

1262

eqz 2



STOWARZYSZENIE NEUROLOGÓW POLSKICH

142

NEUROLOGIA POLSKA

M. Rost

TOM IX

1971

ZESZ. 2

WARSZAWA

NEUROPATHOLOGIA POLSKA

KWARTALNIK

Tom IX

Kwiecień – Czerwiec 1971

Nr 2

KOMITET REDAKCYJNY

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

Przy współpracy

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

REDAKCJA

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

ADRES REDAKCJI

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

Wydawca
PAŃSTWOWY ZAKŁAD WYDAWNICTW LEKARSKICH

ZUZANNA KRAŚNICKA, MIROŚLAW J. MOSSAKOWSKI,
KRYSTYNA RENKAWEK

MORPHOLOGIE ET HISTOCHIMIE DE NEURONES
DE GANGLIONS SPINAUX CULTIVÉS *IN VITRO*
DANS LES CONDITIONS D'ANOXIE *)

Centre de la Médecine Expérimentale et Clinique de l'Académie Polonaise
des Sciences, Département de Neuropathologie
Chef de Département: prof. agr. M.J. Mossakowski

La sensibilité du système nerveux central à l'anoxie est un fait évident. Les différents degrés de la sensibilité des structures particulières et des éléments cellulaires du système nerveux central sont également connus. Les cellules nerveuses et leurs prolongements manifestent une sensibilité la plus marquée. La vulnérabilité sélective manifeste en plus une différenciation dans la population neuronale intervenue probablement en fonction de différences métaboliques des cellules nerveuses particulières.

La plupart des expériences dans ce domaine ont été effectuées sur le matériel animal, les changements intervenus dans les tissus nerveux *in vivo* constituaient l'objectif des recherches. Il est reconnu que l'anoxie de tout l'organisme et même du système nerveux seul provoque toute une série de réactions de tout l'ensemble des organes et qui s'accumulent sur les altérations entraînées par l'anoxie.

Dans cette optique au cours des dernières années nous nous sommes attaquées dans notre laboratoire aux recherches relatives à l'influence de l'anoxie sur le tissu nerveux cultivé *in vitro*. Nous avons présenté les résultats de nos recherches relatives à la nevroglie dans les publications parues précédemment (Kraśnicka et coll. 1967a, 1967b, Renkaweck 1967, Kraśnicka, Renkaweck 1969). L'objectif de notre présente communication est d'évaluer les changements morphologiques et histoenzymatiques des neurones dans les conditions de culture soumis à l'action de l'anoxie. L'objet d'un examen détaillé est de les analyser en fonction de la durée de l'anoxie et du degré de la maturité du tissu cultivé.

*) Ce travail a été réalisé avec l'aide de PL 480 U.S. Public Health. Service accord 227704.



MATERIEL ET METHODES

Les recherches étaient effectuées sur les cultures de ganglions spinaux d'embryons de poulet de neuf jours. Les cultures étaient maintenues dans les flacons de Carrel pendant une à quatre semaines. Pour obtenir les conditions expérimentales d'anoxie on a utilisé un flacon de Carrel modifié (Kraśnicka et coll. 1967a). Les cultures croissantes dans les conditions standardisées dans les flacons de Carrel jusqu'à l'âge requis 1, 2, 3, 4 semaines ont été transportées dans les conditions stériles dans les flacons modifiés. Ensuite après avoir servi le milieu à composition normale on a ajouté de l'azote. On a fait passer de l'azote par les flacons pendant trois minutes et ensuite on a fermé les voies d'introduction et de dérivation. On maintenait les cultures dans l'atmosphère d'azote au cours d'une, trois, douze et vingt quatre heures. Ensuite on a procédé aux examens histologiques et enzymatiques. Le tableau 1 présente les méthodes histologiques, histo-chimiques et histoenzymatiques utilisées. En vue de chaque analyse enzymatique on a effectuée des contrôles en faisant incuber des cultures supplémentaires dans les mélanges dépourvues de substrats

Tableau 1. Méthodes histologiques, histo-chimiques et enzymatiques

Methodes histologiques et histo-chimiques	Nissl Bodian PAS PAS-Dimedon Noir Soudan B
Enzymes oxydoreductifs	G-6-PDH Hess et coll.*) LDH SDH Scarpelli et coll.**)
Enzymes du cycle Lelcir-Cardini	Ph-ase Takeuchi et Kuriaki***) UDPG-G-ase Takeuchi et Glenner****)

*) Hess R., Scarpelli D. G. Pearse A. E. G.: The cytochemical localisation of oxidative enzymes. II. Pyridine nucleotide — linked dehydrogenases. *J. biophys. biochem. dytol.* 1958, 4, 753—760.

**) Scarpelli D. G., Hess R., Pearse A. E. G.: The cytochemical localization of oxidative enzymes. *J. biophys. biochem. Cytol.* 1958, 4, 747—752.

***) Takeuchi T., Kuriaki K.: Histochemical detection of phosphorylase in animals tissues. *J. Histochem. Cytochem.* 1955, 3, 153—160.

****) Takeuchi T., Glenner G.: Histochemical demonstration of uridine diphosphate glucose-glycogen transpherase in animal tissues. *J. Histochem. Cytochem.* 1961, 9 304—316.

demandés. Pour comparer les changements morphologiques et enzymatiques on a effectué des examens de contrôle sur les cultures de ganglions spinaux maintenues dans les conditions standardisées et dans les périodes requises de la croissance des cultures.

RESULTS

Groupe I — Anoxie d'une heure.

Les changements morphologiques intervenus dans les neurones de ganglions spinaux se font remarquer dans tous les groupes d'âge des cultures. Ils consistent en tigrolyse, en dégénération vacuolaire et en gonflement cellulaire. Les noyaux des cellules satelitaires autour des neurones sont manifestement accrus.

Dans la méthode PAS après une heure d'anoxie de petites agglomérations de granules PAS positives dans les neurones particuliers se font remarquer (fig.1). Dans la méthode PAS-dimedon on ne décèle la présence de glycogène ni en neurones, ni en cellules satelitaires qui les accompagnent, dans aucune période des cultures.

Dans la méthode de Bodian après une heure d'anoxie on ne remarque pas d'altérations des neurofibrilles ni dans les jeunes ni dans les vieilles cultures. Dans ce groupe experimental on ne décèle pas non plus de changements pathologiques en coloration de Soudan noir B.

Sous l'action d'une heure d'anoxie les neurones sensitifs manifestent l'activité de deshydrogenases lactique et glucose-6-phosphatique insensiblement diminuée (fig. 2, 3). Les grains de la réaction enzymatique dans la cytoplasme sont disposée irrégulièrement. L'intensité de l'activité de ces deshydrogenases diffère d'une cellule à l'autre, mais dans la plupart des cellules l'activité enzymatique est moins élevée que dans les cultures de conditions standardisée. L'activité de deshydrogenase succinique est la plus faible (fig. 4). Les petits grains de la réaction enzymatique sont aussi irrégulièrement disposés dans les cellules. Les ampicites et les cellules de Schwann manifestent également l'activité de ces enzymes sensiblement diminuée.

Dans ce groupe experimental l'activité des enzymes métabolisant le glycogène (de la phosphorylase et de la synthethase glycogénique) est assez forte et correspond à l'intensité de l'activité de ces enzymes dans les conditions normaux. Dans l'anoxie on remarque aussi l'activité de la phosphorylase plus intense que celle de la synthethase glycogénique.

Groupe II — Anoxie de trois heures.

En comparaison avec les résultats du groupe I les changements morphologiques sont plus intenses. Le nombre et la taille des vacuoles

dans les neurocytes augmente. La tigrolyse est plus avancée. Les petits grains de tigroïde se trouvent sous la membrane cellulaire.

Dans la méthode de Bodian après trois heures d'anoxie les premiers changements des neurofibrilles se font détecter. Les neurofibrilles sont disposées d'une façon irrégulière, parfois elles sont groupées sur la périphérie de la cellule. Dans la méthode PAS après trois heures d'anoxie la quantité de substances PAS positives augmente insensiblement dans les cellules satellites, tandis que dans les neurones elle apparaît en moindre quantité.

Dans ce groupe d'anoxie on observe que l'activité des deshydrogenases baisse toujours et l'activité de phosphorylase et de synthétase glycogénique dans le cytoplasme des neurones augmente (fig. 5).

Groupe III — Anoxie de douze heures.

En comparaison avec les résultats des groupes précédents on observe une augmentation croissante des changements dégénératifs. Dans la méthode de Nissl tous les neurones sont dépourvus des grains de tigroïde. Souvent on remarque aussi des changements dans les noyaux, s'exprimant en atrophie de la membrane nucléaire. Les nucléoles se tiennent le plus longtemps. Autour des neurones on remarque une forte prolifération des cellules satellites et leurs noyaux gonflés (fig. 6).

Dans la méthode PAS après douze heures d'anoxie la plupart des neurones sont dépourvus de granules PAS positives, tandis que les cellules satellites accumulent des quantités considérables de cette substance (fig. 7).

Parfois on trouve des produits sphériques PAS positifs dans le cytoplasme.

Dans la méthode PAS-dimedon après douze heures d'anoxie on ne décèle pas la présence de glycogène dans les cultures.

Dans la méthode de Bodian dans ce groupe expérimentale toutes les neurofibrilles sont manifestement déplacées sous la membrane cellulaire dans les neurones conservés. De plus les axones manifestent des renflements irréguliers (fig. 8).

Après douze heures d'anoxie l'activité de la deshydrogenase lactique et glucose-6-phosphatique est très faible, l'activité de la deshydrogenase succinique est insignifiante ou même indétectable. Dans ce groupe d'anoxie seule l'activité de la phosphorylase et de la synthétase du glycogène est augmentée sensiblement.

Groupe IV — Anoxie de vingt quatre heures.

Le changement le plus essentiel dans ce groupe d'anoxie est la désintégration de gaine myélinique. Au cours de la coloration avec

du Soudan noir B les cultures précédemment manifestent une demyelination accompagnée d'une fragmentation de myéline (fig. 9).

Les changements morphologiques et enzymatiques remarquées dans ce groupe ressemblent aux résultats du groupe d'anoxie de douze heures (fig. 10, 11). Outre de l'intensité des changements pathologiques observés dans les groupes précédents une plus grande atrophie des neurocytes se fait remarquer.

Dans tous les groupes expérimentaux les cultures jeunes manifestent des changements pathologiques les plus intenses et l'affaiblissement de l'activité des deshydrogenases le plus marqué. Les cultures plus vieilles sont affectées de changements moins avancés et l'activité des enzymes baisse moins sensiblement.

DISCUSSION

Les neurones sensitifs de ganglions spinaux maintenus in vitro dans les conditions d'anoxie manifestent des changements morphologiques et histoenzymatiques dans tous les groupes d'âge de la culture. Le caractère et l'intensité des changements dépendent de la durée de leur séjour dans l'atmosphère sans oxygène et de l'âge de la culture au moment initial de l'action du facteur altérant. L'intensité des changements est en proportion de la durée de l'anoxie, les changements pathologiques sont d'autant plus profonds et plus massifs que la durée de l'anoxie est plus longue. La lésion des cellules nerveuses dans les cultures jeunes (1—2 semaines) est plus manifeste que dans les cultures plus vieilles pendant la même durée de l'anoxie. Ce phénomène est contraire aux observations faites jusqu'ici sur les expériences effectuées sur les animaux qui avaient prouvé que les cellules embryonnaires sont moins sensibles à l'anoxie que les cellules mures. Cette divergence peut être expliquée, paraît-il de deux façons: 1° dans les conditions où l'embryon est traité *in toto* il existe quantité de mécanismes de tout l'organisme protégeant contre l'anoxie qui font défaut dans les cultures *in vitro*; 2° dans les premiers stades de la culture les cellules nerveuses sont en état de réaction axonale résultant de la lésion de l'axone, provoquée au cours du recuillement du matériel pour la culture (Kraśnicka 1969). Dans ce stade l'anoxie agit sur la cellule déjà altérée. Les changements pathologiques remarqués peuvent résulter d'une somme de facteurs nocifs.

Les changements morphologiques remarqués consistent en gonflement des cellules nerveuses, en tigrolyse, en dégénération vacuolaire, en dégénération de neurofibrilles, en fragmentation des axones et en démyélinisation. La sensibilité des éléments particuliers de la cellule à l'ano-

xie détermine la succession temporelle des changements apparus. La démyélinisation intervient après les changements qui s'étaient effectués dans les éléments péricariaux mais coïncide avec le temps de dégénération de l'axone et avec les changements intervenus dans les cellules de Schwann. Cela peut prouver qu'il existe un rapport causal entre la démyélinisation et les changements de neurone et de cellules Schwann.

La disparition de glycogène en cytoplasme de neurone dans les conditions d'anoxie attire un intérêt particulier. Dans les conditions standardisées les dépôts abondants glycogènes s'accumulent dans leur cytoplasme dans la période entre la 1-ère et la 3-ème semaine de la croissance de la culture. Les observations histochimiques peuvent expliquer la disparition de glycogène.

Le passage de la culture dans les conditions d'anoxie sur la voie de glucolyse anaerobique énergétiquement moins effective aboutit à une mobilisation de tous les matériels de réserve, y compris le glycogène s'accumulant en cytoplasme de neurone qui traduit une réaction axonale (Kraśnicka 1969, Szumańska, Rap 1971). L'abolition de glycogène est accompagnée d'une activité augmentée des enzymes métabolisant le glycogène, avant tout les phosphorylases qui prennent part au processus catabolique. Il y a lieu d'attirer attention sur le fait que les enzymes cytoplasmiques métabolisant le glycogène ont été les seuls qui aient manifesté une activité augmentée au cours de l'anoxie. C'est probablement dû à la mobilisation de toutes les carbohydrates de réserve sous l'influence de l'afflux limité de l'oxygène et à la résistance de ces enzymes à l'anoxie dont avait parlé Mossakowski et coll. (1968) et Long et coll. (1969). Ces chercheurs ont souligné l'activité accrue de la phosphorylase et de la transphérase glycogénique en cellule gliale et en neurone sous l'influence de l'anoxie.

Une chute fort sensible de l'activité de deshydrogenase glucose-6-phosphate, lactique et succinique prouve un grand affaiblissement des processus métaboliques de glucose sur toutes les étapes de son métabolisme, excepté le cycle Leloir-Cardini. Un affaiblissement fort et précoce de l'activité de deshydrogenase succinique est l'indice d'une lésion considérable de mitochondries.

CONCLUSIONS

1) Les neurones sensitifs cultivés in vitro dans les conditions d'anoxie manifestent des changements morphologiques et histoenzymatiques. La démyélinisation intervient après les changements qui s'étaient effectués

dans le cytoplasme des neurones mais coincide avec le temps de dégénération de l'axone et des cellules de Schwann.

2) La lésion des neurones dans les cultures jeunes est plus manifeste que dans les cultures plus vieilles pendant la même durée de l'anoxie.

3) Dans les conditions d'anoxie on observe la disparition de glycogène en cytoplasme des neurones.

4) Dans les conditions d'anoxie on observe la chute de l'activité des deshydrogenases et l'augmentation de l'activité des enzymes métabolisants le glycogène.

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

MORFOLOGIA I HISTOCHEMIA NEURONÓW CZUCIOWYCH IN VITRO W NIEDOTLENIENIU

S t r e s z c z e n i e

Przebadano morfologię i aktywność dehydrogenazy glukozo-6-fosforanowej, bursztynianowej i mleczanowej oraz aktywność enzymów metabolizujących glikogen (fosforylazy i syntetazy glikogenowej) w neuronach czuciowych in vitro w warunkach doświadczalnego niedotlenienia.

Badania przeprowadzono na zwojach międzykręgowych pobieranych z 9-dniowych zarodków kurzych i hodowanych in vitro od 1 do 4 tygodni. Hodowle w wieku 1, 2, 3 i 4 tygodnie przetrzymywano w atmosferze czystego azotu od 1 do 24 godzin.

W warunkach doświadczalnego niedotlenienia neurony wykazywały zmiany morfologiczne w postaci tigrólizy, zwyrodnienia wodniczkowego, rozpadu włókien nerwowych i osłonek mielinowych. W żadnym okresie wzrostu hodowli nie stwierdzono gromadzenia glikogenu w neuronach. Zaobserwowano wzrost aktywności enzymów metabolizujących glikogen oraz znaczny spadek aktywności badanych dehydrogenaz.

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

MORFOLOGIA I HISTOCHIMIA SENSORNYCH NEURONÓW W TKANEWOJ KULTURZE W HIPOKSII

Резюме

Исследовали морфологию и активность глюкозо-6-фосфатной, янтарной и лактатной дегидрогеназ, а также активность ферментов метаболизирующих гликоген (фосфорилазы и синтетазы гликогена) в сенсорных нейронах in vitro в условиях экспериментальной гипоксии.

Исследования проводили на межпозвоночных ганглиях, взятых от 9-дневных куриных зародышей и выращиваемых in vitro в течение 1 до 4 недель. Культуры в возрасте 1, 2, 3 и 4 недели содержали в атмосфере чистого азота от 1 до 24 часов.

В условиях экспериментальной гипоксии нейроны обнаруживали морфологические изменения в виде тигролиза, вакуольной дегенерации, распада нервных волокон и миелиновых оболочек. В никаком периоде развития культуры не обнаруживали нагроможждения гликогена в нейронах. Наблюдали рост активности энзимов метаболизирующих гликоген и значительное снижение активности исследованных дегидрогеназ.

BIBLIOGRAPHIE

1. Kraśnicka Z. Morfologia i histochemia neuronów zwojów międzykręgowych w warunkach hodowli tkankowej i w rozwoju zarodkowym. *Neuropat. Pol.* 1969, 7, 395 — 434.
2. Kraśnicka Z., Renkawek K., Liwnicz B.: Obraz morfologiczny tkanki glejowej hodowanej in vitro w zmiennej atmosferze gazowej. *Neuropat. Pol.* 1967a, 5, 115 — 123.
3. Kraśnicka Z., Renkawek K., Mossakowski M.J.: Aktywność enzymów oksydo-redukcyjnych w tkance glejowej hodowanej in vitro w zmiennej atmosferze gazowej. *Neuropat. Pol.* 1967b, 5, 125 — 134.
4. Kraśnicka Z., Renkawek K.: Morfologia i histochemia mikrogleju w hodowli tkankowej prowadzonej w warunkach prawidłowych i patologicznych. *Neuropat. Pol.* 1969, 7, 75 — 90.
5. Long D.M., Mossakowski M.J., Klatzo I.: Early histochemical and ultrastructural changes in central nervous system due to ischemia. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1969.
6. Mossakowski M.J., Long D.M., Myers R.E., Rodrigez de Curet H., Klatzo I.: Early histochemical changes in perinatal asphyxia. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 1968, 27, 500 — 516.
7. Renkawek K.: Aktywność enzymów hydrolitycznych w tkance glejowej hodowanej in vitro w atmosferze o zmiennej zawartości tlenu. *Neuropat. Pol.* 1967, 5, 135 — 148.
8. Szumańska G., Rap Z.: Zachowanie się glikogenu i enzymów metabolizujących glikogen w neuronach ruchowych rdzenia kręgowego w zwyrodnieniu osiowym. *Neuropat. Pol.* 1971, 9, 111 — 128.

Adresse des auteurs: Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, Warszawa, ul. Dworkowa 3.

FIGURES

Fig. 1. La culture d'une semaine. Les petites agglomérations de granules PAS-positives les neurones. Dégénération vacuolaire de neurone. Après 1 heure d'anoxie. PAS, agr. 400X.

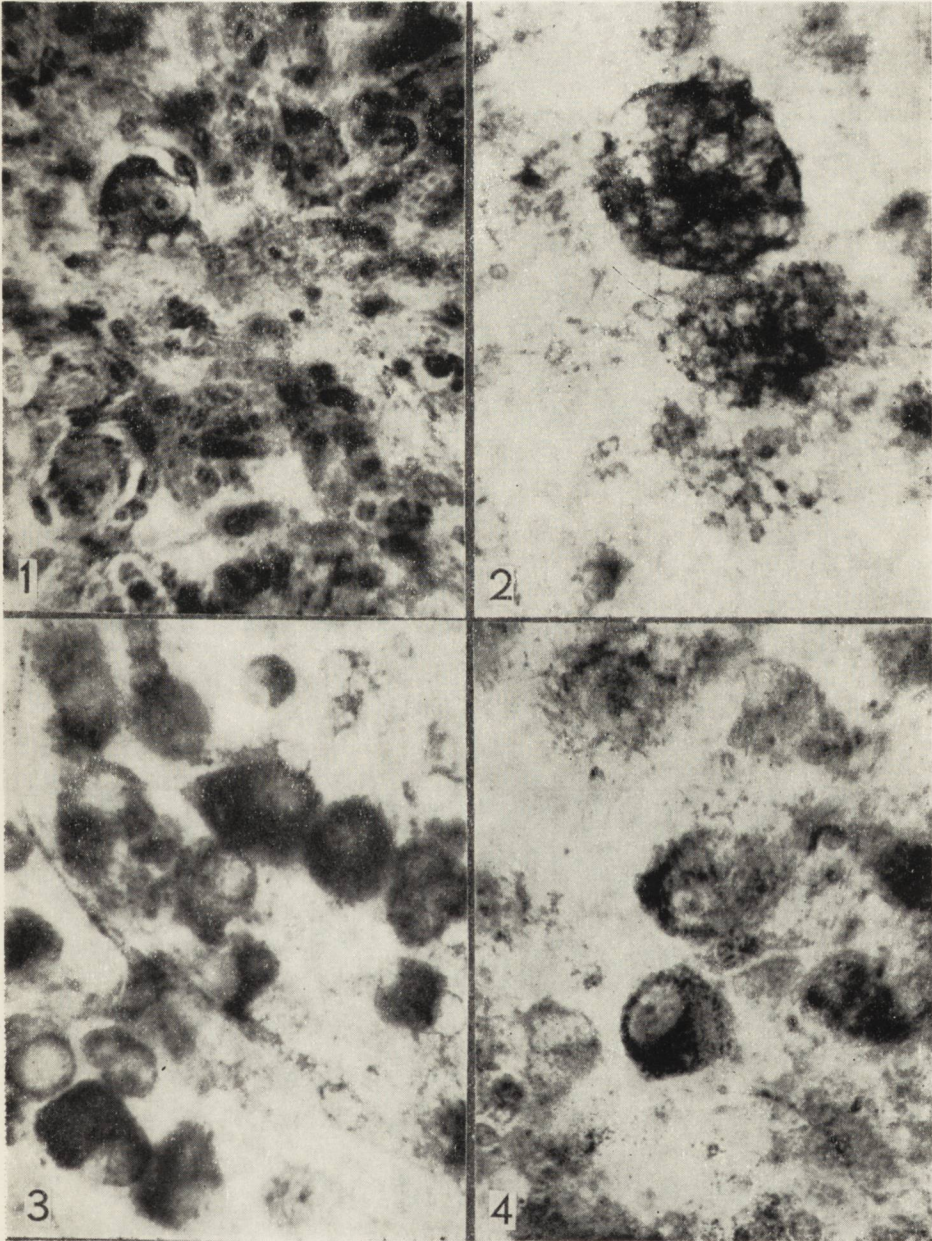
Ryc. 1. Hodowla 1-tygodniowa po 1 godzinie anoksji. Widoczne ziarnistości PAS + oraz wakuole w protoplazmie neuronów. PAS. X 400.

