, 249, 663-664



66. Henke H.: Kainic acid binding in human caudate nucleus: effects of Huntington's disease. *Neurosci. Lett.* 1979, 14, 247-251
67. Henke H., Cuénod M.: L-glutamate specific [<sup>3</sup>H] kainic acid binding in the rat neostriatum after degeneration of the cortico-striatal pathway. *Neurosci. Lett.* 1979, 11, 341-345
68. Herndon R., Coyle J.T.: Selective destruction of neurons by a transmitter agonist. *Science* 1977, 198, 71-74
69. Herndon R.M., Coyle J.T.: Glutamergic innervation, kainic acid and selective vulnerability in the cerebellum. *W: Kainic Acid as a Tool in Neurobiology.* E.G. McGeer, J.W. Olney, P.L. McGeer /Eds/, Raven Press, New York 1978, 189-199
70. Herndon R.M., Coyle J.T., Addicks E.: Ultrastructural analysis of kainic acid lesion to cerebellar cortex. *Neuroscience* 1980, 5, 1015-1026
71. Hösli L., Anders P.F., Hösli E.: Depolarization of cultured astrocytes by glutamate and aspartate. *Neuroscience* 1979, 4, 1593-1598
72. Hösli L., Hösli E., Landolt H., Zehntner Ch.: Efflux of potassium from neurons excited by glutamate and aspartate causes a depolarization of cultured glial cells. *Neurosci. Lett.* 1981, 21, 83-86

73. Hudson D.B., Valcana T., Bern G., Timiras P.S.:  
Glutamic acid, a strong candidate as the neurotransmitter of the cerebellar granule cell. *Neurochem. Res.* 1976, 1, 73-81
74. Jakubovic A., Lin D., McGeer E.G.: Protein and RNA synthesis in kainic acid - injected striata. *Brain Res.* 1979, 163, 289-294
75. Johnson J.L.: Glutamic acid as synaptic transmitter in the nervous system. A review. *Brain Res.* 1972, 37, 1-19
76. Johnston G.A.R., Curtis D.R., Davies J., McCulloch R.M.: Excitation of spinal interneurons by some conformationally restricted analogues of L-glutamic acid. *Nature /Lond./* 1974, 248, 804-805
77. Johnston G.A.R., Kennedy S.M.E., Twitchin B.: Action of the neurotoxin kainic acid on high affinity uptake of L-glutamic acid in rat brain slices. *J. Neurochem.* 1979, 32, 121-127
78. Kemp J.M., Powell T.P.S.: The structure of the caudate nucleus of the cat: light and electron microscopy. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. /Biol./ Ser. B.* 1971, 262, 388-401
79. Kim J.S., Hassler R., Haug P., Paik K.S.: Effect of frontal cortex ablation on striatal glutamic acid level in rat. *Brain Res.* 1977, 132, 370-374

80. King J.S., Schwyn R.C.: The fine structure of neuroglia cells and pericytes in the primate red nucleus and substantia nigra. *Z. Zellforsch.* 1970, 106, 309-321
81. Köhler C., Schwarcz R., Fuxe K.: Perforant path transections protect hippocampal granule cells from kainate lesions. *Neurosci. Lett.* 1978, 10, 241-246
82. König J.F.R., Klippel R.A.: *The Rat Brain: A Stereotaxic Atlas of the Forebrain and Lower Parts of the Brain Stem.* Williams and Wilkins, Baltimore Md. 1963
83. Kramer E.B., Lischka M.F., Karobath M., Schönbeck G.: Is there a selectivity of neuronal degeneration induced by intrastriatal injection of kainic acid. *Brain Res.* 1979, 177, 577-582
84. Lehmann J., Fibiger H.C.: The localization of acetylcholinesterase in the corpus striatum and substantia nigra of the rat following kainic acid lesion of the corpus striatum: a biochemical and histochemical study. *Neurosci.* 1979, 4, 217-225
85. Lemkey-Johnston N., Butler V., Reynolds A.: Glial changes in the progress of a chemical lesion. An electron microscopic study. *J. Comp. Neurol.* 1976, 167, 481-502
86. London E.D., Yamamura E.D., Bird E.D., Coyle J.T.: Decreased receptor - binding sites for kainic acid in brains of patients with Huntington's disease. *Biol. Psychiat.* 1981, 16, 155-163

87. Lowell K.L., Jones M.Z.: Kainic acid neurotoxicity in the mouse cerebellum. *Brain Res.* 1980, 186, 245-249
88. Lu E.J., Brown W.J.: The developing caudate nucleus in the euthyroid and hypothyroid rat. *J. Comp. Neurol.* 1977, 171, 261-281
89. Lynch G.S., Lucas P.A., Deadwyler S.A.: The demonstration of acetylcholinesterase containing neurons within the caudate nucleus of the rat. *Brain Res.* 1972, 45, 617-621
90. Martinez-Hernandez A., Bell K.P., Norenberg M.D.: Glutamine synthetase: glial localization in brain. *Science* 1977, 195, 1356-1358
91. Mason S.T., Fibiger H.C.: Kainic acid lesions of the striatum: a behavioral sequelae similar to Huntington's chorea. *Brain Res.* 1978, 155, 313-319
92. Mason S.T., Fibiger H.C.: Kainic acid lesions of the striatum in rats mimic the spontaneous motor abnormalities of Huntington's disease. *Neuropharmacol.* 1979, 18, 403-409
93. McGeer P.L., McGeer E.G., Fibiger H.C.: Choline acetylase and glutamic acid decarboxylase in Huntington's chorea. *Neurology* 1973, 23, 912-917
94. McGeer E.G., McGeer P.L.: Evidence for glutamic acid decarboxylase - containing interneurons in the neostriatum. *Brain Res.* 1975, 91, 331-335

95. McGeer E.G., McGeer P.L.: Duplication of biochemical changes of Huntington's chorea by intrastriatal injections of glutamic and kainic acid. *Nature /Lond./* 1976, 263, 517-519
96. McGeer P.L., Hattori T., Singh V.K., McGeer E.G.: Cholinergic systems in extrapyramidal function. *W: The Basal Ganglia. M.D. Yahr /Ed./*, Raven Press, New York 1976, 213-227
97. McGeer P.L., McGeer E.G., Scherer U., Singh K.: A glutamatergic corticostriatal path? *Brain Res.* 1977, 128, 369-373
98. McGeer E.G., McGeer P.L.: Some factors influencing the neurotoxicity of intrastriatal injections of kainic acid. *Neurochem. Res.* 1978, 3, 501-517
99. McGeer E.G., McGeer P.L., Singh K.: Kainate-induced degeneration of neostriatal neurons: depending upon corticostriatal tract. *Brain Res.* 1978 a, 139, 381-383
100. McGeer P.L., McGeer E.G., Hattori T.: Kainic acid as a tool in neurobiology. *W: Kainic Acid as a Tool in Neurobiology. E.G. McGeer, W.J. Olney, P.L. McGeer /Eds/*, Raven Press, New York 1978 b, 123-139
101. Meibach R.C., Brown L., Brooks P.H.: Histofluorescence of kainic acid induced striatal lesions. *Brain Res.* 1978, 148, 219-223

102. Meldrum B.S., Brierley J.B.: Neuronal loss and gliosis in the hippocampus following repetitive epileptic seizures induced in adolescent baboons by allylglycine. *Brain Res.* 1972, 48, 361-365
103. Mensah P., Deadwyler S.: The caudate nucleus of the rat: cell types and the demonstration of a commissural system. *J. Anat.* 1974, 117, 281-293
104. Morelli M., Porceddu M.L., Di Chiara G.: Lesions of substantia nigra by kainic acid: effects on apomorphine-induced stereotyped behavior. *Brain Res.* 1980, 191, 67-78
105. Morgan J.G., Ingham C.A.: Kainic acid affects both plexiform layers of chicken retina. *Neurosci. Lett.* 1981, 21, 275-281
106. Mori S.: Some observations of the fine structure of the corpus striatum of the rat brain. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.* 1966, 70, 461-488
107. Mori S., Leblond C.P.: Identification of microglia in light and electron microscopy. *J. Comp. Neurol.* 1969, 135, 57-80
108. Munoz C., Grossman S.P.: Some behavioral effects of selective neuronal depletion by kainic acid in the dorsal hippocampus of rats. *Physiol. Behavior.* 1980, 25, 581-589
109. Murabe Y., Ibata Y., Sano Y.: Macrophage response and gliosis induced by intraventricular injection of kainic acid. *Acta Histochem. Cytochem.* 1980, 12, 600-601

110. Murabe Y., Sano Y.: Morphological studies on neuroglia. I. Electron microscopic identification of silver-impregnated glial cells. *Cell Tissue Res.* 1981, 216, 557-568
111. Murabe Y., Ibata Y., Sano Y.: Morphological studies on neuroglia. II. Response of glial cells to kainic acid-induced lesions. *Cell Tissue Res.* 1981, 216, 569-580
112. Murakami S., Takemoto T., Shimizu Z., Daigo R.: Effective principle of *Digenea Simplex*. III. Treatment of ascariasis. *Jap. J. Pharmacol.* 1953, 25, 571-574
113. Nadler J.V., Vaca K.W., White W.F., Lynch G.S., Cotman C.W.: Aspartate and glutamate as possible transmitters of excitatory hippocampal afferents. *Nature /Lond./* 1976, 260, 538-540
114. Nadler J.V., Perry B.W., Cotman C.W.: Intraventricular kainic acid preferentially destroys hippocampal pyramidal cells. *Nature* 1978 a, 271, 676-677
115. Nadler J.V., Perry B.W., Cotman C.W.: Preferential vulnerability of hippocampus to intraventricular kainic acid. W: *Kainic Acid as a Tool in Neurobiology*. E.G. McGeer, J.W. Olney, P.L. McGeer /Eds/, Raven Press, New York 1978 b, 219-239
116. Nadler J.V.: Kainic acid: neurophysiological and neurotoxic actions. *Life Sci.* 1979, 24, 289-300

117. Nadler J.V., Cuthbertson G.J.: Kainic acid neurotoxicity toward hippocampal formation: dependence on specific excitatory pathways. *Brain Res.* 1980, 195, 47-56
118. Nadler J.V., Perry B.W., Gentry Ch., Cotman C.W.: Degeneration of hippocampal CA 3 pyramidal cells induced by intraventricular kainic acid. *J. Comp. Neurol.* 1980 a, 192, 333-359
119. Nadler J.V., Perry B.W., Cotman C.W.: Selective reinnervation of hippocampal area CA 1 and fascia dentata after destruction of CA 3, CA 4 afferents with kainic acid. *Brain Res.* 1980 b, 182, 1-11
120. Nadler J.V., Evenson D.A., Smith E.M.: Evidence from lesion studies for epileptogenic and nonepileptogenic neurotoxic interactions between kainic acid and excitatory innervation. *Brain Res.* 1981, 205, 405-410
121. Nagy J.I., Vincent S.R., Lehmann J., Fibiger H.C., McGeer E.G.: The use of kainic acid in the localization of enzymes in the substantia nigra. *Brain Res.* 1978, 149, 431-441
122. Nelson M.F., Zaczek R., Coyle J.T.: Effects of anesthetics and anticonvulsants on the action of kainic acid infused into the hippocampus. *Soc. Neurosci. Abstr.* 1978, 4, 145



123. Nicklas W.J., Nunez R., Berl S., Duvoision R.: Neuronal-glial contributions to transmitter amino acid metabolism: studies with kainic acid-induced lesions of rat striatum. *J. Neurochem.* 1979 a, 33, 839-844
124. Nicklas W.J., Duvoision R.C., Berl S.: Amino acids in rat neostriatum alteration by kainic acid lesion. *Brain Res.* 1979 b, 167, 107-117
125. Norenberg M.D., Martinez-Hernandez A.: Fine structural localization of glutamine synthetase in astrocytes of rat brain. *Brain Res.* 1979, 161, 303-310
126. Olney J.W.: Glutamate-induced neuronal necrosis in the infant mouse hypothalamus. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 1971, 30, 75-90
127. Olney J.W., Ho O.L., Ree V.: Cytotoxic effects of acidic and sulphur containing amino acids on the infant mouse central nervous system. *Exp. Brain Res.* 1971, 14, 61-76
128. Olney J.W., Sharpe L.G., Feigin R.D.: Glutamate-induced brain damage in infant primates. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 1972, 31, 464-488
129. Olney J.W., Rhee V., Ho O.L.: Kainic acid: a powerful neurotoxic analogue of glutamate. *Brain Res.* 1974, 77, 507-512

130. Olney J.W.: Neurotoxicity of excitatory amino acids.  
W: Kainic Acid as a Tool in Neurobiology. E.G. McGeer,  
J.W. Olney, P.L. McGeer /Eds/, Raven Press, New York  
1978, 95-121
131. Olney J.W., de Gubareff T.: Glutamate neurotoxicity  
and Huntington's chorea. *Nature /Lond./* 1978 a, 171,  
557-559
132. Olney J.W., de Gubareff T.: Extreme sensitivity of  
olfactory cortical neurons to kainic acid toxicity.  
W: Kainic Acid as a Tool in Neurobiology. E.G. McGeer,  
J.W. Olney, P.L. McGeer /Eds/, Raven Press, New York  
1978 b, 201-217
133. Olney J.W., de Gubareff T.: The fate of synaptic  
receptors in kainate-lesioned striatum. *Brain Res.*  
1978 c, 140, 340-343
134. Palay S.L.: An electron microscopical study in neuro-  
glia. W: *Biology of Neuroglia*. Windle W.F. /Ed./,  
Springfield 1964, 24-38
135. Palladini G., Conforti A., Medolago-Albani L.:  
Ultrastructural hypoxic changes in ammon's horn and  
Purkinje cells. *Brain Res.* 1979, 103, 45-56
136. Panula P., Recharadt L., Hervonen H.: Ultrastructure  
of cultured rat neostriatum. *Neuroscience* 1979, 4,  
1441-1452
137. Panula P.: A fine structural and histochemical study  
on the effect of kainic acid on cultured neostriatal  
cells. *Brain Res.* 1980, 181, 185-190

138. Parker R.C.: Methods of tissue culture. Hoeber Med. Div. Harper and Row Publ. 1961, 102-107
139. Pasik P., Pasik T., DiFiglia M.: Quantitative aspects of neuronal organisation in the neostriatum of the macaque monkey. W: The Basal Ganglia. M.D.Yahr /Ed/, Raven Press, New York 1976, 57-89
140. Pasik P., Pasik T., DiFiglia M.: The internal organisation of the neostriatum in mammals. W: The Neostriatum. J. Divac, R. Gunilla, E. Oberg /Eds/, Pergamon Press, Oxford and New York 1979, 5-36
141. Patel A.J., Hunt A., Gordon R.D., Balázs R.: The activities in different neural cell types of certain enzymes associated with the metabolic compartmentation glutamate. Dev. Brain Res. 1982, 4, 3-11
142. Perry T.L., Hansen S., Kloster M.: Huntington's chorea: deficiency of  $\gamma$ -aminobutyric acid in brain. New Engl. J. Med. 1973, 288, 337-342
143. Perry T.L., Hansen S., Urquhart N.: GABA in Huntington's chorea. Lancet 1974, i, 995-996
144. Peters A., Palay S.L., Webster de H.F.: Fine structure of the nervous system. Philadelphia, Saunders 1976
145. Pisa M., Sanberg P.R., Fibiger H.C.: Locomotor activity, exploration and spatial alternation learning in rats with striatal injections of kainic acid. Physiol. Behav. 1980, 24, 11-19
146. Raine C.S.: Ultrastructural applications of cultured nervous system tissue in neuropathology. Prog. Neuro-path. 1973, 2, 27-68

147. Renkawek K.: On the histochemical differences between various types of glial cells cultured in vitro. *Neuropat. Pol.* 1972, 10, 307-315
148. Ribak Ch.E., Vaughn J.E., Kihachi S., Robert B.: Immunocytochemical localisation of glutamate decarboxylase in the substantia nigra of the cat. W: *The Basal Ganglia*. M.D. Yahr /Ed/, Raven Press, New York 1976, 205-213
149. Rieke G.K.: Kainic acid lesions of pigeon paleostriatum: a model for study of movement disorders. *Physiol. Behav.* 1980, 24, 683-687
150. Roizin L., Stellar S., Willson N.: Electron microscope and enzyme studies in cerebral biopsies of Huntington's chorea. *Trans. Am. Neurol. Assoc.* 1974, 99, 240-243
151. Roizin L., Kaufman M.A., Wilson S., Stellar S., Liu J.C.: Neuropathologic observations in Huntington's chorea. *Prog. Neuropathol.* 1976, 3, 447-488
152. Sanberg P.R., Pisa M., McGeer E.G.: Strain differences and kainic acid neurotoxicity. *Brain Res.* 1979, 166, 431-435
153. Sandoval M.E., Cotman C.W.: Evaluation of glutamate as a neurotransmitter of cerebellar parallel fibers. *Neuroscience* 1978, 3, 199-206
154. Scherer-Singler V., McGeer E.G.: Distribution and persistence of Kainic acid in brain. *Life Sci.* 1979, 24, 1015-1022

155. Schousbee A., Svenneby G., Hertz L.: Uptake and metabolism of glutamate in astrocytes cultured from dissociated mouse brain hemispheres. *J. Neurochem.* 1979, 32, 943-950
156. Schwarz R., Coyle J.T.: Striatal lesions with kainic acid: neurochemical characteristics. *Brain Res.* 1977 a, 127, 235-249
157. Schwarz R., Coyle J.T.: Neurochemical sequelae of kainate injections in corpus striatum and substantia nigra of the rat. *Life Sci.* 1977 b, 20, 431-436
158. Schwarz R., Coyle J.T.: Kainic acid: neurotoxic effects after intraocular injection. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1977 c, 16, 141-147
159. Schwarz R., Zaczek R., Coyle J.T.: Microinjection of kainic acid into the rat hippocampus. *Europ. J. Pharmacol.* 1978, 50, 209-220
160. Schwarz R., Köhler Ch.: Evidence against an exclusive role of glutamate in kainic acid neurotoxicity. *Neurosci. Lett.* 1980, 19, 243-251
161. Schwarz R., Fuxe K., Hökfelt T., Terenius L., Goldstein M.: Effects of chronic striatal kainate lesions on some dopaminergic parameters and enkephalin immunoreactive neurons in the basal ganglia. *J. Neurochem.* 1980, 34, 772-778
162. Schwab J.E., Fuller T., Price J.L., Olney J.W.: Widespread patterns of neuronal damage following systemic or intracerebral injections of kainic acid: a histological study. *Neuroscience* 1980, 5, 991-1015

163. Seil F.J., Roodward W.R., Blank N.K., Leiman A.L.: Evidence against chronic depolarization as a mechanism of kainic acid toxicity in mouse cerebellar cultures. *Brain Res.* 1978, 159, 431-435
164. Seil F.J., Blank N.K., Leiman A.L.: Toxic effects of kainic acid on mouse cerebellum in tissue culture. *Brain Res.* 1979, 161, 253-265
165. Seil F.J., Woodward W.R.: Kainic acid neurotoxicity in granulooprival cerebellar cultures. *Brain Res.* 1980, 197, 285-289
166. Shinozaki H., Konishi S.: Actions of several anthelmintics and insecticides on rat cortical neurons. *Brain Res.* 1970, 24, 368-371
167. Shinozaki H.: Discovery of novel actions of kainic acid and related compounds. W: Kainic Acid as a Tool in Neurobiology, E.G. McGeer, J.W. Olney, P.L. McGeer /Eds/, Raven Press, New York 1978, 17-37
168. Simon J.R., Contrera J.F., Kuhar M.J.: Binding of [<sup>3</sup>H] kainic acid, an analogue of L-glutamate to brain membranes. *J. Neurochem.* 1976, 26, 141-147
169. Simson E.L., Gold R.M., Standis L.J., Pellett P.L.: Axon-sparing brain lesioning technique: the use of monosodium L-glutamate and other amino acids. *Science* 1977, 198, 515-517
170. Singh V.K., Alstyn D.V.: Glial cells from normal adult rat brain established in continuous culture. *Brain Res.* 1978, 155, 418-421

171. Singh V.K., McGeer E.G., McGeer P.L.: Changes of [<sup>3</sup>H] colchicine binding and protein synthesis in rat striatum following kainic acid lesions. Brain Res. 1978 a, 146, 195-199
172. Singh V.K., McGeer E.G., McGeer P.L.: Protein synthesis in kainate-injected striata. Brain Res. 1978 b, 146, 195-199
173. Sluga-Gasser E.: Zur Ultrastruktur des Striatums. Vorläufige Ergebnisse einer cerebralen Biopsie. Wien Z. Nervenheilk. 1966, 23, 17-35
174. Snider S.R., Snider R.S.: Kainic acid: enduring alterations in cerebellar morphology and in cerebral catecholamine and GABA concentrations after cerebellar injection in the rat. Neurosci. Lett. 1979, 12, 339-342
175. Spencer H.J.: Antagonism of cortical excitation of striatal neurons by glutamic acid diethyl ester: evidence for glutamic acid as an excitatory transmitter in the rat striatum. Brain Res. 1976, 102, 91-101
176. Stahl W.L., Swanson P.D.: Biochemical abnormalities in Huntington's chorea brains. Neurol. 1974, 24, 813-819
177. Streit P., Stella M., Cuenod M.: Kainate-induced lesion in the optic tectum: dependency upon optic nerve afferents or glutamate. Brain Res. 1980, 187, 45-57

178. Śmiałowski A.: Different sensitivity of hippocampal neurons to kainic acid in the rabbit. *Neuroscience* 1980, 5, 1475-1478
179. Takemoto T.: Isolation and structural identification of naturally occurring excitatory amino acids. W: *Kainic Acid as a Tool in Neurobiology*. E.G. McGeer, W.J. Olney, P.L. McGeer /Eds/, Raven Press, New York 1978, 1-17
180. Tellez-Nagel I., Johnson A.B., Terry R.D.: Studies on brain biopsies of patients with Huntington's chorea. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1974, 33, 308-332
181. Tran V.T., Snyder S.H.: Amino acid neurotransmitter candidates in rat cerebellum: selective effects of kainic acid lesions. *Brain Res.* 1979, 167, 345-353
182. Vaughn J.F., Pease D.C.: Electron microscopy of classically stained astrocytes. *J. Comp. Neurol.* 1967, 131, 143-154
183. Vaughn J.F., Peters A.: Electron microscopy of the early postnatal development of fibrous astrocytes. *Am. A. Anat.* 1967, 121, 131-153
184. Watkins J.C.: Excitatory amino acids. W: *Kainic Acid as a Tool in Neurobiology*. E.G. McGeer, J.W. Olney, P.L. McGeer /Eds/, Raven Press, New York 1978, 37-71
185. Webster H.F., Ames A.: Reversible and irreversible changes in the fine structure of neurons tissue during oxygen and glucose deprivation. *J. Cell Biol.* 1965, 26, 885-909



186. Wendle-Smith C.P., Blunt M.J., Baldwin F.: The ultrastructural characteristics of macroglia cell types. *J. Comp. Neurol.* 1966, 127, 219-237
187. Wooten G.E., Collins R.C.: Regional brain glucose utilization following intrastriatal injections of kainic acid. *Brain Res.* 1980, 201, 173-184
188. Wuerthele S.M., Lovell K.L., Jones M.Z., Moore K.E.: A histological study of kainic acid-induced lesions in rat brain. *Brain Res.* 1978, 149, 489-497
189. Yazula S., Kleinschmidt J.: The effects of intra-ocular injection of kainic acid on the synaptic organization of the goldfish retina. *Brain Res.* 1980, 182, 287-301
190. Young A.R., Oster-Granite M.L., Herndon R.M., Snyder S.H.: Glutamic acid: selective depletion by viral-induced granule cell loss in hamster cerebellum. *Brain Res.* 1974, 73, 1-13
191. Zaczek R., Nelson M.F., Coyle J.T.: Effects of anaesthetics and anticonvulsants on the action of kainic acid in the rat hippocampus. *Europ. J. Pharmacol.* 1978 a, 52, 323-327
192. Zaczek R., Schwarcz R., Coyle J.T.: Long-term sequelae of striatal kainate lesion. *Brain Res.* 1978 b, 152, 626-632
193. Zis A.P., Marangos P.J., Parma A.M., McGeer E.G.: Changes in striatal neuron-specific enolase /NSE/ and non-neuronal enolase /MNE/ following kainic acid administration. *Brain Res.* 1980, 183, 486-489

Ewa Matyja

Dokumentacja  
Fotograficzna

Warszawa 1982



Dublet Z 584

EWA MATYJA



Z 584  
H3190

OBRAZ MORFOLOGICZNY USZKODZEŃ  
TKANKI NERWOWEJ I GLEJOWEJ PRĄŻKOWIA I MOZDŻKU  
PO PODANIU KWASU KAINOWEGO  
BADANIA IN VIVO I IN VITRO