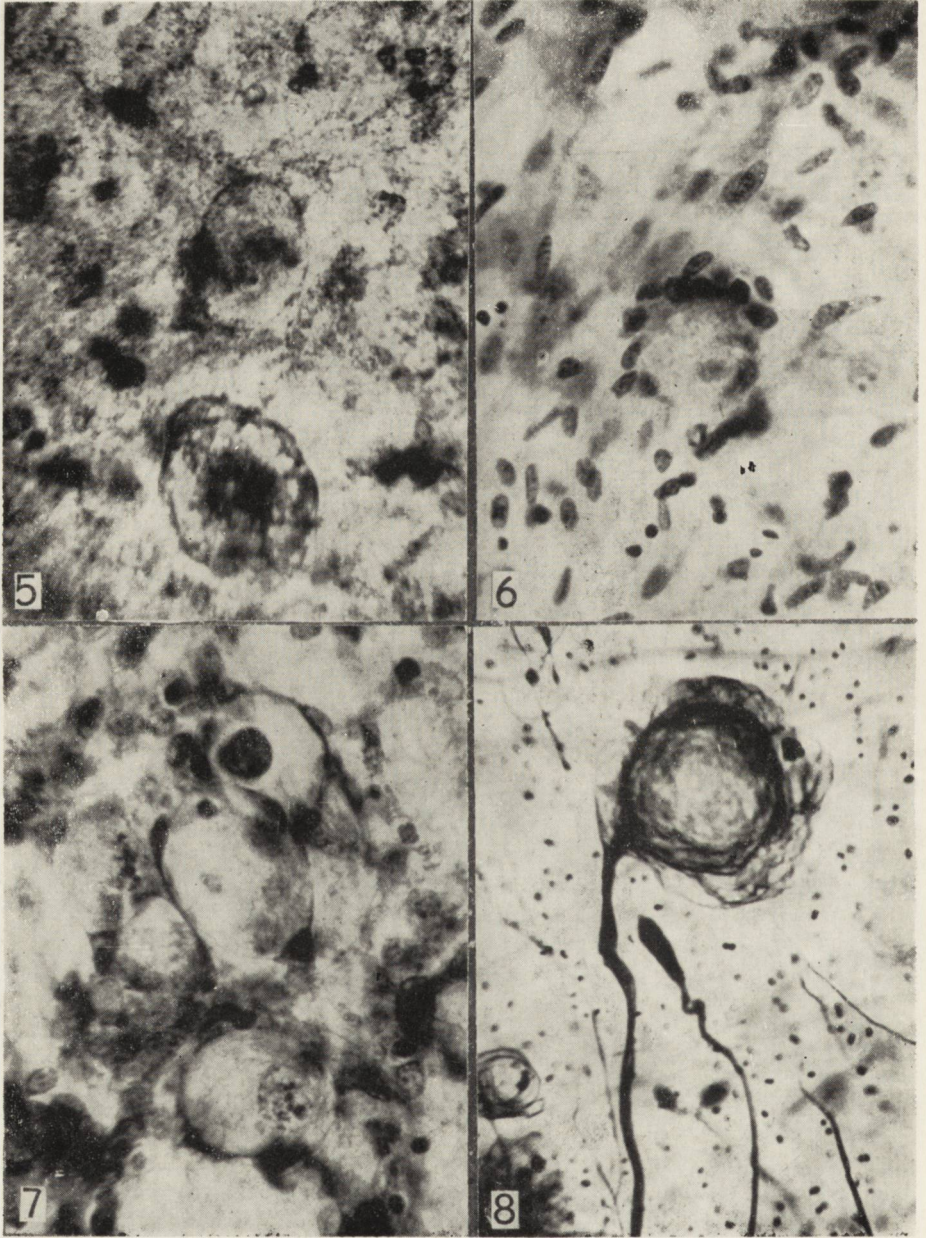
Fig. 2. La culture d'une semaine. L'activité de G-6-P dehydrogenase après 1 heure d'anoxie. Agr. 600 X

Ryc. 2. Hodowla 1-tygodniowa po 1 godzinie anoksji. Aktywność dehydrogenazy glikozo-6-fosforanowej. Pow. 600 X

Fig. 3. La culture de 2 semaines. L'activité de lactique deshydrogenase après d'une heure d'anoxie. Agr. 400 X

Ryc. 3. Hodowla 2-tygodniowa. Aktywność dehydrogenazy mleczanowej po 1 godzinie anoksji. Pow. X 400





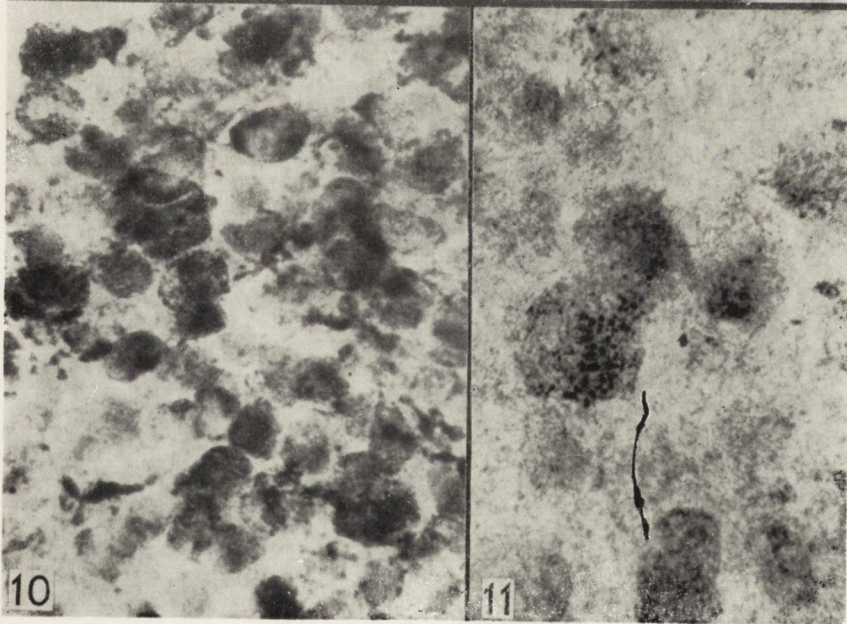
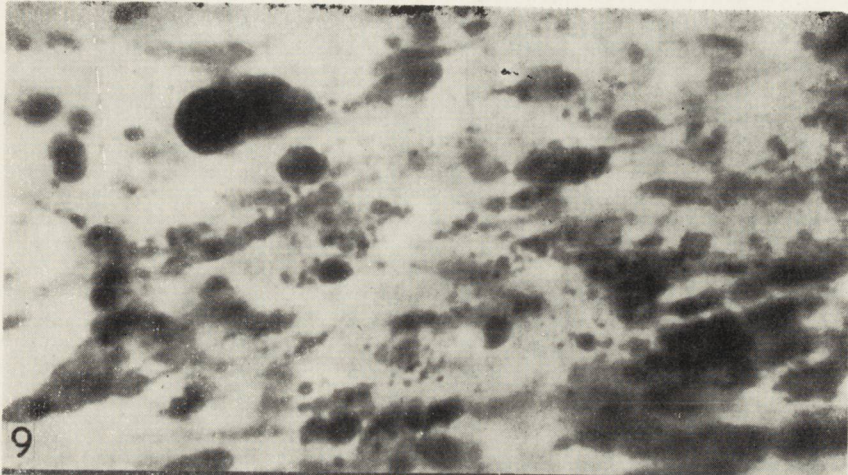


Fig. 4. La culture d'une semaine. L'activité de succinique deshydrogenase après d'une heure d'anoxie. Agr. 400 X

Ryc. 4. Hodowla 1-tygodniowa. Aktywność dehydrogenazy bursztynianowej po 1 godzinie anoksji. Pow. X 400

Fig. 5. La culture de 2 semaines. L'activité de G-6-P deshydrogenase après 3 heures d'anoxie. Agr. 600 X

Ryc. 5. Hodowla 2-tygodniowa. Aktywność dehydrogenazy glikozo-6-fosforanowej po 3 godzinach anoksji. Pow. X 600

Fig. 6. La culture de 4 semaines. Tigrolysis dans les neurones et proliférations de cellules satélitaires après 12 heures d'anoxie. Nissl. Agr. 400 X

Ryc. 6. Hodowla 4-tygodniowa po 12 godzinach anoksji. Wyrażna tigroliza w neuronach oraz proliferacja komórek satelitarnych. Nissl. Pow. X 400

Fig. 7. La culture d'une semaine. Après 12 heures d'anoxie la plupart des neurones sont dépourvus de granules PAS-positives. PAS, agr. 400 X

Ryc. 7. Hodowla 1-tygodniowa po 12 godzinach anoksji. Neurony nie zawierają ziaren PAS+. PAS, pow. X 400

Fig. 8. La culture de 2 semaines. Après 12 heures d'anoxie les neurofibrilles sont déplacées sur la périphérie de la cellule, les axones manifestent des renflements irréguliers. Bodian. Agr. 400 X

Ryc. 8. Hodowla 2-tygodniowa. Po 12 godzinach anoksji wyraźnie przemieszczenie neurofibryli na obwód komórki. Aksony wykazują nieregularne zgrubienia. Bodian. Pow. X 400

Fig. 9. La culture de 3 semaines. Désintégration de la gaine myélinique après 24 heures d'anoxie. Sudan noir B. Agr. 400 X

Ryc. 9. Hodowla 3-tygodniowa. Wyrażny rozpad osłonki mielinowej po 24 godzinach anoksji. Sudan czarny B. Pow. X 400

Fig. 10. La culture d'une semaine. L'activité de phosphorylase après 24 heures d'anoxie. Agr. 200 X

Ryc. 10. Hodowla 1-tygodniowa. Aktywność fosforylazy po 24 godzinach anoksji. Pow. X 200

Fig. 11. La culture d'une semaine. L'activité de transpherase de glycogène après 24 heures d'anoxie. Agr. 400 X

Ryc. 11. Hodowla 1-tygodniowa. Aktywność transferazy glikogenowej po 24 godzinach anoksji. Pow. X 400.

THIRD PANAMERICAN CONGRESS OF NEUROLOGY
OCTOBER 10 to 14, 1971

The Brazilian Academy of Neurology has the privilege to invite the neurologists of all nationalities to attend a Congress for the Development of the Neurological Sciences.

The meeting program has been scheduled with the cooperation of eminent neurologists of the American countries, the specific aim being the study of some current problems of Neurology, including their medico-social aspects.

Scientific Program

Theme 1 — Memory, Amnesia, Dementia

Theme 2 — Developmental neurology and metabolic dysgenesis

Theme 3 — Infectious and immune disorders of the nervous system

Round table conference — Epidemiology of parasitic diseases of the nervous system.

Further information regarding the scientific activities as well as hotel accommodations and their prices in Sao Paulo may be secured by mailing the application card to: TERCEIRO CONGRESSO PAN — AMERICANO de NEUROGLIA, CAIXA POSTAL 5496, Sao Paulo, SP — Brasil.

BARBARA HOPPE

AKTYWNOŚĆ OKSYDAZY CYTOCHROMOWEJ
W TKANCIE GLEJOWEJ HODOWANEJ *IN VITRO* *)

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej
i Klinicznej PAN

Kierownik: doc. dr med. M. J. Mossakowski

W dotychczasowych badaniach aktywności oksydazy cytochromowej w ośrodkowym układzie nerwowym, prowadzonych zarówno na tkance uformowanej jak i w warunkach *in vitro* stosunkowo mało uwagi zwrócono na aktywność tego enzymu w tkance glejowej. Wiązało się to zapewne z podstawowym stwierdzeniem Pope'a i wsp. (1960) uzupełnionym następnie badaniami Tewari i Bourne'a (1962) oraz obserwacjami Friede'a (1961, 1962, 1968), wskazującymi na wysoką aktywność oksydazy cytochromowej w istocie szarej i niską w formacjach białych. Zagadnieniem lokalizacji enzymu i różnic jego aktywności w poszczególnych strukturach ośrodkowego układu nerwowego zajmowali się Friede (1961, 1962) oraz Manocha i Bourne (1966). Allen (1957) i Friede (1962) zwrócili uwagę na fakt, że różne procesy chorobowe toczące się w ośrodkowym układzie nerwowym, a prowadzące do pojawiania się odczynu glejowego, powodują wyraźne zmiany w aktywności oksydazy cytochromowej w różnych typach komórek glejowych. W badaniach prowadzonych na dojrzewającym układzie nerwowym Potter oraz Flexner (cyt. wg Waelscha 1955) spostrzegali wyraźny wzrost aktywności oksydazy cytochromowej w tzw. gleju premielinizacyjnym, podkreślając jego związek z procesem mielinizacji. Szerzej zagadnieniem tym zajmuje się Yonezawa i wsp. (1962) w badaniach na materiale hodowli tkankowej.

Celem niniejszych badań było prześledzenie aktywności oksydazy cytochromowej w tkance glejowej hodowanej *in vitro*, w warunkach standardowych, ocena różnic aktywności w zależności od typu gleju i dynamiki zmian aktywności w zależności od wieku hodowli i stopnia ich zróżnicowania.

*) Praca wykonana w oparciu o pomoc finansową PL 480 US Public Health Service. Agreement 227704.

MATERIAŁ I METODA

Badania przeprowadzono na tkance glejowej mózdzku jednodniowych noworodków szczurzych, hodowanej w warunkach pozaustrojowych. Hodowle prowadzono w sposób standardowy, opisany w pracy Kraśnickiej i Mossakowskiego (1965). Badania prowadzono w grupach hodowli 3 — 7 dniowych, 10 — 14 dniowych, 19 — 23 dniowych i 25 — 30 dniowych.

Ocenę morfologiczną hodowli wykonywano przyżyciowo w mikroskopie fazowo-kontrastowym i w preparatach histologicznych barwionych błękitem toluidyny. Aktywność oksydazy cytochromowej wykazywano przy pomocy metody opisanej przez Burstone (1959, 1960). Nieutralne hodowle przenoszono bezpośrednio ze środowiska hodowlanego do roztworu inkubacyjnego. Hodowle inkubowano przez 60 minut w temperaturze pokojowej. Do kontroli odczynu histochemicznego stosowano 0,005 m roztwór azydki sodu i 0,001 m roztwór cyjanku potasu. W części doświadczeń stosowano podgrzewanie materiału do temperatury 60°C.

WYNIKI

W przebadanym materiale reakcja enzymatyczna była obecna we wszystkich komórkach glejowych w każdym okresie wzrostu hodowli. Końcowe produkty reakcji histoenzymatycznej miały charakter ciemno-brązowych lub czarnych, grubo- i drobnoziarnistych złogów.

W hodowli grupy najwcześniejszej 3—5-dniowej (ryc. 1) stwierdzono wyraźne trzy typy odczynu histochemicznego, przy braku uchwytanego morfologicznego zróżnicowania komórek w preparatach barwionych błękitem toluidyny. W większości komórek występował umiarkowany odczyn histochemiczny; charakteryzował się on obecnością stosunkowo grubych ziaren produktu końcowego reakcji, rozłożonych równomiernie w cytoplazmie i wypustkach komórek glejowych. Bardziej nasilony odczyn histochemiczny występował w komórkach mniejszych z mniej obfitymi i mniej wyraźnymi wypustkami; ziarna produktu końcowego reakcji były drobniejsze, bardziej zbite i grupowały się głównie wokół jądra komórkowego. Aktywność enzymatyczna w wypustkach komórek była znikoma, lub było jej całkowicie brak. Trzeci najsilniejszy typ reakcji występował w drobnych, na ogół bezwypustkowych komórkach, których cytoplazma w całości wypełniona była zbitymi złogami produktów końcowych. Komórki te na podstawie ich obrazu morfologicznego oceniano jako makrofagi.

Począwszy od drugiego tygodnia wzrostu, tj. od okresu zróżnicowania morfologicznego hodowli, aktywność enzymatyczna przedstawiała się odmiennie w różnych postaciach gleju (ryc. 5).

Astrocyty wykazywały w tym okresie umiarkowany odczyn histochemiczny. Ziarna produktu końcowego dość grube były równomiernie rozrzucone w cytoplazmie komórki i jej wypustkach (ryc. 2), przypominając obraz pierwszego typu reakcji z okresu hodowli nieodróżnicowanej. Ten sam charakter odczynu utrzymywał się w astrocytach przez cały okres obserwacji, tj. do 30 dnia wzrostu. Był on identyczny w astrocytach małych i dużych, bogato- i ubogowypustkowych i w makrofagopodobnych komórkach pochodzenia astrocytarnego.

Odmienne kształtował się obraz histoenzymatyczny oligodendrogleju. Na początku drugiego tygodnia aktywność oksydazy cytochromowej zlokalizowana była głównie w cytoplazmie komórkowej, z ledwie zaznaczonym odczynem w nielicznych i krótkich wypustkach. Ziarna produktu reakcji enzymatycznej występowały w formie zbitych skupień i gromadziły się głównie wokół jądra komórki, przypominając obraz reakcji drugiego typu z okresu hodowli nieodróżnicowanej (ryc. 3). Ogólnie odczyn histochemiczny oligodendrogleju w tym okresie był nieco bardziej nasilony, niż w astrocytach. Po drugim tygodniu wzrostu hodowli aktywność oksydazy cytochromowej w oligodendrogleju gwałtownie wzrastała i utrzymywała się na tym samym poziomie do zakończenia obserwacji. Ziarna wyznaczające miejsce aktywności enzymatycznej były bardzo obfite, zbite i wypełniały równomiernie protoplazmę komórki i jej wypustki na całym przebiegu. Obfitość zlogów była niekiedy tak znaczna, że przesłaniały one całkowicie negatywne jądro komórkowe.

Aktywność enzymatyczna w mikrogleju była bardzo wysoka przez cały okres obserwacji. Ziarna produktów reakcji enzymatycznej wypełniały równomiernie cytoplazmę komórkową i wyznaczały przebieg wypustek wyróżniających się charakterystycznym dichotomicznym podziałem (ryc. 4). Intensywność i lokalizacja aktywności enzymatycznej była identyczna we wszystkich formach komórkowych, które przybierał mikroglej w warunkach hodowli.

Występujące w hodowlach neurony, identyfikowane jako komórki Purkiniego, charakteryzowały się wysoką aktywnością enzymatyczną zarówno w części perikarialnej jak i w wypustkach we wszystkich okresach obserwacji.

Aktywność oksydazy cytochromowej w fibroblastach i fibrocytach spotykanych obficie w hodowlach starszych była niska, znacznie niższa niż w elementach neuroektodermalnych.

OMOWIENIE

Przeprowadzone badania wskazują na wyraźne zróżnicowanie aktywności oksydazy cytochromowej w zależności od rodzaju komórek glejowych i wieku hodowli. Zwraca uwagę fakt, że zróżnicowanie aktywno-

ści enzymatycznej występuje już w hodowlach kilkudniowych, podczas gdy w barwieniach przeglądowych (Kraśnicka, Mossakowski 1965) oraz w obrazie mikroskopowo-elektronowym (Kraśnicka, Borowicz 1971) w hodowlach jednodniowych przeważa, lub występuje wyłącznie populacja niezróżnicowanych komórek glejowych. Kraśnicka i Borowicz (1971) na podstawie badań mikroskopowo-elektronowych hodowli jednodniowych podkreślają niemożność jednoznacznego zakwalifikowania młodej populacji glejowej do szeregu astrocytarnego lub oligodendroglejowego, zwracając równocześnie uwagę na różnicowanie się przeważającej większości komórek w kierunku gleju skąpowypustkowego. Przedstawione powyżej obserwacje sugerować mogą, że różnicowanie histochemiczne wyprzedza w czasie różnicowanie morfologiczne gleju w hodowli.

Typ reakcji enzymatycznej charakterystyczny dla większości komórek okresu najwcześniejszego — odpowiada w okresach późniejszych odczynowi występującemu w astrocytach. Podkreślić przy tym należy fakt, że zarówno natężenie aktywności enzymatycznej, jak i jej umiejscowienie w gleju astrocytarnym nie ulega zasadniczym zmianom przez cały okres obserwacji. Aktywność oksydazy cytochromowej w astrocytach w hodowli określona jako umiarkowana jest znacznie wyższa niż w warunkach *in situ*, którą Friede (1962) określa jako niską. Jej natężenie w warunkach hodowli odpowiada aktywności gleju odczynowego (Friede 1962). Pod tym względem aktywność oksydazy cytochromowej nie różni się od aktywności innych mitochondrialnych enzymów oksydacyjno-redukcyjnych w gleju hodowanym *in vitro* (Mossakowski i wsp. 1965).

Drugi typ odczynu histochemicznego, obserwowany w okresie morfologicznie niezróżnicowanej hodowli charakterystycznej dla drobnych, skąpowypustkowych komórek odpowiada aktywności gleju premielinizacyjnego (Friede 1968) i jest identyczny z aktywnością oligodendrogleju we wczesnym okresie zróżnicowanej hodowli. Oligodendrocyty wykazują znacznie wyższą aktywność enzymatyczną niż astroglej. Zjawiskiem charakterystycznym jest przy tym narastanie aktywności oksydazy cytochromowej w oligodendrogleju w tym okresie wzrostu hodowli, na który przypada mielinizacja włókien nerwowych. Zjawisko to obserwowane *in vitro* (Yonezawa i wsp. 1962) i *in vivo* (Abood i wsp. 1952) należy wiązać z aktywacją metaboliczną oligodendrocytów, biorących czynny udział w formowaniu i utrzymywaniu osłonek mielinowych. Na wyższą niż w innych guzach glejowego pochodzenia aktywność oksydazy cytochromowej w skąpodrzewiakach zwrócił uprzednio uwagę Allen (1957).

Aktywność enzymatyczna mikrogleju jest wysoka we wszystkich okresach wzrostu hodowli. Przewyższając znacznie aktywność astrocytów i w mniejszym stopniu oligodendrocytów. Różni się również zbitym, równomiernym rozmieszczeniem zarówno w cytoplazmie, jak i w wypustkach komórkowych.

Oksydaza cytochromowa jest enzymem mitochondrialnym. Stopień jej aktywności i rozmieszczenie jest w pewnej mierze wykładnikiem obfitości i lokalizacji mitochondriów w cytoplazmie i w wypustkach komórki (Friede, Pax 1961). Komórki oligodendrogleju i mikrogleju mają dobrze rozwinięty, bogaty aparat mitochondrialny w przeciwieństwie do ubogo mitochondrialnych astrocytów (Duncan, Hild 1960). Znajduje to pełne potwierdzenie w naszych obserwacjach histochemicznych.

WNIOSKI

1. Aktywność oksydazy cytochromowej występuje we wszystkich typach komórek glejowych, wykazując wyraźną zależność natężenia i rozmieszczenia od rodzaju gleju i wieku hodowli.

2. Charakterystyczny obraz histochemiczny pozwala na różnicowanie komórek glejowych w hodowli, przy czym zróżnicowanie histochemiczne wyprzedza w czasie zróżnicowanie morfologiczne.

3. Zjawiskiem typowym jest znaczny wzrost aktywności enzymatycznej w oligodendrogleju w okresie mielinizacji włókien nerwowych, podczas gdy aktywność astrocytów i mikrogleju wykazuje stosunkowo nieznaczne fluktuacje uwarunkowane fazą rozwojową hodowli.

4. Aktywność oksydazy cytochromowej w gleju hodowanym *in vitro* jest wyższa niż w tkance glejowej w warunkach *in situ*. Jest to zwłaszcza wyraźne w astrocytach, w których aktywność enzymu w hodowli odpowiada jego aktywności w tzw. gleju odczynowym.

Б. Гоппе

АКТИВНОСТЬ ЦИТОХРОМНОЙ ОКСИДАЗЫ ГЛИАЛЬНОЙ ТКАНИ, ВЫРАЩИВАЕМОЙ IN VITRO

Резюме

Исследовалась активность цитохромной оксидазы в глиальной ткани, выращиваемой *in vitro*. Исследования проводились на новорожденных крысах — их мозжечковых культурах, содержащихся в стандартных условиях данной лаборатории. Для исследований брались культуры возраста 3—30 дней.

Наблюдения могут быть подитожены следующим образом:

1. Активность цитохромной оксидазы наблюдалась во всех типах глиальных клеток. Интенсивность и внутриклеточное распределение энзиматической активности зависели от типа глии и возраста культуры.

2. Характерная гистохимическая картина энзиматической активности позволяет на гистохимическую дифференциацию глиальных клеток в тканевой культуре во время, когда морфологическая идентификация глиальных типов была невозможной.

3. Большое увеличение энзиматической активности в олигодендроглии в период миелинизации являлся типичным, в то время как активность в астроцитах и микроглии обнаруживала только незначительные флуктуации по отношению к стадии развития тканевой культуры.

4. Активность цитохромной оксидазы в глиальной ткани, выращиваемой *in vitro* выше, чем в глиальной ткани *in situ* в нормальных условиях. Это было особенно заметным для энзиматической активности астроглии, которая в тканевой культуре соответствовала так называемой реактивной глиии.

B. Hoppe

CYTOCHROME OXIDASE ACTIVITY IN GLIAL TISSUE CULTURED *IN VITRO*

S u m m a r y

The activity of cytochrome oxidase in glial tissue cultured *in vitro* was investigated. The studies were carried out on newborn rat cerebellum cultures, kept in standard conditions for this Laboratory. For investigation cultures, aged of 3 — 30 days were used.

The observations could be summarised as follows:

1. The activity of cytochrome oxidase was observed in all types of glial cells. The intensity and intracellular distribution of enzymic activity depended on the glia type and age of culture.

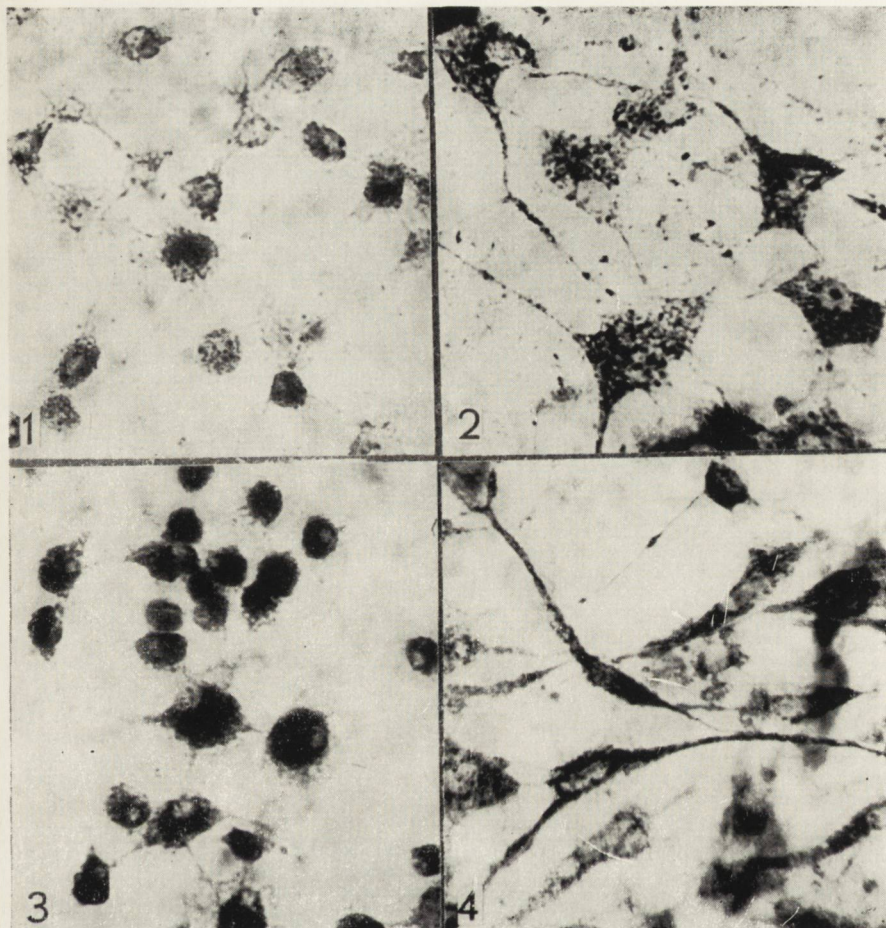
2. The characteristic histochemical picture of enzymic activity permitted histochemical differentiation of glial cells in tissue culture at the time when morphological identification of glial types was impossible.

3. The high increase of enzymic activity in oligodendroglia at the period of myelinisation was a typical while the activity of astrocytes and microglia demonstrates only slight fluctuations in relation with the stage of tissue culture development.

4. The activity of cytochrome oxidase in glial tissue cultured *in vitro* is higher than in glial tissue *in situ* in normal condition, this was especially conspicuous for astroglia, enzymic activity of which in tissue culture corresponded to that of the so-called reactive glia.

PIŚMIENICTWO

1. Abood L.G., Gerard R.W., Banks J., Tschirgi R.D.: Substrate and enzyme distribution in cells and cell fractions of the nervous system. *Am. J. Physiol.* 1952, 168, 728—738.
2. Allen N.: Cytochrome oxidase in human brain tumors. *J. Neurochem.* 1957, 2, 37 — 44.
3. Burstone S.: New histochemical techniques for the demonstration of tissue oxidase (cytochrome oxidase). *J. Histochem. Cytochem.* 1959, 7, 112 — 122.



Ryc. 1. Hodowla 3-dniowa. Oksydaza cytochromowa. Komórki morfologicznie niezróżnicowane z różnymi rodzajami reakcji histoenzymatycznej. Pow. 200 ×

Fig. 1. Three-day culture. Cytochrome oxidase. Morphologically undifferentiated cells with various kinds of histoenzymatic reactions, × 200

Ryc. 2. Hodowla 21-dniowa. Oksydaza cytochromowa. Równomiernie rozłożone ziarna reakcji histoenzymatycznej w protoplazmie i wypustkach astrocytów. Pow. 400 ×

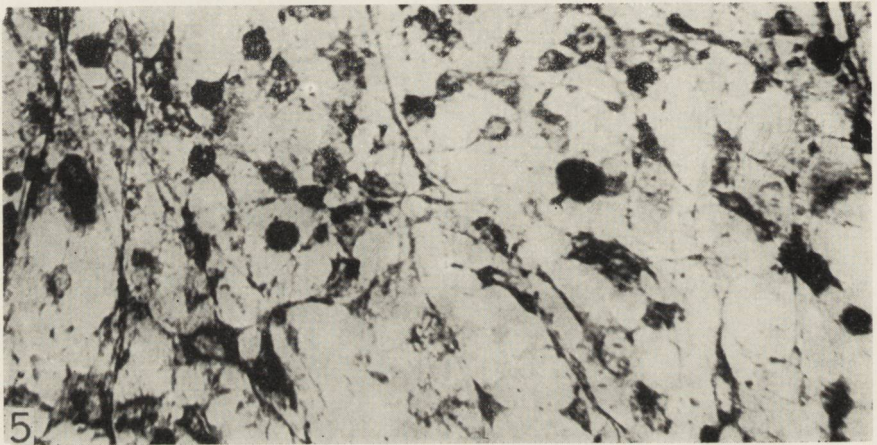
Fig. 2. Twenty-one-day culture. Cytochrome oxidase. Uniform distribution of grains of histoenzymatic reaction in astrocyte protoplasm and processes. × 400

Ryc. 3. Hodowla 10-dniowa. Oksydaza cytochromowa. Typowy dla oligodendrogleju rozkład ziaren wyznaczających miejsca reakcji histoenzymatycznej. Pow. 400 ×

Fig. 3. Ten-day culture. Cytochrome oxidase. Typical distribution of grains indicating sites of histoenzymatic reaction for oligodendroglia. × 400

Ryc. 4. Hodowla 21-dniowa. Oksydaza cytochromowa. Mikroglej z typowym układem aktywności enzymatycznej w cytoplazmie i wypustkach. Pow. 400 ×

Fig. 4. Twenty-one-day culture. Cytochrome oxidase. Microglia with typical pattern of enzymatic activity in cytoplasm and processes. × 400



Ryc. 5. Hodowla 21-dniowa. Oksydaza cytochromowa. Widoczne różnice w natężeniu reakcji histoenzymatycznej w zależności od postaci morfologicznej gleju.
Pow. 200 ×

Fig. 5. Twenty-one-day culture. Cytochrome oxidase. Note differences in intensity of histoenzymatic reaction in dependence on the morphological forms of glia.
× 200.

4. Burstone M. S.: Histochemical demonstration of cytochrome oxidase with new amine reagents. *J. Histochem. Cytochem.* 1960, 8, 62—70.
5. Duncan D., Hild W.: Mitochondrial alterations in cultures of the central nervous system as observed with electron microscope. *Z. Zellforsch.* 1960, 5, 123 — 135.
6. Friede R.L., Pax R.A.: Mitochondria and mitochondrial enzymes a comparative study of localization in the cats brain stem. *Histochemie* 1961, 2, 186 — 191.
7. Friede R.L.: The cytochemistry of normal and reactive astrocytes. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1962, 21, 471 — 478.
8. Friede R. L.: Die Funktion der Glia im Lichte neuerer histochemischer Befunde. *Acta Neuropath. Suppl.* 1968, IV, 53 — 54.
9. Kraśnicka Z., Mossakowski M.J.: Zagadnienie zmienności morfologicznej tkanki glejowej hodowanej in vitro. *Neuropat. Pol.* 1965, III, 397 — 408.
10. Kraśnicka Z., Borowicz J.: Ultrastruktura komórki glejowej w hodowli tkankowej in vitro. *Neuropat. Pol.* (w druku).
11. Manocha S.L., Bourne L.H.: Histochemical mapping of succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase in the spinal cord, medulla oblongata and cerebellum of monkey. *Exp. Brain Res.* 1966, 2, 216 — 229.
12. Mossakowski M.J., Kraśnicka Z., Renkawek K.: Aktywność enzymów oksydacyjnych w tkance glejowej hodowanej in vitro. I. Dehydrogenazy związane z koenzymem I i dehydrogenaza bursztynowa. *Neuropat. Pol.* 1965, 4, 245 — 258.
13. Pope H.M., Hess H.L., Were J.R., Thomson R.H.: Intralaminar distribution of cytochrome oxidase and DPN in rat cerebral cortex. *J. Neurophysiol.* 1956, 19, 259 — 270.
14. Tewari H.D., Bourne G.H.: Histochemical studies on the distribution of oxidative enzymes in the cerebellum of the rat. *J. Histochem. Cytochem.* 1962, 10, 619 — 627.
15. Waelsch H.: *Biochemistry of the developing nervous system.* Acad. Press New York 1955.
16. Yonezawa T., Borstein M.B., Peterson E.R., Murray M.R.: A histochemical study of oxidative enzymes in myelinating cultures of central and peripheral nervous tissue. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1962, 21, 479 — 487.

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

PROTOKÓŁ Z POSIEDZENIA KOMISJI NAGRÓD
ZARZĄDU GŁÓWNEGO STOWARZYSZENIA NEUROPATOLOGÓW POLSKICH
Z DNIA 1.XII.1970 R.

W dniu 1 grudnia 1970 r. odbyło się posiedzenie Komisji Nagród SNP za rok akademicki 1969/1970. W posiedzeniu udział wzięli:

prof. dr med. Mieczysław Wender — przewodniczący

doc. dr med. Hanna Jędrzejowska — członek

doc. dr med. Maria Dąbska — członek

oraz z ramienia Zarządu Głównego SNP:

doc. dr med. Mirosław Mossakowski — redaktor naczelny Neuropatologii Polskiej

doc. dr med. Jerzy Dymecki — sekretarz Zarządu Głównego SNP.

Komisja postanowiła przyznać następujące nagrody:

I. Za najlepszą publikację neuropatologiczną w r. 1969/1970 kol. Januszowi Alwasiakowi (Pracownia Neuropatologii Zakładu Anatomii Patologicznej, Łódź) za pracę pt.: „Zmiany mikroskopowe w pooperacyjnych wznowach i pozostałościach glejaków nadnamiotowych mózgu” — w wysokości 3.000 zł.

II. Za najlepsze doniesienie przedstawione na posiedzeniach naukowych SNP w r. 1969/1970 kol. Krystynie Renkawek (Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN) za doniesienie pt.: „Morfologiczne i ultrastrukturalne zmiany komórek glejowych po podaniu ouabainy in vitro”, ogłoszone w dniu 31.I.1970 r. — w wysokości 2.000 zł,

III. Za najlepszą dokumentację doniesienia przedstawionego na posiedzeniach naukowych SNP kol. Marii Strugalskiej (Klinika Neurologiczna AM, Warszawa) za dokumentację do pracy pt.: „Badania histochemiczne mięśni w chorobach ruchowego neuronu obwodowego”, przedstawionej w dniu 30.V.1970 r. — w wysokości 1.000 zł.

GRAŻYNA SZUMAŃSKA, ZBIGNIEW M. RAP

ROZMIESZCZENIE GLIKOGENU
I AKTYWNOŚCI NIEKTÓRYCH ENZYMOW W MOTONEURONACH
RDZENIA KRĘGOWEGO W ZWYRODNIENIU OSIOWYM *)

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

Reakcja komórki nerwowej na uszkodzenie jej wypustki osiowej, zwana zwyrodnieniem osiowym Nissla charakteryzuje się typowym obrazem morfologicznym, stanowiącym odzwierciedlenie zaburzeń prawidłowego metabolizmu i ultrastruktury komórki (Moussa 1956, Cervos-Navarro 1962, Estable 1957, Schlote 1961, Grant 1965, Lampert, Cressman 1967, Friede 1959, 1966, Edstrom 1956, 1959). Wielu autorów opisywało zmiany w aktywności enzymatycznej komórek nerwowych po uszkodzeniu aksonu i w czasie jego regeneracji (Barron, Sklar 1961, Reissenweber, Cardoso 1967, Barron, Tuncbay 1962, 1964, Goldfischer 1964, Nandy i Bourne 1964, Nandy 1968, Howe, Flexner 1947, Jonek i wsp. 1967, Sjöstrand 1965, 1966). Badania te dotyczyły przede wszystkim aktywności enzymów hydrolitycznych i oksydacyjno-redukcyjnych, a ich celem była ocena stanu czynnościowego określonych struktur subkomórkowych neuronu, takich jak mitochondria, aparat siateczkowy Golgiego, siatka śródplazmatyczna lub lizosomy w okresie zwyrodnienia i regeneracji towarzyszących reakcji aksonalnej lub określenie stopnia uszkodzenia pewnych torów metabolizmu śródkomórkowego.

Kraśnicka (1969, 1970) w badaniach nad morfologią komórek zwojowych zarodków kurzych przetrzymywanych w warunkach pozaustrojowej hodowli zwróciła uwagę na gromadzenie się w ich cytoplazmie złogów glikogenu, któremu towarzyszy wzrost aktywności enzymów metabolizujących glikogen. Zjawisko to wykazywało charakterystyczny i powtarzalny rytm czasowy, pozwalający autorce na wysunięcie przypuszczenia, że gromadzenie się glikogenu, stanowiące wyraz zaburzeń metabolizmu węglowodanowego komórki nerwowej, związane jest z proce-

*) Praca wykonana w oparciu o pomoc finansową PL 480 US Public Health Service. Agreement 227704.

sem zwyrodnienia osiowego, które w warunkach hodowli *in vitro* jest następstwem uszkodzenia wypustek nerwowych w czasie pobierania materiału do hodowli.

Celem podjętych przez nas badań było ustalenie czy zjawisko to występuje również w warunkach doświadczenia *in vivo*, jaka jest jego dynamika i stosunek do zaburzeń histoenzymatycznych zachodzących w komórce nerwowej.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 52 dojrzałych królikach, obojga płci, wagi od 2,5 do 3,5 kg, którym w znieczuleniu ogólnym (Nembutal 40 mg/kg wagi ciała) przecinano prawy nerw kulszowy, tuż powyżej rozgałęzienia na nerw piszczelowy i strzałkowy wspólny.

Zwierzęta uśmiercano przez ostre skrwawienie w grupach po upływie 6, 12, 24, i 48 godzin, 3, 4, 6, 7, 9 dni, 2, 3, 4 tygodni oraz 2, 3 i 6 miesięcy od zabiegu. Do badań pobierano bloki z lędźwiowych i krzyżowych odcinków rdzenia kręgowego. Każdy z pobranych odcinków dzielono na trzy części. Jedną przeznaczoną do badań histologicznych i oznaczania obecności glikogenu utrwalono w oziębionym płynie Rossmana, a następnie zatapiano w parafinie. Bloki parafinowe skrawano w serii nieciągłej co 100 μ . Drugą przeznaczoną do badań histoenzymatycznych zamrażano w ciekłym azocie, a następnie skrawano w kriostacie w temperaturze -15°C na skrawki grubości 14 μ . Część trzecią, z zasady najmniejszą, przeznaczoną do oznaczania aktywności TPP-azy na skrawkach wolno pływających utrwalano w 4% formolu i skrawano na mikrotomie zamrożeniowym na skrawki grubości 10 μ . U kilku królików, przeznaczonych wyłącznie do badań glikogenu, wykonano przyżyciową perfuzję płynem Rossmana, poprzez tętnicę biodrową wspólną po uprzednim podwiązaniu tętnicy głównej brzusznej poniżej odejścia tętnic nerkowych.

Badanie histologiczne obejmowało barwienie hematoksyliną i eozyną oraz fioletem krezylowym.

Histochemicznie określano obecność złogów glikogenu przy pomocy reakcji PAS z odczynami kontrolnymi — trawieniem 1% roztworem diastazy z dodatkiem chlorku sodu (Pearse 1960) oraz blokowaniem grup aldehydowych dimedonem (Bulmer 1959). Wykonano ponadto odczyny histochemiczne, określające aktywność następujących enzymów:

1. Fosforylazy *a*, *a + b* i całkowitej wg Takeuchi i Kuriaki (1955) w modyfikacji Godlewskiego (1963);
2. Glikozo-6-fosfatazy wg Vorbrota (1963);

3. Fosfatazy kwaśnej wg Barki (1965) w modyfikacji Burstona z użyciem naftolu AS — TR jako substratu;
4. Fosfatazy pyrotiaminowej wg Novikoffa i Goldfischera (1961) w modyfikacji Głuszcza (1966) z użyciem kokarboksylazy „Polfa”, jako substratu (skrawki wolno-pływające oraz kriostatowe);
5. Dehydrogenazy glikozo-6-fosforanowej wg Hessa i wsp. (1958);
6. Dehydrogenazy bursztynianowej wg Novikoffa (1963);
7. Dehydrogenazy mleczanowej wg Hessa i wsp. (1958).

Kontrolę obrazu doświadczalnego stanowiła strona rdzenia kręgowego przeciwległa do przecięcia nerwu kulszowego oraz odcinki lędźwiowe i krzyżowe rdzenia kręgowego sześciu zwierząt zdrowych.

WYNIKI

Obraz morfologiczny

Komórki nerwowe rogów przednich, których wypustki osiowe wchodziły w skład nerwu kulszowego są nieregularnie rozrzucone w odcinku krzyżowym i w 4 dolnych segmentach lędźwiowych rdzenia kręgowego. W większości umiejscowione są w części bocznej i centralnej rogu przedniego, wchodząc w skład następujących ugrupowań jądrowych: *n. antero-lateralis*, *n. medio-lateralis*, *n. postero-lateralis*, *n. intermedio-medialis* i *n. intermedio-lateralis*. W warunkach prawidłowych charakteryzuje je prawidłowa struktura komórki ruchowej z centralnie położonym dużym pęcherzykowatym jądrem i obfitą protoplazmą, w której równomiernie rozrzucone są grube ziarnistości Nissla. Ziarna tigroidu widoczne są również na stosunkowo znacznym odcinku wypustek protoplazmatycznych (ryc. 1).

Najwcześniejsze zmiany histologiczne w rdzeniu kręgowym zwierząt doświadczalnych obserwowano na przełomie 3 i 4 dnia po zabiegu. Polegały one na powiększeniu się i zaokrągleniu niektórych komórek ruchowych w omówionych powyżej okolicach rogów przednich. Równocześnie obserwowano rozpad tigroidu w centralnej części komórki. W okresie od 6 do 14 dnia po przecięciu nerwu kulszowego zmiany chromatolityczne przybierały na natężeniu. Stosunkowo liczne motoneurony bocznych ugrupowań komórkowych rogów przednich charakteryzowały się zaokrągleniem kształtów komórki, obwodowym przemieszczeniem jądra, zanikiem lub rozproszeniem ziarnistości Nissla w centralnej części komórki i ich zagęszczeniem pod błoną komórkową i w wypustkach protoplazmatycznych (ryc. 2). Największe nasilenie zmian chromatolitycznych przypadało na okres drugiego tygodnia od zabiegu. Od 14

dnia nasilenie zmian chromatolitycznych malało. W kolejnych grupach liczba komórek chromatolitycznych malała tak, że po upływie dwóch miesięcy praktycznie wszystkie zachowane komórki miały wygląd prawidłowo ukształtowanych motoneuronów. W tym samym czasie, poczynając od 14 dnia od zabiegu część uszkodzonych komórek ulegała rozpadowi i zanikowi. W ich miejsce powstawały charakterystyczne grudki glejowe.

Obraz histochemiczny

Glikogen. W warunkach prawidłowych stosunkowo znaczne ziarniste złogi glikogenu obserwowano jedynie w otoczeniu kanału środkowego rdzenia (ryc. 3) w gleju podooponowym i w oponach miękkich. Nie występowały one natomiast z zasady w komórkach nerwowych ani w neuropilu zarówno rogów przednich jak i tylnych. Sporadycznie tylko w pojedynczych motoneuronach rogów przednich spostrzegano nieliczne ziarna glikogenowe.

Najwcześniejsze zmiany występowały u zwierząt w grupie 6-godzinnej. Polegały one na pojawianiu się drobnych, ziarnistych złogów glikogenowych dookoła naczyń krwionośnych (ryc. 4), w nielicznych komórkach ruchowych z bocznych ugrupowań jądrowych rogów przednich, po stronie przecięcia nerwu kulszowego. W kolejnych grupach czasowych, obejmujących 12, 24 i 48 godzinne okresy przeżycia ilość złogów glikogenowych w rogach przednich, przede wszystkim przynacyniowych wyraźnie spadała w porównaniu z grupą 6-godzinną.

W grupie zwierząt 3 i 4-dniowych obserwowano ponownie ziarniste obfite złogi glikogenu w neuropilu rogów tylnych (ryc. 5) i przednich rdzenia po stronie przecięcia nerwu kulszowego, przy znacznie mniej niż poprzednio wyrażonej tendencji do skupień okołonacyniowych. Równocześnie w neuronach wykazujących wczesne cechy chromatolizy pojawiały się stosunkowo obfite ziarniste i dyfuzyjne złogi glikogenowe, umiejscowione zarówno w częściach cytoplazmy, pozbawionych tigroidu, jak i wymieszane z ziarnistościami Nissla (ryc. 6).

W miarę narastania chromatolizy, do 9 dnia po zabiegu, zwiększała się zawartość złogów glikogenu w neuronach i w otaczającym je neuropilu w rogach przednich. Drobnaziarniste złogi glikogenu występowały zarówno w cytoplazmie neuronów, wykazując wyraźną tendencję do gromadzenia się na ich obwodzie (ryc. 7), jak i w dendrytach. Nie obserwowano ich nigdy w aksonach. Poczynając od 9 dnia po przecięciu nerwu kulszowego — zawartość glikogenu zarówno w neuropilu, jak i w neuronach stopniowo zmniejszała się pomimo pogłębiania się zmian chromatolitycznych. Po upływie miesiąca nie obserwowano w ogóle nawet śladowych złogów wielocukru. Należy przy tym podkreślić, że złogi

glikogenu występowały jedynie w chromatolitycznie zmienionych komórkach. Nie obserwowano ich natomiast w rozpadających się lub rozplywających się neuronach.

Fosforylaza a i $a+b$. W warunkach prawidłowych fosforylaza a wykazywała niską aktywność w neuropilu rogów przednich i tylnych rdzenia kręgowego. W komórkach ruchowych reakcja enzymatyczna była śladowa lub brak jej było zupełnie. Żywszą aktywność enzymatyczną stwierdzano jedynie w śródrzeniowych włóknach korzonków przednich. Aktywność fosforylazy $a+b$ wykazywała podobne rozmieszczenie, była jednak nieco silniejsza i częściej wykrywalna w nieuszkodzonych neuronach.

We wczesnych okresach po przecięciu nerwu kulszowego nie stwierdzano uchwytnych zmian w aktywności enzymów. U zwierząt z 3—4-dniowym okresem przeżycia równoległe z powtórным pojawieniem się złogów glikogenowych w motoneuronach nerwu kulszowego, wzrastała w ich cytoplazmie aktywność fosforylaz $a+b$ (ryc. 8). Odczyn enzymatyczny był znacznie silniejszy w okresie między 6 i 9 dniem po zabiegu. Przyrost ten dotyczył przede wszystkim łącznej aktywności fosforylaz $a+b$, jakkolwiek wyraźne było również w tym czasie wzmoczenie aktywności fosforylazy a , przede wszystkim w neuropilu rogów tylnych. Od tego okresu obserwowano się stopniowy spadek aktywności enzymów, która powracała do normy między 2 — 3 tygodniem od zabiegu.

Glukozo-6-fosfataza (G-6-P-aza). Aktywność tego enzymu u zwierząt z nieuszkodzonym rdzeniem kręgowym występowała jedynie w okolicy kanału centralnego. Nieco silniejszy odczyn obserwowano w istocie białej rdzenia. Nie stwierdzano go zupełnie w istocie szarej rogów przednich i tylnych.

Krótkotrwałe zmiany w aktywności tego enzymu, uchwytnie dostępną metodą histochemiczną obserwowano w okresie między 7 i 9 dniem od zabiegu. Polegały one na pojawieniu się wybitnej aktywności enzymatycznej w neuropilu rogów przednich po stronie uszkodzenia. U zwierząt z 14-dniowym przeżyciem obraz aktywności G-6-P-azy nie różnił się od zwierząt kontrolnych.

Fosfataza kwaśna. U zwierząt zdrowych aktywność fosfatazy kwaśnej występowała zarówno w komórkach nerwowych, jak i glejowych. Produkty reakcji enzymatycznej miały postać drobnych czerwonych ziarnistości, zbijających się niekiedy w grubsze grudki (ryc. 9). Duże neurony rogów przednich wykazywały z zasady odczyn silniejszy niż drobne komórki nerwowe, podczas gdy w rogach tylnych reakcja enzymatyczna była równomiernie nasiloną w całej populacji neuronalnej.

Najwcześniejsze zmiany aktywności fosfatazy kwaśnej w motoneuronach uszkodzonego nerwu kulszowego obserwowano u zwierząt z 6-dniowym okresem przeżycia. Polegały one na wzmożeniu aktywności enzymatycznej i pojawianiu się grubych, znacznie większych niż w warunkach prawidłowych ziaren produktu końcowego odczynu (ryc. 10). W kolejnych grupach czasowych obserwowano nasilenie się odczynu enzymatycznego, którego największe natężenie przypadało w okresie między 14 a 20 dniem od zabiegu. Od 3 tygodnia po zabiegu stwierdzało się stopniowy spadek aktywności enzymu.

Pyrofosfataza tiaminowa (TPP-aza). W warunkach prawidłowych żywa aktywność TPP-azy występowała w cytoplazmie komórek nerwowych rogów przednich (ryc. 11) i tylnych oraz w błonach komórkowych i w wypustkach komórek glejowych. Podobną aktywność enzymatyczną stwierdzano również w ścianach naczyń krwionośnych.

Po 6 dniach przeżycia zwierząt doświadczalnych, w motoneuronach uszkodzonego nerwu kulszowego stwierdzano znaczne rozrzedzenie siateczki wyznaczającej aktywność TPP-azy w centralnej części komórki z równoczesnym jej zagęszczeniem pod błoną komórkową. W 9 dniu po zabiegu aktywność TPP-azy obecna była już tylko na obwodzie neuronów ruchowych (ryc. 12). Podczas gdy aktywność enzymatyczna gleju nie wykazywała różnic w porównaniu ze stroną kontrolną.

Spadek aktywności enzymatycznej TPP-azy i jej przemieszczenie ku obwodowi uszkodzonych komórek nerwowych utrzymuje się aż do 6 tygodnia po przecięciu nerwu kulszowego; od tego czasu zaznacza się stopniowy powrót obrazu histochemicznego do normy. Obraz odpowiadający charakterowi odczynu enzymatycznego u zwierząt kontrolnych, występował u zwierząt doświadczalnych z 2 miesięcznym okresem przeżycia.

Dehydrogenazy bursztynianowa (SDH), mleczanowa (LDH) i glukozy-6-fosforanowa (G-6PDH). Aktywność dehydrogenazy bursztynianowej, mleczanowej i glukozy-6-fosforanowej umiejscowiona była zarówno w cytoplazmie dużych neuronów rogów przednich, jak i w neuropilu. Produkty formazanowe reakcji enzymatycznej w cytoplazmie neuronów ruchowych miały na ogół charakter gruboziarnisty podczas gdy w neuropilu przeważał odczyn drobnoziarnisty lub dyfuzyjny. Aktywność SDH w warunkach prawidłowych była silna w cytoplazmie komórek nerwowych i w neuropilu, z tym jednak, że odczyn komórkowy był silniejszy. Aktywność LDH była słabsza niż SDH. Najmniejszą aktywność wykazywała dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa, bardzo słaba przede wszystkim w neuropilu. Najwcześniejsze zmiany histochemiczne w aktywności dehydrogenaz pojawiały się u zwierząt z 48-godzinnym okresem przeżycia po zabiegu.

Polegały one na delikatnym obniżeniu aktywności SDH i LDH w motoneuronach przeciętego nerwu kulszowego i w otaczającym je neuropilu rogów przednich oraz równoczesnym wzroście aktywności G-6-PDH w tych samych okolicach.

W okresie między 6 a 9 dniem przeżycia zmiany te nasilały się (ryc. 13, 14, 15), utrzymując się następnie na niezmienionym poziomie aż do drugiego miesiąca po przecięciu nerwu kulszowego. W tym czasie obraz histochemiczny zaczynał stopniowo powracać do normy.

OMÓWIENIE

Zmiany komórkowe o charakterze obrzmienia neuronu, rozproszenia a następnie zaniku tigroidu w centralnej części komórki nerwowej i jego zagęszczenie pod błoną komórkową oraz odśrodkowe przemieszczenie jądra obserwowano w naszym materiale u wszystkich zwierząt doświadczalnych, poczynając od 6 dnia po przecięciu nerwu kulszowego. Znacznie dyskretniejsze zmiany tego typu w pojedynczych neuronach były już zaznaczone u zwierząt z 3-dniowym okresem przeżycia. Cytologiczny charakter zmian, ich jednostronne umiejscowienie po stronie zabiegu w bocznych ugrupowaniach jąder rogów przednich i ograniczenie do odpowiednich segmentów lędźwiowego i krzyżowego odcinka rdzenia kręgowego, pozwalają na ich przyczynowe powiązanie z doświadczalnym uszkodzeniem nerwu kulszowego. W obrazie morfologicznym uszkodzeń zwracają uwagę dwa elementy. Jednym z nich jest stosunkowo znaczne rozproszenie patologicznie zmienionych komórek. W żadnym bowiem przypadku uszkodzenie komórek ruchowych nie obejmowało całej populacji neuronalnej określonego ugrupowania jądrowego. Zmienione było zazwyczaj po kilka komórek ruchowych na jednym poziomie rdzenia kręgowego, zawsze jednak zlokalizowanych w jądrach bocznych i pośredkowych rogu przedniego. Typ rozkładu zmian odpowiadał więc w pełni rozmieszczeniu motoneuronów nerwu kulszowego.