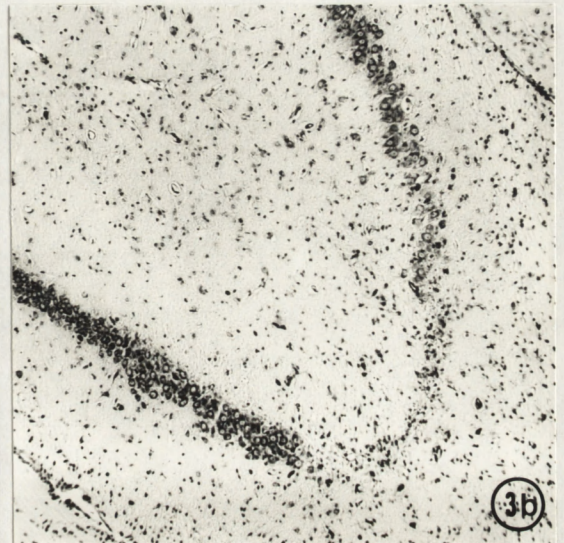
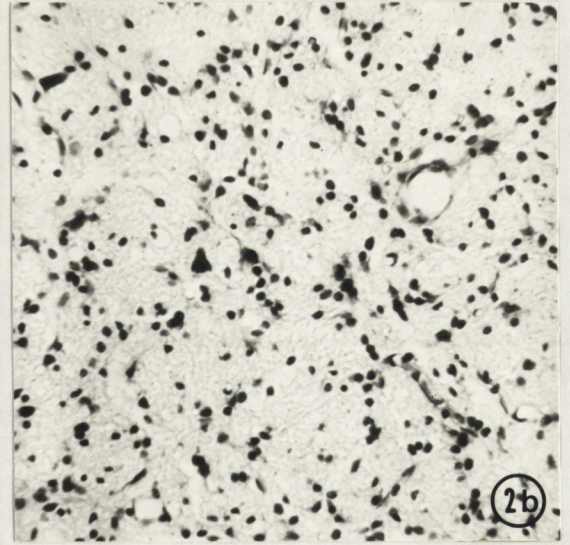
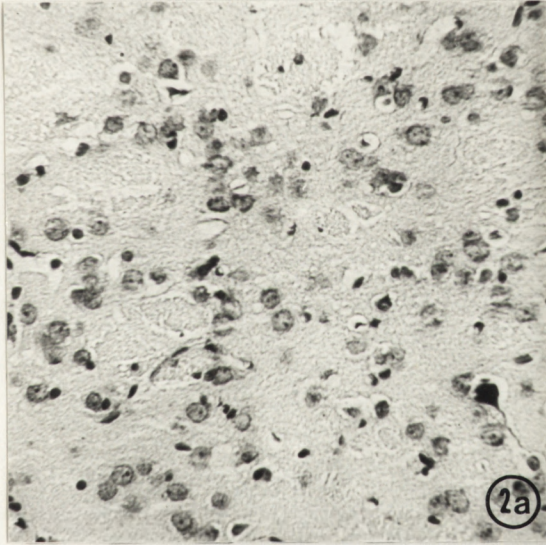
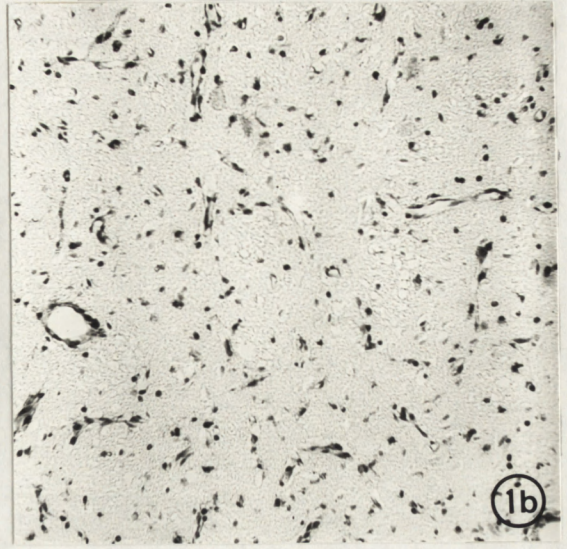
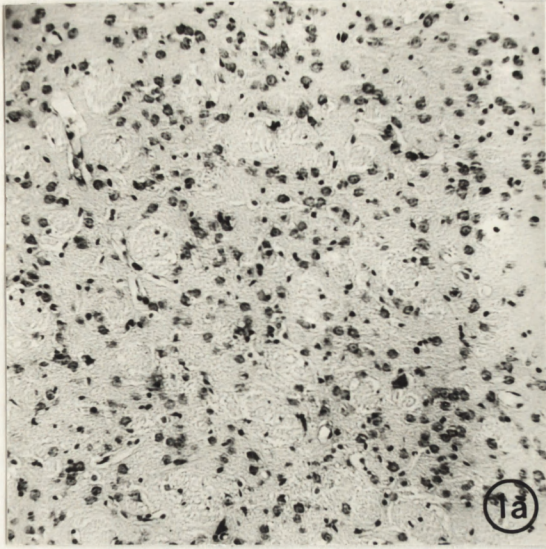
D O K U M E N T A C J A   F O T O G R A F I C Z N A

Zespół Neuropatologii  
Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN  
W a r s z a w a   1982

## LEGENDA DO RYCIN

- KA - kwas kainowy
- DIV - dni in vitro
- N - komórka nerwowa
- G - komórka glejowa
- d - dendryt
- ax - kolbka aksonalna
- P - wypustka komórkowa
- MI - mitochondrium
- RER - siatka śródplazmatyczna szorstka
- AG - aparat Golgiego
- r - rybosomy
- nt - neurotubule
- gf - gliofilamenty
- gt - gliotubule
- v - wakuole

- Ryc. 1 a. Prążkowie szczura, kontrola. Fiolet krezyłu.  
Pow. 100 x.
- Ryc. 1 b. Prążkowie szczura, miejsce podania KA, 3 dni po iniekcji. Całkowity ubytek komórek nerwowych w miejscu iniekcji, pojedyncze jądra komórek glejowych. Fiolet krezyłu. Pow. 100 x.
- Ryc. 2 a. Prążkowie szczura, kontrola, liczne jasne jądra komórek nerwowych /N/ oraz pojedyncze jądra komórek glejowych /G/. Fiolet krezyłu. Pow. 200 x.
- Ryc. 2 b. Prążkowie szczura, miejsce podania KA, 7 dni po iniekcji. Ubytek komórek nerwowych, rozplem komórek glejowych. Fiolet krezyłu. Pow. 200 x.
- Ryc. 3 a. Prążkowie szczura, miejsce podania KA, 28 dni po iniekcji. Nasilony rozplem komórek glejowych. H-E. Pow. 100 x.
- Ryc. 3 b. Zakręt hipokampa szczura, 28 dni po podaniu KA do prążkowie, strona iniekcji. Ubytek komórek piramidowych pola H3 i H4. Fiolet krezyłu. Pow. 60 x.



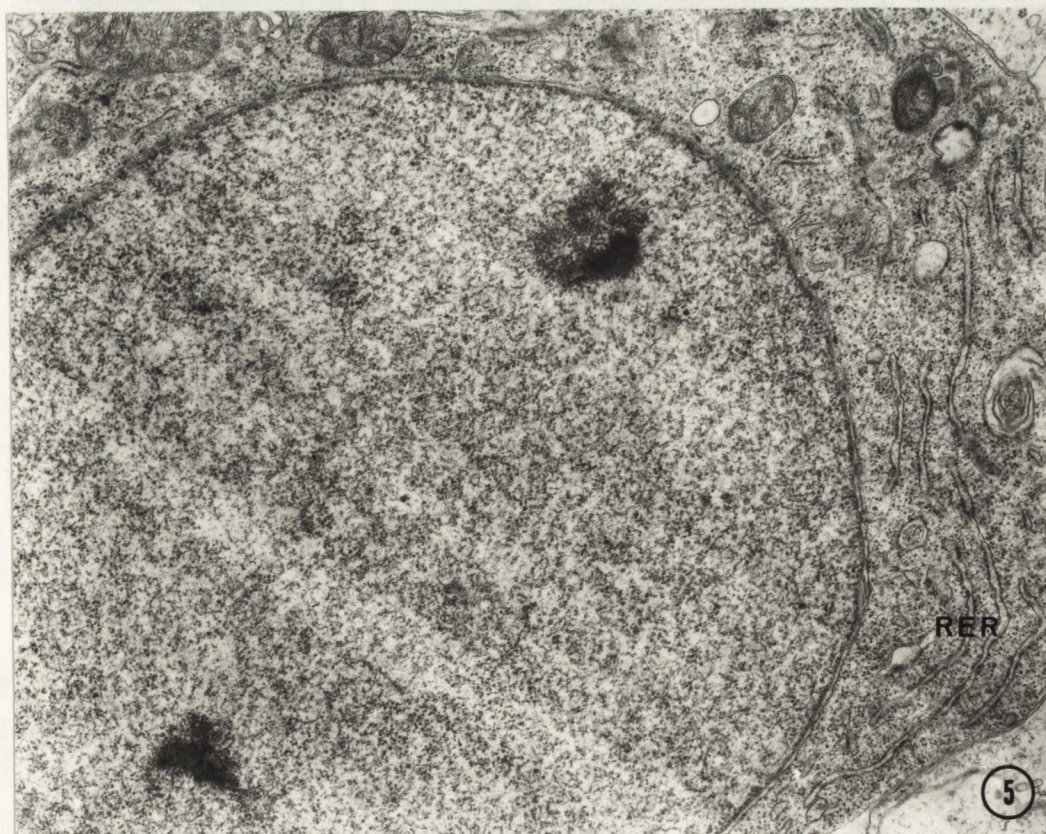
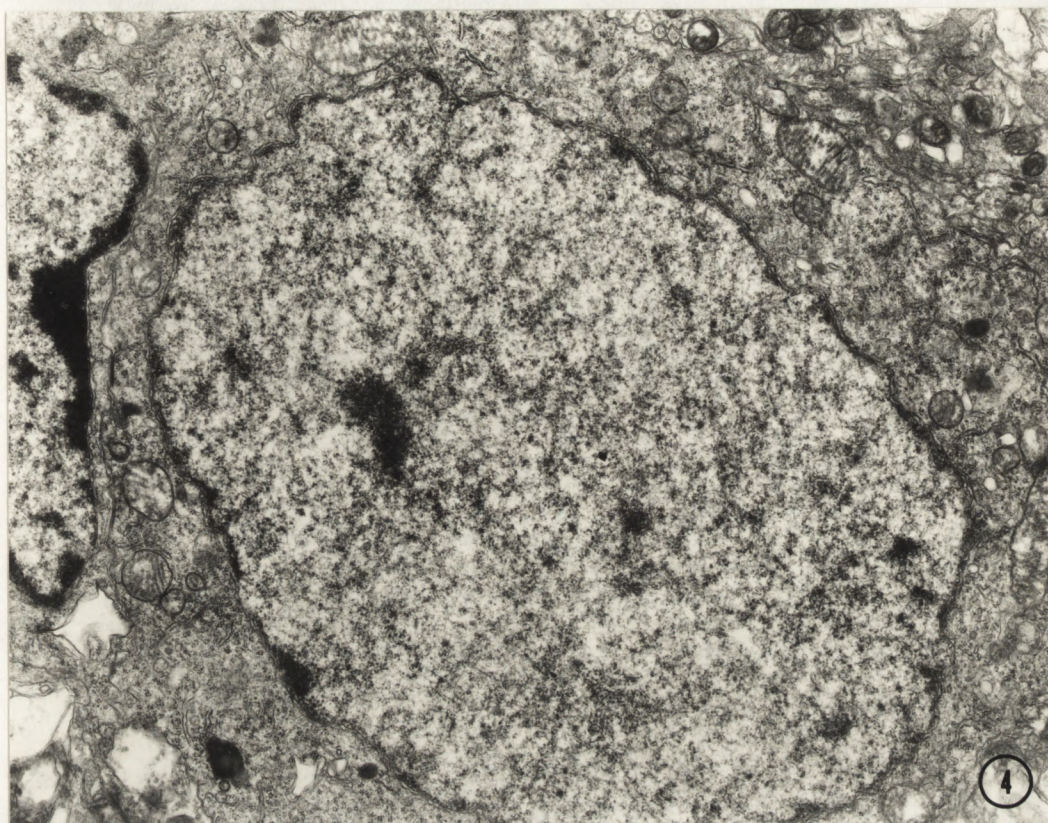
Ryc. 4. Prążkowie szczura, kontrola, 20 dni po podaniu 0,9% NaCl.

Komórka nerwowa średniej wielkości. Charakterystyczne owalne jądro, skąpa cytoplazma zawierająca mitochondria, pojedyncze kanały siatki śródplazmatycznej i wolne rybosomy.

Pow. 11 500 x.

Ryc. 5. Prążkowie szczura, kontrola, 20 dni po podaniu 0,9% NaCl.

Duży neuron prążkowiec. Cytoplazma bogata w ułożone równoległe kanały siatki śródplazmatycznej /RER/. Pow. 11 500 x.



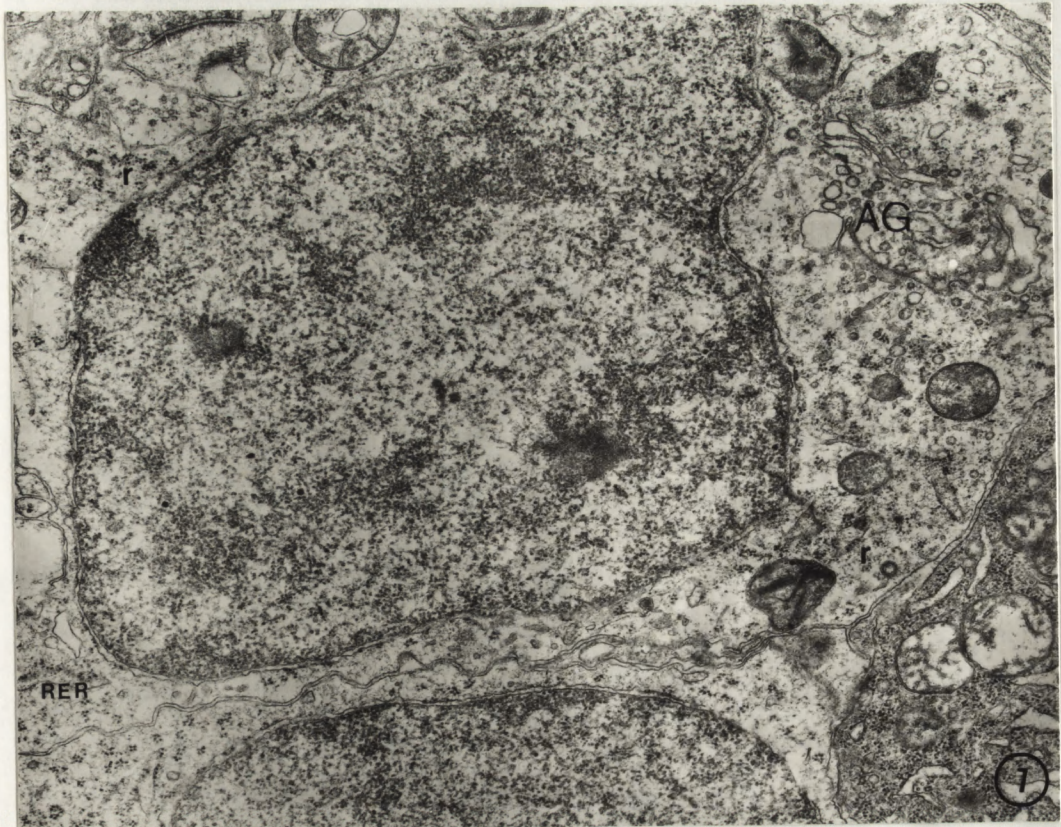
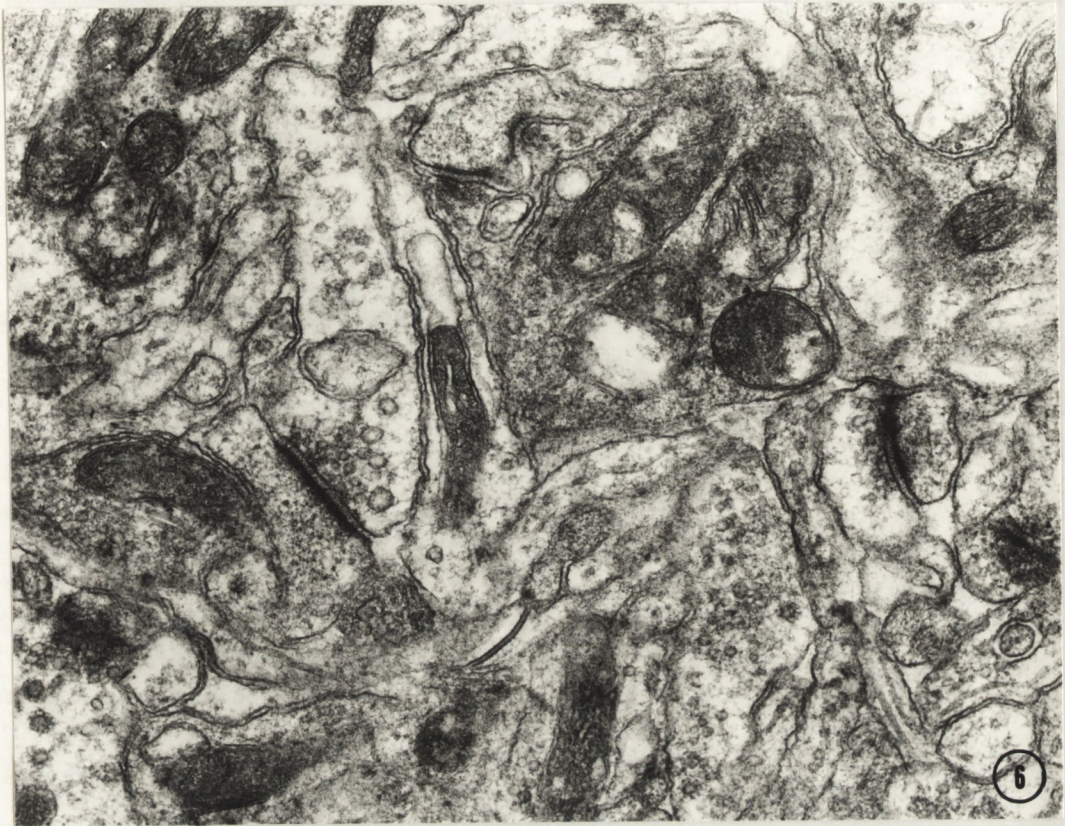


Ryc. 6. Prążkowie szczura, kontrola, 7 dni po podaniu 0,9% NaCl.

Prawidłowe połączenia synaptyczne typu asymetrycznego. Pow. 39 100 x.

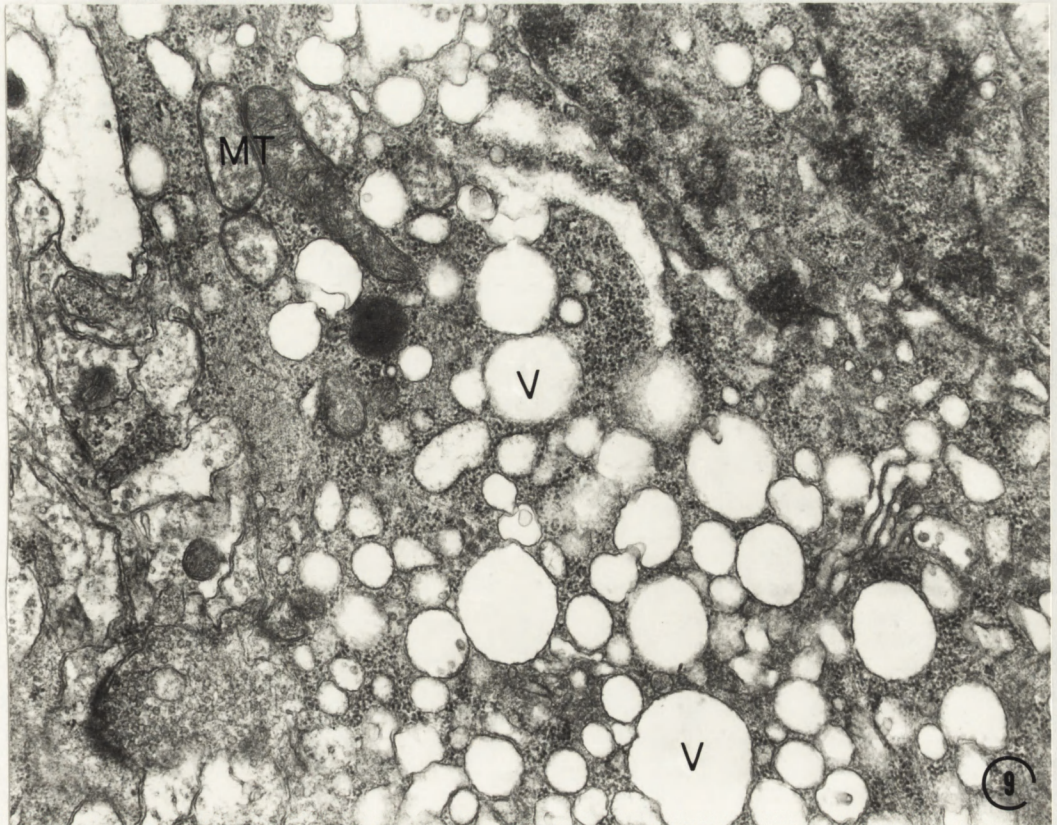
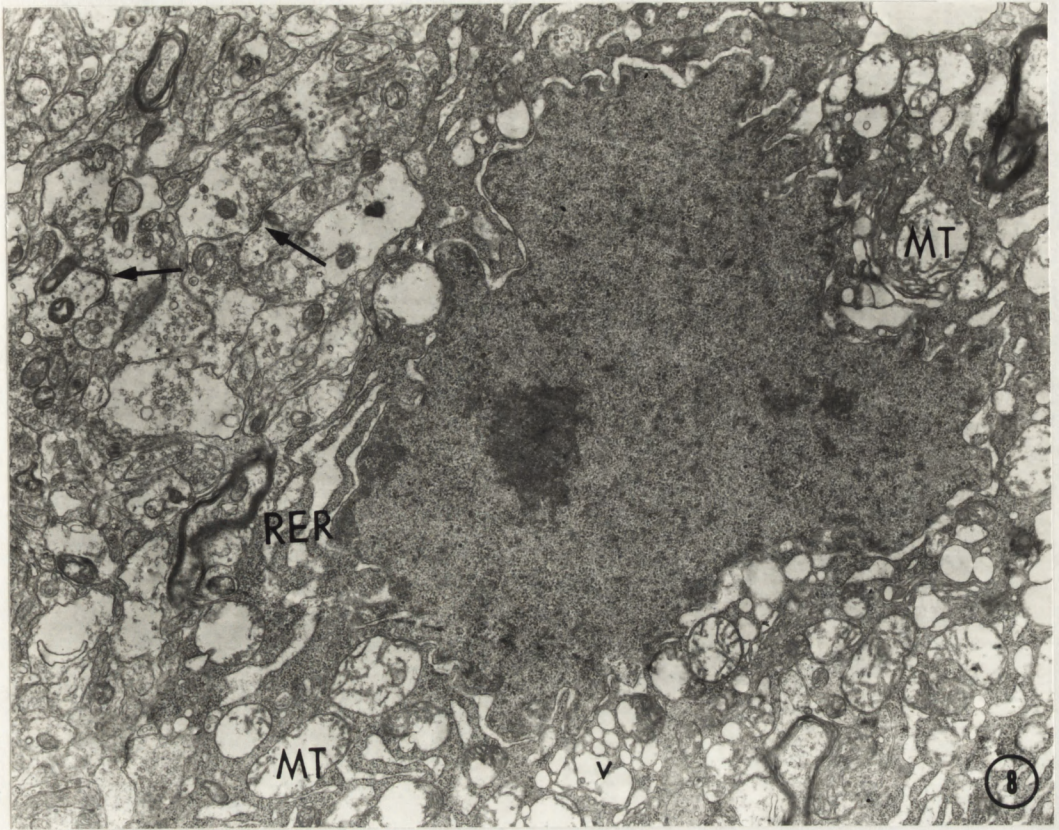
Ryc. 7. Prążkowie szczura, 7 dni po podaniu 0,9% NaCl.

Astrocyty protoplazmatyczne. Jasna cytoplazma, skąpa ilość organelli komórkowych, pojedyncze kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej /RER/, liczne wolne rybosomy /r/. Dobrze rozwinięty aparat Golgiego /AG/. Pow. 15 400 x.