Zmiany patologiczne neuronów mimo znacznego nawet zaawansowania, zwłaszcza w okresie między 9 a 14 dniem doświadczenia, nie wykazywały pełnego charakterystycznego obrazu zwyrodnienia osiowego, znanego z patologii ludzkiej. Wiąże się to zapewne w znacznej mierze z gatunkowymi cechami królika. Nie bez znaczenia wydaje się również podkreślana przez Samorajskiego i Fitza (1961) zależność natężenia zmian chromatolitycznych motoneuronów od poziomu uszkodzenia nerwu obwodowego. Proksymalne uszkodzenie nerwu, a zwłaszcza zniszczenie włókien nerwowych na poziomie korzonka ruchowego prowadzi do typowego obrazu „Primäre Reizung”. Jego bardziej obwodowe uszkodzenie wywołuje wprawdzie zmiany chromatolityczne, nie rozwijające się

jednak do stadium klasycznego zwyrodnienia osiowego. W doświadczeniach naszych uszkodzono pień nerwu kulszowego na wysokości guza kulszowego, a więc znacznie poniżej poziomu uznanego przez wyżej wymienionych autorów za poziom krytyczny. Z drugiej natomiast strony Bueker i wsp. (cyt. za Samorajskim i Fitzem 1961) w badaniach nad zwyrodnieniem osiowym, prowadzonych na szerokim i różnorodnym materiale doświadczalnym zwrócili uwagę na stosunkowo mało nasilone zmiany chromatolityczne w rdzeniu kręgowym królików. Podobne spostrzeżenia poczynili również Bodian i Mellers (1954), którzy podkreślali ponadto niestałość występowania reakcji aksonalnej u królików. Na 52 króliki doświadczalne, u 9 centralna chromatoliza nie występowała w ogóle, a u pozostałych obecna była tylko w pojedynczych neuronach, rzadko zresztą przybierając postać typowego zwyrodnienia osiowego. Na podstawie własnych obserwacji wydaje się, że opisane przez wyżej wymienionych autorów trudności wynikają w znacznej mierze z rozproszenia motoneuronów nerwu kulszowego w szerokim polu ugrupowań jądrowych rogu przedniego. Uniknięcie tych trudności jest możliwe jedynie przy badaniu rdzenia na preparatach seryjnych.

Opisanym zmianom histologicznym towarzyszyły wyraźne zaburzenia w aktywności wszystkich badanych enzymów oraz gromadzenie się glikogenu. Zmiany te dotyczyły zarówno uszkodzonych neuronów ruchowych, jak i otaczającego je neuropilu, co wskazuje na udział w reakcji aksonalnej oprócz motoneuronów i innych elementów strukturalnych ośrodkowego układu nerwowego przede wszystkim neurogleju, na co zwracali m. in. uwagę Sjöstrand (1965 i 1966) i Hamberger i Sjöstrand (1966) w serii prac poświęconych zwyrodnieniu osiowemu.

Wydaje się, że w naszych doświadczeniach udało się potwierdzić hipotezę Kraśnickiej (1969, 1970) dotyczącą gromadzenia się glikogenu w neuronach wykazujących cechy zwyrodnienia osiowego. U wszystkich zwierząt doświadczalnych stwierdzaliśmy bowiem złogi glikogenowe w uszkodzonych motoneuronach, a ponadto w neuropilu bocznych ugrupowań jądrowych rogów przednich i w polu jądra własnego rogu tylnego. Najwcześniej złogi glikogenowe, umiejscowione niemal wyłącznie w neuropilu były obecne już w 6 godzinie po zabiegu, po czym ich ilość malała, by zwiększyć się znowu w grupie zwierząt z 3 i 4-dniowym przeżyciem. W tym okresie były to skupienia wielocukru umiejscowione zarówno w neuropilu jak i komórkach nerwowych. Najbardziej nasilone odkładanie się złogów glikogenu przypadało na okres w pełni rozwiniętej chromatolizy, utrzymując się przez cały czas istnienia morfologicznych wykładników zwyrodnienia osiowego. Stwierdziliśmy tu jednak dość wyraźną dysocjację między nasileniem zmian chromatolitycz-

nych a stopniem nagromadzenia złogów glikogenowych. Tigroliza postępowała bowiem do 14 dnia po zabiegu, podczas gdy maksymalne nagromadzenie glikogenu obecne było w okresie między 7 a 9 dniem doświadczenia, zmniejszając się stopniowo, aż do pełnego miesiąca po uszkodzeniu, kiedy to nie stwierdzano już w ogóle ani neuropilowych, ani neuronalnych złogów wielocukru. Odbiega to nieznacznie od spostrzeżeń Kraśnickiej (1970), która podkreślała pełną równoległość w czasie chromatolizy i odkładania glikogenu. Różnice te zapewne mogą być związane z różnym typem doświadczenia, przeprowadzanego z jednej strony na materiale hodowlanym dojrzewającej tkanki nerwowej, z drugiej w warunkach doświadczenia na uformowanym dojrzłym układzie nerwowym. Nie zmienia to jednak, niewątpliwego jak się wydaje związku między obu procesami. Za powiązaniem zjawiska gromadzenia się glikogenu i reakcją tkanki nerwowej na uszkodzenie wypustki osiowej przemawia fakt obecności depozytów wielocukru wyłącznie po stronie uszkodzenia nerwu kulszowego i to tylko w polach odpowiadających położeniu jego motoneuronów. Na związek okładania się glikogenu z procesami zwyrodnienia i odnowy komórki nerwowej po przecięciu wypustki osiowej zwrócili również uwagę Blümke i wsp. (1965), którzy obserwowali obfite złogi glikogenu w dośrodkowym kikucie uszkodzonego włókna osiowego. Wyrażali oni przy tym pogląd, że glikogen gromadził się wyłącznie w metabolicznie nieaktywnych strukturach układu nerwowego. Znikał on w wypustkach osiowych w okresie regeneracji osłonek mielinowych, wyznaczającej powrót aktywności metabolicznej. Przeczą temu pogładowi nasze obserwacje, wykazujące wysoką aktywność szeregu układów enzymatycznych w chromatolitycznej, gromadzącej glikogen komórce nerwowej, jak również i własne spostrzeżenia Blümke i wsp. (1965), dotyczące obfitej zawartości glikogenu w komórkach Schwanna w okresie poprzedzającym mielinizację. Skądinąd wiadomo, że na okres premielinizacyjny przypada wysoka aktywizacja metaboliczna komórek uczestniczących w mielinizacji, a więc oligodendrogleju i komórek Schwanna (Yonezawa i wsp. 1962). Słuszniej wydaje się przeto mówić o zmienionej aktywności metabolicznej niż o jej braku.

Na podkreślenie zasługuje fakt, że złogi glikogenowe występowały zarówno w odpowiednich polach rogów przednich jak i w obszarze jądra własnego rogu tylnego po stronie uszkodzenia. Wskazuje to na ewentualny udział komponenty transsynaptycznej w następstwie uszkodzenia włókien czuciowych nerwu kulszowego. Zasadnicza różnica między zmianami obserwowanymi w rogach przednich i tylnych rdzenia polegała na niewystępowaniu złogów glikogenowych w komórkach nerwowych jądra własnego. Long i wsp. (1970) oraz Mossakowski i wsp. (1968) na pod-

stawie badań dotyczących wpływu niedostatku tlenowego na ośrodkowy układ nerwowy, podkreślali, że śródplazmatyczne gromadzenie się glikogenu w komórkach ruchowych rogu przedniego pod wpływem działania różnych czynników uszkodzających, stanowi właściwość wyróżniającą je spośród innych grup neuronalnych. Na podstawie obserwacji Kraśnickiej (1970) i naszych własnych pozwalających na stwierdzenie gromadzenia się glikogenu w komórkach nerwowych zwojów międzykręgowych wydaje się, że nie odrębnościami biologicznymi komórki ruchowej, a transsynaptycznemu charakterowi odczynu przypisać należy wyłącznie neuropilową lokalizację glikogenu w rogach tylnych.

Odkładający się w rdzeniu kręgowym glikogen wykazywał zarówno charakterystyczne rozmieszczenie, jak i cechy morfologiczne złogów. W neuropilu występowały wyłącznie złogi ziarniste. Neuronalna reakcja histochemiczna w zależności od umiejscowienia w komórce miała charakter ziarnisty bądź dyfuzyjny.

Ziarniste złogi neuronalne zlokalizowane były w komórce w sposób typowy dla neurocytów ssaków (Shimizu, Kumamoto 1952), grupując się na obwodzie neuronu lub w jego dendrytach. Nie stwierdzono natomiast opisanego przez Bujkisa (1963) zagęszczenia glikogenu wokół jądra komórkowego. Ziarna glikogenu w chromatolitycznych neuronach wymieszane były z resztkami zachowanych grudek Nissla, lub w przypadku zagęszczenia pod błoną jądrową oddzielały od niej skupione tu pozostałości tigroidu. Dyfuzyjne złogi glikogenowe natomiast zajmowały zazwyczaj centralną, pozbawioną tigroidu część cytoplazmy chromatolitycznej komórki. Różnica lokalizacji śródneuronalnych złogów glikogenowych i ich cech morfologicznych może być wykładnikiem różnic struktury chemicznej wielocukru. Rozstrzygnięcie tego zagadnienia wymaga jednak odrębnych badań histo- i mikrochemicznych.

Zagadnieniem nie wyjaśnionym pozostaje również dwufazowy charakter gromadzenia się glikogenu w naszym doświadczeniu. Pojawienie się glikogenu w 6 godzinie od zabiegu i jego znaczne narastanie, rozpoczynające się od 3 doby po przecięciu nerwu kulszowego przedzielone jest okresem zmniejszenia ilości złogów glikogenu. Przeciwno wiązaniu wczesnego odkładania się złogów wielocukru z działaniem środka usypiającego (Rosengarten 1969) przemawia jednostronność złogów już w okresie najwcześniejszym.

Odkładanie się glikogenu nie stanowi zjawiska swoistego dla reakcji aksonalnej. Analogiczne zmiany z identyczną dynamiką rozwojową i rozmieszczeniem opisywali Mossakowski i wsp. (1968), Long i wsp. (1970), Mossakowski i Zelman (1971) w przypadkach niedotlenienia ośrodkowego układu nerwowego, wiążąc je z zaburzeniami w zużytko-

waniu i transporcie glukozy. Stanowią one jednak istotny i charakterystyczny element zaburzeń metabolicznych związanych z reakcją aksonalną neuronu.

Mechanizm patogenetyczny tego zjawiska jest niewątpliwie złożony i trudny do wyjaśnienia na podstawie obserwacji wyłącznie morfologicznych. Wydaje się jednak, że charakterystyczna sekwencja czasowa odkładania się złogów glikogenowych, jego najwcześniejsze odkładanie się w okołonaczyniowych wypustkach glejowych, później w neuropilu i astrocytach, z wyraźnym zagęszczeniem okołoneuronalnym, a następnie w uszkodzonych neuronach oraz powtórzenie tej samej kolejności w procesie zanikania złogów może sugerować pewne elementy mechanizmu patogenetycznego zjawiska.

Gromadzenie się glikogenu w tych strukturach układu nerwowego, w których w warunkach prawidłowych nie występuje w ilościach uchwytnych metodami histochemicznymi stanowi wyraz zaburzenia metabolizmu węglowodanów, a przede wszystkim glukozy. Stwierdzone zarówno przez nas jak i przez innych autorów (Hove, Flexner 1947, Nandy 1968, Kumamoto, Bourne 1963) wczesne obniżenie aktywności dehydrogenazy bursztynianowej w motoneuronach uszkodzonego nerwu kulszowego może wskazywać na obniżenie metabolizmu glukozy poprzez cykl Krebsa. Podobnie równie wczesny spadek aktywności dehydrogenazy mleczanowej obserwowany w naszym materiale i u Nandy (1968) oraz McCamana i Robinsa (1959) w degeneracji Wallera może stanowić wykładnik obniżonych zdolności glikolitycznych w uszkodzonej komórce nerwowej. Może to prowadzić do obniżenia zużytkowania glikozy, lub przesunięcia jej przemiany na inne tory metaboliczne, takie jak tor pentozowy, wykładnikiem czego może być obserwowany równocześnie ze spadkiem aktywności dwóch poprzednich enzymów, wzrost aktywności dehydrogenazy glukozo-6-fosforanowej oraz cykl Leloir'a-Cardini, czego wyrazem z kolei jest pojawienie się depozytów glikogenu.

Dostarczona do ośrodkowego układu nerwowego glukoza, nie użytkowana przez neurony (których zapotrzebowanie jest najwyższe, spośród wszystkich elementów strukturalnych ośrodkowego układu nerwowego) zostaje zdeponowana w postaci glikogenu, w pierwszej kolejności w transportującym ją neurogleju, a następnie i w samych komórkach nerwowych. Ten depozyt glikogenowy zostaje następnie uruchomiony w przebiegu procesu odnowy komórki, wyrażającej się morfologicznie odtworzeniem układu ziarnistości Nissla. Wzrost aktywności fosforylaz, wcześniejszy i znaczniejszy w neuropilu, a późniejszy i słabszy na ogół w uszkodzonych komórkach nerwowych, przypadający na okres maksymalnego nagromadzenia glikogenu wskazywać może z kolei na aktywi-

zacje procesów katabolizy glikogenu. Podobnie interpretować można wzrost aktywności fosfatazy glukozy-6-fosforanu przypadający na okres między 6 a 9 dniem od zabiegu. Aktywność tego enzymu, którego udział w procesie uwalniania glukozy z glikogenu został wykazany w klasycznych badaniach Cori i wsp. (cyt. za Frutonem i Simmondsem 1966) obserwowaliśmy w przeciwieństwie do Petrescu i Aleixianu (1965) wyłącznie w neuropilu. Podkreślić przy tym należy, że krótkotrwały przyrost jego aktywności przypadał na ten okres doświadczenia po którym następowało zmniejszenie złogów glikogenowych w neuropilu.

Uwalniana z glikogenu glukoza zostaje prawdopodobnie zużytkowana między innymi w tych procesach syntez komórkowych, które prowadzą do odtworzenia tigroidu, na co wskazywać może zarówno równoległość w czasie odtwarzania normalnego układu ziarnistości Nissla i zanikania złogów glikogenowych oraz długotrwałe utrzymywanie się wzmożonej aktywności dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej. Wzrost aktywności tego enzymu stanowi wykładnik aktywizacji pentozowego toru metabolizmu glukozy, będącego źródłem pięciocukrów, integralnego składnika chemicznego nukleotydów (Blackström 1959). Cykl pentozowy bowiem jest ważną drogą metabolizmu glukozy w komórkach zarodkowych (Gustafsen, Hesselberg 1951), komórek szybko-rosnących nowotworów (Scarpelli, Pearse, cyt. za Pearse 1960) oraz komórek regenerujących (Nandy 1968).

Wzrost aktywności fosfatazy kwaśnej, przypadający na okres nasilonych zmian chromatolitycznych może być traktowany jako wykładnik zwiększenia ilości lizosomów w komórce nerwowej, co znalazło zresztą swoje potwierdzenie w badaniach mikroskopowo-elektronowych Hudsona i Hartmana (1961), jak również zaktywizowania procesów katabolicznych. Samorajski i Fitz (1961), którzy biochemicznie wykazali przyrost aktywności FK w komórce nerwowej po uszkodzeniu jej wypustki osiowej, sugerują, że wiąże się on z udziałem tego enzymu w syntezie rybonukleoprotein (substancji Nissla), jako przenośnika grup fosforanowych. Przemawiać może za tym, między innymi wyraźna równoległość w czasie zmian aktywności FK i ukształtowania tigroidu.

Obserwowane przez nas zmiany w aktywności i lokalizacji pyrofosfatazy tiaminowej polegające na jej obniżeniu, rozproszeniu i przemieszczeniu na obwód komórki stanowią charakterystyczny element obrazu histoenzymatycznego zwyrodnienia osiowego (Barron i wsp. 1962, 1964, Goldfischer 1964, Nandy 1968). Zmiany te związane czasowo z rozproszeniem, spadkiem ilości i przemieszczeniem na obwód komórki tigroidu, stanowią dodatkowy argument popierający pogląd Głuszcza (1966), dotyczący pokrewieństwa czynnościowego aparatu Golgiego i siateczki

Nissla. Zmiany w aktywności TPP-azy mogą być wykładnikiem zaburzeń transportu śródkomórkowego w chromatolitycznym neuronie. Nie można również odrzucić sugestii Couseya i Hoffmana (1955), wiążącej obniżenie aktywności zarówno enzymów mitochondrialnych (w naszym przypadku SDH) jak i umiejscowionych w aparacie siateczkowym Golgiego (TPP-azy) z wylewaniem się organelli komórkowych wraz z cytoplazmą perikarialną do wnętrza regenerującego aksonu.

Podkreślić należy szerokie spektrum zmian histochemicznych związanych z reakcją aksonalną. Dotyczą one różnych grup enzymatycznych i wskazują na głębokie zaburzenia metaboliczne i zmiany w ultrastrukturze chromatolitycznej komórki nerwowej. Przy ogólnie największym nasileniu zmian histochemicznych w okresie najbardziej wyrażonej chromatolizy, niektóre odczyny histochemiczne wyprzedzają w czasie pojawienie się zmian morfologicznych, podczas gdy inne utrzymują się jeszcze po powrocie do normy obrazu morfologicznego komórki. Wskazuje to na fakt, że morfologiczny powrót do normy nie oznacza całkowitego cofnięcia się zaburzeń metabolicznych.

WNIOSKI

W chromatolitycznych neuronach rogów przednich rdzenia kręgowego u królików po przecięciu nerwu kulszowego stwierdzono:

a. Odkładanie się glikogenu w cytoplazmie komórek nerwowych najsilniej zaznaczone między 3 i 4 oraz 7 i 9 dniem po operacji.

b. W tym samym okresie notowano wzrost aktywności fosforylaz oraz fosfatazy G-6-P.

c. Wzrost aktywności kwaśnej fosfatazy w okresie 6 — 21 dni po zabiegu.

d. Wzrost aktywności dehydrogenazy G-6-P w okresie 48 godz. — 9 dni oraz spadek aktywności dehydrogenazy mleczanowej i bursztynianowej w okresie od 48 godz. do 9 dni.

e. Wybitny spadek aktywności TPP-azy w okresie największego nasilenia zmian tigrolitycznych w komórce.

Powyższe dane świadczyć mogą o przesunięciu metabolizmu glukozy w kierunku odkładania się jej w postaci glikogenu, a następnie szybkiemu uwalnianiu.

Wzmożenie metabolizmu glukozy w cyklu pentozowym można wiązać z możliwością wykorzystania przez regenerującą komórkę nerwową nukleotydów powstających w tym cyklu.

Г. Шуманьска, З. М. Рап

РАЗМЕЩЕНИЕ ГЛИКОГЕНА И АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ЭНЗИМОВ В МОТОНЕЙРОНАХ СПИННОГО МОЗГА В АКСИАЛЬНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ

Резюме

Кроликам, находящимся в нембуталовом наркозе, перерезали правый седалищный нерв на уровне седалищного бугра. Животных наблюдали в течение от нескольких дней до 5 месяцев. Обнаруживали парез левой задней конечности и у некоторых кроликов трофические язвы.

Животных убивали механическим повреждением продолговатого мозга, после чего их обескровливали. Для исследований брали спинной мозг из пояснично-крестцового отрезка вместе с корешками и центральной частью седалищного нерва. Контролем являлась левая не оперированная часть спинного мозга.

Кроме обычно принятых морфологических методов провели реакцию ПАС с контрольными тестами с целью обнаружения гликогена, а также некоторые энзиматические реакции, являющиеся то метками некоторых клеточных органелл, как КФ (лизосомы), ТПФ—аза (аппарат Гольджи), то показателями определенных метаболических циклов, как дегидрогеназы (глюкоза — 6 фосфатная, лактатная, янтарная) или фосфорилазы.

Проследивая аксональную реакцию мотонейронов кролика после перерезки седалищного нерва, особое внимание обратили на появление гликогена в нейронах и нейропиле спинного мозга. Гликогенные зернистости обнаруживаются только в определенный период после операционной процедуры и являются выражением процессов дегенерации и регенерации.

Обратили также внимание на рост активности дегидрогеназы Г-6-Ф, которая может быть отражением увеличения активности пентозного цикла, что в свою очередь можно связывать с общим процессом регенерации.

G. Szumańska, Z.M. Rap

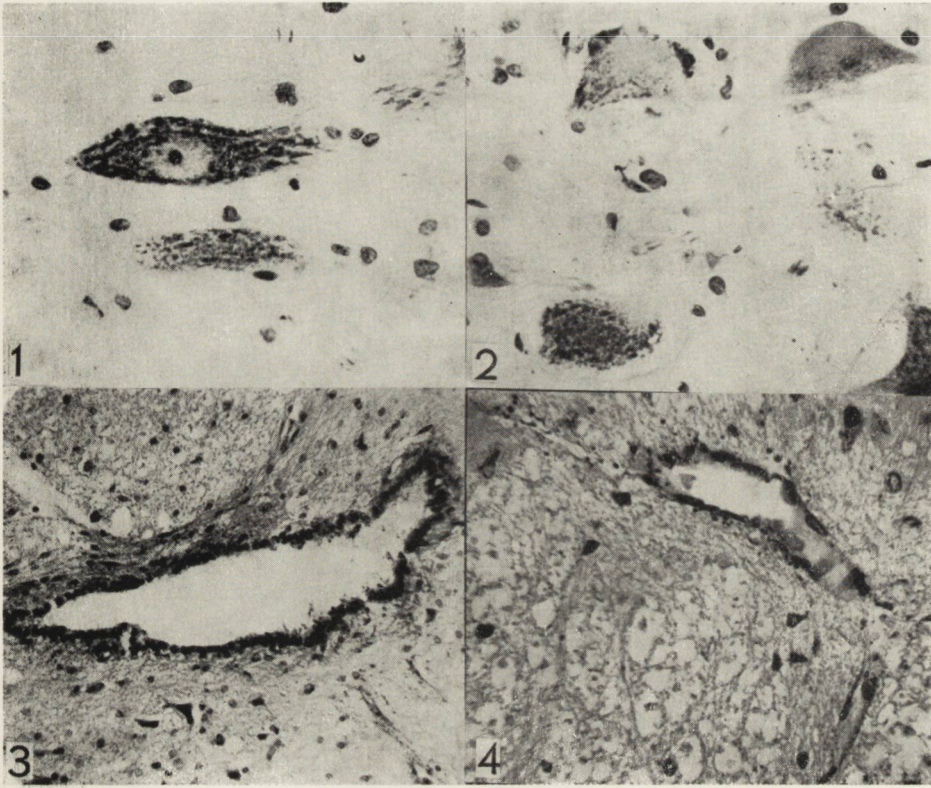
DISTRIBUTION OF GLYCOGEN AND SOME ENZYMES ACTIVITY IN MOTONEURONS DURING DEGENERATION

S u m m a r y

In anaesthetised rabbits (nembutal) the right sciatic nerve was transected at the level of the ischial tuber. The animals were observed for a period of several days up to five months. Paresis of the left hind extremity was found, and in some animals trophic ulceration.

The animals were sacrificed by mechanical injury to the medulla oblongata and bled. The spinal cord from the lumbo-sacral segment was taken for examination with its roots together with the proximal part of the sciatic nerve. As control served the left (unoperated) part of the spinal cord.

Beside the routine morphological methods of examination, the PAS reaction was performed with control tests for glycogen, and some enzymatic reactions either as markers of certain organelles such as FK (lysosomes), TPP-ase (Golgi apparatus), or as indices of certain definite metabolic cycles such a dehydrogenases (glyco-6-phosphate, lactate, succinate) or phosphorylases.



Ryc. 1. Prawidłowa komórka ruchowa z rogu przedniego rdzenia kręgowego królika. Fiolet krezyłu. Pow. 400 x.

Fig. 1. Normal motor cell from spinal anterior horn in rabbit. Cresyl violet. x 400.

Ryc. 2. Tigroliza komórki ruchowej rdzenia kręgowego królika. 9 dni po przecięciu nerwu kulszowego. Fiolet krezyłu. Pow. 400 x.

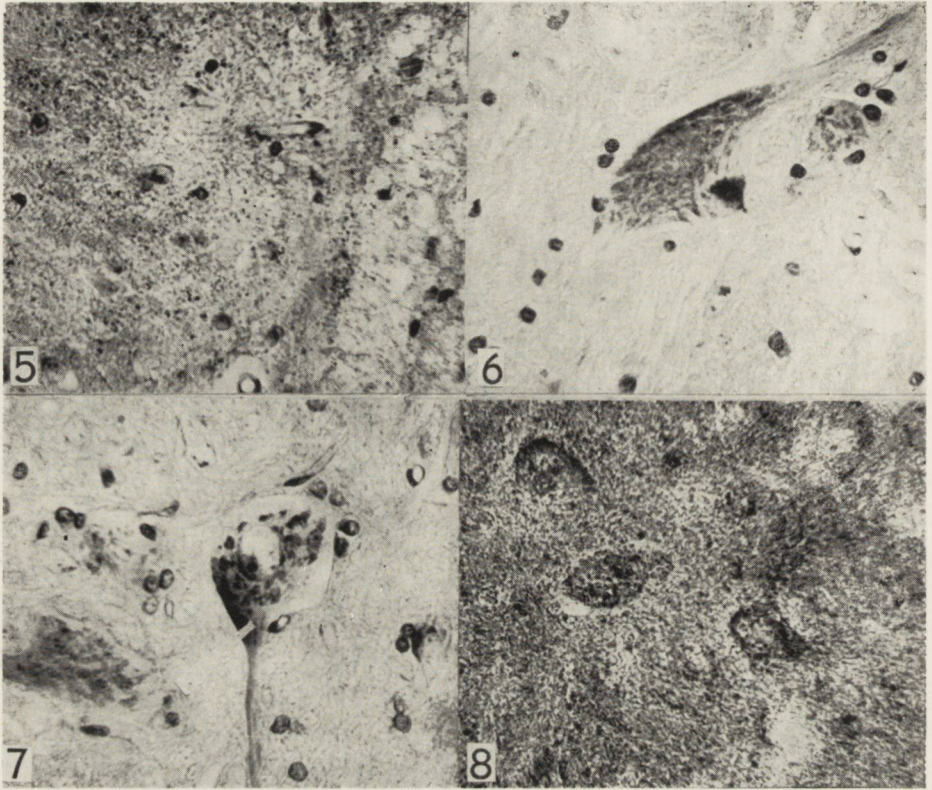
Fig. 2. Tigrolysis of spinal cord motor cell in rabbit. Nine days after sciatic nerve section. Cresyl violet x 400.

Ryc. 3. Kanał centralny rdzenia kręgowego królika. Podwyściółkowe złogi glikogenu. Reakcja PAS-dimedon-hematoksyлина. Pow. 200 x.

Fig. 3. Central canal of rabbit spinal cord. Subependymal distribution of glyco-gen. PAS-dimedone-hematoxylin. x 200.

Ryc. 4. Naczynie krwionośne z pogranicza istoty szarej i białej. Widoczne ziarniste przynaczyniowe złogi glikogenu. Strona uszkodzona, 6 godz. po przecięciu nerwu kulszowego. Reakcja PAS-dimedon hematoksyлина. Pow. 400 x.

Fig. 4. Blood vessel from border of gray and white matter. Granular perivascularly distributed glyco-gen is visible. Injured side 6 hrs after transection of sciatic nerve. PAS-dimedone reaction Hematoxylin. x 400.



Ryc. 5. Róg tylny rdzenia kręgowego po stronie uszkodzenia z ziarnistym glikogenem w neuropilu, 7 dni po zabiegu. Reakcja PAS-dimedon, hematoksylina. Pow. 400 x.

Fig. 5. Spinal cord posterior horn on side of lesion. Granular glycogen in neuropile, 7 days after operation. PAS-dimedone reaction, Hematoxylin. x 400.

Ryc. 6. Komórka nerwowa rogu przedniego rdzenia kręgowego, strona uszkodzona, 14 dni po zabiegu operacyjnym. Widoczny glikogen w miejscu odejścia jednego z dendrytów. PAS-dimedon reakcja. Hematoksylina. Pow. 400 x.

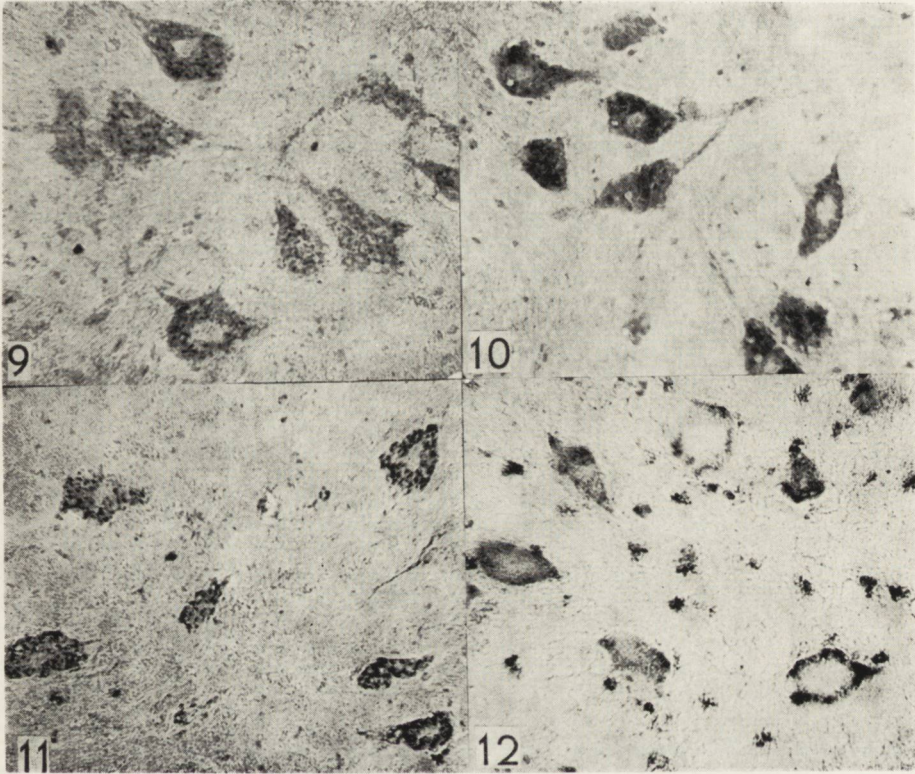
Fig. 6. Anterior horn nerve cell, injured side, 14 days after transection. Glycogen visible at the site of branching of a dendrite. PAS-dimedone reaction. Hematoxylin. x 400.

Ryc. 7. Komórka ruchowa rogu przedniego rdzenia kręgowego z ziarnistym glikogenem w cytoplazmie, 6 dni po przecięciu nerwu kulszowego. PAS-dimedon reakcja. Hematoksylina. Pow. 400 x.

Fig. 7. Motor cell of spinal anterior horn with granular glycogen in cytoplasm. Six days after sciatic nerve transection, PAS-dimedone reaction, Hematoxylin. x 400.

Ryc. 8. Fosforylaza a+b w komórkach chromatolitycznych i neuropilu, 9 dni po zabiegu. Pow. 200 x.

Fig. 8. Phosphorylase a+b in chromatolytic cells and neuropile, 9 days after operation. x 200.



Ryc. 9. Prawidłowe komórki nerwowe rogu przedniego rdzenia kręgowego. Fosfataza kwaśna. Norma. Pow. 200 x.

Fig. 9. Normal nerve cells of spinal anterior horn. Acid phosphatase. x 200.

Ryc. 10. Komórki nerwowe rogu przedniego. Odczyn na fosfatazę kwaśną, 14 dni po zabiegu operacyjnym. W niektórych komórkach wyraźne wzmożenie odczynu. Pow. 200 x.

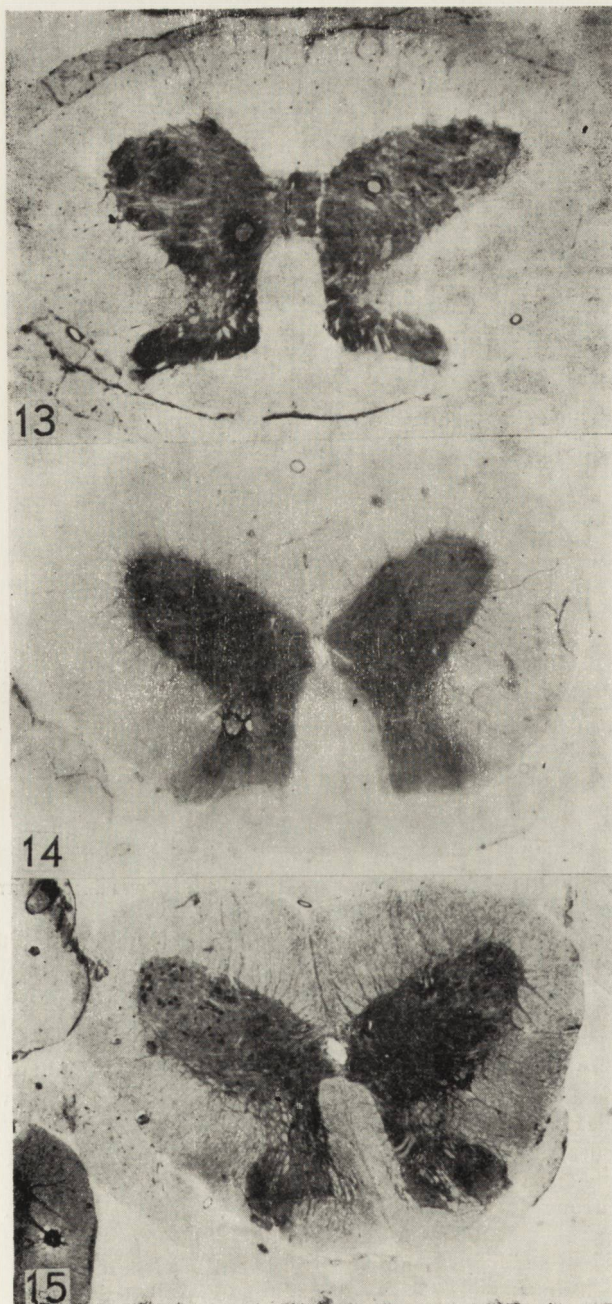
Rig. 10. Anterior horn nerve cells. Reaction for acid phosphatase, 14 days after transection. In some cells enzymic activity distinctly enhanced. x 200.

Ryc. 11. Komórki nerwowe z rogu przedniego. TPP-aza. Pow. 200 x.

Fig. 11. Anterior horn nerve cells normal. TPP-ase. x 200.

Ryc. 12. Motoneurony 14 dni po przecięciu nerwu kulszowego. TPP-aza. Odczyn przesunięty na obwód komórek. Pow. 200 x.

Fig. 12. Motoneurons 14 days after sciatic nerve transection. TPP-ase. Reaction shifted to cell periphery. x 200.



In observations of the axonal reaction of rabbit motoneurons after transection of the sciatic nerve, the appearance of glycogen in the neuron and neuropile of the spinal cord was noteworthy. The glycogen grains occur only at a definite time after the operation and are a manifestation of degeneration and cell regeneration processes.

An increased G-6-P dehydrogenase activity was also noted which may be due to an enhanced activity of the pentose cycle which may be connected with the general regeneration process.

PIŚMIENNICTWO

1. Barron K. D., Sklar S.: Response of lysosomes of bulbospinal motoneurons to axon section. *Neurology* 1961, 11, 866—875.
2. Barron K. D., Tuncbay T. O.: Phosphatase histochemistry of feline cervical spinal cord after brachial plexectomy. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1964, 23, 368—386.
3. Barron K. D., Tuncbay T. O.: Histochemistry of acid phosphatase and thiamine pyrophosphatase during axon reaction. *Amer. J. Path.* 1962, 40, 637—653.
4. Blümcke S., Themann H., Niedorf H. R.: Deposition of glycogen during the degeneration and regeneration of the sciatic nerves in rabbits. (Light and electron microscopic studies). *Acta Neuropath. (Berl.)* 1965, 5, 69—81.
5. Bulmer D.: Dimedon as an aldehyde blocking to facilitate the histochemical demonstration of glycogen. *Stain Technol.* 1959, 34, 95—98.
6. Causey J., Hoffman H.: Cytoplasmic synthesis in nerve cells. *Brit. J. Cancer* 1955, 9, 666—673.
7. Głuszczyk A.: Lokalizacja histochemiczna fosfataz hydrolizujących pyrofosforan tiaminy w ośrodkowym układzie nerwowym. *Neuropat. Pol.* 1966, 4, 171—185.
8. Godlewski H. G.: Are active and inactive phosphorylases histochemically distinguishable? *J. Histochem. Cytochem.* 1963, 11, 108—112.
9. Goldfischer S.: The Golgi apparatus and the endoplasmic reticulum in neurons of the rabbit. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1964, 23, 36—45.
10. Gustafson T., Hesselberg J.: Studies on enzymes in the developing sea urchin egg. *Exp. Cell Res.* 1951, 2, 642—672.

Ryc. 13. Dehydrogenaza SDH, 9 dni po zabiegu. Widoczne osłabienie odczynu po stronie operowanej. Pow. lupowe.

Fig. 13. Succinic dehydrogenase, 9 days after operation. Significant decrease of the activity on the operated side. Magn. glass.

Ryc. 14. Dehydrogenaza LDH, 9 dni po zabiegu. Widoczne osłabienie odczynu po stronie operowanej. Pow. lupowe.

Fig. 14. Lactic dehydrogenase, 9 days after operation. Significant decrease of the activity on operated side. Magn. glass.

Ryc. 15. Dehydrogenaza G-6-P, 6 dni po operacji. Widoczne wzmożenie odczynu po stronie operowanej. Pow. lupowe.

Fig. 15. Glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6 days after transection. Significant increase of the activity on operated side.

11. Hudson G., Hartmann J. F.: The relationship between dense bodies and mitochondria in motor neurons. *Z. Zellforsch.* 1961, 54, 147—157.
12. Hess R., Scarpelli D. G., Pears A. G. E.: The cytochemical localization of oxidative enzymes. II. Pyridine nucleotide-linked dehydrogenase. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1958, 4, 753—760.
13. Kraśnicka Z.: Morfologia i histochemia neuronów zwojów międzykręgowych w warunkach hodowli tkankowej i w rozwoju embrionalnym. *Neuropat. Pol.* 1969, 7, 395—434.
14. Kraśnicka Z.: Glycogen metabolism in sensory neurons cultured in vitro. *Folia Histochem. Cytochem.* 1970, 8, 183—190.
15. Kumamoto T., Bourne G. H.: Experimental studies on the oxidative enzymes and hydrolytic enzymes in spinal neurons. *Acta Anat.* 1963, 55, 255—277.
16. Long D. M., Mossakowski M. J., Klatzo I.: Early histochemical and ultrastructural changes in the central nervous system ischemia. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1970.
17. Mossakowski M. J., Long D. M., Myers R. E., de Curet H. R., Klatzo I.: Early histochemical changes in perinatal asphyxia. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1968, 27, 500—516.
18. Nandy K.: Histochemical study on chromatolic neurones. *Arch. Neurol.* 1968, 18, 425—435.
19. Novikoff A. B., Goldfischer S.: Nucleosidediphosphatase activity in the Golgi apparatus and its usefulness for cytological studies. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1961, 47, 802—810.
20. Novakoff A. B.: Electron transport enzymes biochemical and tetrazolium studies from First Intern. Congress of Histochem. and Cytochem. Pergamon Press, Oxford, London, New York, Paris. 1963, 465—481.
21. Samorajski T., Fitz G. R.: Phosphomonoesterase changes associate with spinal cord chromatolysis. *Lab. Invest.* 1961, 10, 129—143.
22. Shimizu N., Kumamoto T.: Histochemical studies on the glycogen of the mammalian brain. *Anat. Rec.* 1952, 114, 479—497.
23. Sjöstrand J.: Proliferative changes in glial cells during nerve regeneration. *Z. Zellforsch.* 1965, 68, 481—493.
24. Takeuchi T., Kuriaki H.: Histochemical detection of phosphorylase in animal tissues. *J. Histochem. Cytochem.* 1955, 3, 153—160.

Pełne piśmiennictwo do niniejszej pracy, obejmujące 56 pozycji do wglądu u autorów.

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

MIECZYŚLAW WENDER, ZOFIA ADAMCZEWSKA, JERZY DYMECKI, JERZY
KULCZYCKI

BRAIN FATTY ACID PATTERN IN AMAUROTIC IDIOCY

Department of Neurology, Medical Academy, Poznań
Neuropathological Laboratory of Psychoneurological Institute, Pruszków
Department of Neurology, Pomorska Medical Academy, Szczecin

The fatty acid composition of some cerebral lipid species, especially in the developing and ageing human brain has been the subject of recent studies (Menkes et al. 1966, Hansen and Clausen, 1968, Svennerholm et al. 1968). Also the problem of alterations in the fatty acid content of cerebral lipids in demyelinating diseases has been intensively studied (Gerstl et al. 1965, Amaducci et al. 1969, Borri et al. 1969).

On the other hand, information on the fatty acid pattern of the brain lipids in amaurotic idiocy, as well as in some other genetically determined metabolic diseases is rather vague. The establishment of the fatty acid composition may contribute significantly to a better understanding of the precise chemical characteristics of the lipid material stored in metabolic diseases of the central nervous system. For this reason a study was undertaken on the fatty acid composition of brain lipids in cases of amaurotic idiocy.

MATERIALS

The investigations were made in 3 cases of infantile amaurotic idiocy and in 3 cases of late-infantile amaurotic idiocy. Five brains derived from infants which died from other than primary neurological disorders, served as control material. All the studied brains were preserved in formalin for 1—8 years prior to chemical investigation.

METHODS

The fatty acid composition of total lipid extracts from gray and white matter, from chromatographically isolated gangliosides, and from ganglioside fractions G_{M1} and G_{M2} was studied by means of gas-liquid chro-

matography. For extraction of lipids, the brain samples were homogenised with 19 vol. of chloroform-methanol (2:1, v/v). The gangliosides were separated by thin-layer chromatography according to the method of Jatzkewitz et al. (1965).

Total lipid extracts as well as ganglioside fractions were then hydrolysed and methylated. Methylation of the fatty acids was performed by the method of Endres (1966). The fatty acid methyl esters dissolved in ethyl ether were analysed in a Pye gas-liquid chromatograph provided with a flame ionisation detector with a temperature programme of 190°C, on 210 cm/0.4 mm columns of 12% diethylene glycol succinate and 10% polyethylene glycol adipate (2:1) on celite 100/120 mesh.

The peaks were identified by their retention times and by comparison with standard mixtures of fatty acid methyl esters.

In the description of results the fatty acids were denoted by the chain length; number of double bonds.

RESULTS

The fatty acid composition of total lipids in brains of amaurotic idiocy cases was in general similar to that of the normal brain, and only some minor differences were seen. Palmitic (C_{16:0}), oleic (C_{18:1}) and stearic acid (C_{18:0}) were found to be predominant. Among the other long-chain fatty acids, palmitoleic (C_{16:1}), linoleic (C_{18:2}), behenic (C_{22:0}) and in some amaurotic idiocy cases also docosenoic (C_{22:1}) acid were present in relatively high concentrations.

The relative content of behenic (C_{22:0}), lignoceric (C_{24:0}) as well as of a C_{22:6} polyunsaturated fatty acid was lower in amaurotic idiocy cases as compared with control brains.

The observed differences between the gray and white matter, although quite large in some individual cases cannot as a whole be considered as significant.

The complete fatty acid pattern of brain total lipids in the amaurotic idiocy cases investigated is shown in tables 1 and 2.

Tables 3 and 4 demonstrate the patterns of ganglioside fatty acids in the examined cases. The comparison of results of fatty acid analysis of the chromatographically isolated gangliosides between diseased and control brains did not reveal essential differences. In both groups palmitic (C_{16:0}) and stearic acids (C_{18:0}) prevailed. Among other fatty acids only behenic (C_{22:0}) and nervonic (C_{24:1}) acids constituted more than one relative percent, in all instances.

In cases of early infantile amaurotic idiocy, the relatively low concentration of palmitic acid (C_{16:0}) in the gray matter should be pointed out.

Table 1. Composition of fatty acids in total lipid extract of cerebral gray matter in amaurotic idiocy cases, %

Tabela 1. Kwasy tłuszczowe w całkowitym wyciągu tłuszczowców z istoty szarej mózgu w przypadkach idiotia amaurotica (%)

Fatty acids Kwasy tłuszczowe	Controls Kontrola						Early infantile A.I. Postać dziecięca						Controls Kontrola			Late infantile A.I. Postać późnodzie- cięca						
	2,5 months old	2,5 miesiąca old	3,5 months old	3,5 miesiąca old	6 months old	6 miesięcy old	16 months old	16 miesięcy old	15 months old	15 miesięcy old	17 months old	17 miesięcy old	6 years old	6 lat	7 years old	7 lat	6 years old	6 lat	6 years old	6 lat	6 years old	6 lat
9 : 0	—	—	—	—	—	—	0.1	—	—	—	—	—	—	—	0.1	—	—	—	—	—	—	—
10 : 0	—	—	—	—	—	—	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	—	—	—	—	0.3	0.1	—	—	—	—
11 : 0	0.1	—	—	—	—	—	—	0.3	—	—	—	0.1	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12 : 0	—	—	—	—	—	—	—	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	0.1	0.1	—	—	—	—
13 : 0	0.1	—	—	—	—	—	—	0.1	0.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14 : 0	0.9	1.0	0.8	—	—	—	1.4	4.7	1.1	0.6	0.5	2.5	4.1	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—
unidentified	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15 : 0	0,2	0,2	0,3	0,6	1,0	1,0	0,3	0,2	0,5	1,0	1,0	0,3	0,2	0,5	1,0	1,4	—	—	—	—	—	—
unidentified	—	—	—	—	—	—	—	0,3	0,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16 : 0	32.5	23.9	22.1	28.0	22.3	28.5	29.3	23.8	31.1	27.4	28.6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16 : 1	2.4	2.4	2.1	2.6	5.3	2.4	1.7	1.3	1.8	1.2	1.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17 : 0	0.3	0.3	0.3	0.6	0.6	0.7	0.5	0.4	0.6	0.7	0.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
unidentified	—	—	0.2	—	0.7	0.5	0.1	0.2	0.4	0.4	0.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18 : 0	25.3	18.5	20.4	21.5	11.8	25.8	24.5	22.2	26.8	22.1	27.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18 : 1	21.2	17.6	19.1	30.8	37.1	30.8	23.2	20.9	28.2	26.1	27.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18 : 2	2.3	1.6	2.3	2.9	5.8	2.3	3.0	2.5	2.6	9.9	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18 : 3	0.2	0.3	0.4	0.5	—	0.3	0.2	0.3	0.6	1.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19 : 0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20 : 0	—	—	—	—	—	—	—	—	0.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20 : 1	0.5	0.8	0.6	2.3	1.0	0.7	0.8	0.8	1.5	1.1	1.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
unidentified	—	—	—	—	—	—	—	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20 : 2	1.1	0.4	0.5	0.6	0.6	—	0.6	0.5	1.0	0.6	0.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20 : 4	1.2	1.6	1.4	0.7	1.3	—	0.3	1.1	0.3	0.2	0.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20 : 5	—	0.8	0.9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
21 : 2	—	1.5	1.8	—	—	—	1.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22 : 0	4.8	11.3	10.1	0.8	1.4	1.4	5.5	8.0	0.7	0.3	0.6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22 : 1	—	—	0.4	2.3	4.0	1.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.2	1.3	—
22 : 2	—	—	—	1.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22 : 6	2.2	10.4	8.8	0.9	—	—	4.3	10.9	—	0.6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24 : 0	3.0	5.1	5.0	0.7	—	—	3.0	4.8	—	—	0.9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.9
24 : 1	1.7	2.3	2.5	1.6	1.4	2.3	0.8	1.2	0.6	1.1	5.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Table 2. Composition of fatty acids in total lipid extract of cerebral white matter in amaurotic idiocy cases, %

Tabela 2. Kwasy tłuszczowe w całkowitym wyciągu tłuszczowców z istoty białej mózgu w przypadkach idiotia amaurotica (%)

Fatty acids Kwasy tłuszczowe	Controls Kontrola			Early infantile A.I. Postać dziecięca			Controls Kontrola		Late infantile A.I. Postać późnodzie- cięca		
	2.5 months old 2,5 miesiąca	3.5 months old 3,5 miesiąca	6 months old 6 miesięcy	16 months old 16 miesięcy	15 months old 15 miesięcy	17 months old 17 miesięcy	6 years old 6 lat	7 years old 7 lat	6 years old 6 lat	6 years old 6 lat	6 years old 6 lat
9 : 0	—	—	—	—	—	—	—	0.1	—	—	—
10 : 0	—	0.1	—	1.0	0.1	0.1	0.2	—	—	0.1	0.1
11 : 0	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.1
12 : 0	—	—	—	1.7	—	—	—	0.2	0.4	0.1	—
13 : 0	0.7	—	—	0.7	—	0.3	—	0.4	0.9	—	—
14 : 0	1.6	0.8	0.6	2.0	—	3.1	1.2	0.8	0.6	5.3	1.5
unidentified	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15 : 0	1.6	0.2	0.6	1.0	1.1	0.9	0.2	1.1	1.0	0.6	0.5
unidentified	—	—	—	2.4	0.4	—	—	—	3.3	0.1	0.1
16 : 0	30.0	21.2	16.8	18.7	21.2	27.0	18.9	15.3	19.4	23.7	18.5
16 : 1	1.8	2.4	1.5	2.7	5.1	2.4	1.3	1.7	4.0	1.7	2.3
17 : 0	0.5	0.3	0.8	0.8	0.8	0.8	0.4	0.7	0.5	0.5	0.8
unidentified	—	—	0.1	1.6	1.2	0.6	0.4	0.5	3.6	0.7	0.8
18 : 0	23.4	18.9	32.5	39.0	10.8	20.8	21.3	17.1	25.2	23.1	24.4
18 : 1	22.8	19.9	32.8	5.5	43.5	34.6	36.1	32.3	7.1	35.8	40.8
18 : 2	1.5	1.7	1.2	0.6	2.1	2.2	2.0	2.0	1.0	3.5	1.3
18 : 3	0.8	0.3	0.2	2.1	0.4	0.3	0.4	0.3	0.4	0.5	0.2
19 : 0	—	—	—	0.3	—	—	—	—	0.9	—	—
20 : 0	—	—	—	1.6	—	0.3	—	—	3.4	0.5	0.4
20 : 1	1.0	0.9	0.7	2.0	1.7	1.7	2.9	3.2	1.4	1.9	2.7
unidentified	—	—	—	—	—	—	—	1.2	—	—	—
20 : 2	0.4	0.7	—	—	1.4	—	1.1	0.9	2.6	0.6	1.6
20 : 4	0.9	1.3	0.9	0.6	0.7	—	0.7	1.0	1.4	0.4	—
20 : 5	—	0.7	0.2	—	0.9	—	1.1	0.7	1.0	—	—
21 : 2	0.8	1.9	1.5	—	—	—	0.6	—	—	—	—
22 : 0	4.8	10.4	5.4	2.4	2.1	2.1	3.0	5.6	2.2	0.4	0.3
22 : 1	0.5	0.5	0.2	7.6	5.1	1.2	0.8	0.6	8.4	0.5	1.5
22 : 2	—	—	—	0.8	—	—	—	—	—	—	—
22 : 6	2.4	8.4	—	1.4	—	—	1.9	4.3	3.4	—	—
24 : 0	3.4	6.6	2.7	1.1	—	—	4.0	7.8	5.0	—	0.5
24 : 1	0.9	2.8	1.3	2.4	1.4	1.6	1.5	2.2	2.9	—	1.6

Table 3. Composition of ganglioside fatty acids in cerebral gray matter of amaurotic idiocy cases, %

Tabela 3. Kwasy tłuszczowe gangliozydów istoty szarej mózgu w przypadkach idiotia amaurotica (%)

Fatty acids Kwasy tłuszczowe	Controls Kontrola			Early infantile A.I. Postać dziecięca			Controls Kontrola		Late infantile A.I. Postać późnodzie- cięca		
	2.5 months old 2,5 miesiąca	3.5 months old 3,5 miesiąca	6 months old 6 miesięcy	16 months old 16 miesięcy	15 months old 15 miesięcy	17 months old 17 miesięcy	6 years old 6 lat	7 years old 7 lat	6 years old 6 lat	6 years old 6 lat	6 years old 6 lat
8 : 0	—	—	—	0.7	—	0.7	—	—	—	—	—
9 : 0	0.1	0.5	0.6	0.4	0.7	—	0.2	—	—	0.2	—
10 : 0	0.3	0.3	0.4	—	—	—	—	—	—	—	0.2
11 : 0	0.2	0.5	0.2	1.1	0.1	0.6	0.3	—	—	0.5	0.3
12 : 0	0.6	0.7	0.4	0.9	0.2	1.1	0.2	0.6	2.0	2.2	0.3
13 : 0	1.1	1.1	0.8	1.5	0.7	1.0	0.5	—	0.5	0.6	0.4
unidentified	—	—	—	—	—	2.3	—	—	—	—	—
14 : 0	1.0	1.6	1.3	0.8	3.2	0.5	2.1	1.9	1.4	1.8	4.5
unidentified	1.2	1.1	0.9	1.1	—	—	4.3	—	0.5	0.8	—
15 : 0	1.1	0.7	0.6	0.6	7.3	4.1	0.4	2.2	1.2	1.1	1.0
unidentified	1.0	1.1	1.2	1.1	—	5.9	6.1	2.1	1.1	1.5	1.0
16 : 0	45.5	50.4	44.6	20.2	10.7	13.6	23.4	8.4	26.1	30.8	5.5
16 : 1	0.7	1.3	1.2	0.5	0.5	5.8	7.2	1.2	1.0	1.2	0.4
17 : 0	0.8	0.6	1.0	1.6	12.1	0.4	0.2	0.3	1.5	1.8	1.0
unidentified	0.4	0.5	0.9	0.2	0.3	5.6	—	0.8	0.4	0.8	0.6
18 : 0	30.1	23.1	30.2	57.2	17.0	33.2	7.2	33.8	41.1	30.6	65.8
18 : 1	1.0	2.9	1.1	2.5	0.3	5.8	14.5	1.7	4.9	4.5	1.6
18 : 2	0.1	0.2	0.1	0.2	0.7	0.4	0.4	0.3	0.4	0.2	0.6
18 : 3	0.3	0.5	0.5	1.8	11.2	1.4	6.2	0.6	2.2	2.6	3.1
19 : 0	0.1	—	—	—	12.0	—	7.2	—	—	0.2	0.3
20 : 0	1.6	—	1.0	0.2	—	4.4	—	0.6	0.8	0.8	0.4
20 : 1	0.1	—	0.6	0.3	0.6	0.2	0.4	0.4	0.5	0.4	1.1
unidentified	0.3	—	0.2	—	9.1	3.7	—	—	—	—	2.1
20 : 2	0.5	6.6	1.1	0.6	0.6	0.2	4.9	5.0	1.7	1.7	—
20 : 4	0.3	—	0.6	—	6.8	2.4	0.3	0.5	0.7	0.5	1.6
20 : 5	0.2	—	0.4	—	1.2	1.8	2.5	0.8	—	0.7	0.4
21 : 2	0.3	—	0.5	—	—	—	—	—	—	—	—
22 : 0	5.0	3.7	5.1	0.8	—	1.2	3.6	34.5	1.5	1.7	—
22 : 1	0.4	—	0.7	3.2	0.9	1.6	2.5	0.7	5.2	5.7	0.9
22 : 2	—	—	—	—	—	—	—	—	1.0	1.4	2.3
22 : 6	0.8	—	—	0.9	0.8	—	0.9	1.5	—	1.4	0.7
24 : 0	0.6	0.8	1.0	—	—	1.0	1.4	—	1.3	1.0	0.9
24 : 1	4.3	1.8	2.7	1.6	3.0	1.1	1.9	2.1	3.0	3.3	3.0
unidentified	—	—	—	—	—	—	1.2	—	—	—	—