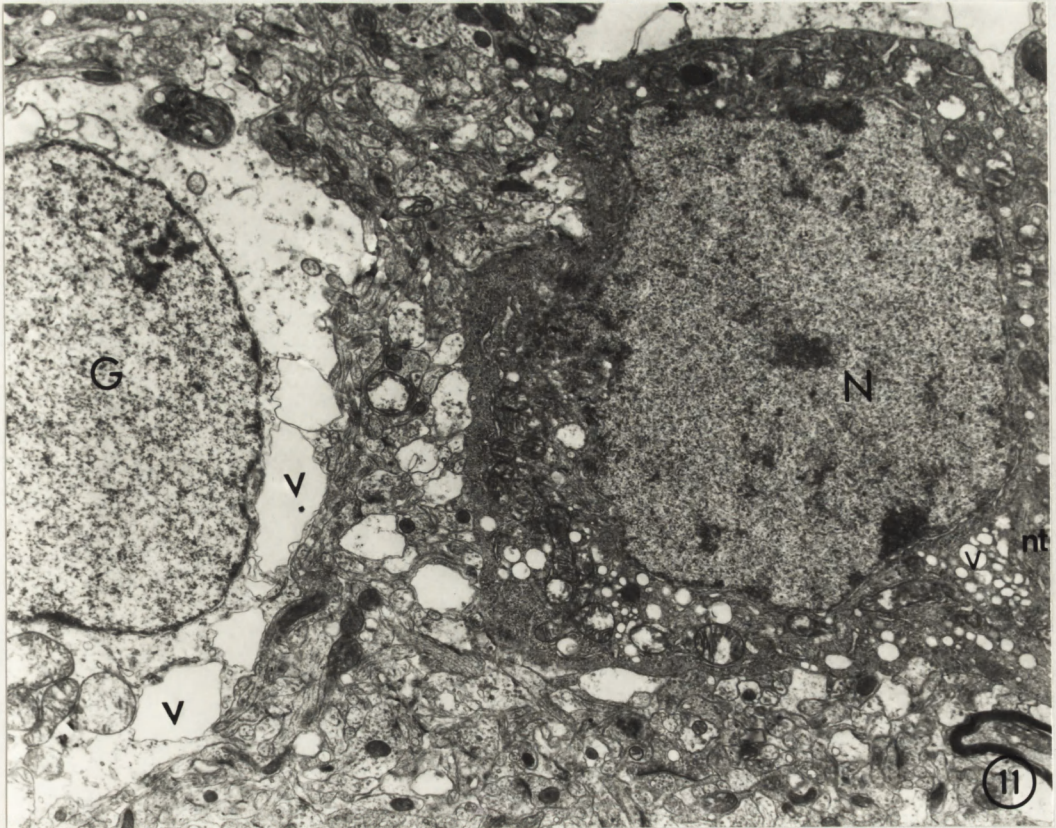
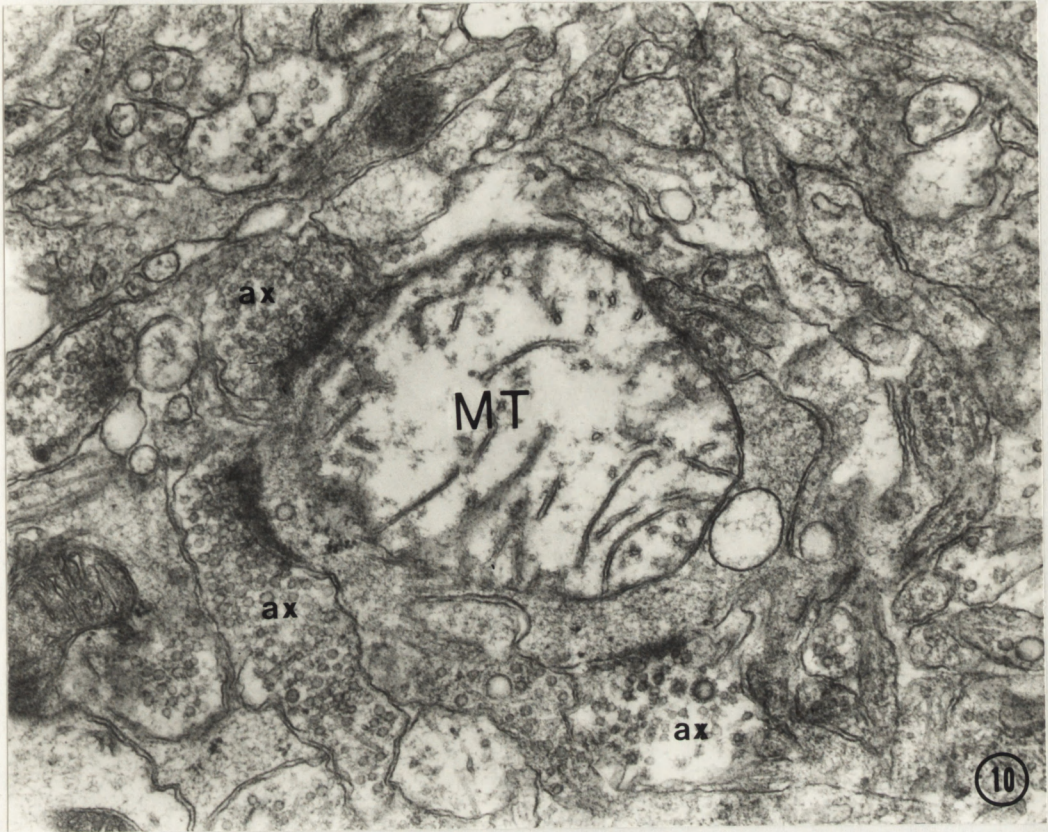
Ryc. 8. Prążkowie szczura, 30 minut po iniekcji KA. Komórka nerwowa średniej wielkości. Znaczne obrzmienie mitochondriów /MT/, poszerzenie kanałów siatki śródplazmatycznej szorstkiej /RER/. Prawidłowo zachowany neuropil z licznymi połączeniami synaptycznymi /↑/.  
Pow. 11 500 x.

Ryc. 9. Prążkowie szczura, 30 minut po iniekcji KA. Fragment całkowicie zwakuolizowanej cytoplazmy neuronu. Liczne wakuole /v/ oraz pojedyncze zachowane mitochondria /MT/.  
Pow. 23 000 x.



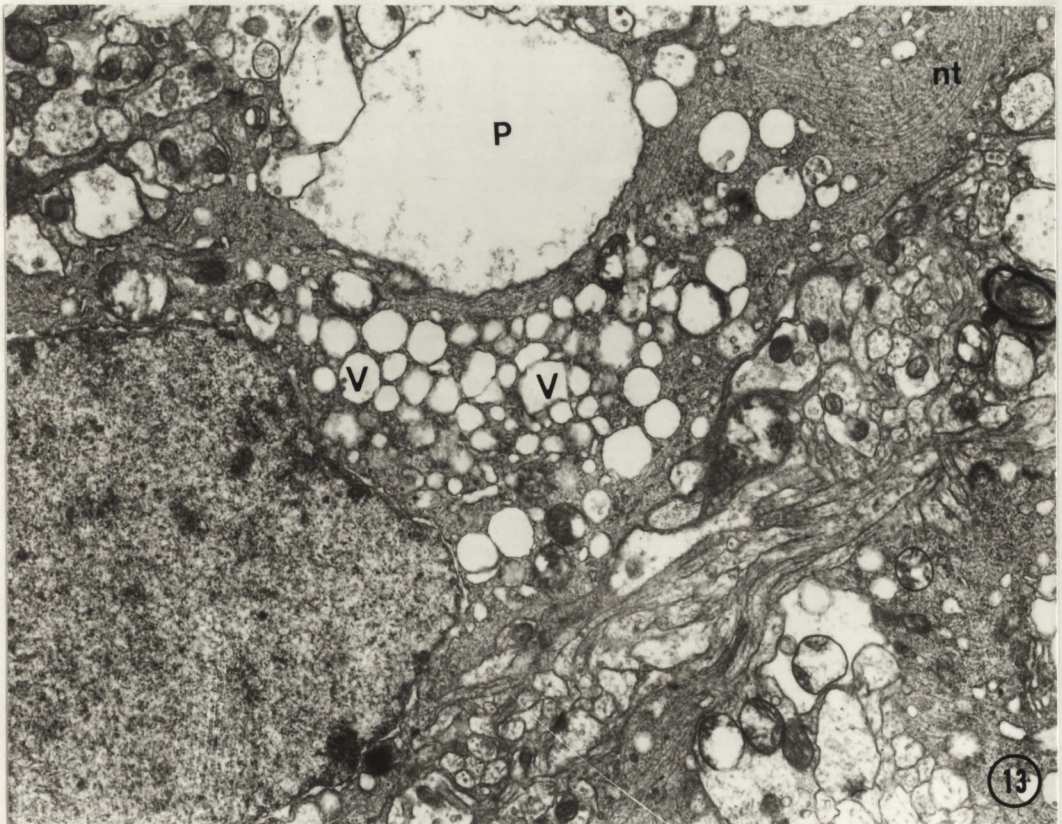
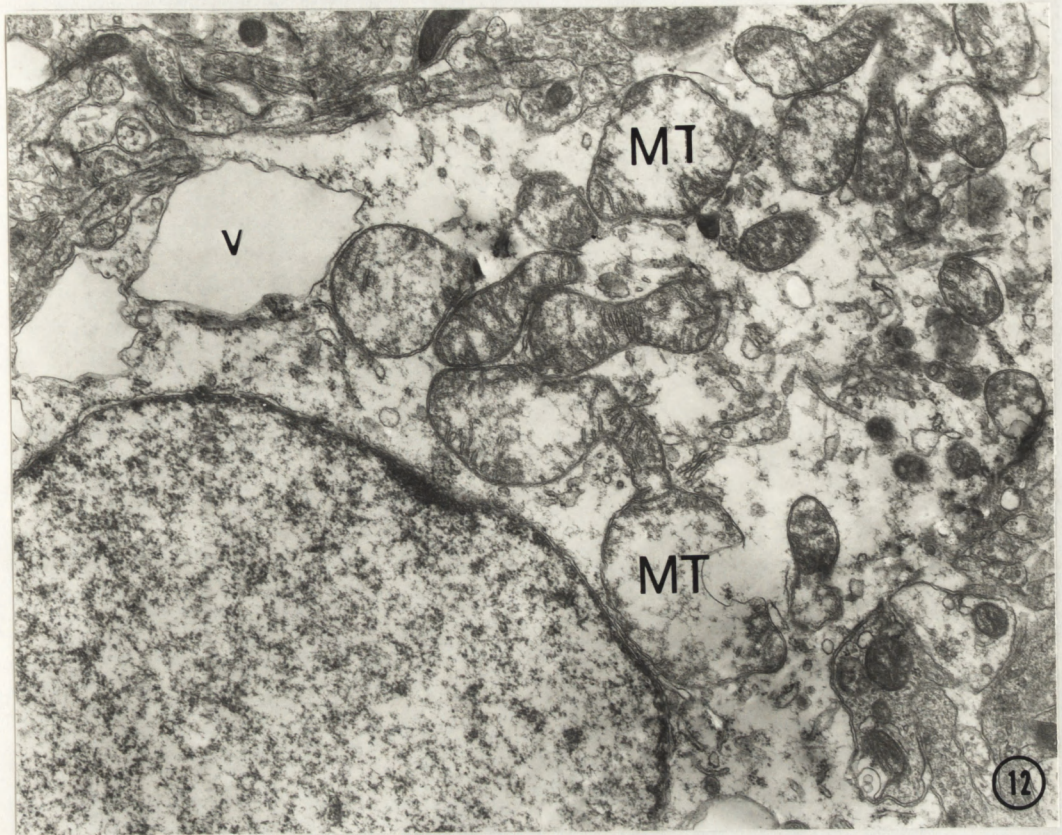
Ryc. 10. Prądkowie szczura, 30 minut po iniekcji KA.  
Obrzmiałe, powiększone mitochondrium /MT/  
zajmujące prawie całą część postsynaptyczną.  
Prawidłowo zachowane kolbki aksonalne /ax/.  
Pow. 29 900 x.

Ryc. 11. Prądkowie szczura, 30 minut po iniekcji KA.  
Astrocyt /G/ z przejrzystą, elektronowo-  
rzadką cytoplazmą zawierającą liczne wakuole  
/v/. Komórka nerwowa /N/ o ciemnej, elektro-  
nowo-gęstej cytoplazmie. Drobne wakuole /v/  
oraz liczne neurotubule /nt/ w miejscu  
przejścia cytoplazmy perikarionu w wypustkę  
nerwową. Pow. 7 600 x.



Ryc. 12. Prażkowie szczura, 30 minut po iniekcji KA.  
Fragment obrzmiąlej komórki glejowej.  
Liczne powiększone mitochondria /MT/ i wa-  
kuole /v/. Pow. 15 400 x.

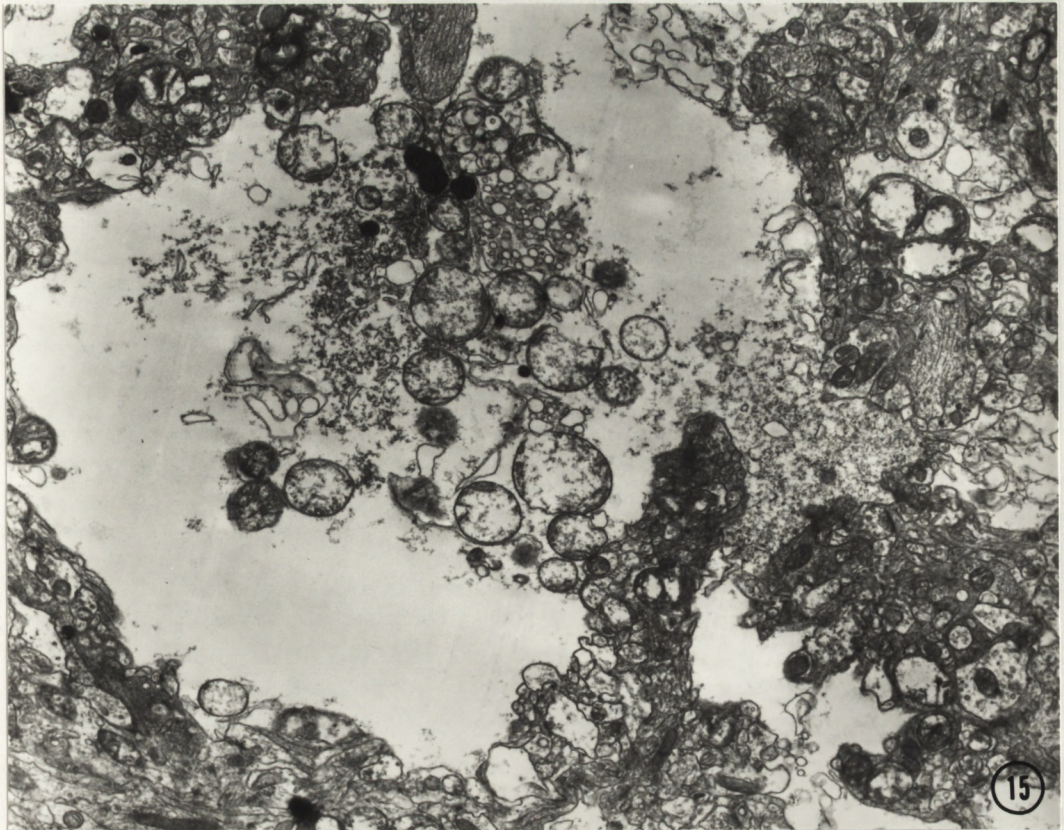
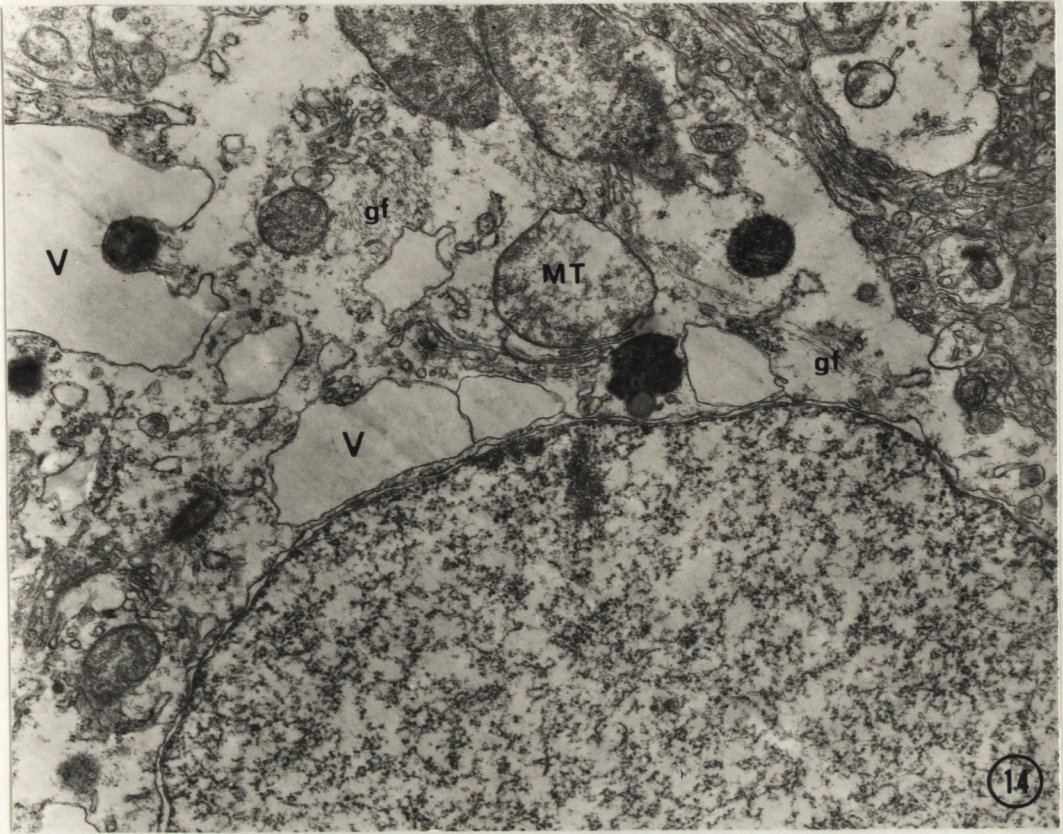
Ryc. 13. Prażkowie szczura, 2 godziny po iniekcji KA.  
Fragment neuronu ze zwakuolizowaną /v/  
częścią przyjądrową cytoplazmy. Obrzmienie  
glejowych wypustek okołoneuronalnych /P/.  
Pow. 11 500 x.





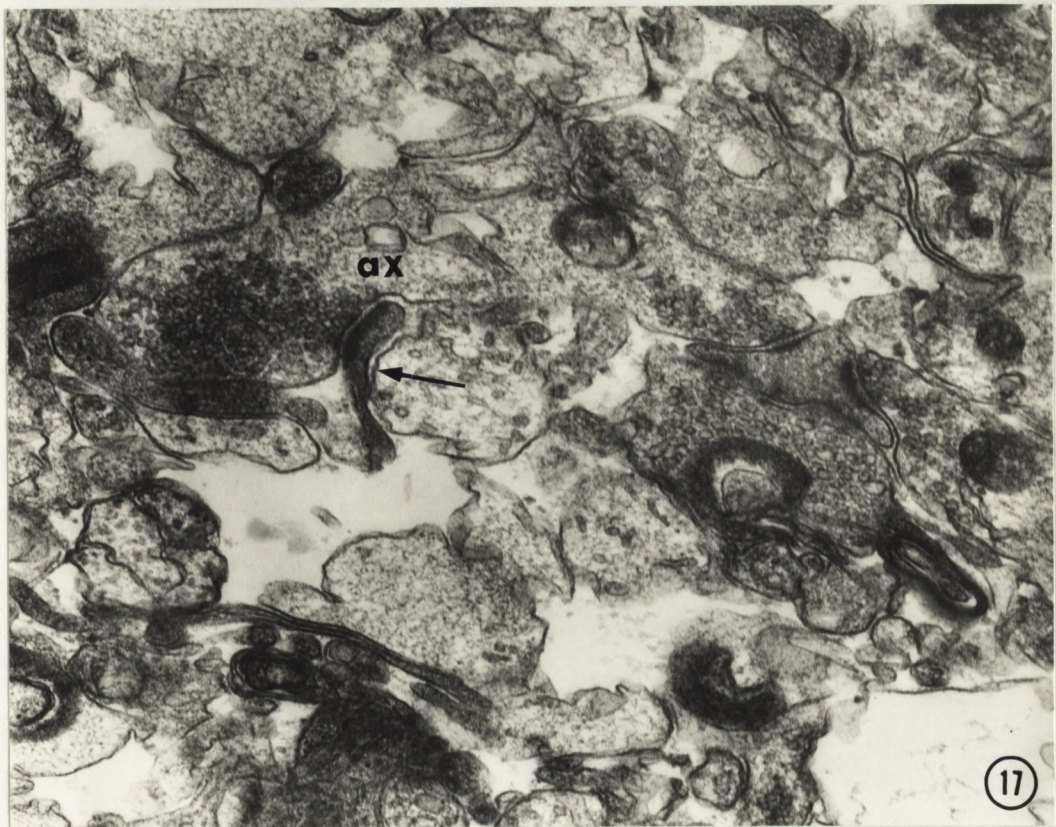
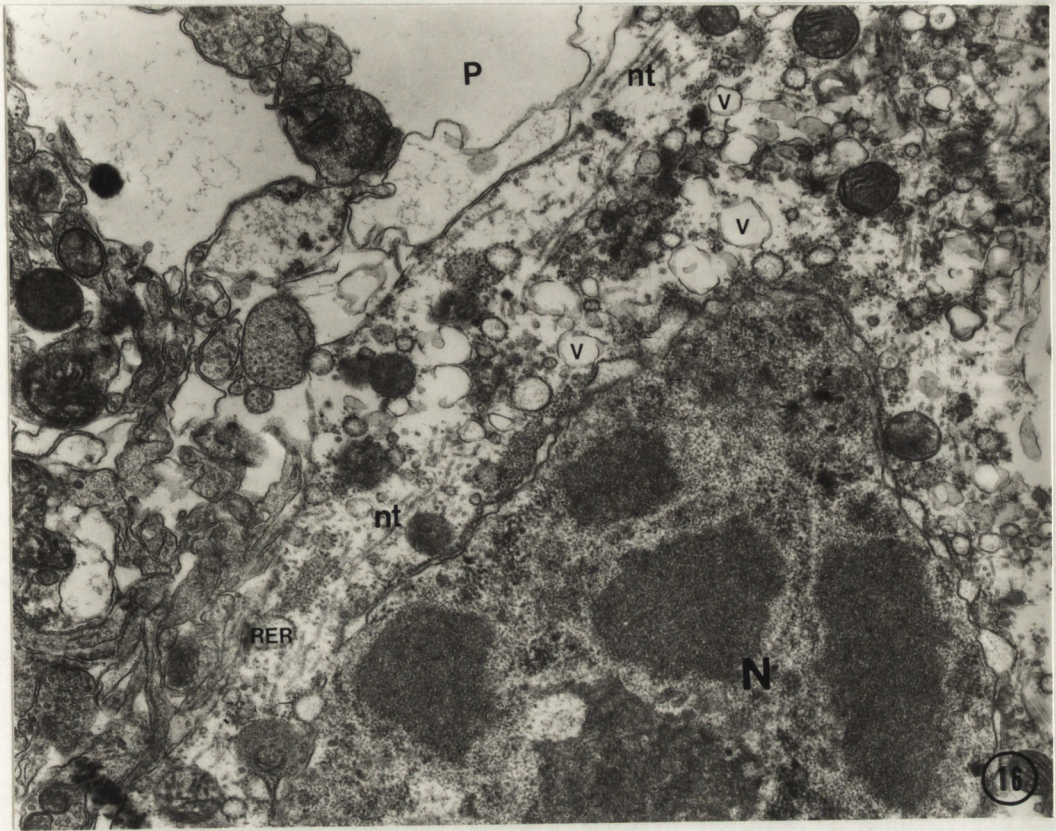
Ryc. 14. Prążkowie szczura, 2 godziny po iniekcji KA. Fragment komórki glejowej. Uszkodzenie mitochondriów /MT/, liczne wakuole /v/ oraz pojedyncze włókienka glejowe /gf/.  
Pow. 15 400 x.

Ryc. 15. Prążkowie szczura, 2 godziny po iniekcji KA. Miejsce iniekcji. Zwyródniałe organella komórkowe wśród rozpadającej się tkanki.  
Pow. 7 600 x.



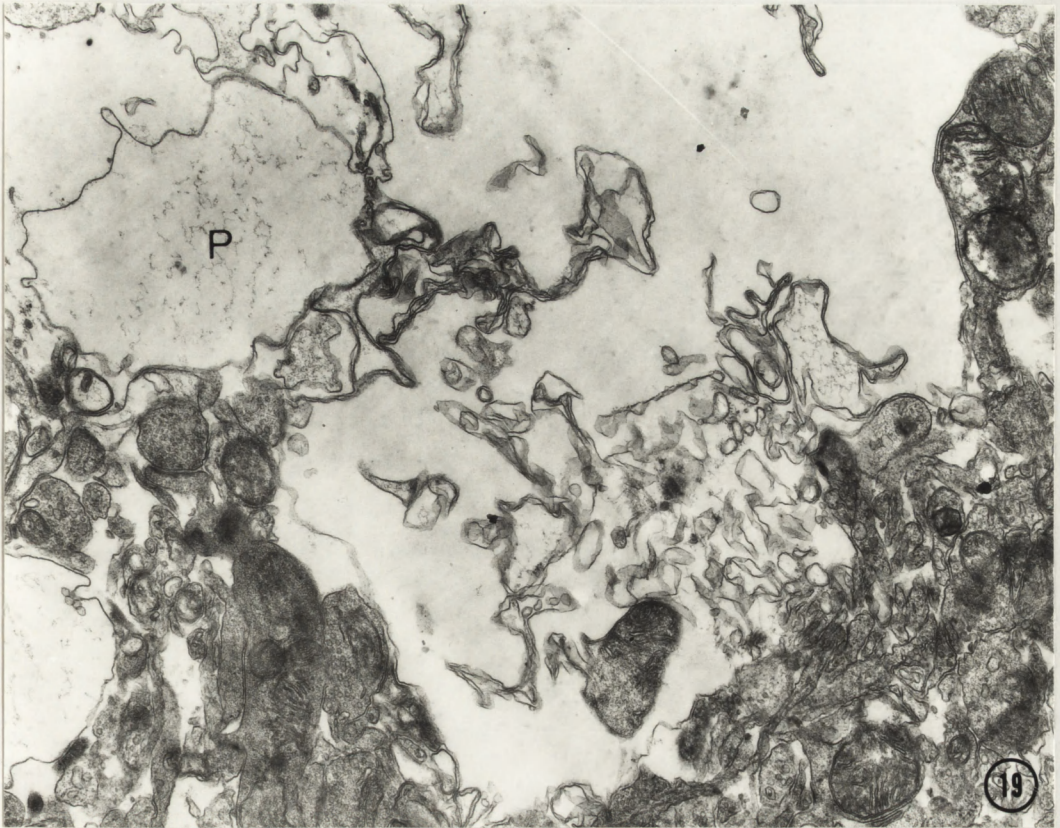
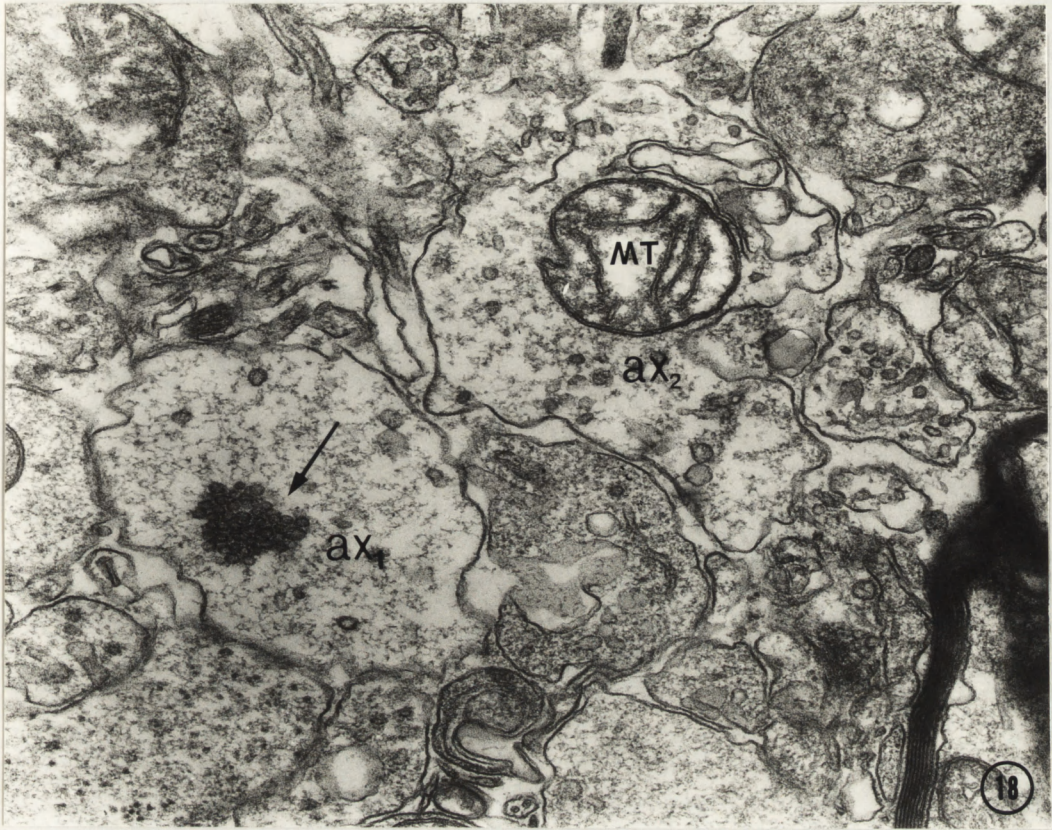
Ryc. 16. Prądkowie szczura, 24 godziny po iniekcji KA. Fragment zwyrodniałej komórki nerwowej. Elektronowo-rzadka cytoplazma, rozdęte kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej /RER/, wakuole /v/ i liczne neurotubule /nt/. Zaawansowany proces kariolizy jądra. Obrzmienie wypustek komórkowych /P/. Pow. 15 400 x.

Ryc. 17. Prądkowie szczura, 24 godziny po iniekcji KA. Zwyrodnienie dendrytu postsynaptycznego /†/. Prawidłowo zachowane kolbki aksonalne /ax/. Pow. 39 100 x.



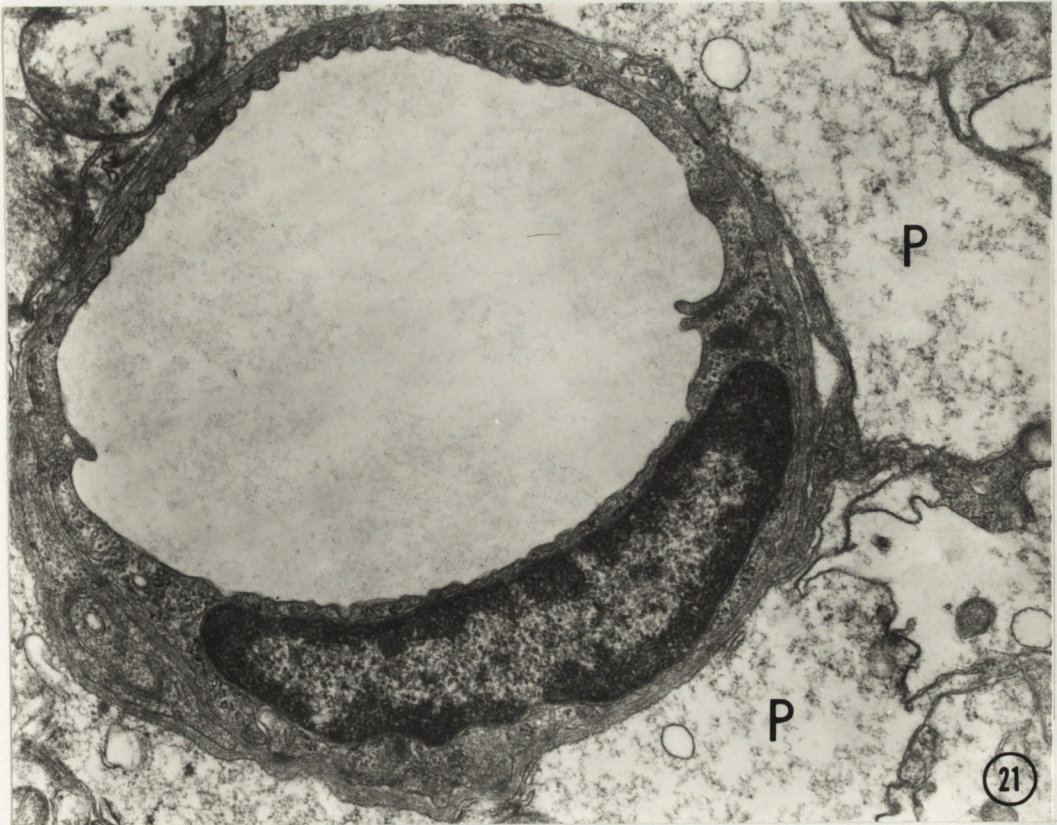
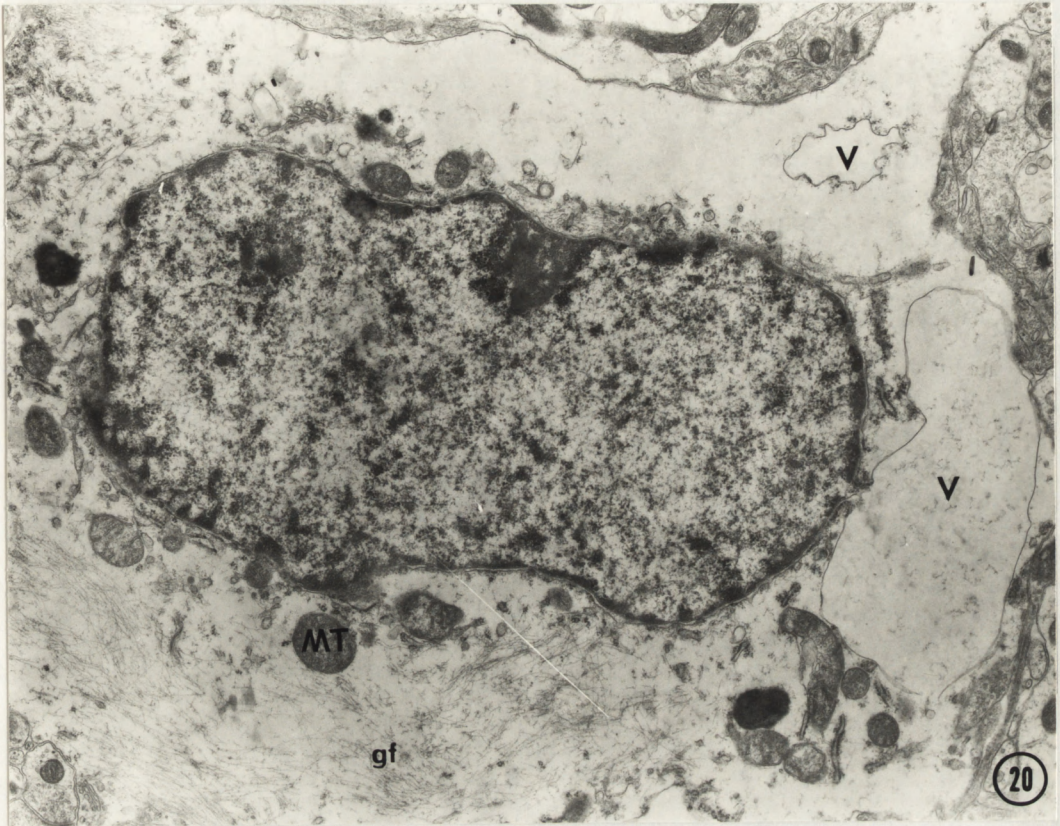
Ryc. 18. Prążkowie szczura, 24 godziny po iniekcji KA. Skupienie pęcherzyków synaptycznych /↑/ w części centralnej wypustki aksonalnej /ax<sub>1</sub>/. Obrzmienie mitochondrium /MT/ i tworzenie struktur błoniastych w wypustce aksonalnej /ax<sub>2</sub>/. Pow. 39 100 x.

Ryc. 19. Prążkowie szczura, 24 godziny po iniekcji KA. Ciała błoniaste i pojedyncze uszkodzone organella w pustych przestrzeniach neuropilu. Wybitne obrzmienie wypustek komórkowych /P/. Pow. 15 400 x.



Ryc. 20. Prążkowie szczura, 24 godziny po iniekcji KA. Komórka glejowa z jasną, ubogą w organelle cytoplazm. Zachowane pojedyncze mitochondria /MT/, wakuole /v/ i gliofilamenty /gf/.  
Pow. 11 500 x.

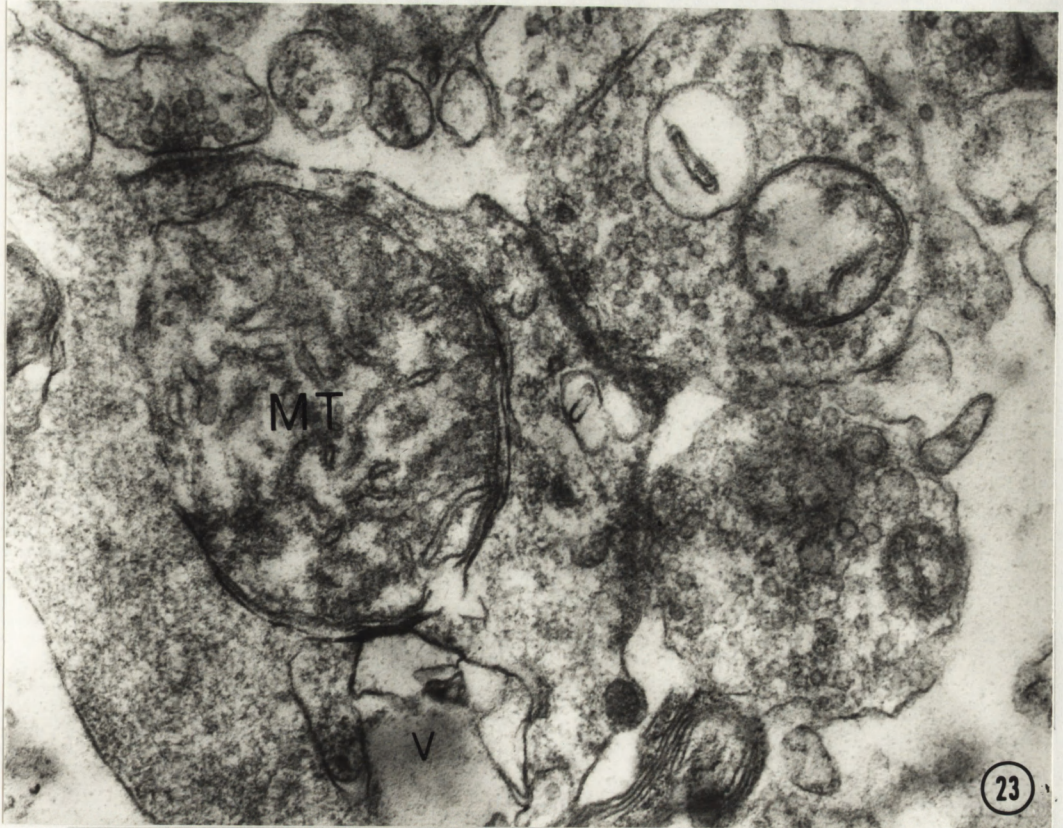
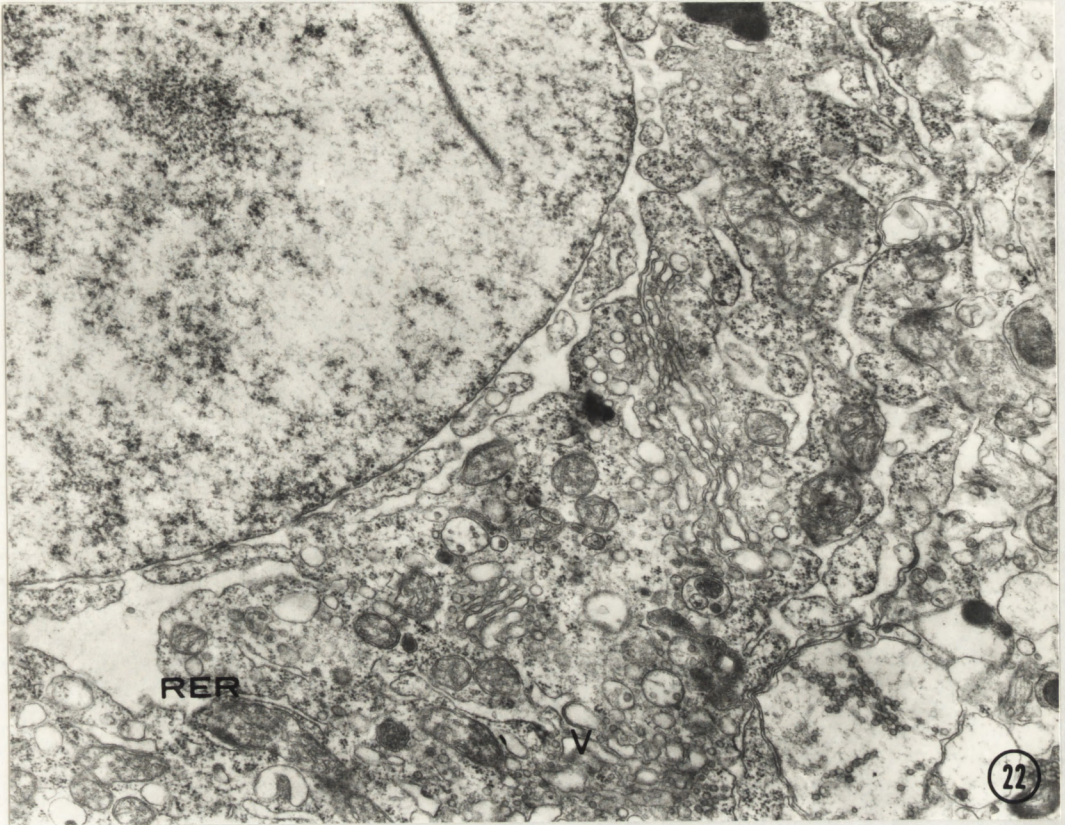
Ryc. 21. Prżkowie szczura, 24 godziny po iniekcji KA. Obrzmienie okołonaczyniowych wypustek glejowych /P/. Pow. 23 000 x.





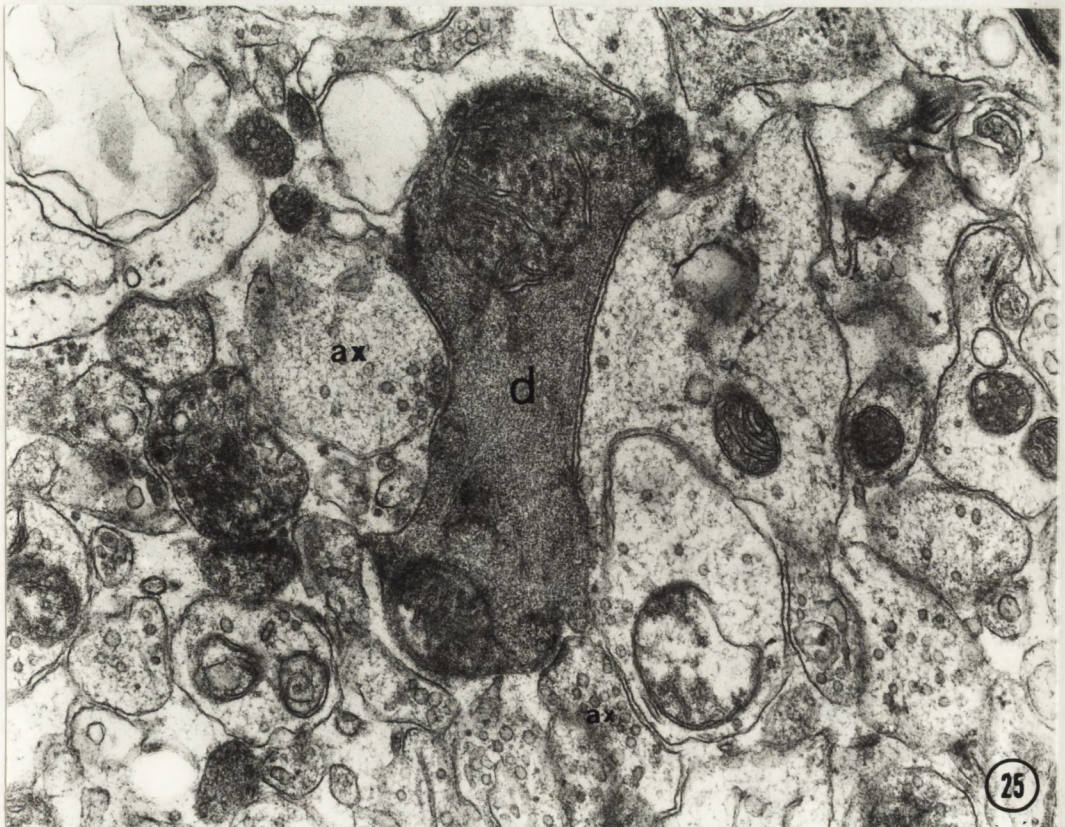
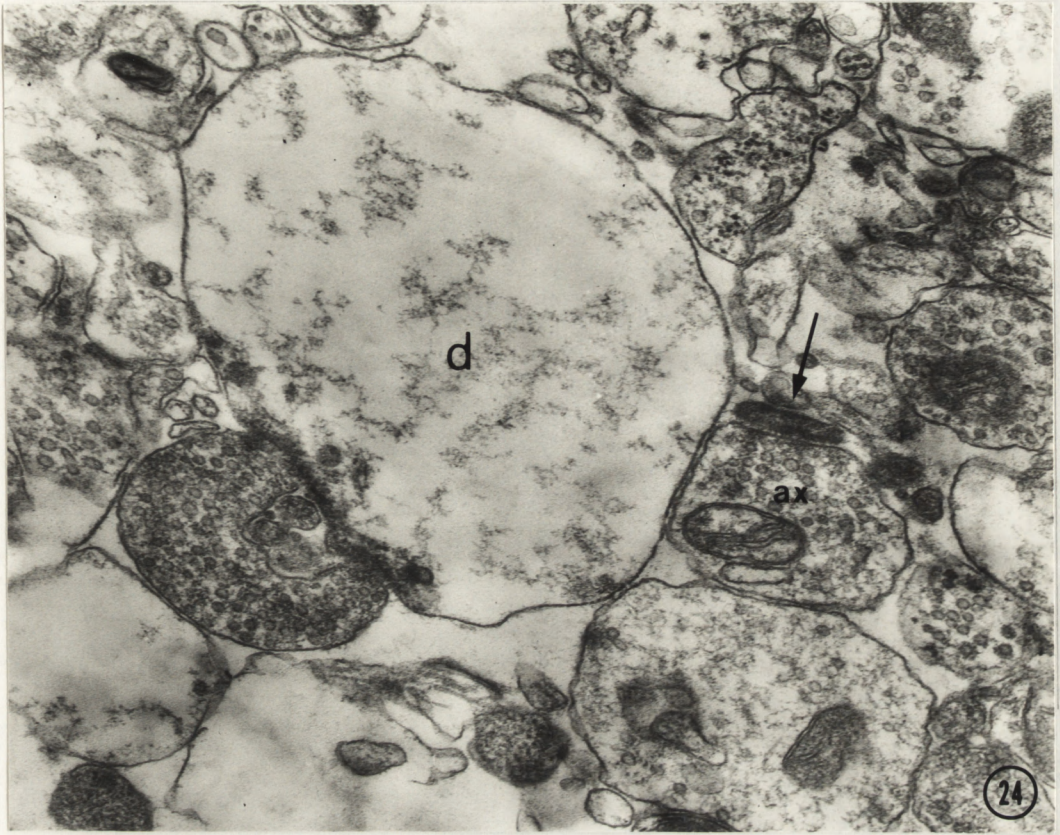
Ryc. 22. Prążkowie szczura, 3 dni po iniekcji KA.  
Fragment dużego neuronu z centrum iniekcji.  
Poszerzenie przestrzeni okołojądrowej i  
kanałów siatki śródplazmatycznej szorstkiej  
/RER/, drobne pęcherzyki i wakuole /v/.  
Pow. 23 000 x.

Ryc. 23. Prążkowie szczura, 3 dni po iniekcji KA.  
Obrzmiałe mitochondrium /MT/ i wakuole /v/  
w dendrycie postsynaptycznym. Pow. 46 000 x.



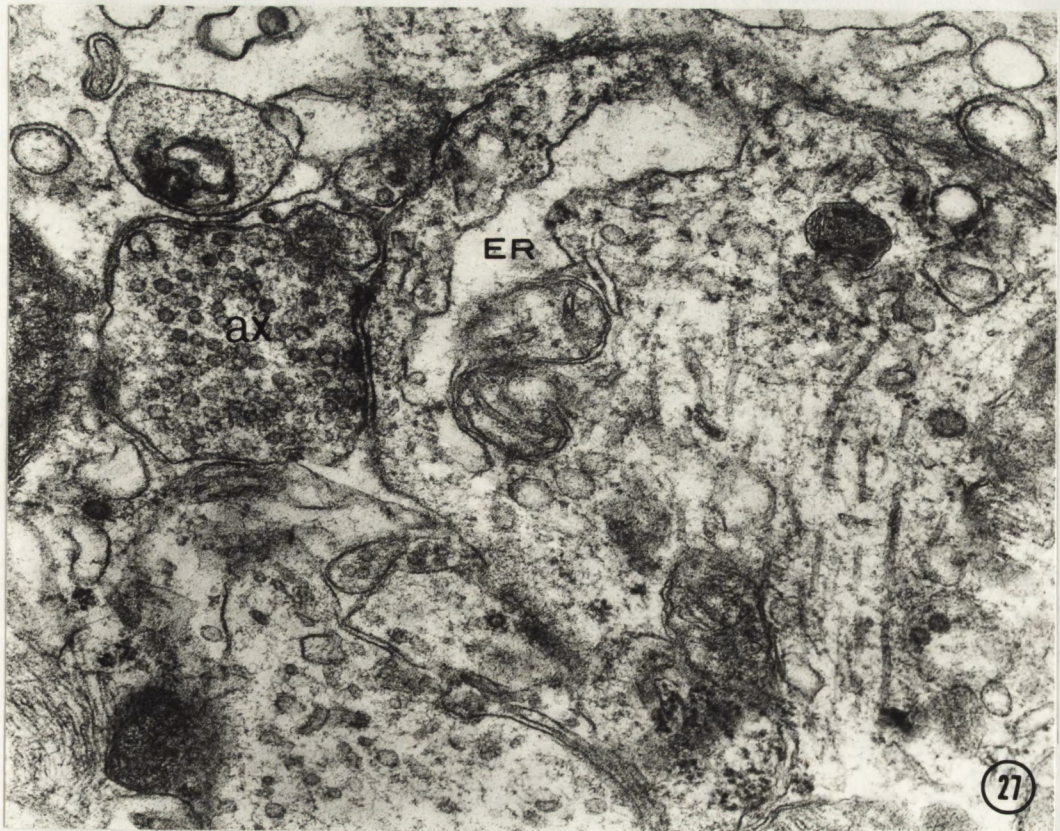
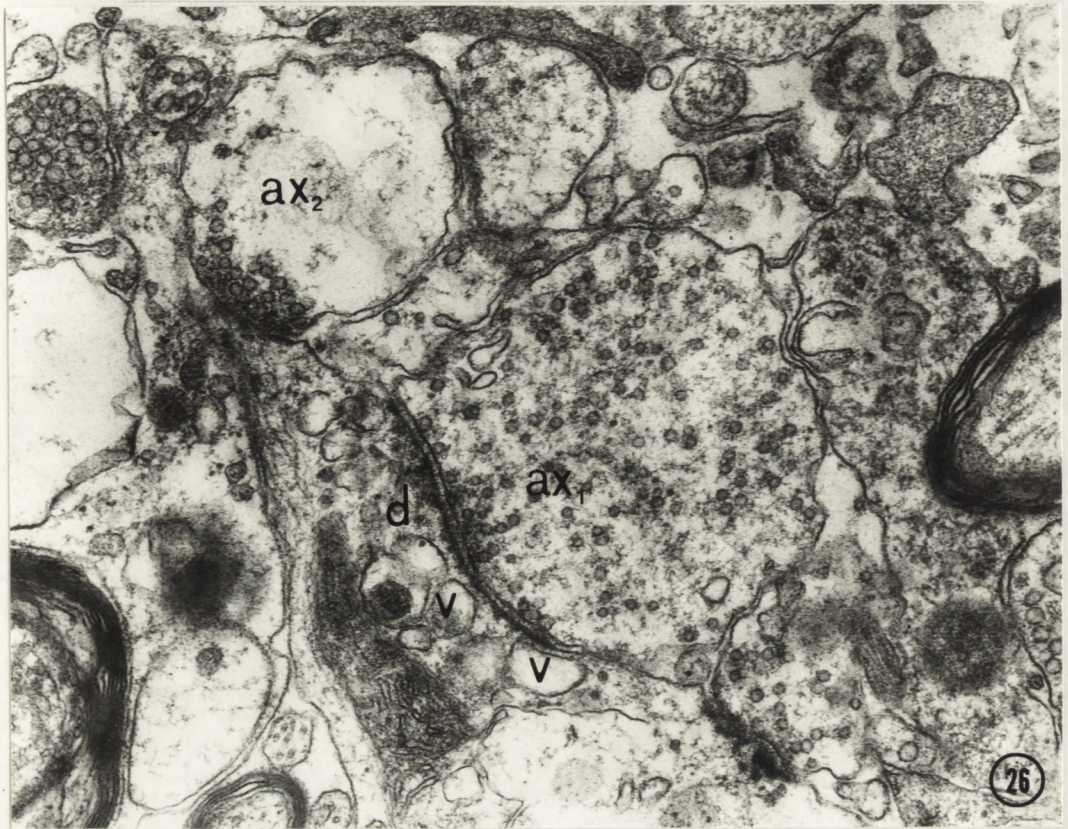
Ryc. 24. Prążkowie szczura, 3 dni po iniekcji KA.  
Uszkodzenie elementów postsynaptycznych.  
Typ I - obkurczenie kolca dendrytycznego  
/†/ przylegającego do prawidłowo zachowa-  
nej kolbki aksonalnej /ax/.  
Typ II - obrzmienie i rozdęcie dendrytu  
postsynaptycznego /d/ z pozostawieniem  
zagęszczenia postsynaptycznego.  
Pow. 29 900 x.