Table 4. Composition of ganglioside fatty acids in cerebral white matter of amaurotic idiocy cases, %

Tabela 4. Kwasy tłuszczowe gangliozydów istoty białej mózgu w przypadkach idiotia amaurotica (%)

Fatty acids Kwasy tłuszczowe	Controls Kontrola			Early infantile A.I. Postać dziecięca			Controls Kontrola		Late infantile A.I. Postać późnodzie- cięca		
	2.5 months old 2,5 miesiąca	3.5 months old 3,5 miesiąca	6 months old 6 miesięcy	16 months old 16 miesięcy	15 months old 15 miesięcy	17 months old 17 miesięcy	6 years old 6 lat	7 years old 7 lat	6 years old 6 lat	6 years old 6 lat	6 years old 6 lat
8 : 0	—	—	—	—	0.7	0.7	—	—	—	—	—
9 : 0	—	0.1	1.1	0.6	0.5	0.3	—	—	—	0.9	—
10 : 0	—	0.2	0.5	0.3	0.6	0.8	—	—	1.9	1.4	—
11 : 0	—	—	—	1.6	0.6	0.9	0.8	—	1.0	—	0.4
12 : 0	—	0.1	0.7	0.4	0.6	1.1	—	—	2.0	2.1	0.6
13 : 0	0.3	0.4	1.0	0.7	1.1	0.4	0.3	0.8	2.9	3.1	1.0
unidentified	—	—	—	—	—	1.6	—	—	—	—	—
14 : 0	1.3	1.4	0.8	0.6	1.8	1.4	0.6	0.7	0.7	0.9	3.9
unidentified	0.3	0.6	1.1	0.6	0.9	1.8	0.5	1.2	3.2	3.4	0.6
15 : 0	0.9	0.5	0.8	0.5	0.8	0.6	0.9	0.4	1.2	1.1	1.0
unidentified	0.5	1.0	1.3	0.6	0.8	0.9	0.8	1.3	3.4	3.5	1.2
16 : 0	51.1	44.3	22.6	22.1	31.9	23.3	36.7	11.6	18.0	19.7	18.1
16 : 1	0.1	1.3	1.2	0.9	1.3	1.3	0.9	0.8	3.6	3.5	1.2
17 : 0	0.7	0.4	0.4	5.1	2.5	1.5	0.8	0.6	0.8	0.8	1.2
unidentified	—	0.7	0.8	0.2	0.5	0.9	0.5	0.7	2.9	2.5	1.3
18 : 0	26.4	24.8	51.2	37.7	26.8	36.9	35.1	53.5	20.0	20.1	31.1
18 : 1	4.9	13.9	3.0	5.5	6.3	2.6	4.1	6.5	6.6	5.9	2.3
18 : 2	0.6	0.6	0.3	0.4	1.0	1.0	—	1.5	1.1	0.7	0.5
18 : 3	0.2	0.4	0.3	1.9	0.6	1.3	0.4	0.9	0.9	0.4	1.2
19 : 0	—	—	—	—	0.9	—	—	—	—	0.3	0.3
20 : 0	—	0.7	0.8	1.6	—	0.8	0.9	0.6	3.0	2.4	1.1
20 : 1	0.6	0.4	0.5	1.1	1.2	1.0	0.6	1.5	2.3	1.5	2.0
unidentified	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.4
20 : 2	—	0.5	1.1	0.6	0.5	0.6	0.7	1.1	—	1.1	0.2
20 : 4	0.3	0.8	1.1	—	1.0	—	0.6	1.9	0.8	1.4	2.6
20 : 5	—	0.2	—	1.0	1.4	1.2	1.5	—	—	0.7	5.3
21 : 2	—	0.3	0.3	—	—	—	0.3	—	—	—	—
22 : 0	4.1	1.7	4.5	3.2	1.6	1.5	3.0	5.2	1.6	1.5	—
22 : 1	—	—	—	5.5	4.3	5.4	0.4	—	11.2	11.6	4.5
22 : 2	—	—	—	—	2.0	1.0	—	—	1.1	—	1.2
22 : 6	0.8	0.4	0.8	1.9	2.8	1.8	0.9	1.7	3.8	3.6	3.6
24 : 0	—	0.9	1.2	3.8	1.9	2.7	1.7	4.6	2.8	2.7	6.8
24 : 1	4.3	3.4	2.8	1.6	3.1	4.7	7.0	2.9	3.2	3.0	5.5
unidentified	2.6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Table 5. Composition of fatty acids in ganglioside fractions G_{M1} and G_{M2} of cerebral gray matter in amaurotic idiocy cases, %Tabela 5. Kwasy tłuszczowe we frakcjach G_{M1} i G_{M2} gangliozydów istoty szarej mózgu w przypadkach idiotia amaurotica (%)

Fatty acids Kwasy tłuszczowe	Controls Kontrola			Early infantile A.I. Postać dziecięca			Controls Kontrola		Late infantile A.I. Postać późnodzie- cięca		
	2.5 months old 2,5 miesiąca	3.5 months old 3,5 miesiąca	6 months old 6 miesięcy	16 months old 16 miesięcy	15 months old 15 miesięcy	17 months old 17 miesięcy	6 years old 6 lat	7 years old 7 lat	6 years old 6 lat	6 years old 6 lat	6 years old 6 lat
8 : 0	—	—	0.1	—	0.8	—	—	—	—	—	—
9 : 0	—	—	0.1	—	0.4	0.8	—	—	—	0.6	0.1
10 : 0	—	0.8	0.2	1.0	0.6	0.2	1.0	—	0.6	1.7	0.2
11 : 0	—	1.6	0.9	0.4	—	0.6	0.2	0.2	—	—	0.2
12 : 0	0.3	0.2	1.1	0.5	—	—	0.1	0.2	0.3	—	—
unidentified	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13 : 0	5.4	3.8	2.4	2.3	7.2	1.3	1.2	3.2	1.2	7.6	1.0
14 : 0	21.5	24.5	2.8	10.8	12.9	9.1	4.8	6.8	16.3	34.0	5.0
unidentified	—	—	—	—	—	—	2.6	0.6	2.6	—	—
15 : 0	0.7	1.7	0.2	4.1	0.7	4.7	0.6	0.5	0.3	3.8	8.3
unidentified	0.7	1.2	4.9	3.4	—	—	4.4	2.5	3.8	6.4	—
16 : 0	36.9	42.8	28.0	13.5	25.1	7.8	31.0	52.7	13.0	2.6	11.8
16 : 1	1.3	1.3	6.1	3.7	1.8	2.7	5.4	1.6	—	3.0	13.3
17 : 0	2.1	2.7	0.8	4.0	5.8	10.1	0.7	2.7	7.5	10.8	—
unidentified	0.4	—	6.2	3.4	4.0	—	5.4	0.7	3.5	4.0	—
18 : 0	10.7	9.6	8.8	19.1	10.2	9.5	12.0	14.7	10.3	8.0	12.8
18 : 1	0.8	1.1	6.8	1.2	2.2	7.8	5.8	1.0	5.2	2.6	—
18 : 2	0.4	0.3	0.4	1.3	0.4	8.9	0.4	0.3	4.4	0.6	11.8
18 : 3	0.3	0.3	6.4	1.7	0.9	8.8	5.7	0.9	1.1	1.4	10.3
19 : 0	—	—	—	3.7	3.7	—	—	—	3.6	—	—
20 : 0	1.1	0.3	—	3.4	0.9	—	—	—	2.8	—	—
20 : 1	—	—	—	0.6	—	0.6	0.3	0.6	0.3	—	0.5
20 : 2	11.3	0.4	0.5	8.2	5.5	7.7	5.0	1.7	4.5	1.9	8.8
20 : 4	0.5	—	0.1	2.2	3.9	5.6	4.0	0.3	1.3	1.3	6.1
20 : 5	—	—	—	3.0	1.2	3.8	—	0.5	0.6	—	3.9
21 : 2	—	1.3	6.1	—	—	—	—	—	—	—	—
22 : 0	—	0.6	4.9	2.4	0.8	3.0	—	0.3	2.8	—	—
22 : 1	1.1	2.1	1.0	3.7	3.0	1.6	1.1	1.2	5.9	3.1	0.8
22 : 2	0.6	—	4.2	—	—	—	3.0	1.3	1.2	1.7	—
22 : 6	—	—	—	1.1	2.0	1.1	1.1	—	1.1	—	1.8
24 : 0	—	1.0	0.7	0.4	4.3	3.4	1.8	0.6	4.9	2.3	2.6
unidentified	—	—	2.7	—	—	—	—	—	—	—	—
24 : 1	3.9	2.4	3.6	0.9	1.7	0.9	2.4	4.9	0.9	2.6	0.7

Apart from this, the white matter in late infantile amaurotic idiocy cases, exhibited a remarkable relative increase in the content of docosenoic ($C_{22:1}$) acid and a $C_{22:6}$ — polyunsaturated fatty acid.

There was also one case of early infantile amaurotic idiocy, which differed appreciably from the others, in that the gray matter demonstrated strikingly high contents of linolenic ($C_{18:3}$), of $C_{19:0}$ and $C_{20:4}$ fatty acids.

In table 5 is shown the fatty acid composition of the chromatographically isolated G_{M1} and G_{M2} ganglioside fraction. Here too, the low content of palmitic acid ($C_{16:0}$) is the paramount feature of that lipid class in amaurotic idiocy.

DISCUSSION

Fatty acids in the brain are synthesized by two principal cellular mechanisms: the cytoplasmic system of synthesis of saturated fatty acids, mainly of palmitic acid ($C_{16:0}$) and the mitochondrial as well as microsomal system for chain elongation of the preformed fatty acids (Kishimoto and Rodin, 1966). Disturbances of these mechanisms, leading to alterations of the metabolic pathways of fatty acids have been suggested for various diseases of the nervous system. For a brief review of the subject see Yanagihara and Cumings (1969).

The question is, whether or not, in brains with amaurotic idiocy, the ganglioside fatty acid metabolic pathways are impaired. The simplest, though not entirely conclusive way of investigating this question is to study the fatty acid composition of lipids in this gangliosidosis.

The material available for such studies, has usually, sometimes even for years, been fixed in formalin. That is why, the effect of long-term fixation on the fatty acid pattern must be considered during interpretation of the results. According to Cherayil (1968), who compared the fatty acid composition of fresh and formalin-fixed samples, no apparent deviations in the fatty acid pattern were found after formalin treatment for as long as 5 months.

However, the effect of longer conservation of brain specimens in formalin on the fatty acid composition of brain lipids is still unknown, and thus, great caution should be maintained when conclusions are drawn from results obtained on fixed material.

Data concerning the fatty acid content of cerebral lipids in amaurotic idiocy are rather scanty in the literature. Saifer et al. (1963) have established only insignificant alterations in the fatty acid composition of the cerebral strandine in the Tay-Sachs disease. Rouser et al. (1965) have found that the fatty acid pattern of brain lecithin and sphingo-

myelin in Tay-Sachs disease is intermediate between the composition in normal infants and adults. In their next report summarizing the up-to-date results concerning the metabolic defects in Tay-Sachs disease, Rouser et al. (1965) emphasized that the fatty acid content of gangliosides in a Tay-Sachs brain is similar to that in a normal infant brain, and thus the absence of ganglioside degradation in this disease cannot be attributed to a pathological fatty acid pattern.

In our studies of brains with early and late infantile amaurotic idiocy the fatty acid pattern of the total lipid extract, and of the chromatographically isolated gangliosides, and ganglioside fractions G_{M1} and G_{M2} of the cerebral gray matter did not deviate essentially from controls, except for one case mentioned in Results. Hence, no contribution to the explanation of abnormal gangliosides in amaurotic idiocy can be provided from these studies.

The fatty acid composition of the ganglioside moiety stored in amaurotic idiocy does not deviate significantly from that of normal gangliosides of cerebral gray matter. As far as late infantile cases are concerned a lack of abnormalities is rather conceivable as only in single cases of this subtype of amaurotic idiocy a more or less defined storage of some gangliosides was noted.

As regards the fatty acid composition of the cerebral white matter some additional questions arise. First of all the problem, whether the isolated ganglioside fraction is derived from myelin, or rather from other structural components of white matter. According to Suzuki et al. (1967) and Palo et al. (1970) some ganglioside appeared in myelin, whereas Cumings et al. (1968) produced evidence that myelin isolated in caesium chloride-gradient centrifugation is completely devoid of ganglioside. It seems, therefore, reasonable to assume that the gangliosides of white matter are derived from non-myelin particles, such as microsomes and other intracellular membranes.

Basing on our results concerning the fatty acid composition of lipids of both the white and gray matter in amaurotic idiocy, we are not able to postulate any deviation in the fatty acid metabolism at different subcellular sites.

It is accepted that a decrease of nervonic acid ($C_{24:1}$) in the white matter can be regarded as the first sign of demyelination (Yanagihara and Cumings, 1969). A decrease in long-chain fatty acids including C_{24} has been reported in several cases of primary and secondary demyelination (Menkes, 1966, Ställberg-Stenhagen and Svennerholm, 1965).

In our material of Tay-Sachs brains, in which a secondary demyelination is to be expected, the content of lignoceric acid ($C_{24:0}$) was indeed

lowered, but not that of nervonic acid ($C_{24:1}$) which showed normal values.

Nevertheless, we could not consider our results as being at variance with the findings of other workers, since the fatty acids in question are particularly representative for cerebroside, which were not isolated in our investigations, and in which the eventual changes were more likely to be detected.

CONCLUSIONS

The fatty acid pattern of total lipids from the gray and white matter and of the chromatographically isolated total gangliosides as well as of G_{M1} and G_{M2} ganglioside fractions was determined in 3 cases of early infantile amaurotic idiocy and in 3 cases of late infantile amaurotic idiocy by means of gasliquid chromatography. These results were compared with control material from cases who died of other than neurological disorders. The findings were:

1. The fatty acid pattern of the total lipid extract, of the chromatographically isolated gangliosides, and of the ganglioside fractions G_{M1} and G_{M2} of the cerebral gray matter did not deviate essentially from controls.
2. The ganglioside moiety stored in amaurotic idiocy does not differ significantly in fatty acid composition from normal gangliosides of cerebral gray matter.
3. The fatty acid composition of the cerebral gray matter in amaurotic idiocy is normal, except for the decreased content of lignoceric acid ($C_{24:0}$) in the early infantile type.

M. Wender, Z. Adamczewska, J. Dymecki, J. Kulczycki

SKŁAD KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W MÓZGU W PRZYPADKACH IDIOTIA AMAUROTICA

S t r e s z c z e n i e

Przy pomocy chromatografii gazowej przeprowadzono analizę składu kwasów tłuszczowych w całkowitych lipidach, w gangliozydach i we frakcjach G_{M1} i G_{M2} gangliozydów istoty szarej i białej mózgu w trzech przypadkach choroby Tay-Sachsa i w trzech przypadkach późno-dziecięcej postaci idiotia amaurotica.

Uzyskane wyniki porównywano z danymi z przypadków kontrolnych, obejmujących pacjentów odpowiednich grup wieku, którzy zmarli z przyczyn pozaneurologicznych.

W przebadanych przypadkach stwierdzono, że 1) skład kwasów tłuszczowych w wyciągach całkowitych lipidów oraz w chromatograficznie wyodrębnionych

gangliozydach i we frakcjach G_{M_1} i G_{M_2} gangliozydów istoty szarej mózgu nie różnił się istotnie od obrazu kontrolnego; 2) Kwasy tłuszczowe w gangliozydach odkładanych w idiotia amaurotica nie różniły się istotnie składem od kwasów tłuszczowych z prawidłowych gangliozydów istoty szarej mózgu; 3) Skład kwasów tłuszczowych w istocie szarej mózgu w przypadkach idiotii amaurotycznej jest prawidłowy z wyjątkiem zmniejszonej zawartości kwasu lignocerynowego ($C_{24:0}$) w dziecięcej postaci tej choroby.

M. Вендер, З. Адамчевска, Я. Дымецки, Я. Кульчицки

ОБРАЗЕЦ ЖИРНЫХ КИСЛОТ МОЗГА В АМАВРАТИЧЕСКОЙ ИДИОТИИ

Резюме

Образец жирных кислот общих липидов серого и белого вещества и хроматографически изолированных общих ганглиозидов, а также G_{M_1} и G_{M_2} ганглиозидных фракций определялся в трех случаях ранней инфантильной амавротической идиотии и в трех случаях поздней инфантильной идиотии амавротической при помощи газо-жидкостной хроматографии. Эти результаты сравнивались с контрольным материалом, который исключался из опыта вследствие других неврологических нарушений.

Получены следующие результаты: 1) Образец жирных кислот общего липидного экстракта хроматографически изолированных ганглиозидов и ганглиозидных фракций G_{M_1} и G_{M_2} белого вещества головного мозга не отклонялся существенно образом от контрольных данных, 2) Ганглиозиды, отложенные в амавротической идиотии, не отличались существенно образом составом жирных кислот от нормальных ганглиозидов серого вещества головного мозга, 3) Состав жирных кислот серого вещества головного мозга в амавротической идиотии нормальный за исключением уменьшенного содержания кислоты ($C_{24:0}$) в раннем инфантильном субтипе.

REFERENCES

1. Amaducci, I., A. Arnetoli and P. Borri: Fatty acids and aldehydes in choline and ethanolamine phosphoglycerides and in cholesterol esters in the white matter of multiple sclerosis brains. Second International Meeting of the International Society for Neurochemistry, Milan, September 1—5, 1969, Tamburini Editore, 70—71.
2. Borri, P., G. Macchi and M. Taramelli: Fatty acid composition of brain cholesterol esters in some neurological disorders with myelin involvement. *Neuropat. Pol.* 1969, 7, 287—296.
3. Cherayil, G.: Fatty acid composition of brain glycolipids in Alzheimer's disease, senile dementia, and cerebrocortical atrophy. *J. Lipid. Res.* 1968, 9, 207—314.
4. Cumings, J., J. Thompson and H. Goodwin: Sphingolipids and phospholipids in microsomes and myelin from normal and pathological brains. *J. Neurochem.* 1968, 15, 243—248.

5. Endres, J.: An apparatus for the rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *J. Am. Oil Chemists'Soc.* 1966, 43, 600.
6. Gerstl, B., R. Hayman and P. Bond: Morphological and neurochemical study of Pelizaeus — Merzbacher disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 1965, 28, 540—547.
7. Hansen, I. and J. Clausen: The fatty acids of the human foetal brain. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* 1968, 22, 231—238.
8. Jatzkewitz, H., H. Pilz and K. Sandhoff: Quantitative Bestimmungen von Gangliosiden und ihren Neuraminsäure — freien Derivaten bei Infantilen, Juvenilen und Adulten Formen der Amaurotischen Idiotie und einer Spätinfantilen biochemisch Sonderform. *J. Neurochem.* 1955, 12, 136—141.
9. Kishimoto, Y. and N. Rodin: Metabolism of brain glycolipid fatty acids. *Lipids* 1966, 1, 47—61.
10. Menkes, J., M. Philippart and M. Concone: Concentration and fatty acid composition of cerebroside and sulfatides in mature and immature human brain. *J. Lipid. Res.* 1966, 7, 479—486.
11. Palo, J., P. Riekkinen, U. Rinne, J. Irjala, K. Puro and H. Savolainen: Protein and ganglioside composition of human central nervous system myelin. *Acta Neurol. Scand.* 1970, 46, Suppl. 43, 240.
12. Rouser, G., G. Feldman and C. Galli: Fatty acid compositions of human brain lecithin and sphingomyelin in normal individuals, senile cerebral cortical atrophy, Alzheimer's disease, metachromatic leucodystrophy, Tay-Sachs and Niemann-Pick diseases. *J. Am. Oil Chemists'Soc.* 1965, 42, 411—412.
13. Rouser, G., G. Kritchevsky and C. Galli: Speculations on the nature of the metabolic defects in Tay-Sachs, Niemann-Pick, Gaucher's and Alzheimer's diseases, and metachromatic leucodystrophy. *J. Am. Oil Chemists'Soc.* 1965, 42, 412—416.
14. Saifer, A., M. Robin and B. Volk: Chromatographic studies of normal and Tay-Sachs gangliosides (peptide-strandin). *J. Neurochem.* 1963, 10, 577—589.
15. Ställberg-Stenhagen, S. and L. Ställberg-Stenhagen: Changes in the fatty acid composition of cerebroside and sulfatides of human nervous tissue with age. *J. Lipid Res.* 1968, 9, 215—225.
16. Suzuki, K., S. Poduslo and W. Norton: Gangliosides in the myelin fraction of developing rats. *Biochim. biophys. Acta* 1967, 144, 375—381.
17. Svennerholm L. and S. Ställberg-Stenhagen: Changes in the fatty acid composition of cerebroside and sulfatides of human nervous tissue with age. *J. Lipid. Res.* 1968, 9, 215—225.
18. Yanagihara, T. and J. Cumings. Fatty acid composition of cerebroside and cerebroside sulphatides in cerebral oedema. *Acta neuropath. (Berlin)* 1969, 12, 62—67.

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

MARIA DAŃBSKA, BOGNA SCHMIDT-SIDOR

DEUX CAS D'AGYRIE ET SON RAPPORT AUX MALFORMATIONS DU CERVEAU À L'INCIDENCE FAMILIALE

Centre de la Médecine Expérimentale et Clinique de l'Académie Polonaise
des Sciences, Département de Neuropathologie
Chef de Département: prof. agr. M. J. Mossakowski
Institut de Psychoneurologie, Département de Neuropathologie
Chef de Département: prof. agr. J. Dymecki

La lissencephalie en tant que caractère principal du cerveau est une des malformations rarement constatées. Une quinzaine de cas typiques d'agyrie (Daube et Chou 1966, Gross et Jellinger 1969) fut signalée dans ce groupe. Quelques autres qui dépassent les strictes critères diagnostiques de cette anomalie furent aussi rapportés. Notre communication concerne deux cas dont l'analyse semble intéressante premièrement comme comparaison de la forme typique et d'une autre intermédiaire entre différents types de troubles de migration dans les cerveaux lissencephaliques, deuxièmement du point de vue des problèmes soulevés par la coïncidence des malformations du système nerveux, surtout ceux de leur incidence familiale.

Cas I. R.Ž. prématurément né et pesant à la naissance 1850 grammes. Un hydramnios fut constaté au cours de l'accouchement. Anamnèse familiale impossible à établir. Le nourrisson, à l'âge de trois mois et demi, fut admis à l'hôpital. On y constata une hypotrophie généralisée, une hernie inguinale bilatérale, une tetraparèse spastique et une pneumonie qui fut la cause du décès. L'autopsie générale découvrit en plus un vice cardiaque.

Le cerveau, à l'examen macroscopique, présenta la caractéristique suivante: petite dimension, surface lisse; seulement les scissures de Sylvius et calcarine ainsi que le sillon d'hippocampe étaient visibles (fig. 1). Sur les coupes transversales des hémisphères la forme, ainsi que le volume du système ventriculaire, ressemblent à ceux dans le cerveau d'un fœtus de quatre mois.

Techniques microscopiques: grandes coupes transversales, passant par les niveaux représentatifs des hémisphères, du tronc cérébral et du cervelet. Colorations: hématoxyline-eosine, crésil-violet, Heidenhain.

L'examen microscopique révéla que la partie hémisphérique, passant de l'épendyme en dehors, contient une zone très mince de la substance blanche, suivie d'une large couche, parsemée de neurons plus ou moins murs, à l'arrangement radiaire en certains endroits (fig. 2). Une délimitation exacte entre cette zone et l'écorce proprement dite est très difficile à fixer. Celle-ci est caractérisée seulement par une densité plus prononcée et une maturité plus évidente des cellules nerveuses (fig. 3). Ces dernières sont fréquemment arrangés d'une manière anormale (fig. 4). Les noyaux gris centraux sont bien développés ainsi que le tronc cérébral (sur la coupe qui pût être analysée, l'anomalie des olives ne fut pas constatée). Dans le cervelet des foyers hétérotopiques de l'écorce furent dépistés dans la substance blanche.

Cas II. Nouveau-né féminin „L'". Quatrième enfant de parents jeunes et bien portants. Un des enfants, nés plus tôt des mêmes parents, est décédé à l'âge d'un mois. Dès sa naissance il témoignait des troubles cérébraux. L'autopsie n'a pas été pratiquée. L'examen du cas présenté témoigna: crâne de petite dimension avec une tuméfaction couverte du cuir dans la région occipitale, micrognathie, balles d'oeil plantées moins profondément que dans les cas normaux. L'examen neurologique démontra une tétraparésie spastique. Une intervention chirurgicale, pratiquée le quatorzième jour de la vie de l'enfant en question, contribua à diagnostiquer une méningocoele occipitale et une méningite. L'enfant décéda au vingt-quatrième jour de sa vie.