Ryc. 25. Prążkowie szczura, 3 dni po iniekcji KA.  
Typ III uszkodzenia części postsynaptycznej.  
Elektronowo-gęsty, włóknisty materiał w  
obrzebie dendrytu postsynaptycznego /d/.  
Prawidłowo zachowane kolbki aksonalne /ax/  
tworzące połączenia synaptyczne.  
Pow. 29 900 x.



Ryc. 26. Prążkowie szczura, 3 dni po iniekcji KA. Nagromadzenie pęcherzyków, wakuoli /v/ i struktur blaszkowatych w części postsynaptycznej /d/. Obrzmienie kolbki aksonalnej /ax<sub>1</sub>/ z nagromadzeniem pęcherzyków synaptycznych przy szczelinie synaptycznej. Prawidłowo zachowana druga kolbka aksonalna /ax<sub>2</sub>/. Pow. 39 100 x.

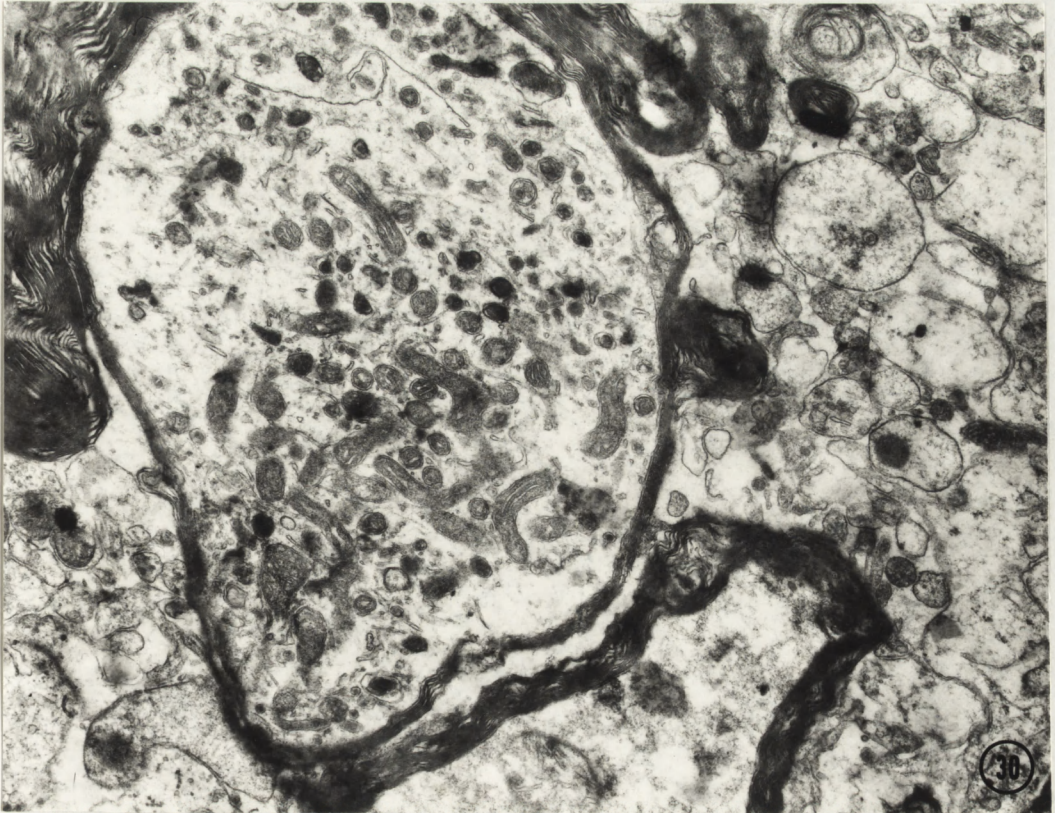
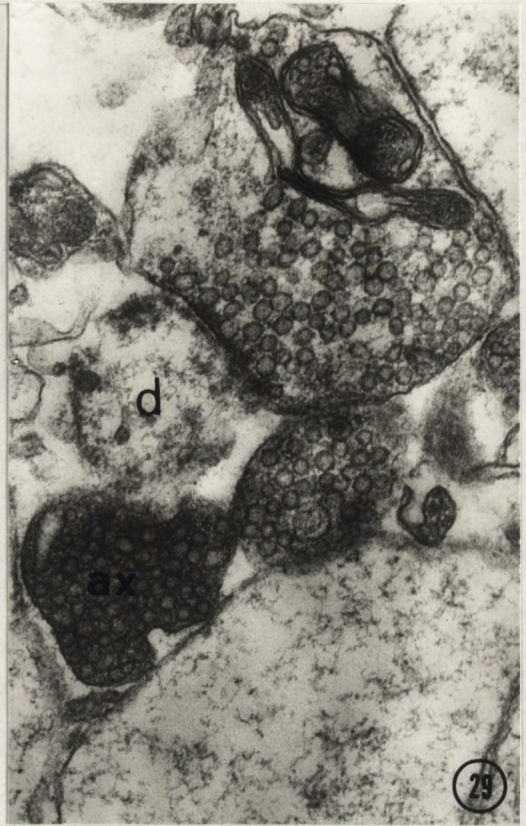
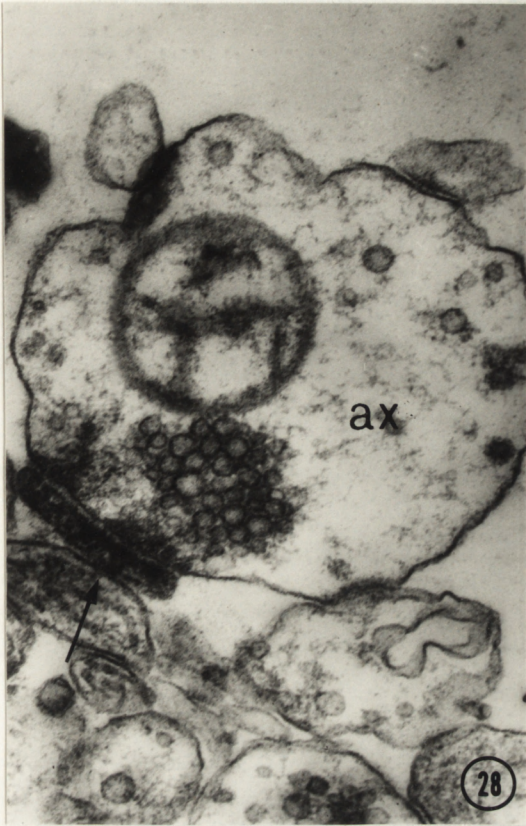
Ryc. 27. Prążkowie szczura, 3 dni po iniekcji KA. Synapsa akso-somatyczna. Poszerzenie kanałów siatki śródplazmatycznej /ER/ w obrębie części postsynaptycznej. Prawidłowo zachowana kolbka synaptyczna /ax/ z licznymi pęcherzykami synaptycznymi. Pow. 39 100 x.



Ryc. 28. Prądkowie szczura, 3 dni po iniekcji KA.  
Obrzmienie kolbki synaptycznej /ax/, skupienie pęcherzyków synaptycznych w pewnej odległości od szczeliny synaptycznej. Obkurczenie kolca dendrytycznego /↑/. Pow. 46 000 x.

Ryc. 29. Prądkowie szczura, 3 dni po iniekcji KA.  
Zwyrodnienie kolbek aksonalnych. Zagęszczenie pęcherzyków i wzrost gęstości elektronowej aksoplazmy /ax/. Rozpad dendrytu postsynaptycznego /d/. Pow. 39 100 x.

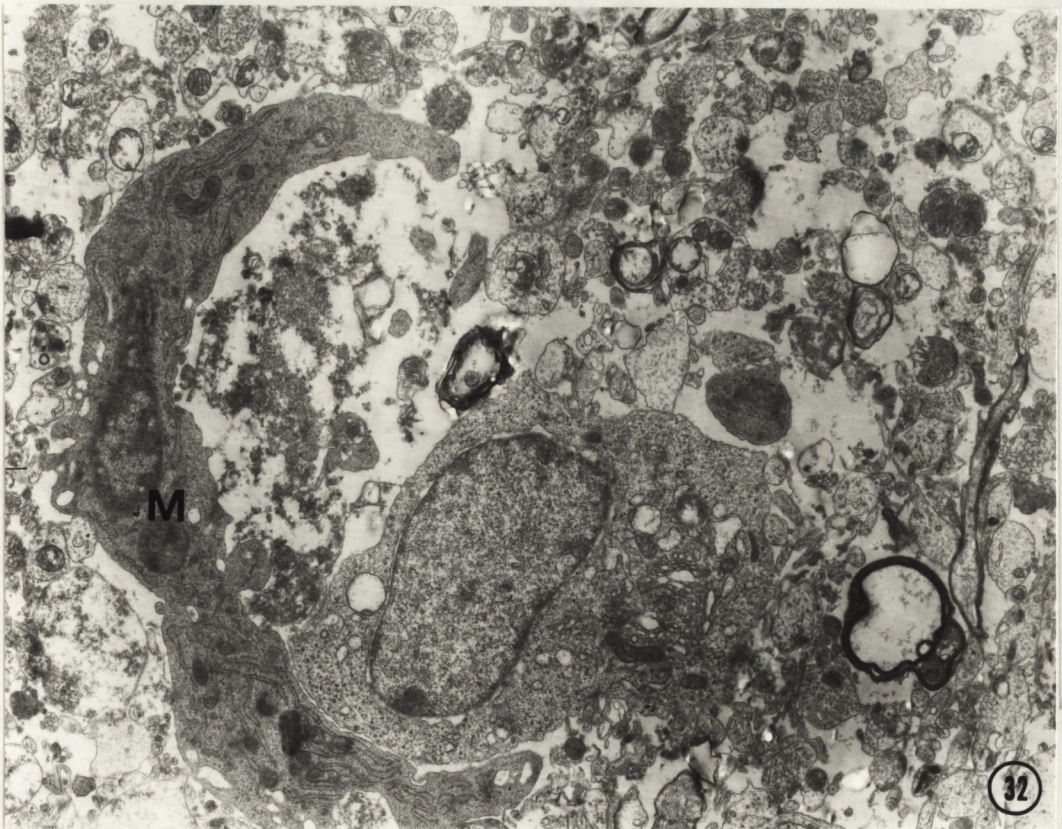
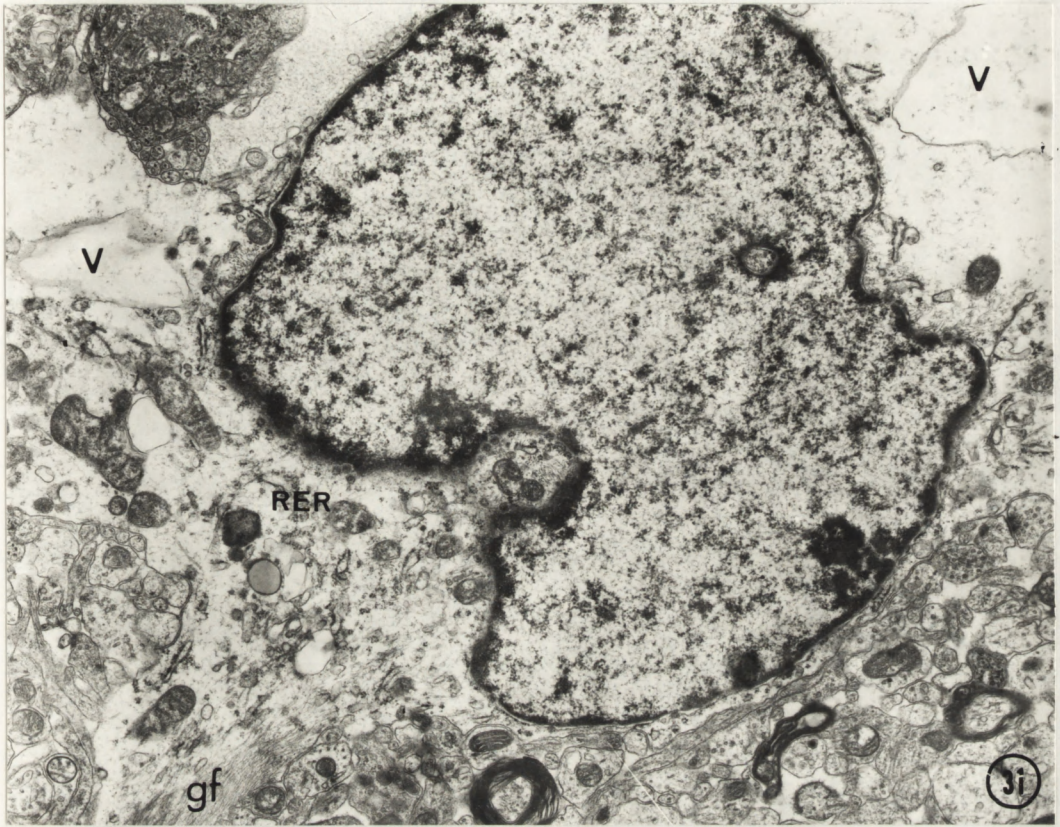
Ryc. 30. Prądkowie szczura, 3 dni po iniekcji KA.  
Zmielinizowany akson. Nagromadzenie uszkodzonych mitochondriów i ciał polimorficznych o blaszkowatej lub wielobłoniastej strukturze. Pow. 15 400 x.





Ryc. 31. Prążkowie szczura, 3 dni po iniekcji KA. Komórka glejowa o cechach astrocytu włóknistego. Obrzmienie obwodowych części cytoplazmy, wakuole /v/, pęczki gliofilamentów /gf/. Pow. 16 000 x.

Ryc. 32. Prążkowie szczura, 7 dni po iniekcji KA, centrum iniekcji. Zwyródnienie neuropilu. Komórka mikroglejowa /M/ fagocytująca produkty rozpadu tkanki. Pow. 7 600 x.



Ryc. 33 a. Prążkowie szczura, 7 dni po podaniu KA, centrum iniekcji.

Duży neuron prążkowiec. Niewielkie uszkodzenia organelli komórkowych, obrzmiałe mitochondria /MT/, nieznacznie poszerzone kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej /RER/. Pow. 5 000 x.

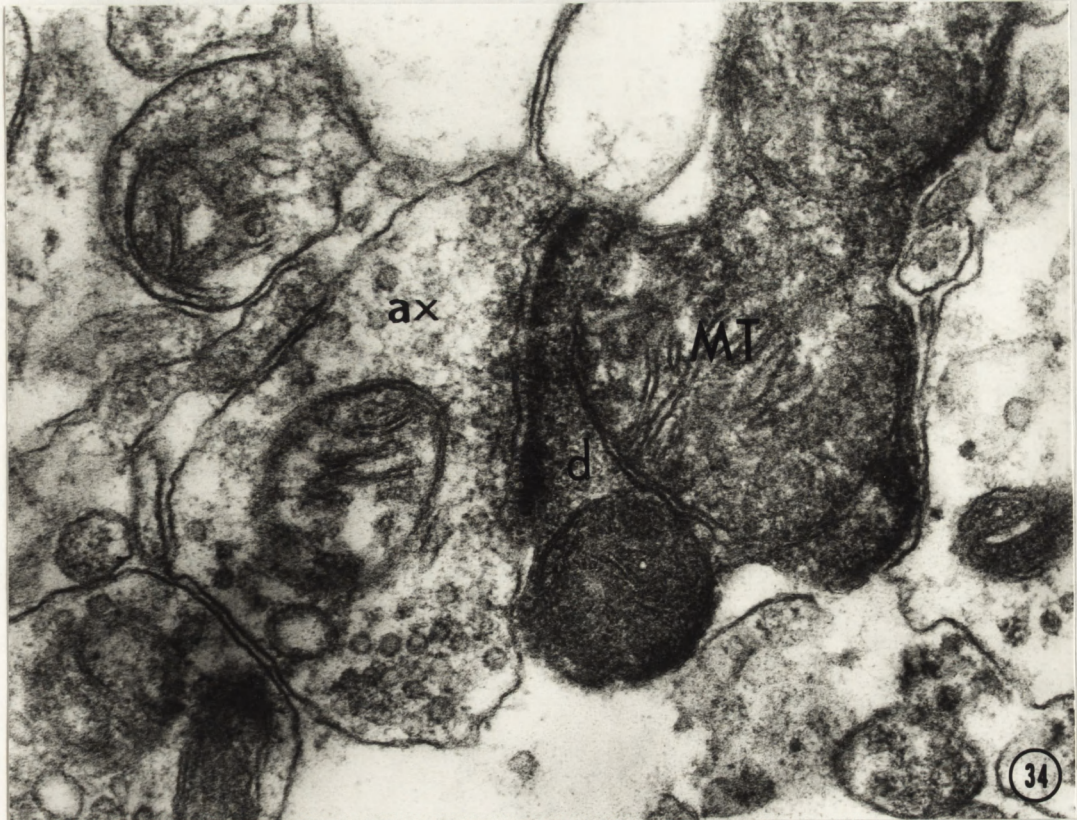
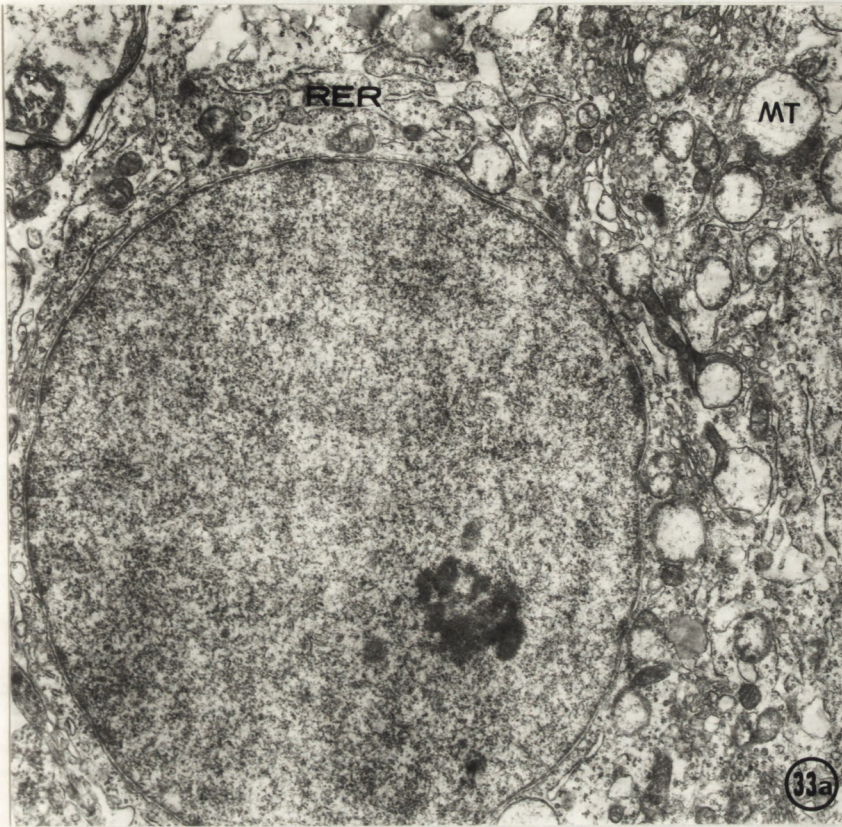
Ryc. 33 b. Prążkowiec szczura, 7 dni po podaniu KA.

Wydłużone mitochondrium /MT/ z kolbkowatymi rozszerzeniami pozbawionymi grzebieni. Pow. 15 400 x.

Ryc. 34. Prążkowiec szczura, 7 dni po iniekcji KA.

Zwyrodniały dendryt postsynaptyczny /d/ zawierający ciemne mitochondria /MT/ z zatarłym rysunkiem macierzy. Kolbka aksonalna /ax/ z pojedynczymi pęcherzykami synaptycznymi w pobliżu szczeliny synaptycznej.

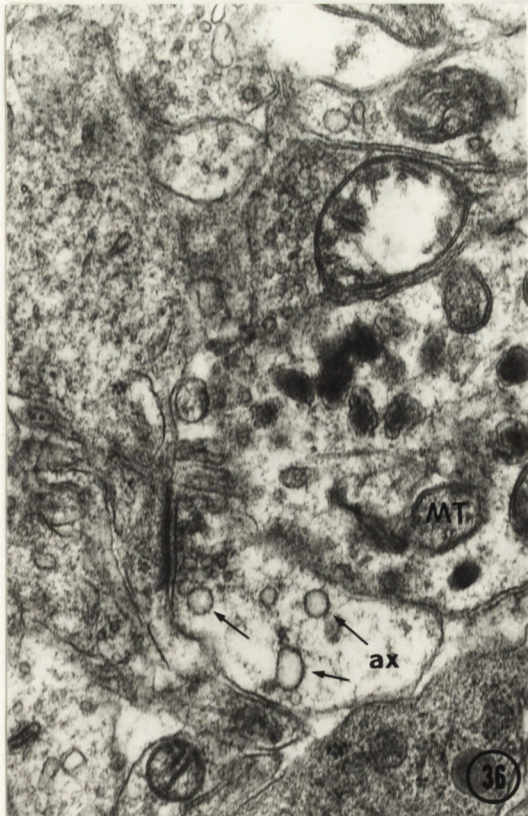
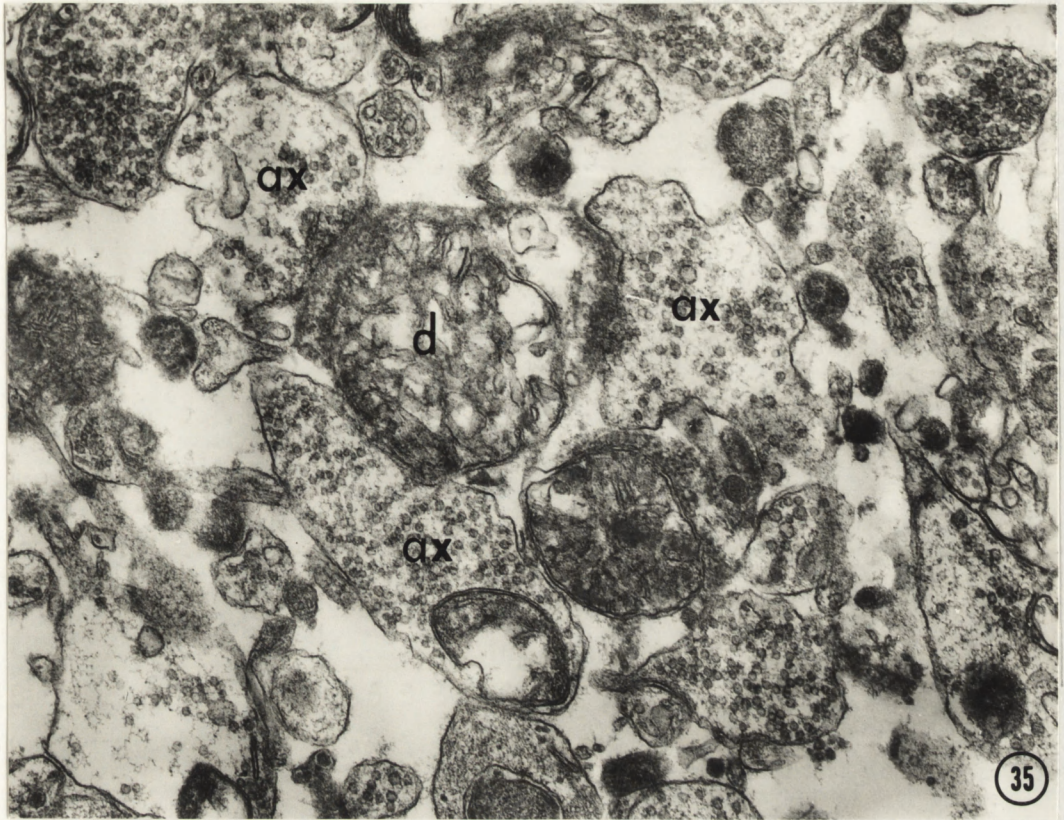
Pow. 46 000 x.



Ryc. 35. Prątkowie szczura, 7 dni po iniekcji KA. Prawidłowo zachowane zakończenia aksonalne /ax/ wypełnione licznymi pęcherzykami synaptycznymi. Rozpad dendrytu postsynaptycznego /d/, widoczne resztki zagęszczeń postsynaptycznych. Pow. 29 900 x.

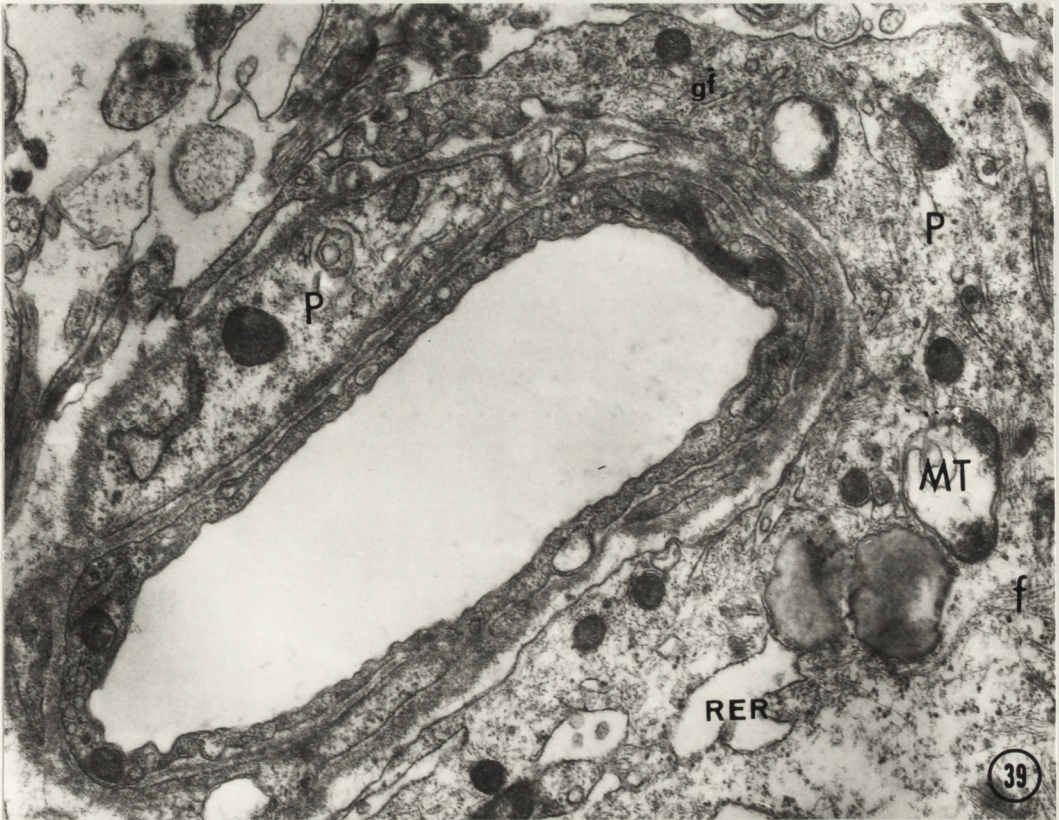
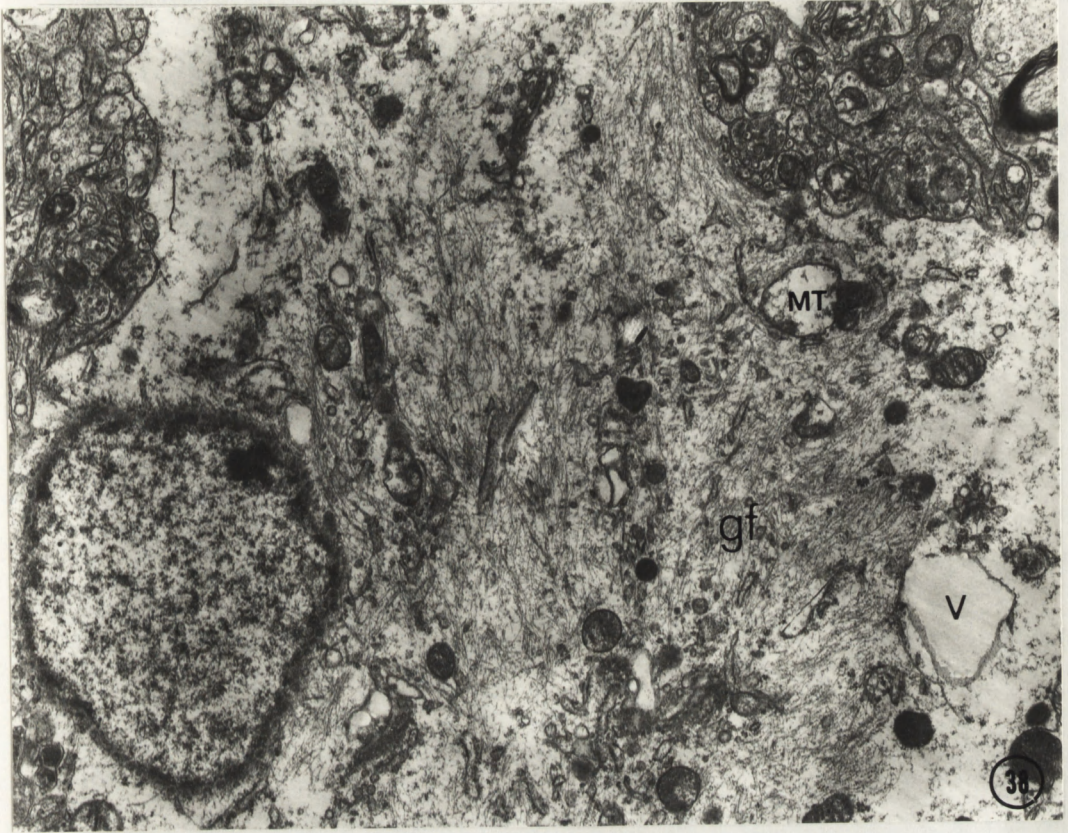
Ryc. 36. Prątkowie szczura, 7 dni po iniekcji KA. Powiększone pęcherzyki synaptyczne /↑/ w obrębie obrzniętej kolbki aksonalnej /ax/. W pozostałych wypustkach nerwowych ciała gęste i zwyrodniałe mitochondria /MT/. Pow. 29 900 x.

Ryc. 37. Prątkowie szczura, 7 dni po iniekcji KA. Nagromadzenie pęcherzyków synaptycznych w centrum wypustki aksonalnej /ax/. Pow. 29 900 x.



Ryc. 38. Prążkowie szczura, 7 dni po iniekcji KA.  
Astrocyt włóknisty. W obfitej cytoplazmie  
liczne gliofilamenty /gf/, pojedyncze  
mitochondria /MT/ i wakuole /v/.  
Pow. 11 500 x.

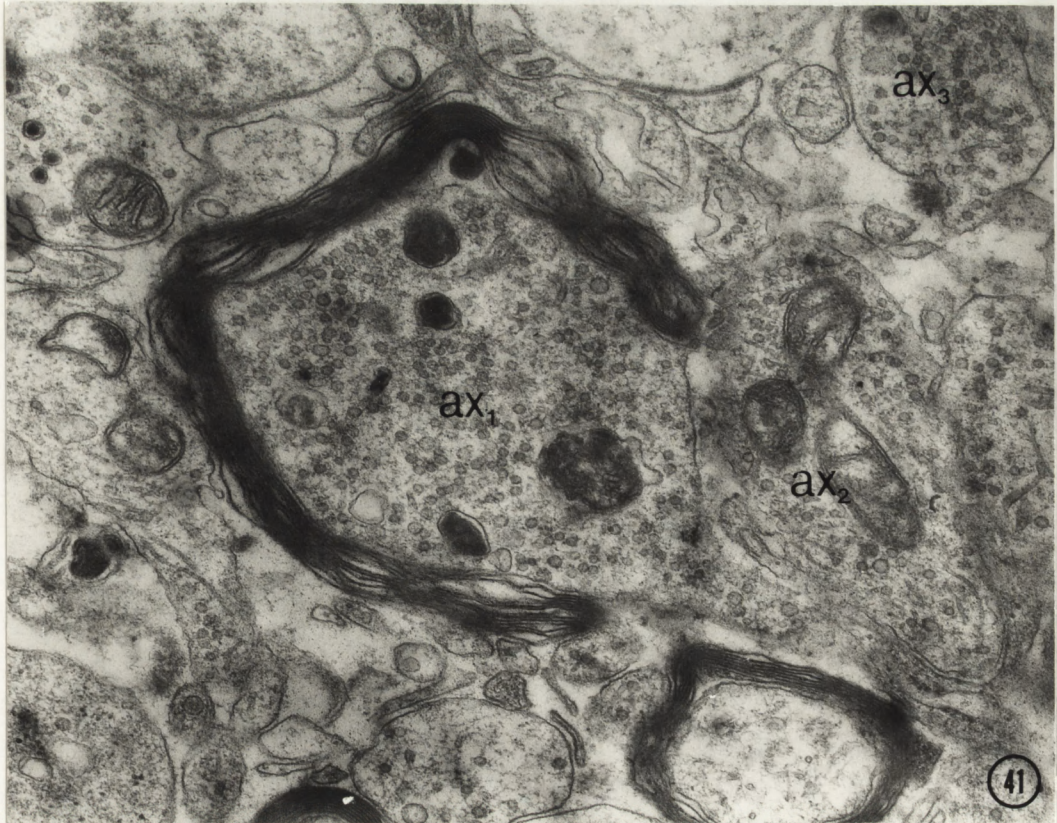
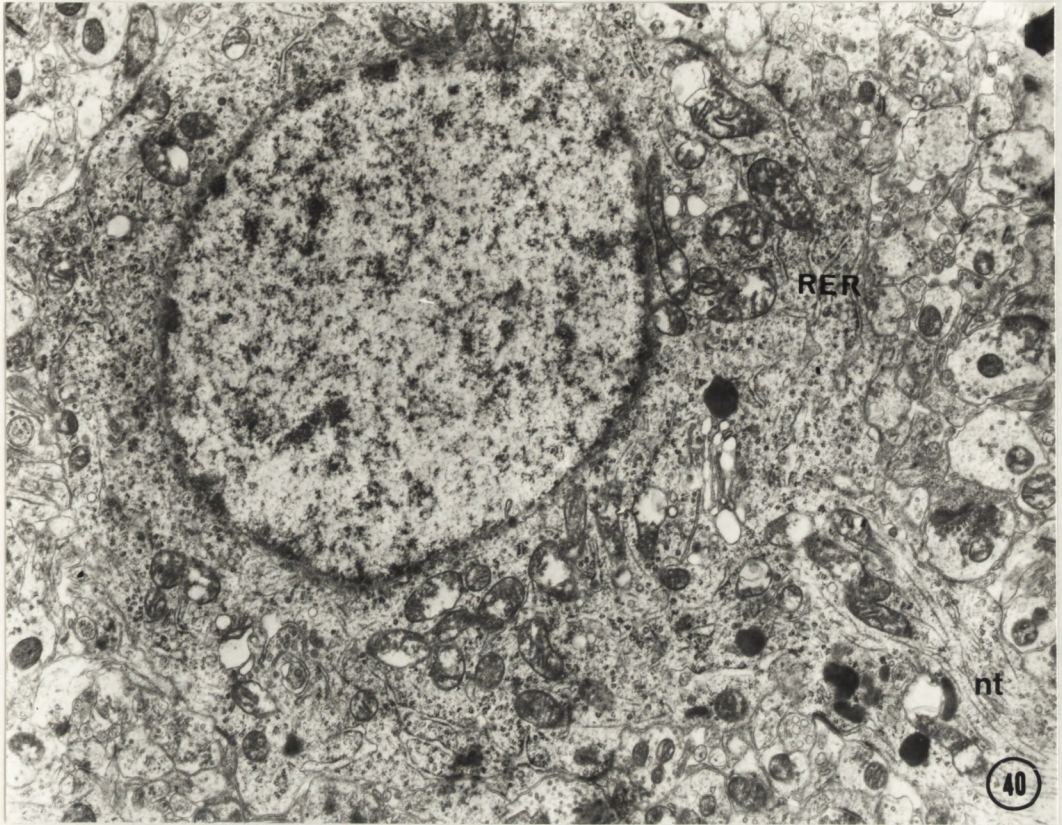
Ryc. 39. Prążkowie szczura, 7 dni po iniekcji KA.  
Okolonaczyniowe wypustki glejowe /P/ zawie-  
rające struktury włókniste /gf/, obrzęknięte  
mitochondria /MT/ oraz poszerzone kanały  
siatki śródplazmatycznej szorstkiej /RER/.  
Pow. 23 000 x.





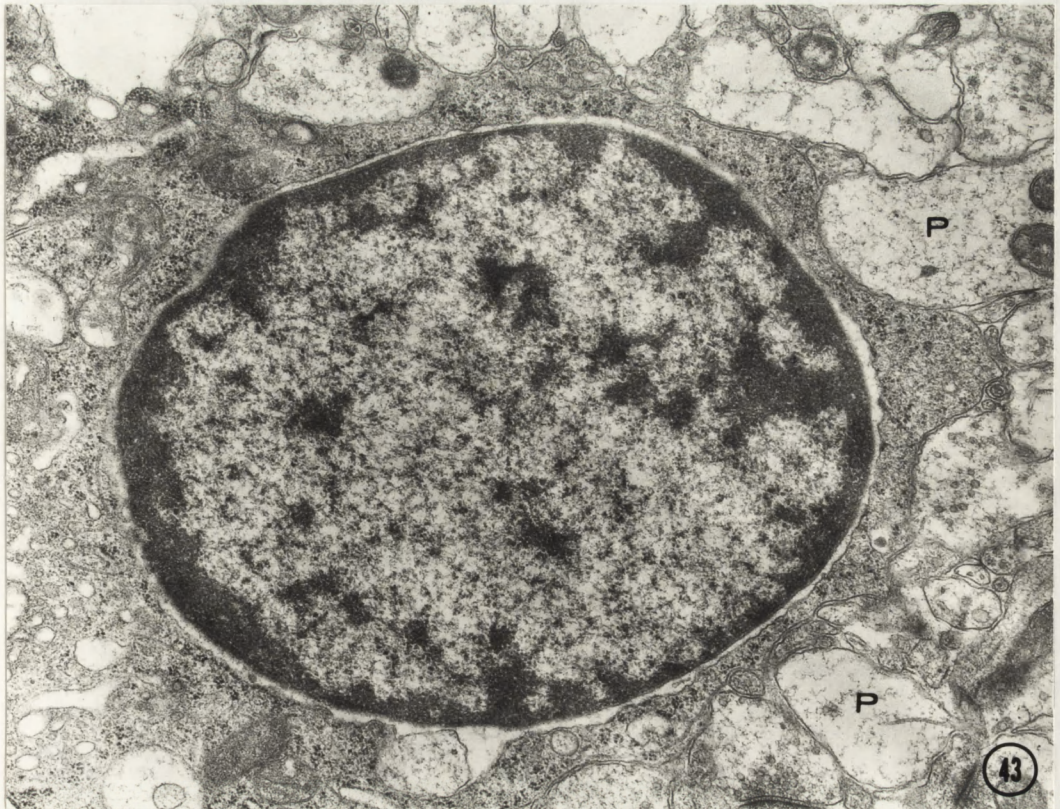
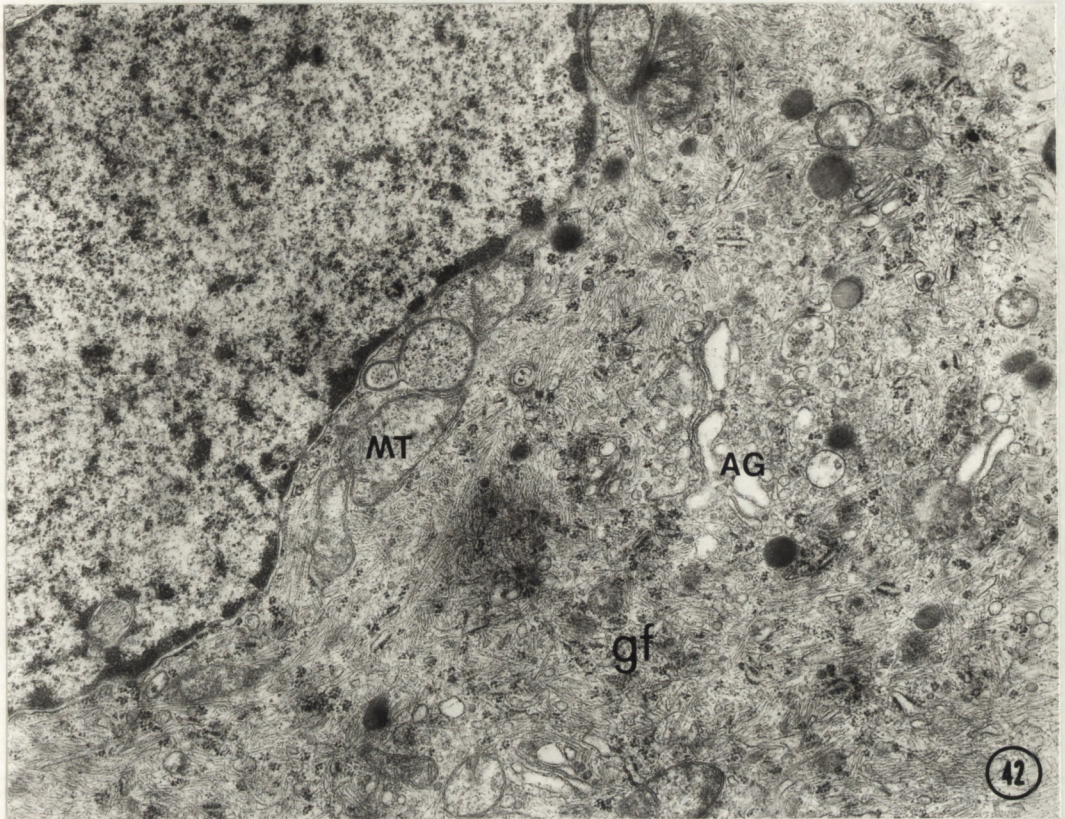
Ryc. 40. Prążkowie szczura, 28 dni po iniekcji KA, 1,5 mm od centrum iniekcji.  
Duży neuron prążkowiec. Obfita cytoplazma, bogata w organelle komórkowe, liczne kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej /RER/ i neurotubule /nt/.  
Pow. 11 500 x.

Ryc. 41. Prążkowiec szczura, 28 dni po iniekcji KA. Częściowo zmielinizowana kolbka aksonalna /ax<sub>1</sub>/ z licznymi pęcherzykami synaptycznymi. Obok prawidłowo zachowane zakończenia aksonalne /ax<sub>2</sub>, ax<sub>3</sub>/.  
Pow. 29 900 x.



Ryc. 42. Prążkowie szczura, 28 dni po iniekcji KA. Fragment astrocytu włóknistego. Zbite pęczki gliofilamentów /gf/ całkowicie wypełniające cytoplazmę. Zwyródniałe mitochondria /MT/, dobrze rozwinięty aparat Golgiego /AG/. Pow. 15 400 x.

Ryc. 43. Prążkowie szczura, 28 dni po iniekcji KA. Prawidłowo zachowana komórka oligodendrogleju. Liczne obrznięte wypustki komórek nerwowych i glejowych /P/. Pow. 19 000 x.

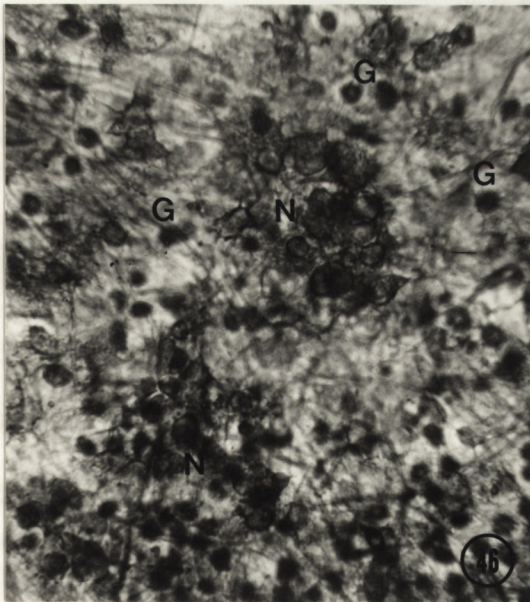


Ryc. 44. Hodowla organotypowa prązkowia. 3 DIV.  
Fragment eksplantatu i tworzącej się  
strefy wzrostu. Błękit toluidyny.  
Pow. 100 x.

Ryc. 45. Hodowla organotypowa prązkowia. 10 DIV.  
Zagęszczenia komórek glejowych w stre-  
fie wzrostu. Błękit toluidyny.  
Pow. 60 x.

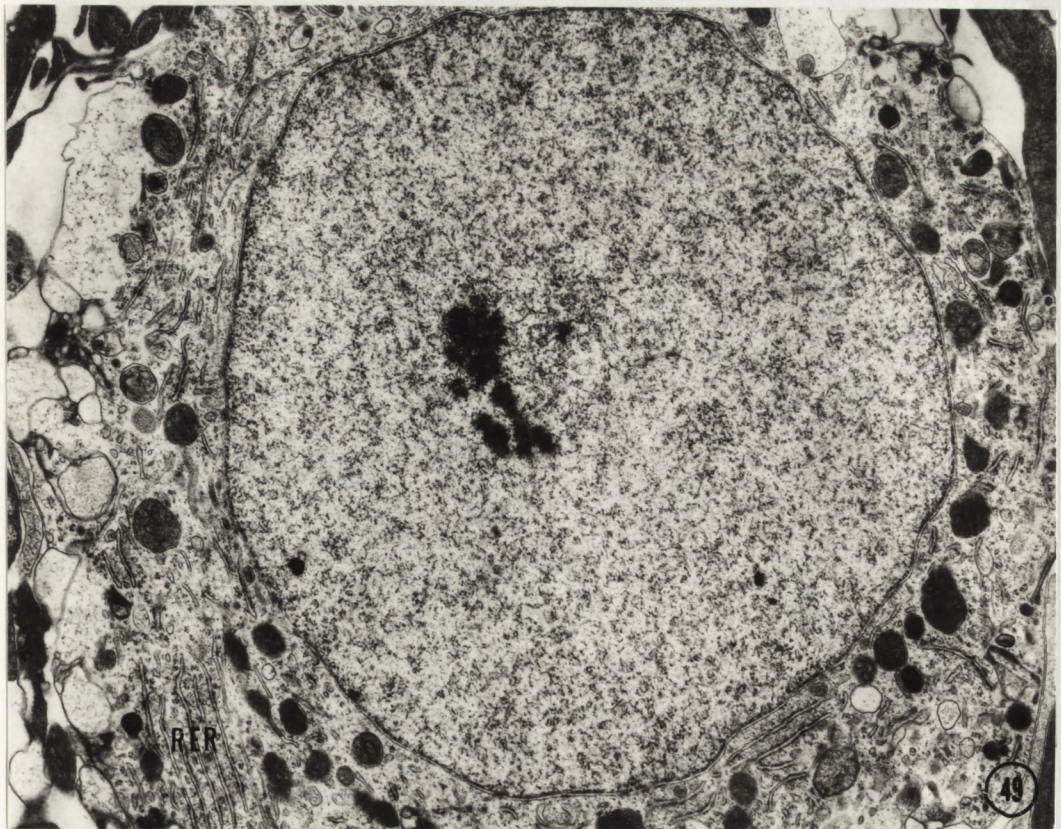
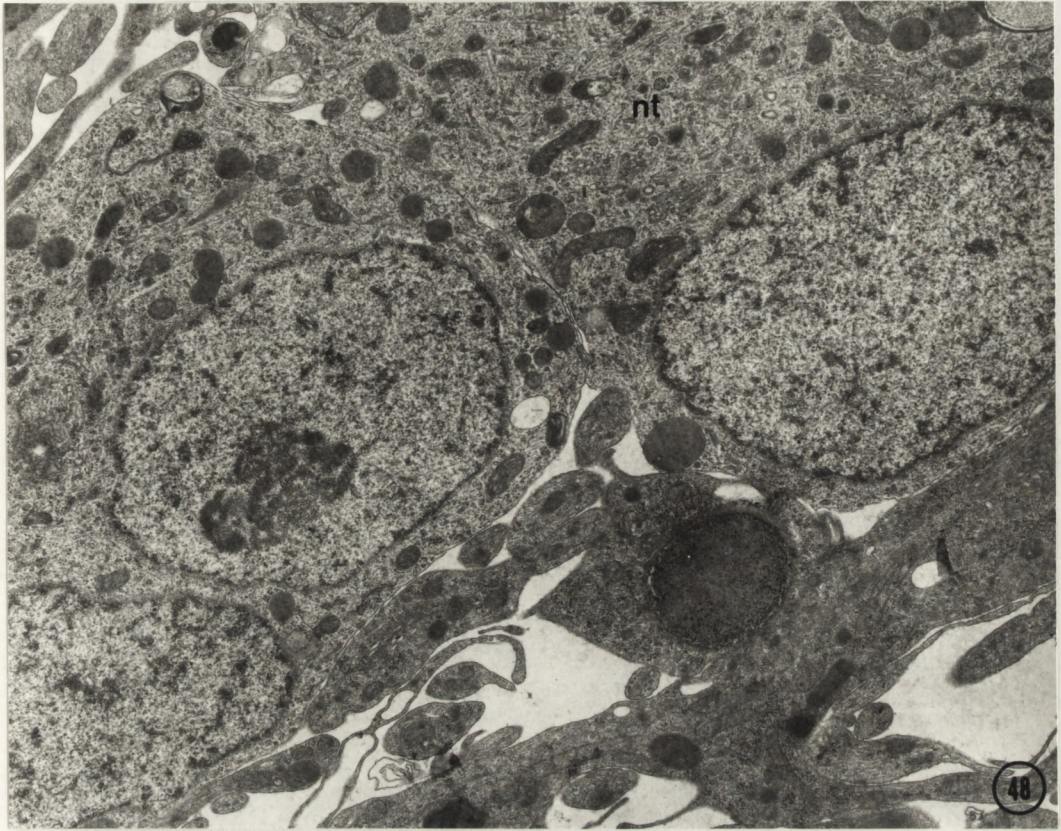
Ryc. 46. Hodowla organotypowa prązkowia. 10 DIV.  
Skupienia komórek nerwowych /N/ w eks-  
plantacie, liczne komórki glejowe /G/  
otaczające neurony. Bodian. Pow. 200 x.