L'autopsie ne constata aucune malformation des organes.

L'examen macroscopique du cerveau prouva: des hémisphères agyriques; seulement la scissure de Sylvius, la scissure de cingulum, le sillon de l'hippocampe et la scissure calcarine visibles. À la base du cerveau furent constatés: du côté gauche un manque du lobe olfactif, du côté droit une hypoplasie de celui-ci. Les hémisphères du cervelet de faible volume, sans formation de lobes, de lobules et de folioles. Sur les coupes transversales système ventriculaire colpocéphalique.

Techniques microscopiques analogues à celles du premier cas. L'examen à la loupe permit de constater dans la paroi hémisphérique à l'extérieur d'une zone de la substance blanche une large couche de la matière grise, correspondant à l'écorce, mais de structure anormale (fig. 5). La capsule interne et les voies du tronc myélinisées, conformément à l'âge de l'enfant. Dans le cervelet une fissure à la place du vermis par laquelle une propulsion du plexus avait lieu (fig. 6).

Au microscope il fut constaté que la couche correspondant à l'écorce contient des foyes et des îlots de cellules. Ce qui est remarquable, c'est le différent degré de maturité des cellules. Les neurones sont mûrs mélangés à des éléments complètement immatures. Toutes ces cellules sont amassées d'une manière entièrement désorganisée (fig. 7) des structures amonales seulement sont un peu mieux formées et, à la place du gyrus rectus, il se trouve une circonvolution à l'aspect micropolygyrique.

Les noyaux gris centraux sont bien développés. Au niveau du tronc une fissure entre les tubercules quadrijumeaux fut décélée (fig. 8). Le cervelet, outre la dysraphie déjà décrite, démontra un aspect micropolygyrique de l'écorce (fig. 9).

En plus le cerveau malformé fut atteint par un processus inflammatoire, s'étendant depuis les méninges et le système ventriculaire sur le tissu nerveux (fig. 10).

DISCUSSION

Le premier de deux cas que nous venons de présenter, répond entièrement au tableau classique de l'agyrie. La structure topographique des neurones, destinés à l'écorce, est telle, comme si le facteur responsable pour la malformation retenait leur migration vers le lieu de leur destination au cours du deuxième au troisième mois de gestation. Il en résulte une similitude au cerveau d'un fœtus de trois mois, à l'exception de l'absence des foyers périventriculaires de martix. L'image répond à celle qui fut décrite par Malamud (1957), Bargeton (1959), Miller (1963), Münchoff et Noetzle (1965), Daube et Chou (1966), elle reste conforme aux observations publiées par Schenk (1966).

Le deuxième des cas exposés, malgré sa similitude au tableau général des deux hémisphères cérébrales du premier cas, présente un caractère différent de malformation de l'écorce. Quelques endroits des hémisphères cérébrales et le cervelet font penser à des „ponts de passage” à d'autres formes de troubles de migration, proches de la micropolygyrie.

Les perturbations de migration font dans ce cas partie d'un complexe de troubles de développement, appartenant au groupe de dysraphie cérébrale (Ostertag 1956, Tridon 1959) avec une aplasie de lobe olfactif. Le fait que dans la famille de l'enfant examiné l'on peut soupçonner une anomalie nerveuse dans la fratrie, ainsi que le caractère des malformations constatées chez lui avec la lissencephalie, nous engage à rappeler d'autres observations au sujet de l'incidence familiale des cas avec grands troubles de migration. Sept parmi les dix-sept cas de l'agyrie classique témoignent d'une tare familiale. Le cas le plus typique

c'est la fratrie étudiée par Miller (1963). Mais aussi De Lange (1939), Münchoff et Noetzel (1965), Daube et Chou (1966), signalent une certaine inclination à des anomalies répétées chez les parents. Dans le cas de Josephy (cité par Tridon 1959), l'agyrie coïncide avec une malformation pourant être située dans le cadre „d'état dysraphique” comme ce fut noté pour notre deuxième cas. C'est dans ce groupe qu'un certain nombre de malformations se produit avec incidence familiale, vraisemblablement héritée recessivement (Stern 1960, Hoffmann 1965); il semble qu'avec une grande influence des facteurs exogènes (Polman 1950). Des observations similaires concernent aussi quelques autres exemples du groupe des malformations migratoires tardives (Jacob 1936, Reznik et Alberca 1963). Kakulas et coll. (1968) constatèrent dernièrement un lien entre la pachygyrie et la Trisomie 17—18; c'est avec cette dernière que coïncident des anomalies accompagnées selon Reznik et Alberca (1963) des troubles migratifs.

Comme cependant dans la plupart des cas neuropathologiquement examinés les données nécessaires à clarifier les facteurs étiopathogéniques font défaut, la discussion sur les cas, même avec des données partielles, semble être justifiée.

M. Dąbska, B. Schmidt-Sidor

DWA PRZYPADKI AGYRII A WADY MÓZGU WYSTĘPUJĄCE RODZINNIE

S t r e s z c z e n i e

W pracy podano dwa przypadki wad rozwojowych mózgu. Pierwszy przypadek przedstawia typowy obraz agyrii, w drugim makroskopowo stwierdzono również bezzakrętowość, jednak badanie mikroskopowe ujawniło odmienny typ zaburzeń migracji w niektórych okolicach, będący formą przejściową do innych form zaburzeń rozwojowych kory mózgu. W przypadku tym stwierdzono ponadto w mózdzku i w blaszce czworaczej inne nieprawidłowości, należące do grupy dysrafii.

Charakter współistniejących wad i wywiad rodzinny skłania do rozważenia rodzinnego występowania przypadków z ciężkimi zaburzeniami migracji neuronów w pólkulach mózgu.

M. Домбска, Б. Шмидт-Сидор

ДВА СЛУЧАЯ АГИРИИ И ДЕФЕКТЫ МОЗГА, НАБЛЮДАЮЩИЕСЯ В СЕМЬЕ

Резюме

В работе сравнивались два случая дефектов в развитии мозга. Первый случай представляет собой типичный образ агирии, во втором — макроскопически также обнаружено отсутствие извилин, хотя микроскопическое исследование

показало другой тип нарушений миграции в некоторых районах, являющийся переходной формой к другим формам нарушения развития коры мозга. В этом случае обнаружено кроме того в мозжечке и в пластинке четверохолмия другие нарушения, относящиеся к группе дизрафии.

Характер сосуществующих дефектов и семейный анамнез дает основание судить о семейном происхождении случаев тяжелых нарушений миграции нейронов в полушариях головного мозга.

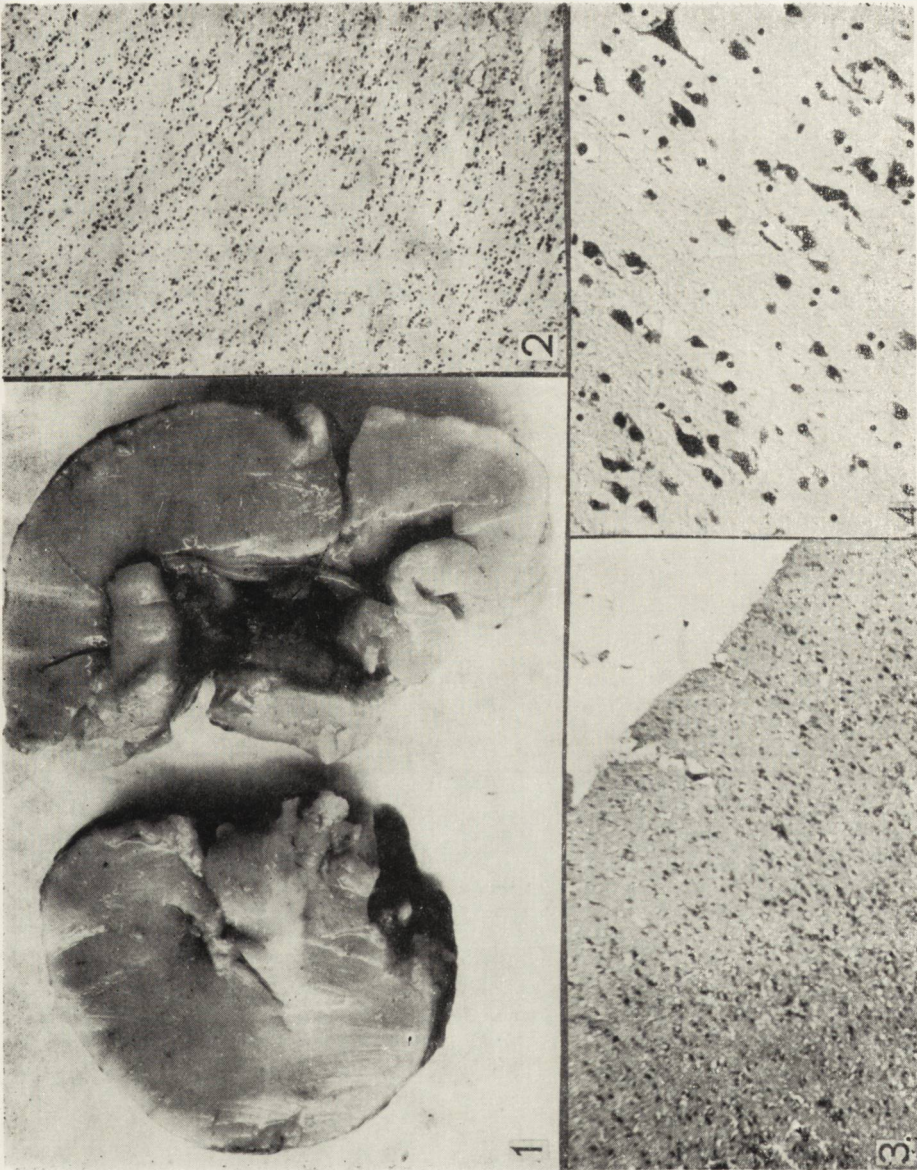
BIBLIOGRAPHIE

1. Bargeton E. Les malformations multiples. Malformations congenitales du cerveau. Paris-Masson, 1959, 361—375.
2. Daube J. R. Chou S. M. Lissencephaly: Two cases. *Neurology*, 1966, 16, 179—191.
3. Gross H., Jellinger K. Morphologische Aspekte zerebraler Missbildungen. *Wien. Z. Nervenheilk.* 1969, 27, 9—37.
4. Hoffman E. P. The Problems of spina bifida and cranium bifidum. *Clinical Pediatrics*, 1965, 4, 709—716.
5. Jacob H. Faktoren bei der Entstehung der normalen und der entwicklungs-gestörten Hirnrinde. *Ž. ges. Neur. Psych.* 1936, 155, 1—39.
6. Josephy H. 1944. cit après Tridon (17).
7. Kakulas B. A., Trovell H. R., Cullity G. J. The neuropathology of the 17—18 Trisomy syndrome. *Proc. Aust. Ass. Neurol.* 1968, 5, 189—195.
8. Lange de C. Lissencephalie bei Menschen. *Monatschr. Psych. Neurol.* 1939, 101, 350—381.
9. Malamud N. Atlas of Neuropathology Berkeley. Univ. of California 1957, 388—391.
10. Miller J. Lissencephaly in two siblings. *Neurology* 1963, 13, 841—850.
11. Münchoff C., Noetzel H. Über eine nahe zu totale Agyrie bei einem 6 Jahre alt gewordenen Knaben. *Acta Neuropath.* 1965, 4, 469—475.
12. Ostertag B.: Missbildungen. *Hdb. spez. path. Anat. Histol.* Bd. XIII/4 363—691. Berlin-Springer. 1956.
13. Polman A. Anencephaly, spina bifida and hydrocephaly. *Genetica*, 1950, 25 —29.
14. Reznik M., Alberca R.: Hypertelorisme et lissencephalie. *Acta Neurol. Belg.* 1963, 63, 970—973.
15. Schenk V. W.: Quantitative Analysis in a Case of Lissencephalia. *Psych. Neurol. Neurochir.* 1966, 69, 297—303.
16. Stern C.: Principles of human genetics. San Francisco-Freeman & Comp. 1960.
17. Tridon P.: Les dysraphies de l'axe nerveux et de ses enveloppes cranio-rachidiennes. Paris-Doin. 1959.

Adresse des auteurs: Centre de la Médecine Expérimentale et Clinique de l'Académie Polonaise des Sciences, Département de Neuropathologie, Warszawa, ul. Pasteura 3.

FIGURES

- Fig. 1.* Cas I. Vue général des coupes frontales.
Ryc. 1. Przep. I. Obraz ogólny przekrojów czołowych mózgu.
- Fig. 2.* Cas. I. Couche des cellules retenues en train de migration. Cresil-violet. x 60.
Ryc. 2. Przep. I. Warstwa komórek zatrzymanych w czasie migracji. Krezyl-fiolet. Pow. 60 x.
- Fig. 3.* Cas I. Écorce non-stratifiée. Cresil-violet. x 100.
Ryc. 3. Przep. I. Nieuwarstwiona kora. Fiolet krezylu. Pow. 100 x.
- Fig. 4.* Cas I. Cellular d'écorce „se faisant face”. Cresil-violet. x 400.
Ryc. 4. Przep. I. Komórki kory „ustawione naprzeciw siebie”. Fiolet krezylu. Pow. 400 x.
- Fig. 5.* Cas II. Hémisphère agyrique. Heidenhain. Augm. loupe.
Ryc. 5. Przep. II. Pólkula nieuzwojona. Heidenhain. Pow. lupowe.
- Fig. 6.* Cas II. Cervelet dysraphique avec écorce malformée. H-E. Augm. loupe.
Ryc. 6. Przep. II. Dysrafia i nieprawidłowe ukształtowanie kory mózdzku. H-E. Pow. lupowe.
- Fig. 7.* Cas II. Amas désordonnés des cellules d'écorce. Cresil-violet. x 100.
Ryc. 7. Przep. II. Nieuporządkowane układy komórkowe w korze. Fiolet krezylu. Pow. 100 x.
- Fig. 8.* Cas II. Fissure entre les tubercules quadrijumeaux. Cresil-violet. x 100.
Ryc. 8. Przep. II. Szczelina między wzgórkami blaszki czworaczej. Fiolet krezylu. Pow. 100 x.
- Fig. 9.* Cas II. Écorce de cervelet à l'aspect micropolygyrique. Cresil-violet. x 100.
Ryc. 9. Przep. II. Kora mózdzku o obrazie mikropolygryi. Fiolet krezylu. Pow. 100 x.
- Fig. 10.* Cas II. Infiltration inflammatoire des méninges. Cresil-violet. x 400.
Ryc. 10. Naciek zapalny w oponach. Fiolet krezylu. Pow. 400 x.





E. OSETOWSKA, JAN PIETRZYK, BARBARA CHOJNACKA

ZAPALENIE MÓZGU
PO SZCZEPIONCE SALKA U MAŁPY *CERCOPITHECUS*

Pracownia Neuropatologii Porównawczej Zespołu Neuropatologii
Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN
Kierownik Pracowni: prof. dr med. E. Osetowska
Wytwórnia Surowic i Szczepionek w Lublinie
Dyrektor: dr M. Biernacki

Szerokie zastosowanie małpy w neuropatologii eksperymentalnej i w kontroli neurobiologicznej przemysłu surowic i szczepionek sprawia, że każda nowa obserwacja dotycząca spontanicznej patologii mózgowej tego zwierzęcia przedstawia określoną wartość praktyczną. Warunki w jakich zetknęliśmy się z przypadkiem przedstawionym poniżej potwierdzają tę regułę znaną ogólnie patologii porównawczej (Beveridge 1968).

Przypadek (nr kliniczny 110) dotyczy małpy *Cercopithecus* (koczkodan zielony) w wieku około 3 lat. W ciągu 40 dniowej obserwacji na kwarantannie zwierzę zostało uznane za zdrowe tak pod względem stanu ogólnego jak i stanu neurologicznego. W końcu października 1959 r. małpa po powtórny badaniu neurologicznym, została poddana badaniom laboratoryjnym, standardowym dla małp używanych do testu bezpieczeństwa Polio („monkey safety test”). Odczyn tuberkulinowy wykazał wynik ujemny; w surowicy krwi nie stwierdzono przed szczepieniem przeciwciał w stosunku do trzech typów wirusa Polio, ani w stosunku do wirusa SV 40. Wraz z odpowiednią liczebną grupą innych małp, została zaszczepiona inaktywowaną szczepionką (Salk) Polio, typ III, Saukett, w ilości po 0,5 ml do każdej półkuli mózgu, 0,2 ml do kanału kręgowego i 1,0 ml domięśniowo. Temperatura małpy w dniu szczepienia wynosiła 37,8, co odpowiada przyjętej normie. Objawów neurologicznych, jak zaznaczono powyżej, nie stwierdzono. Następnego dnia po szczepieniu temperatura wynosiła 39,5. Jest to zwykła reakcja na zabieg, która w przypadkach bez powikłań cofa się około 10 dnia obserwacji. W 4 i 6 dniu po szczepieniu nie stwierdzono

we krwi wirusa Polio. Małpa była cały czas bez objawów neurologicznych, ale temperatura utrzymywała się na poziomie 39,5—39,9 do końca obserwacji. Zwierzę było nieco apatyczne i wykazywało zmniejszone łaknienie, czego na ogół nie spotyka się w przebiegu prawidłowym. Po 21 dniach od szczepienia małpa została poddana wykrwawieniu pod narkozą eunarconem.

W sekcji ogólnej w narządach wewnętrznych nie stwierdzono odchyleń od normy. Mózg i rdzeń utrwalono w formolu.

Na sekcji makroskopowej mózgu zauważono w półkulach mózgu i w rdzeniu tylko ogniska pourazowe po wkluciach.

Do badania mikroskopowego wykorzystano standardowe skrawki używane do testu Polio oraz pobrano dodatkowo wycinki przez półkule z okolicy czołowej i ciemieniowo-potylicznej oraz dodatkowe skrawki z pnia mózgu, mózdzku i rdzenia. Materiał parafinowy barwiono: hematoksyliną-eozyną, fioletem krezyłu oraz metodami: van Gieson, Heidenhaina, Kanzler-Arendta (glej włóknisty) i Holmesa (włókna retikulinowe i inne srebrochłonne).

Protokół mikroskopowy (z. 205/70).

Na kolejnych skrawkach z poziomów czołowych i okołosrodkowych (terminologia anatomiczna wg. van Bogaerta i Innesa 1962) widoczne są ogniska krwotoczno-rozmięknieniowe po wkluciu. Po stronie lewej ognisko to sięga od kory *G. frontalis medius* przez istotę białą, do *n. Caudatus* i grupy przednio-bocznej jąder wzgórza. Po stronie prawej ognisko pourazowe odpowiada *area olfactoria* i na kolejnych przekrojach przesuwają się do płata i kory skroniowej zakrętu skroniowego górnego. Analogiczne ognisko w rdzeniu lędźwiowym zajmuje pole sznurów tylnych. Morfologia takich ognisk była już szczegółowo opisywana gdzie indziej (Osetowska, Taraszewska 1967; Rydzewski 1967). W okolicach sąsiadujących bezpośrednio z ogniskami rozpadu nie stwierdzono bardziej nasilonych reaktywnych odczynów zapalnych.

Zmianą uderzającą i niezwykłą dla materiału kontrolnego Polio jest występowanie w całym przypadku nacieków zapalnych okołonaczyniowych, zlokalizowanych bądź to tylko w istocie białej bądź na pograniczu struktur szarych i istoty białej. Nacieki te nie są zbyt liczne, na poszczególnych skrawkach spostrzega się pod lupą przeważnie pojedyncze naczynia z naciekiem, rzadziej dwa na tym samym poziomie. Nieco większe zagęszczenie zmian zapalnych obserwuje się w otoczeniu komory IV zarówno w mózdzku jak i w pniu mózgu. Pojedyncze nacieki występują na wszystkich poziomach rdzenia, również w istocie białej, lub na jej pograniczu z istotą szarą rdzenia.

STRUKTURA PROCESU

Nacieki zapalne związane są z naczyniami żylnymi i naczyniami przedwłosowatymi i włosowatymi. Wyjątkowo spotkano pojedynczy naciek przy bardzo małym naczyniu tętnicznym. W obrębie światła nacieczonych naczyń obserwuje się niekiedy tendencje zakrzepowe. Przy naczyniach większych nacieki skupiają się w ścianach naczyń i w ich bezpośrednim sąsiedztwie, bez tendencji do rozpraszania się w otoczeniu. Utworzone są przez komórki mononuklearne, głównie limfocyty (ryc. 1). Przy naczyniach mniejszego kalibru nacieki są mieszane limfo-histiocytarne, z dużą domieszką mikrogleju, który rozsiewa się na dość dużej przestrzeni w otoczeniu (ryc. 2 i 3). Podobny skład mieszany z przewagą elementów histiocytarnych i mikroglejowych wykazują nacieki przy naczyniach włosowatych (ryc. 4). W pniu mózgu, gdzie są luźno rozsiane neurony jąder istoty siateczkowej nacieki przy bardzo małych naczyniach wymagają dość skrupulatnego różnicowania z grudkami neuronofagicznymi, co możliwe jest czasem tylko po obejrzeniu skrawków następujących po sobie seryjnie (ryc. 5 i 6). Nacieki w rdzeniu mają charakter podobny (ryc. 7), związane są topograficznie tylko z istotą białą. W barwieniach na mielinę przy większych naczyniach żylnych widoczne są pola demielinizacji, rozwijającej się wtórnie w stosunku do zmian zapalnych (ryc. 8). Na żadnym poziomie nie stwierdzono powinowactwa procesu do komórek nerwowych, w szczególności nie znaleziono ani jednej grudki neuronofagicznej. Niewielkie opustoszenia w obrębie kory mózgowej oraz tzw. banalne zmiany neuronalne wśród komórek jąder pnia, mózdzku i rdzenia nie odbiegają od obrazów spostrzeganych u małych nie szczepionych (Osetowska i wsp. 1966). Niewielkie nasilenie glejozy włóknistej widoczne było tylko w obszarach jej fizjologicznego zagęszczenia. W oponach mózgu i rdzenia występowało wzmoczenie ilości limfocytów głównie na poziomach ognisk pourazowych — na ogół zasięg lokalizacyjny zmian w oponach odpowiadał zmianom występującym w tkance mózgowej.

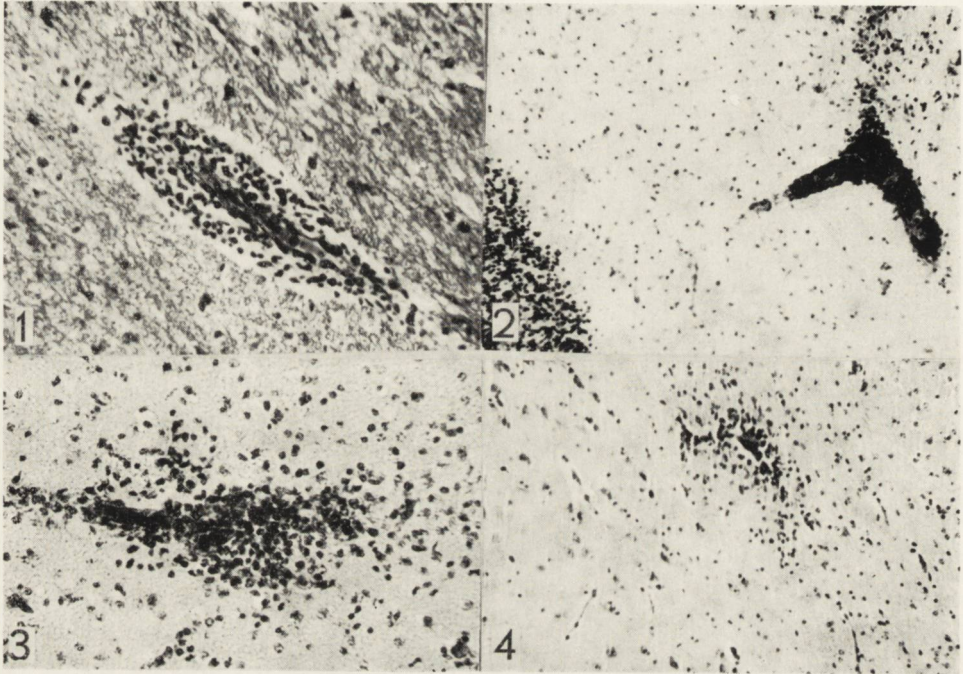
DYSKUSJA

Podstawowym zagadnieniem praktycznym reprezentowanym przez tę obserwację, wchodzącą w skład orzeczenia o wartości użytkowej danej serii szczepionki, było różnicowanie z *poliomyelitis anterior acuta*. Ze względu na: 1) powiązanie lokalizacyjne zmian zapalnych z istotą białą; 2) ograniczenie wybiórcze do naczyń żylnych, przedwłosowatych i włosowatych; 3) skład limfocytarno-histiocyto-mikroglejowy nacieków, oraz 4) brak wszelkiego powinowactwa do struktur szarych i poszczególnych

neuronów — wykluczono histopatologicznie rozpoznanie *poliomyelitis*. Należy tu dodać, że ta diagnoza różnicowa znalazła pełne poparcie w wyniku badań wirusologicznych. Opierając się na tych samych cechach procesu zapalnego wykluczono, już tylko na zasadzie badania mikroskopowego zakażenie małpy innymi wirusami neurotropowymi, przewidzianymi do różnicowania z Polio w teście bezpieczeństwa (Bodian 1948, Technical Committee on Poliomyelitis Vaccine 1956) Polio. Również porównanie z zapaleniami mózgu i rdzenia występującymi spontanicznie u małpy (van Bogaert 1959, van Bogaert, Innes 1962, Osetowska i wsp. 1966) nie pozwoliło nam na znalezienie obrazów wyraźnie analogicznych do zaobserwowanego.

Charakter nacieków zapalnych, łącznie z jego nieco kłopotliwym *ad casum*, zagęszczeniem zmian w pniu mózgu i mózdzku odpowiada natomiast, niemal ze ściśle alergicznemu zapaleniu mózgu, wywoławanemu u małpy eksperymentalnie (van Bogaert, Innes 1962; Waksman, Adams 1962) oraz zapaleniom poszczepiennym obserwowanym u ludzi (van Bogaert, Radermecker 1963). Rozpoznanie takie przyjęliśmy również dla naszego przypadku.