Ryc. 47. Hodowla organotypowa prązkowia.  
10 DIV/4 dni KA.  
Liczne wypustki komórek glejowych /gf/  
i nerwowych /nt/ w brzeżnej strefie  
wzrostu. Holzer. Pow. 200 x.



Ryc. 48. Hodowla organotypowa prążkowiec. 14 DIV.  
Komórki nerwowe średnich rozmiarów z  
eksplantatu. Owalne jądro, obfita cyto-  
plazma bogata w mitochondria, rybosomy,  
neurotubule /nt/ oraz lizosomy.  
Pow. 7 600 x.

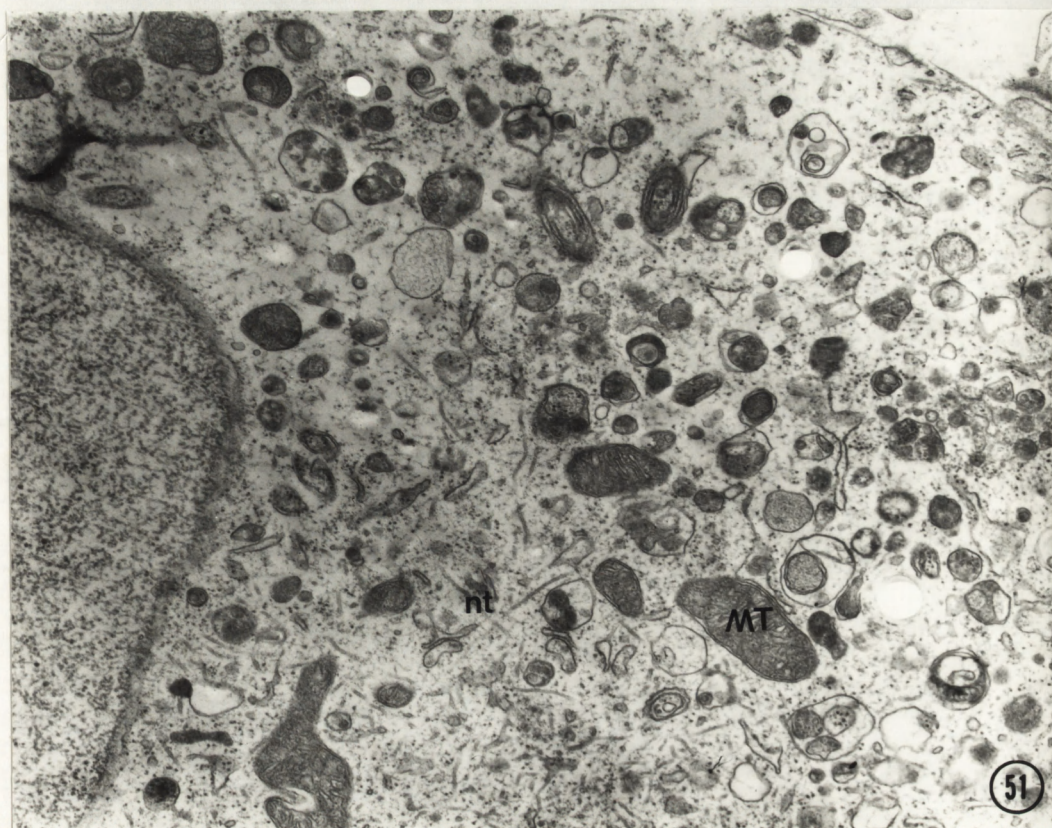
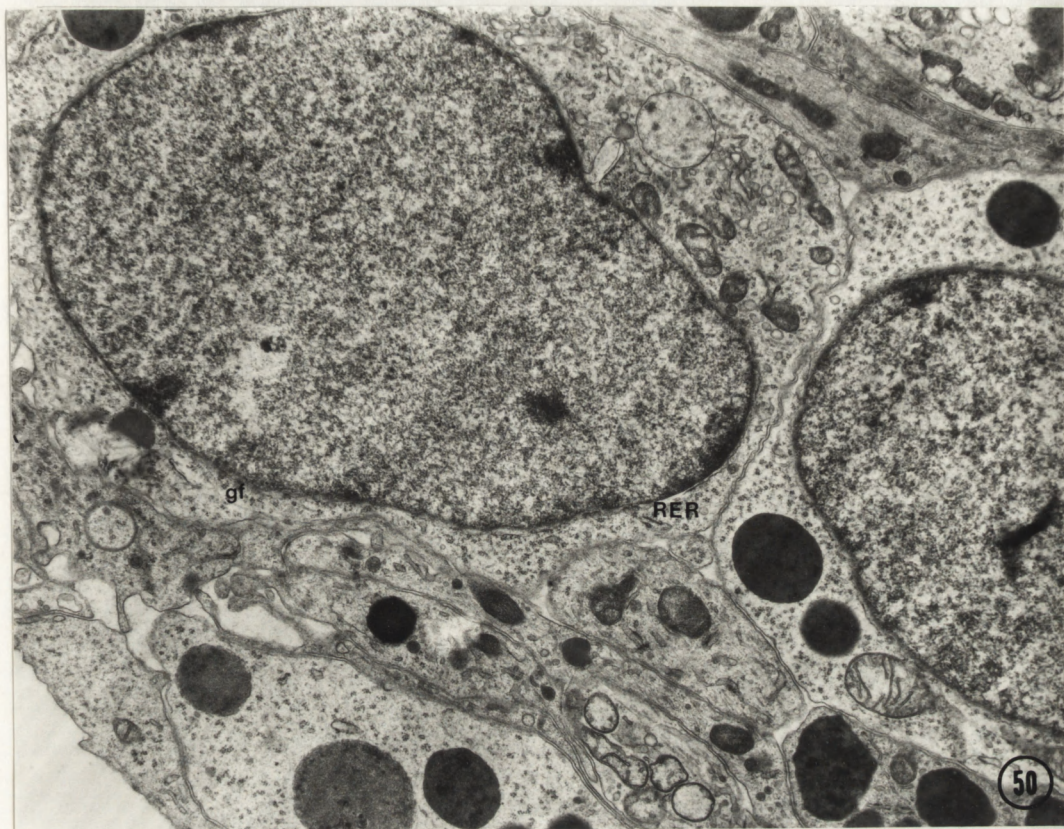
Ryc. 49. Hodowla organotypowa prążkowiec. 14 DIV.  
Duży neuron prążkowiec. Równoległe ułożone  
kanały siatki śródplazmatycznej /RER/  
szorstkiej, pojedyncze wakuole i lizosomy.  
Pow. 11 500 x.





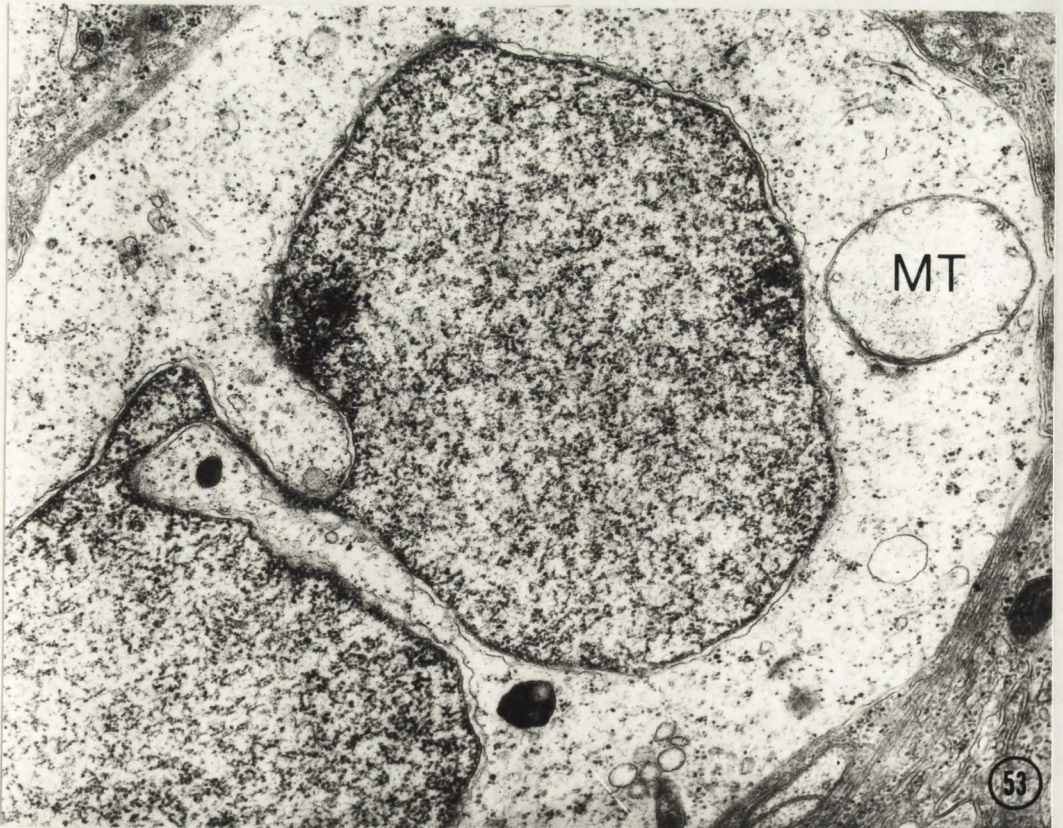
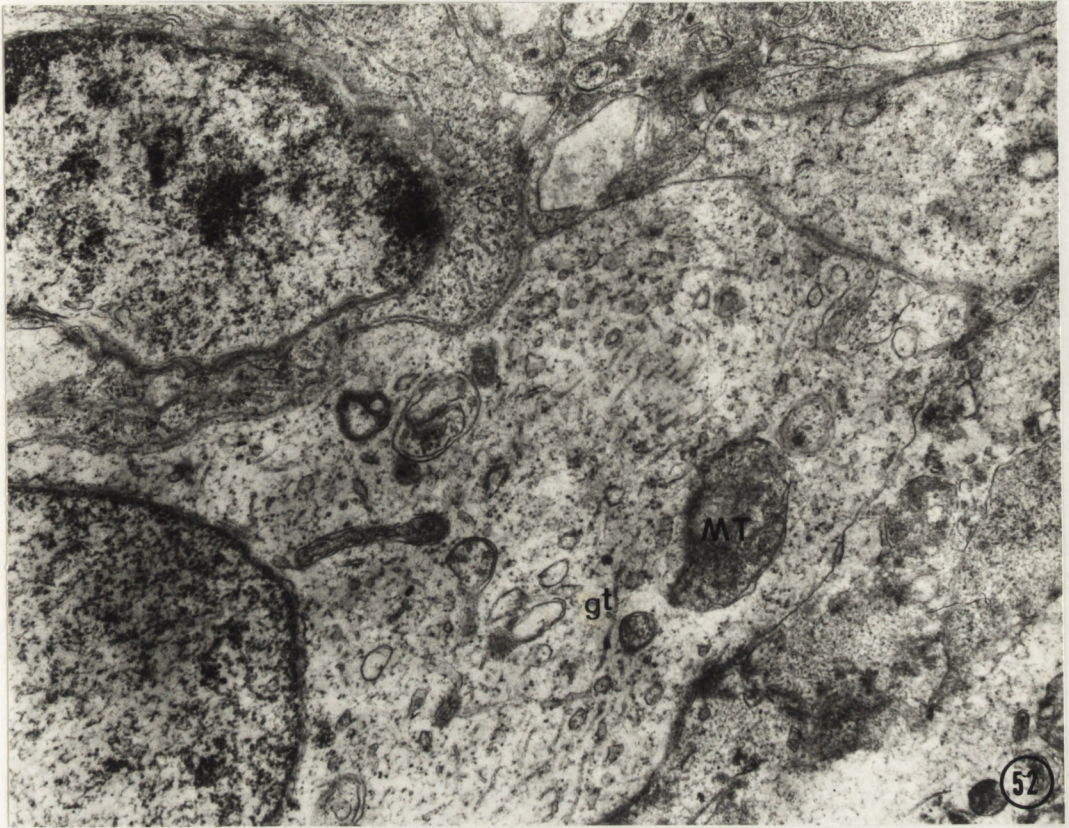
Ryc. 50. Hodowla organotypowa prążkowiec. 14 DIV.  
Astrocyty protoplazmatyczne. Liczne wolne  
rybosomy, pojedyncze krótkie kanały siatki  
śródpłazmatycznej szorstkiej /RER/, mito-  
chondria, lizosomy. Pojedyncze struktury  
włókniste /gf/. Pow. 13 800 x.

Ryc. 51. Hodowla organotypowa prążkowiec. 14 DIV/14 dni KA.  
Fragment zwyrodniałej komórki nerwowej eksplan-  
tatu. Liczne ciała polimorficzne o budowie  
błoniastej i pęcherzykowej, pojedyncze zachowane  
mitochondria /MT/, luźno rozrzucone neurotubule  
/nt/. Pow. 19 000 x.



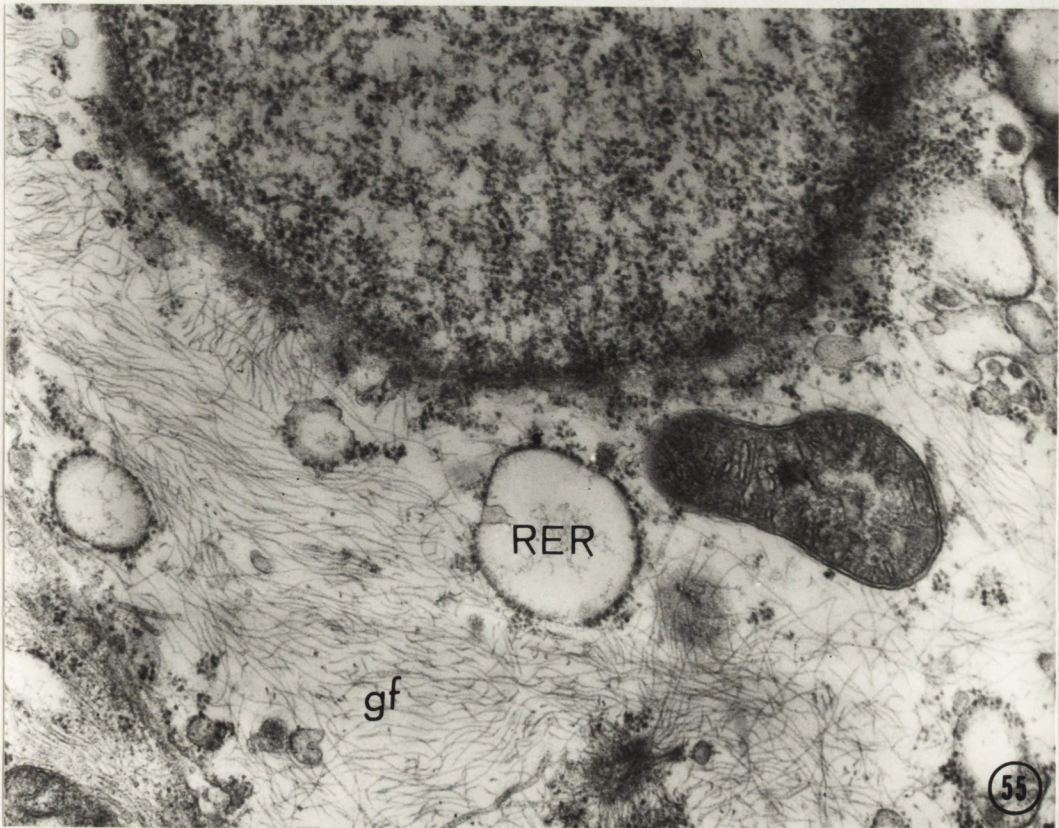
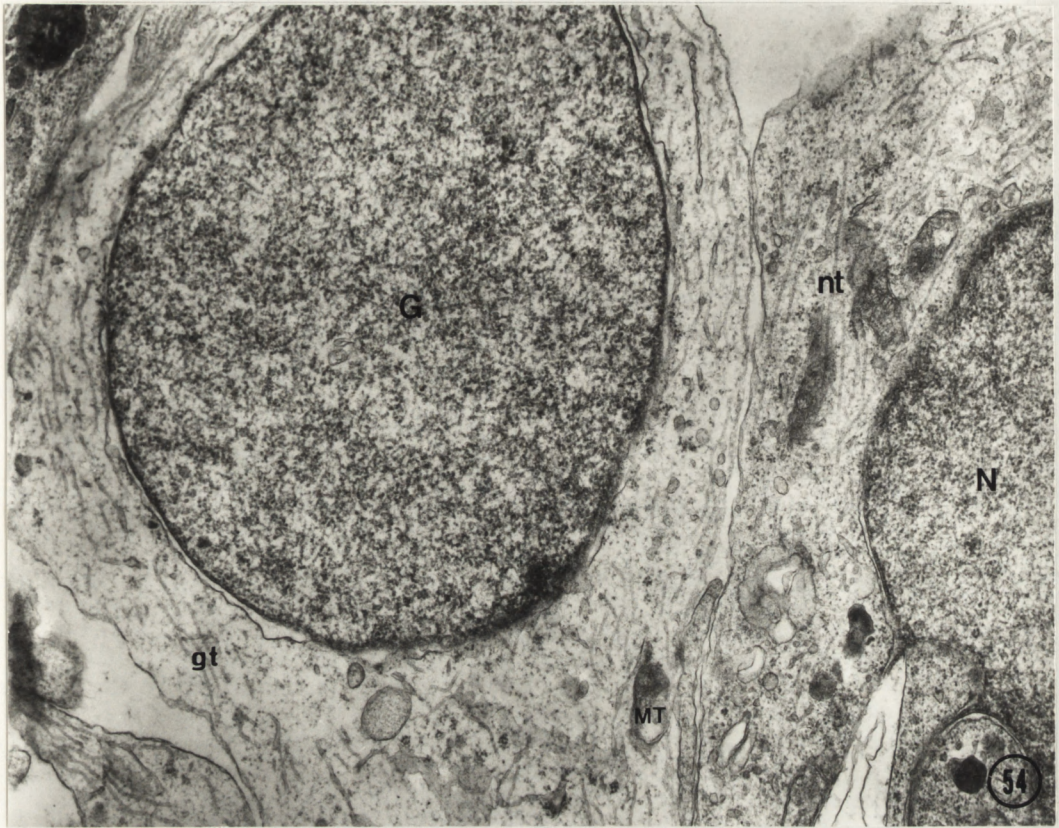
Ryc. 52. Hodowla organotypowa prążkowiec. 3 DIV/3 dni KA.  
Fragment komórki glejowej eksplantatu. Uszkodzone mitochondria /MT/, wakuole oraz gliotubule /gt/. Pow. 22 000 x.

Ryc. 53. Hodowla organotypowa prążkowiec. 7 DIV/3 dni KA.  
Astrocyt z przedzielnym jądrem komórkowym.  
Jasna, prawie całkowicie opustoszała cytoplazma.  
Obrzmiałe, pozbawione grzebieni mitochondrium /MT/, pojedyncze wolne rybosomy. Pow. 19 000 x.



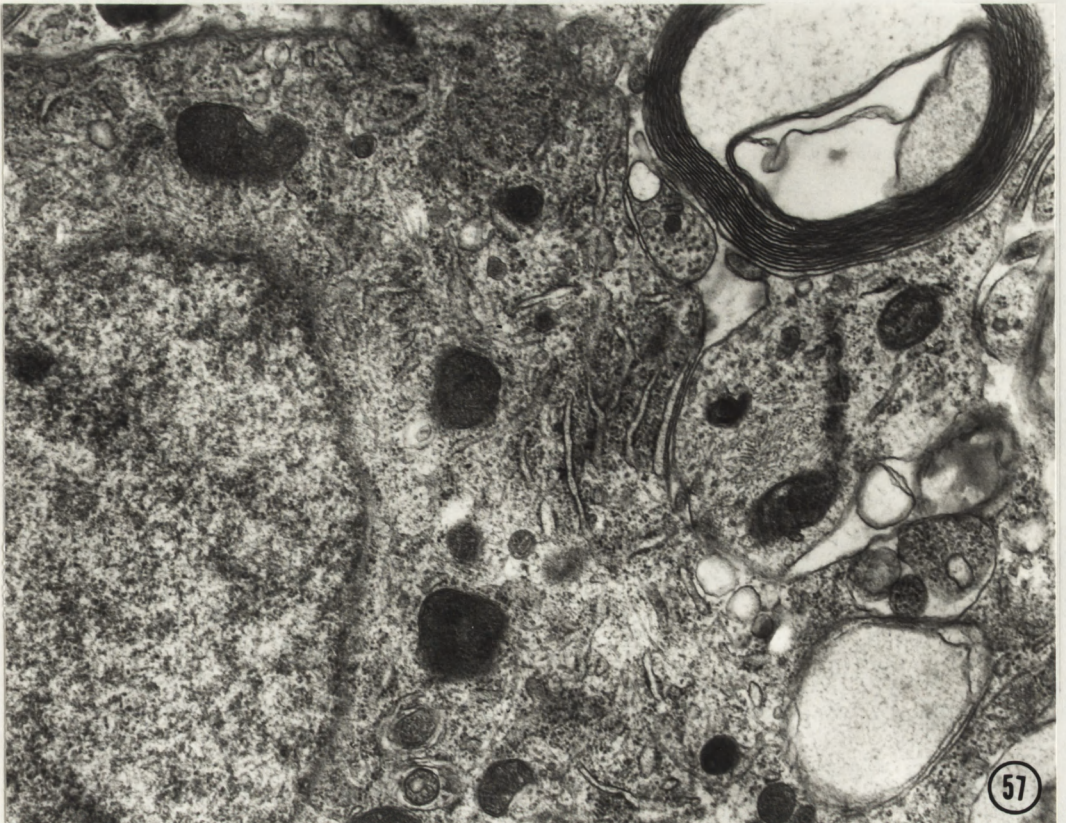
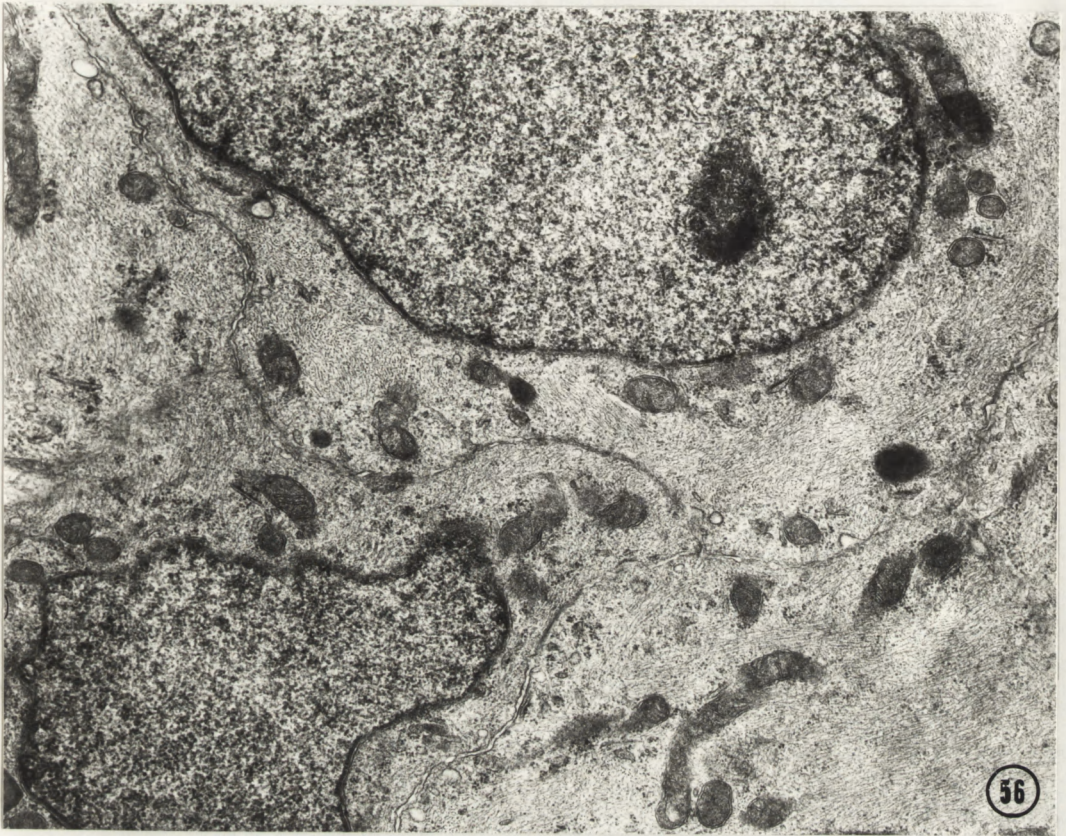
Ryc. 54. Hodowla organotypowa prążkowiec. 7 DIV/7 dni KA. Komórka glejowa eksplantatu. W elektronowo-rzadkiej cytoplazmie liczne gliotubule /gt/ i pojedyncze zwyrodniałe mitochondria /MT/. Fragment prawidłowo zachowanego neuronu /N/, liczne neurotubule /nt/. Pow. 15 400 x.

Ryc. 55. Hodowla organotypowa prążkowiec. 14 DIV/3 dni KA. Fragment astrocytu ze strefy wzrostu. Wodnista cytoplazma, poszerzone kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej /RER/ i liczne gliofilamanty /gf/. Pow. 29 900 x.



Ryc. 56. Hodowla organotypowa prądkowia. 14 DIV/14 dni KA.  
Astrocyty włókniste w odległej strefie wzrostu.  
Nagromadzenie filamentów w cytoplazmie.  
Pow. 15 400 x.

Ryc. 57. Hodowla organotypowa prądkowia. 14 DIV/14 dni KA.  
Fragment komórki oligodendrogleju. Prawidłowo  
zmielinizowana wypustka nerwowa. Pow. 23 000 x.



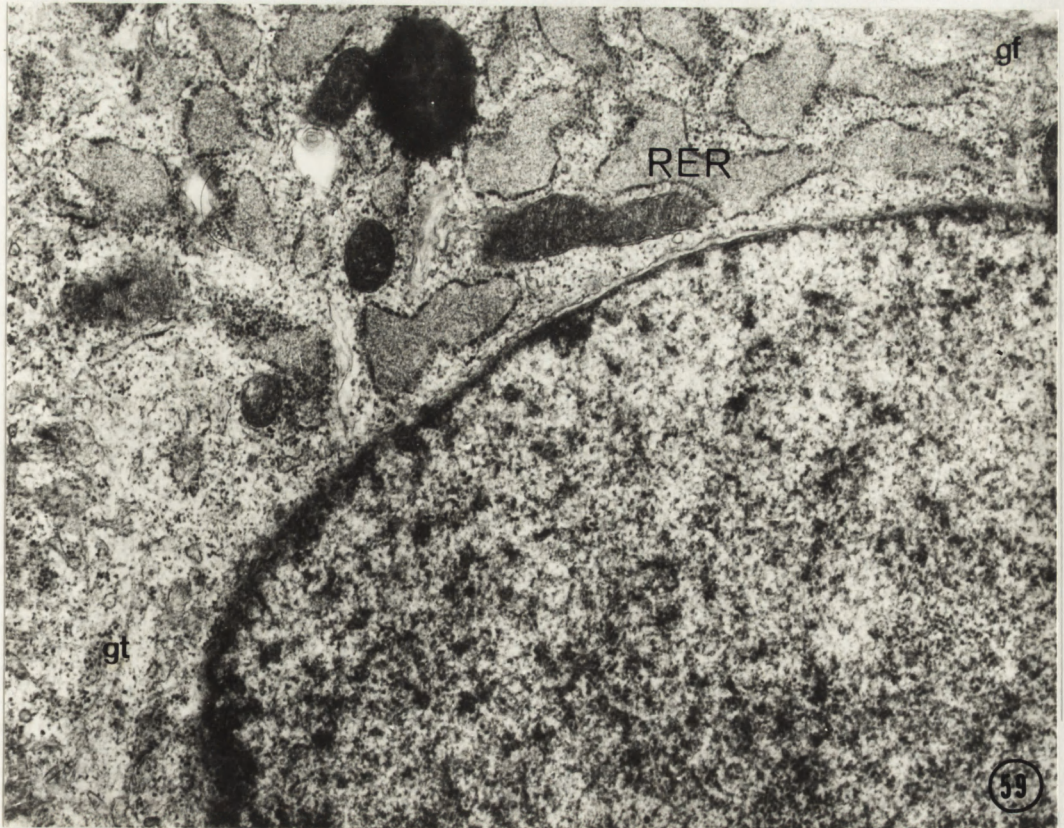
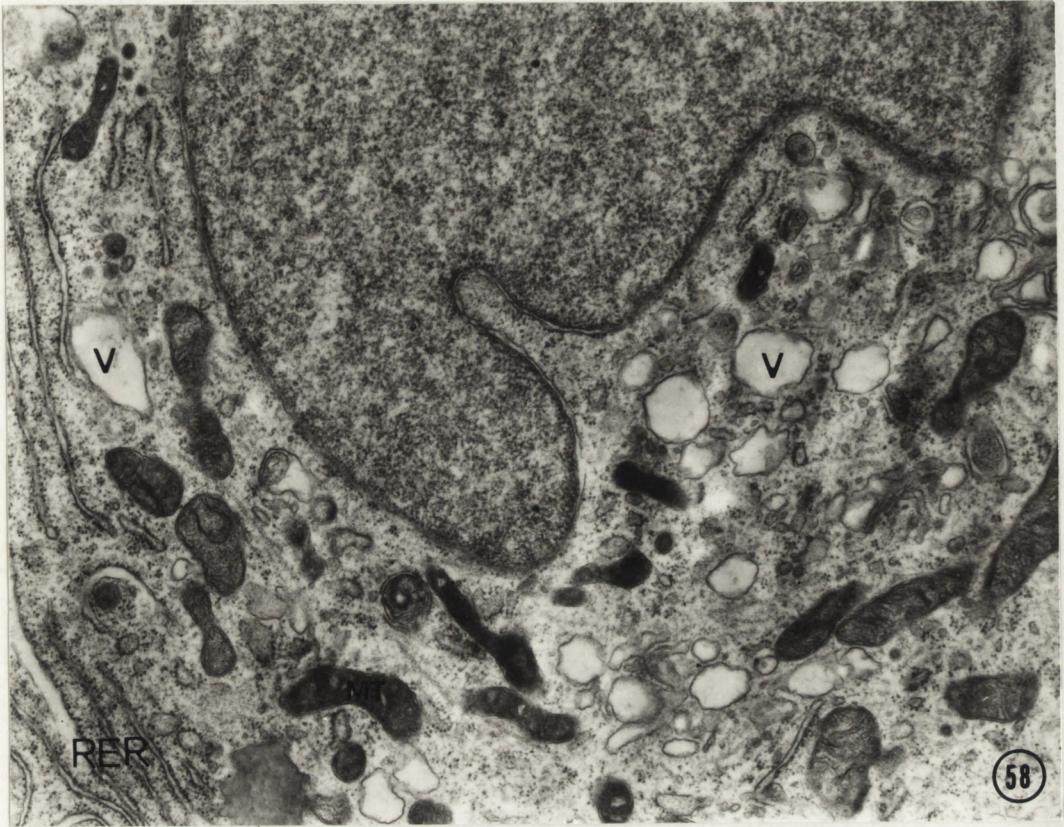


Ryc. 58., Hodowla organotypowa mózdzku szczura.  
14 DIV/14 dni KA.

Komórka Purkinjega mózdzku. Liczne kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej /RER/, ciemne mitochondria /MT/ i wakuole /v/. Pow. 19 000 x.

Ryc. 59. Hodowla organotypowa mózdzku szczura.  
0 DIV/7 dni KA.

Fragment astrocytu ze strefy wzrostu. Poszerzone kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej wypełnione drobnoziarnistym materiałem /RER/, gliofilamenty /gf/ oraz pojedyncze gliotubule /gt/. Pow. 20 700 x.



Ryc. 60. Hodowla organotypowa mózdzku szczura.

0 DIV/7 dni KA.

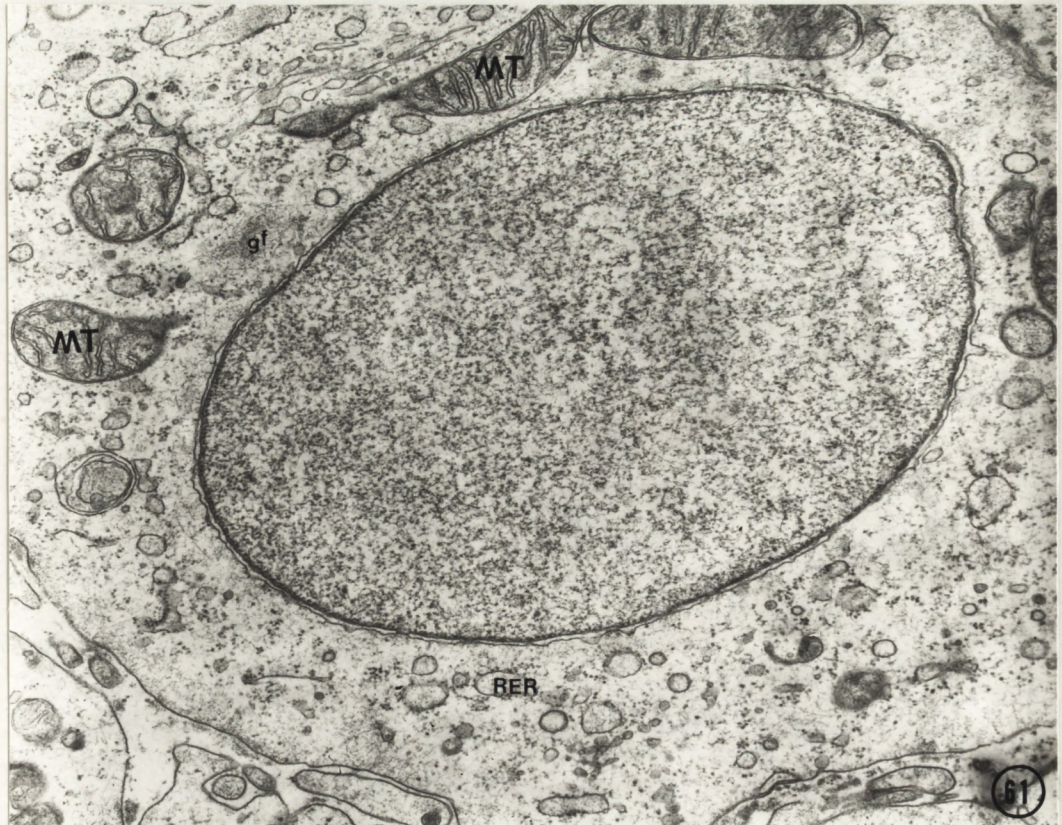
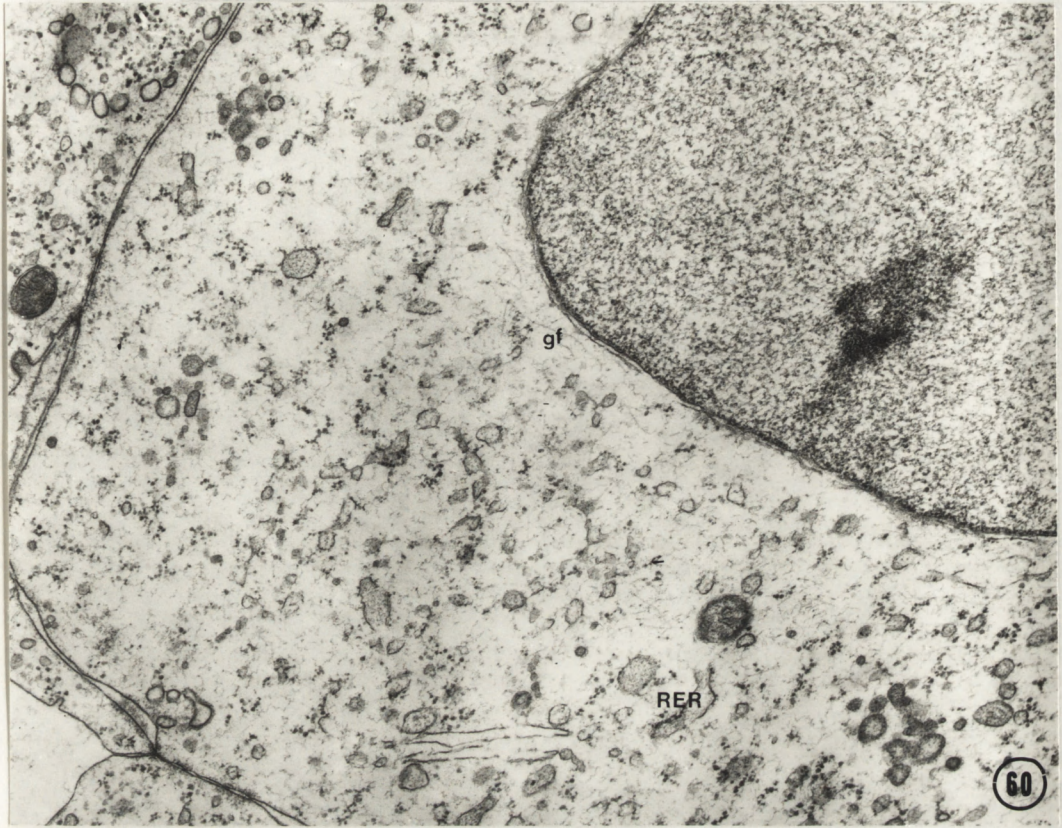
Fragment astrocytu. Jasna, wodnista cytoplazma. Pojedyncze wolne rybosomy, liczne drobne pęcherzyki, poszerzone kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej /RER/ oraz pojedyncze gliofilamenty /gf/.

Pow. 19 000 x.

Ryc. 61. Hodowla organotypowa mózdzku szczura.

7 DIV/7 dni KA.

Astrocyt z eksplantatu. Powiększone mitochondria /MT/, poszerzone kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej /RER/ oraz tworzące się delikatne struktury włókniste /gf/. Pow. 19 000 x.



Ryc. 62. Hodowla organotypowa mózdzku szczura.

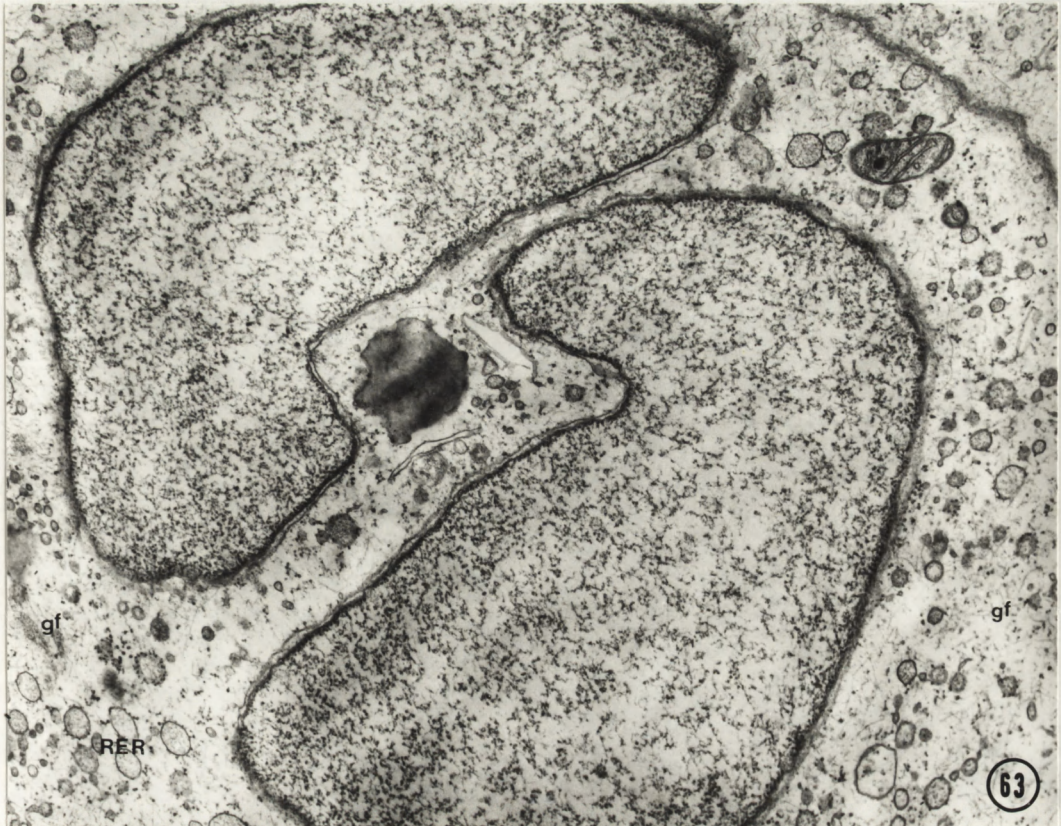
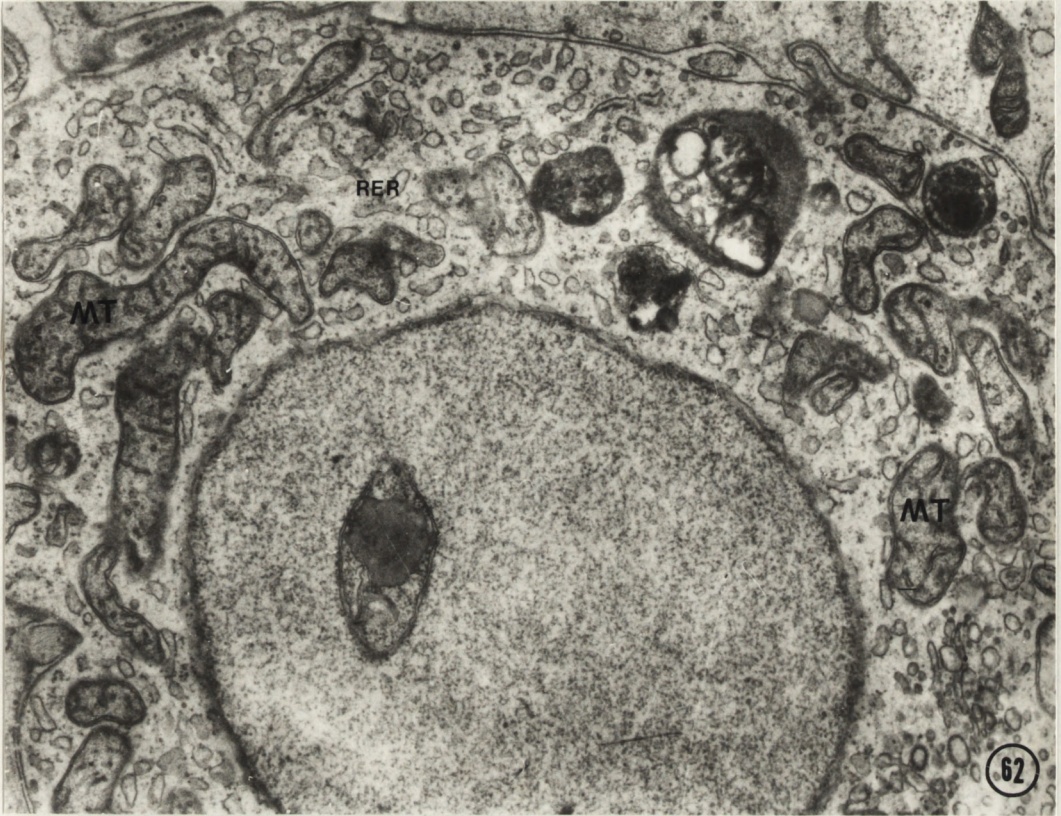
7 DIV/28 dni KA.

Komórka glejowa eksplantatu. Nagromadzenie powiększonych mitochondriów /MT/, liczne drobne pęcherzyki i poszerzone kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej. Pow. 20 700 x.

Ryc. 63. Hodowla organotypowa mózdzku szczura.

7 DIV/14 dni KA.

Astocyt z podzielonym jądrem. Poszerzone kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej /RER/, pojedyncze włókienka glejowe /gf/ oraz prawidłowo zachowane mitochondria /MT/. Pow. 20 700 x.

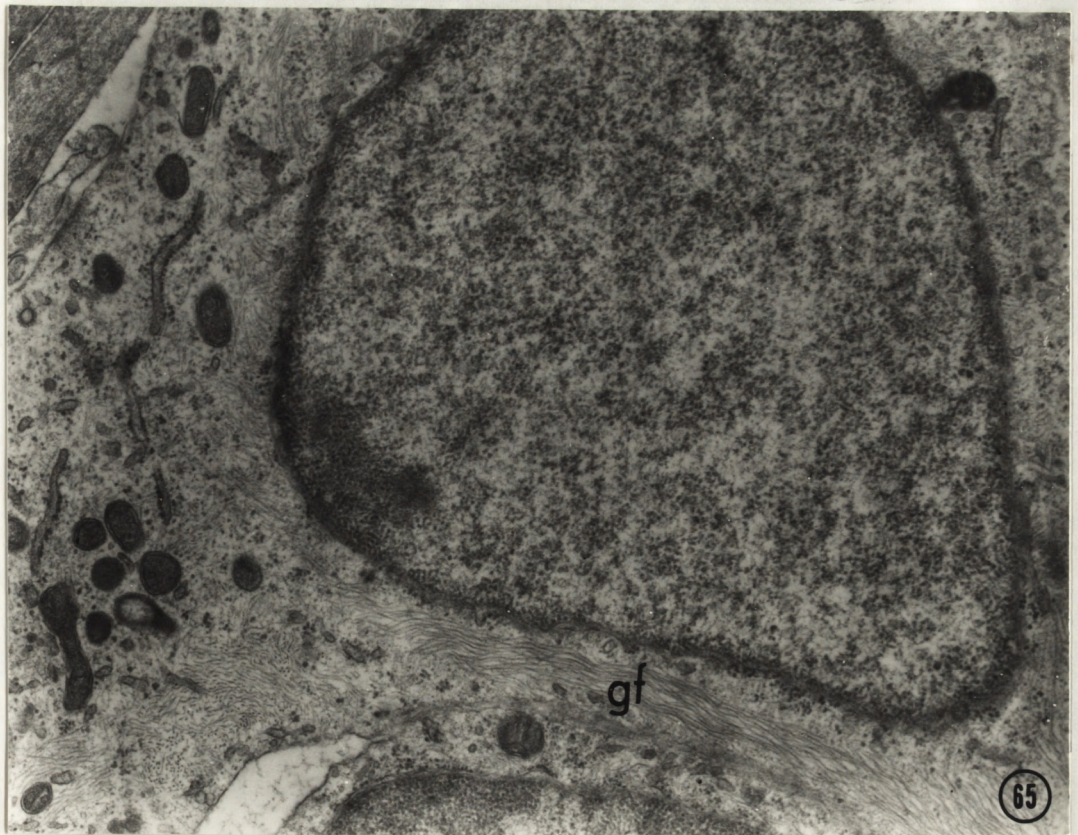
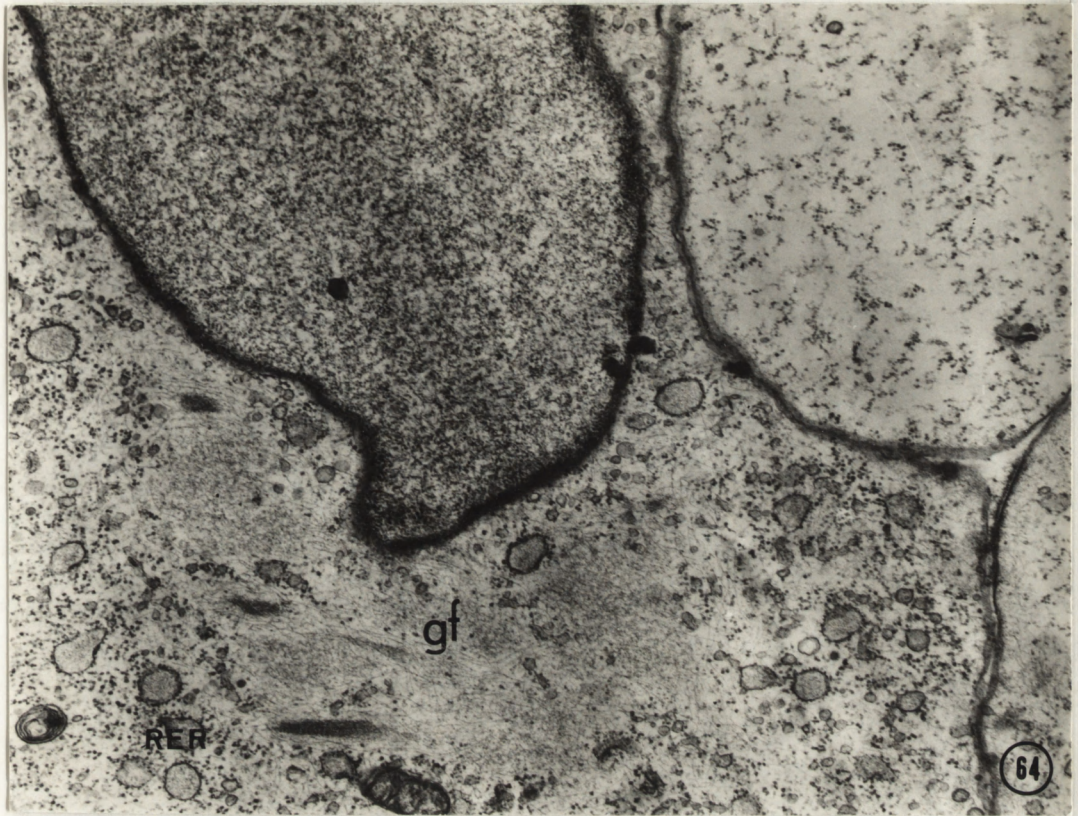


Ryc. 64. Hodowla organotypowa mózdzku szczura.  
14 DIV/7 dni KA.

Fragment astrocytu z eksplantatu. Roz-  
dęcie zbiorników siatki śródplazmatycznej  
szerstkiej /RER/, gliofilamenty /gf/.  
Pow. 15 400 x.

Ryc. 65. Hodowla organotypowa mózdzku szczura.  
14 DIV/14 dni KA.

Astrocyt ze strefy wzrostu. Liczne gli-  
ofilamenty /gf/ ułożone w pęczki i roz-  
rzucone luźno w cytoplazmie.  
Pow. 23 000 x.





Ryc. 66. Hodowla organotypowa mózdzku szczura.  
14 DIV/28 dni KA.

Fragment cytoplazmy astrocytu. Rozdęte kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej /RER/ oraz pasmowato ułożone gliofilamenty /gf/. Pow. 39 100 x.

Ryc. 67. Hodowla organotypowa mózdzku szczura.  
14 DIV/7 dni KA.

Nagromadzenie ciał o strukturze blaszkowatej i wielobłoniastej w cytoplazmie komórki glejowej /G/. Pojedyncze włóknienka glejowe /gf/. Pow. 11 500 x.