Teoretycznie małpy używane do kontroli szczepionki Polio znajdują się w sytuacji biologicznie zbliżonej do eksperymentalnego podania zawiesiny tkanki mózgowej z adiuwantem Freund'a, oczywiście z zachowaniem wszelkich właściwych proporcji w tym porównaniu: oprócz antygeny, który stanowi sama szczepionka, możliwe jest przedostanie się do układu krążenia chemicznych produktów pochodzących z tkanki mózgowej, uszkodzonej wprowadzeniem płynu wprost do mózgu i rdzenia (Osetowska 1962). Moment ten jednak nie może odgrywać istotnej roli, ponieważ w taki sam sposób szczepi się wszystkie małpy w produkcji szczepionki Polio. Tymczasem u ponad 6000 małp przebadanych przez naszą pracownię w okresie 10-letniej współpracy z Wytwórnią Surowic i Szczepionek w Lublinie, na obraz zapalenia poszczepiennego natrafiono po raz pierwszy. Trzeba tu więc przyjąć wybiórczą osobniczą wrażliwość opisanej małpy, tj. obecność w jej organizmie chemiczno-strukturalnego elementu w błonie komórkowej lub osłonce mielinowej, który odegrał rolę „ufiksowanego” antygeny — prekursora (Pette, Pette 1963) wchodzącego w reakcję z czynnikiem prowokującym, jakim stało się podanie szczepionki. Należy tu dodać, że żadna z pozostałych kilkudziesięciu małp przebadanych w tejże serii produkcyjnej nie wykazała objawów podobnych (co wyklucza uboczny wpływ samej szczepionki) i że „wiek” morfologiczny obserwowanych zmian daje się pomieścić w czasie obserwacji poszczepiennej (co pozwala uznać szczepienie za właściwy moment wywoławczy).



Ryc. 1. Naciek składający się z jednojądrzastych komórek około naczynia żylnego w istocie białej. Holmes. Pow. 150 x.

Fig. 1. Infiltration of mononuclear cells around venous vessel in white matter. Holmes. x 150.

Ryc. 2. Naciek okołozylny z rozproszonym wokół niego mikroglejem. Istota biała mózdzku. Fiolet krezyłu. Pow. 150 x.

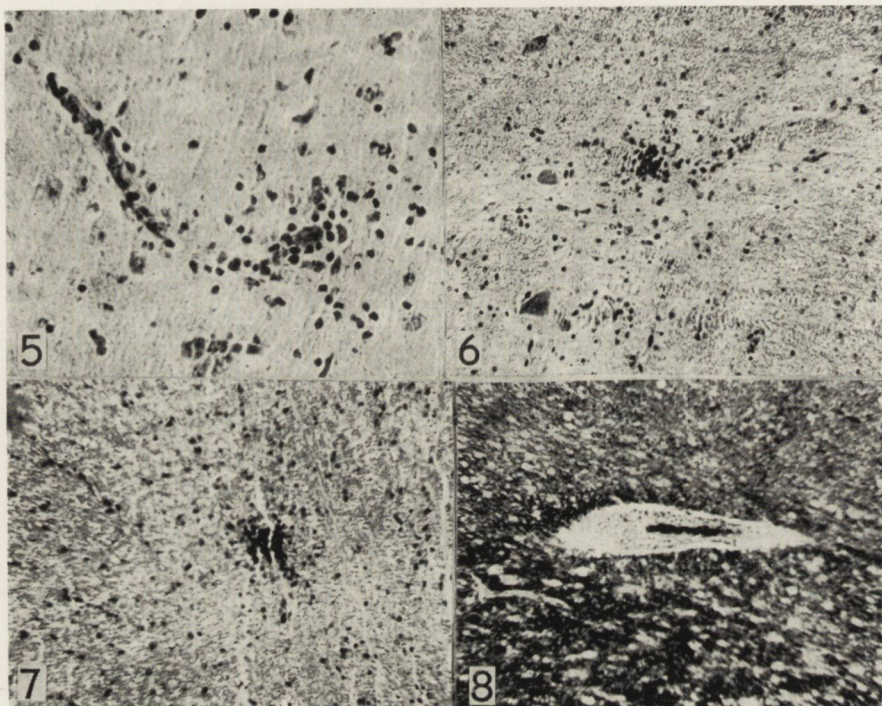
Fig. 2. Perivenous infiltration with dispersed microglia in environment. Cerebellar white matter. Cresyl violet. x 150.

Ryc. 3. Naciek limfocytarno-mikroglejowy przy małym naczyniu żylnym, przechodzący na tkankę otaczającą. H-E. Pow. 150 x.

Fig. 3. Lymphocyte microglial infiltration round small venous vessel, passing into surrounding tissue. H-E. x 150.

Ryc. 4. Naciek limfocytarno-mikroglejowy przy naczyniu przedwłosowatym. Istota biała w nakrywce śródmózgowia. H-E. Pow. 150 x.

Fig. 4. Lymphocyte microglial infiltration of precapillary vessel. White matter in mesencephalic tegmentum. H-E. x 150.



Ryc. 5. Rozproszony naciek jednojądrzastych komórek przy naczyniu włosowatym pomiędzy neuronami opuszki. H-E. Pow. 400 x.

Fig. 5. Dispersed infiltration of mononuclear cells near capillary between bulbar neurons. H-E. x 400.

Ryc. 6. Ten sam poziom, naciek przy naczyniu włosowatym imitujący grudkę neuronofagową. H-E. Pow. 400 x.

Rig. 6. The same level, capillary infiltration imitating neuronophagy nodule. H-E. x 400.

Ryc. 7. Podobny naciek o charakterze grudkowym w istocie białej rdzenia lędźwiowego. H-E. Pow. 150 x.

Fig. 7. Similar infiltration of nodular character in white matter of lumbar spinal cord. H-E. x 150.

Ryc. 8. Naczynie żylnie z naciekiem i demielinizacją w otoczeniu. Heidenhain. Pow. 150 x.

Fig. 8. Perivenous infiltration and demyelination. Heidenhain. x 150.

W patologii ludzkiej związanej z powikłaniami po szczepieniu szczepionką Salka nie natrafiono na opis neuropatologiczny poszczepiennego zapalenia mózgu i rdzenia. W dwóch przypadkach śmiertelnych, które udało się nam odszukać w literaturze (Uehlinger 1957; Liebe, Wöckel 1959) opisano zmiany odpowiadające wczesnej poszczepiennej encefalopatii tj. zmiany o charakterze zaburzeń hemodynamicznych. Natomiast w opisach klinicznych zaburzeń poszczepiennych po tejże szczepionce można by się dopatrywać odpowiedników uogólnionego zapalenia poszczepiennego mózgu i rdzenia z pomyślnym zakończeniem. Zapewne opisana mała również przechorowałaaby pomyślnie proces zapalny o stosunkowo słabym nasileniu i zdobycie tego chyba wyjątkowego dla szczepionki Salka obrazu zawdzięczamy działaniu sekwencji produkcyjnych.

Dodajmy na zakończenie, że z teoretycznego punktu widzenia rozpoznanie w opisanym przypadku zapalenia poszczepiennego i różnicowanie z Polio musi się wydać elementarnie proste. W praktyce jednak przedstawia się inaczej postawienie rozpoznania, od którego zależy bądź to los zaszczepionych w przyszłości dzieci (jeśli wykluczy się Polio), bądź nakłady pieniężne zaangażowane w produkcję serii szczepionki (jeśli nie podejmie się odpowiedzialności za diagnozę różnicującą).

E. Осетовска, Я. Петшик, В. Хойнацка

ЭНЦЕФАЛИТ ПОСЛЕ ПРИВИВКИ САЛЬКА У ОБЕЗЬЯНЫ *CERCOPITHECUS*

Резюме

Описан случай энцефалита у обезьяны, использованной для контроля вакцины против *Poliomyelitis Anterior Acuta*, Салька (инактивированная) для типа III, Саукетт. В дифференцировании с Полио взято во внимание: связь воспалительных изменений с белым веществом, ограничение инфильтратов к венозным и капиллярным сосудам, состав лимфоцитарно-гистиоцито-микроглиальных инфильтратов, отсутствие какого-либо сходства с серыми структурами. В дифференцировании самую большую трудность представляли воспалительные изменения малых сосудов области IV желудочка. Проведенные одновременно вирусологические исследования исключили возможность взаимосвязи мозгового образа с Полио. Авторы сообщения считают представленный образ относительно редким: подобные изменения встречались один раз на протяжении 10 лет сотрудничества в области и на почти 6 тысяч исследованных обезьян. Также в области человеческой патологии осложнений после прививки Салька этого рода картину следует зачислить к очень редким. Описанные в литературе случай летального исхода после прививки относятся к картинам острых энцефалопатий гемодинамического типа. Не исключено, что подобные симптомокомплексы имеют место у привитых детей, но ввиду относительно легких мозговых изменений они кончаются как *restitutio ad integrum*.

Описанная обезьяна, кроме небольших общих симптомов и повышенной температуры не обнаруживала других нейрологических изменений. Можно, следовательно, полагать, что, если бы не очередность продукционного цикла контроля вакцины, описанная обезьяна полностью выздоровела бы без возможности обнаружения изменений в мозгу.

E. Osetowska, J. Pietrzyk, B. Chojnacka

ENCEPHALITIS AFTER SALK'S VACCINE IN THE MONKEY *CERCOPITHECUS*

S u m m a r y

A case of encephalitis is described in a monkey, used for testing the *Polio-myelitis anterior acuta vaccine* of Salk (inactivated) for type III Saukett. In differentiating from Polio, the following symptoms were taken into account: connection of inflammatory changes with white matter, limitation of infiltrations to venous and capillary vessels, the lymphocytic, histiocytic and microglial composition of the infiltration, the absence of any affinity to grey matter structures. Most difficult to differentiate were the inflammatory changes involving small vessels in the region of the 4th ventricle. Simultaneous virological investigations excluded the possibility of the brain picture being due to Polio. The authors believe that the picture found is rather rare.

These changes were found once in the course of ten years collaboration in the monkey safety test in one monkey of the 6 000 examined. As regards human pathology of complications after Salk's vaccine, such a picture is extremely rare. The cases of death after vaccination described in the literature concern acute encephalopathies of haemodynamic type. It is not excluded that similar syndromes occur in vaccinated children, but in view of the relatively mild course of the changes in the brain they end by restitution ad integrum.

The monkey described, beside slight general symptoms and a raised temperature had no neurological changes. It may, therefore, be assumed that, were it not for the sequence of the production cycle of vaccine testing, the animal would have returned to perfect health without any noticeable changes in the brain.

PIŚMIENNICTWO

1. Beveridge W. I. B.: Unis et semblables. Santé du Monde (W. H. O. Paris), 1968, mai, 3—5.
2. Bodian D.: The virus, the nerve cell and paralysis. A study of experimental poliomyelitis in the spinal cord. Bull Hopkins Hosp. 1948, 83, 1—107.
3. Liebe S., Wöckel W.: Landry'sche Paralysis nach Poliomyelitischutzimpfung. Deutsch Med Wschr. 1959, 84, 909—912.
4. Osetowska E.: Observations on healing of post-traumatic lesions of the brain and spinal cord in rhesus monkeys. Acta Med Pol. 1962, 3, 377—394.
5. Osetowska E., Biernacki H., Pietrzyk J.: „Spontaneous” changes in the brains of monkeys used for vaccine production. Pol. Med J. 1966, 5, 1132—1151.
6. Osetowska E., Taraszewska A.: Topografia a morfologia śródmózgowych ognisk urazowych u małp macaca mulatta. Neuropat Pol. 1967, 5, 235—257.

7. Pette E., Pette H.: Some remarks on the pathogenesis of demyelinating diseases. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 1963, 22, 528—532.
8. Rydzewski W.: Morfologia wczesnej porozmięknieniowej blizny śródrdzeniowej u małp macaca rzezus. *Neuropat Pol.* 1967, 259—277.
9. Technical Commettee on Poliomyelitis Vaccine. The Monkey safety test for poliomyelitis vaccine. *Amer. J. Hyg.* 1956, 64, 104—137.
10. Uehlinger E.: Landry'sche Paralyse nach Poliomyelitis-Schutzimpfung. *Schweiz Med. Wschr.* 1957, 87, 813—814.
11. Van Bogaert L. Studies on Spontaneous Primary Encephalitides in the Monkeys. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 1959, 18, 294—323.
12. Van Bogaert L., Innes J. R. M.: Neurologic Diseases of Apes and Monkeys. in: Innes, Saunders, *Comparative Neuropathology*, 1962, Academic Press, New York and London.
13. Van Bogaert L., Radermecker J.: Place des manifestations post-vaccinales dans le cadre de la pathologie nerveuse. *Bruxelles Med.* 1963, 43, 183—190.
14. Waksman B. H., Adams R. D.: Infectious Leukoencephalitis. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 1962, 21, 491—518.

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

MARIA DĄMBSKA, HALINA DUROŚ, MARIA MARCINIAK

USZKODZENIA PŁODÓW I NOWORODKÓW KRÓLICZYCH W PRZEBIEGU KRWIPOCHODNEJ LISTERIOZY U MATKI

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

Samodzielna Pracownia Mikrobiologii i Immunologii Instytutu Matki i Dziecka
Kierownik Pracowni: dr med. A. Kunicka

Listerioza wywoływana przez pałeczkę gramododatnią o nazwie gatunkowej *Listeria monocytogenes* jest szeroko rozpowszechnioną chorobą odzwierzęcą. Zarówno badania kliniczne, jak i doświadczalne ujawniły szczególne znaczenie zakażenia listerią w czasie ciąży, która jak się wydaje zwiększa wrażliwość na tę infekcję (Miller i wsp. 1963, Bręborowicz, Grębowicz 1969). Drogą zakażenia płodu może być niekiedy połknięcie wód (Vialatte i wsp. 1962), zwykle jednak dochodzi do zatorów bakteryjnych i zmian zapalnych w łożysku, a następnie uszkodzenia organizmu płodu z reguły cięższego niż organizmu matki.

Doceniając istotne znaczenie zakażeń śródmacicznych przez *Listeria monocytogenes* przeprowadzono liczne badania doświadczalne nad tym procesem chorobowym (Gray i wsp. 1955, Heydegger 1962, Miller i wsp. 1963, Rittenbach 1966 i inni). Ich wyniki pozostawiają jednak wiele nasuwających się wątpliwości, dlatego, że tylko wyjątkowo udawało się doprowadzić do urodzenia donoszonych, a tym bardziej żywych noworodków. We wstępnych badaniach własnych (Dąmbska i wsp. 1967) napotkaliśmy na podobne trudności. Podejmując dalsze doświadczenia przyjęliśmy za cel próbę prześledzenia zależności między okresem zakażenia zwierząt ciężarnych a nasileniem i charakterem powstałych zmian w aspekcie bakteriologicznym i morfologicznym. Przedmiotem analizy było porównanie uszkodzenia płodów ze zmianami u matek, ze szczególnym uwzględnieniem układu nerwowego.

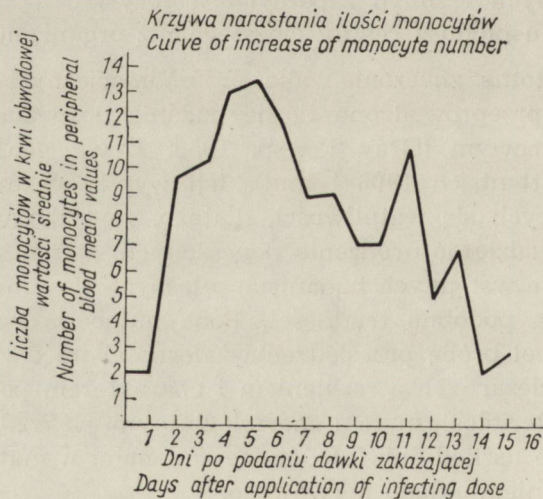
MATERIAŁ I METODA

Do badania użyto 20 królic ciężarnych. Zwierzęta zakażano w 13, 17, 22, 25 i 27 dniu ciąży podając dożylnie żywą zawiesinę szczepu labora-

toryjnego *Listeria monocytogenes* typ 4 b. Gęstość zawiesiny wynosiła 10^4 bakterii w 1 ml. Do zakażenia używano 0,1 ml zawiesiny w fizjologicznym roztworze NaCl. W okresie obserwacji przeprowadzano codziennie badania morfologiczne krwi obwodowej zwierząt zakażonych. Dążąc do uzyskania do badań noworodków donoszonych o możliwie długim przeżyciu, młode zwierzęta usypiano eunarkonem dopiero w stanie ciężkim, zaś dorosłe królice po uspieniu całego ich miotu. Badania bakteriologiczne wykonano z narządów noworodków zarówno martwo urodzonych, jak uspionych oraz z narządów matek. Pobrany świeży materiał przeprowadzano na podłożach płynnych oraz agarze z krwią. Do badania neuropatologicznego użyto mózgi 35 noworodków i 12 królic, od których one pochodziły. Wycinki pobrane z półkul mózgowych oraz pnia mózgu i mózdzku zatapiano w parafinie i barwiono hematoksyliną-eozyną i fioletem krezyłu. Ponadto przeprowadzono badanie morfologiczne wycinków z płuc, wątroby i śledziony, które po zatopieniu w parafinie barwiono hematoksyliną-eozyną.

WYNIKI BADAŃ

Obserwacje kliniczne i badania przyżyciowe pozwoliły na stwierdzenie, że we krwi obwodowej królic z reguły występowała monocytoza (ryc. 1). Największa liczba monocytów pojawiała się w piątym dniu od zakażenia (wykres 1). W tym okresie większość zwierząt nie wykazy-



wała jeszcze klinicznych objawów choroby. Później stawały się one mało ruchliwe i jadły niechętnie. U ośmiu królic, u których zakażenia dokonano w 13 i 17 dniu ciąży wystąpiło poronienie albo maceracja płodu.

Donoszenie ciąży, a nawet urodzenie żywych noworodków okazało się możliwe przy zakażeniu w ostatnich 10 dniach ciąży, tylko w jednym przypadku urodził się żywy królik po zakażeniu w 14 dniu. Noworodki były słabe, źle ssaly. Istotną trudnością w prowadzeniu doświadczeń było zabijanie przez matkę słabego potomstwa. Łącznie od 12 królic uzyskaliśmy 38 płodów i noworodków (tabela 1).

Tabela 1.
Table 1.

Liczba zwierząt zakażonych w 13—27 dniu ciąży Number of animals infected on 13—27 th day of pregnancy	Liczba porodów Number of labors	Liczba urodzeń przedwczesnych i martwych Number of premature and dead births	Liczba donoszonych martwo urodzonych Number of dead births at term	Liczba urodzonych żywych do 4-go dnia przeżycia Number of liveborn animals up to 4th day survival	Razem Total
20	12	3	25	10	38

Tabela 2.
Table 2.

	Liczba zwierząt Number of animals	Liczba badań bakter. Number of bacteriol. examin.	Liczba wyników dodatn. Number of positive results	OUN CNS		Płuca Lung		Wątroba Liver		Śledziona Spleen		Macica Uterus	
				ogółem total +		ogółem total +		ogółem total +		ogółem total +			
Zwierzęta dorosłe Adult animals	20	84	66 78%	20	20 100%	18	15 83%	17	14 82%	14	7 50%	15	10 66%
Zwierzęta nowonarodzone i płody Newborn animals and foetuses	38	64	57 88%	36	36 100%	13	11 85%	15	11 66%	—	—	—	—

Wykonane na tym materiale badania bakteriologiczne przedstawia tabela 2. Z układu nerwowego wyhodowano *Listeria monocytogenes* (ryc. 2) w 100% i to zarówno u zwierząt dorosłych jak i u noworodków, wzrost bakterii wydawał się jednak obfitszy u tych ostatnich. W posiewach z innych narządów dodatnie wyniki wahały się od 50 — 85%.

Badanie neuropatologiczne wykazało następujące zmiany: W mózgach noworodków w 16 przypadkach w oponach były wyraźne nacieki zapalne (ryc. 3), składające się przede wszystkim z limfocytopodobnych komórek jednojądrzastych, nielicznych komórek żernych i pojedynczych leukocytów. Obejmowały one opony sklepiści i podstawy mózgu oraz pnia. W większości przypadków w podoponowej tkance mózgowej zaznaczało się pobudzenie gleju, w trzech przypadkach proces zapalny wyraźnie przechodził wzdłuż naczyń na tkankę nerwową (ryc. 4), dając zespół morfologiczny zapalenia oponowomózgowego. Zaznaczała się w nim skłonność do lokalizacji w przykomorowej istocie białej. W dalszych 6 przypadkach w oponach widoczne było tylko dyskretne pobudzenie elementów komórkowych. W pozostałych 10 przypadkach nie stwierdzono zmian zapalnych w układzie nerwowym. Prawie wszystkie przebadane mózgi wykazywały przekrwienie, w większości z nich występowały również znaczne uszkodzenia miąższowe pod postacią rozlanych i ogniskowych ubytków komórkowych (ryc. 5).

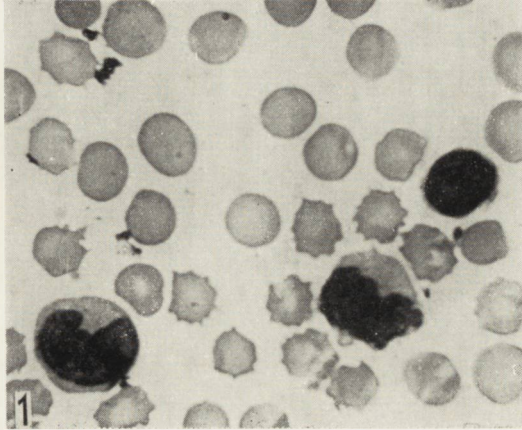
W mózgach królic dorosłych w 9 przypadkach stwierdzono zmiany zapalne. W 8 ograniczały się one do niewielkich nacieków drobno-okrągło-komórkowych w oponach, w jednym nacieki przechodziły odoponowo wzdłuż naczyń na tkankę nerwową, widoczne one były również w splocie komór bocznych. We wszystkich przypadkach występowały uszkodzenia komórkowe, największe w V warstwie kory.

W analizowanych narządach wewnętrznych płodów nie stwierdzono zmian zapalnych. U przebadanych 8 królic dorosłych znaleziono duże nacieki ropne w macicy (ryc. 6) oraz dyskretne zmiany zapalne w płucach i wątrobie.

OMÓWIENIE

Zebrane przez nas obserwacje i uzyskane wyniki pozwalają na stwierdzenie pewnych prawidłowości w przebiegu śródciążowego krwiopochodnego zakażenia *Listeria monocytogenes* u królików.

W czasie obserwacji klinicznej jako potwierdzenie zakażenia przyjęliśmy, zgodnie z doniesieniami Stanley'a (1949) i Seeliger'a (1961) oraz badaniami własnymi (Duroś-Kawecka, Krotoczwil-Skrzypek 1962, Dąbska i wsp. 1967) wystąpienie monocytocyty we krwi obwodowej, którą Todeyon i wsp. (1969) wiążą z wpływem lipidów zawartych w błonie komórkowej *Listeria monocytogenes*. Obecne wyniki wykazują po-



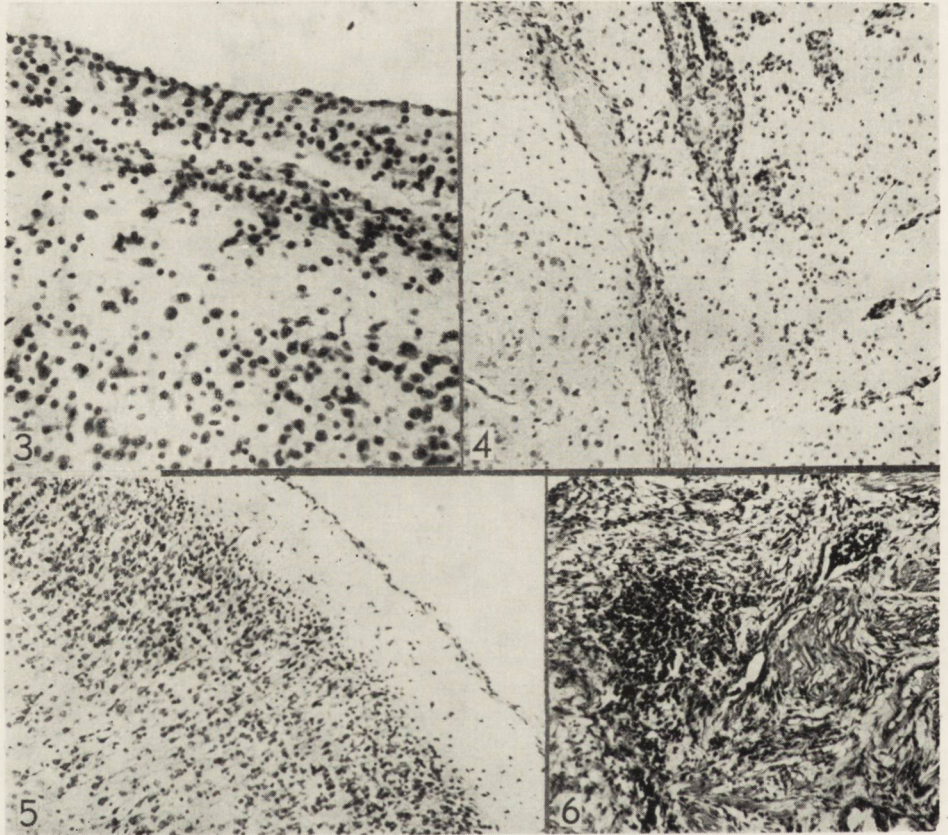
Ryc. 1. Monocytoza we krwi królicy zakażonej *Listeria monocytogenes*. Barw. met. May-Grünwald-Giemsa. Pow. 400 x.

Fig. 1. Monocytosis in blood of mother rabbit infected with *Listeria monocytogenes*, May-Grünwald-Giemsa stain. x 400.



Ryc. 2. *Listeria monocytogenes* hodowla bakterii. Barw. met. Gram.

Fig. 2. Culture of *Listeria monocytogenes*. Gram's staining.



Ryc. 3. Naciek zapalny w mózgu noworodka. Fiolet krezyłu. Pow. 200 x.

Fig. 3. Inflammatory infiltration in brain of newborn rabbit. Cresyl violet. x 200.

Ryc. 4. Okolonaczyniowe nacieki w istocie białej mózgu noworodka. Fiolet krezyłu. Pow. 100 x.

Fig. 4. Perivascular infiltrations in brain white matter of newborn rabbit. Cresyl violet. x 100.

Ryc. 5. Uszkodzenia komórkowe w korze. Fiolet krezyłu. Pow. 100 x.

Fig. 5. Cell lesions in cortex. Cresyl violet. x 100.

Ryc. 6. Nacieki ropne w macicy królic ciężarnych. H-E. Pow. 100 x.

Fig. 6. Suppurative infiltration in uterus of pregnant rabbits. H-E. x 100.

wtarzający się przebieg monocytozy, sugerujący szczególne nasilenie procesu w 5 dniu po zakażeniu.

Rozwijająca się infekcja obejmuje przede wszystkim łożysko, prowadząc w pierwszej połowie ciąży do szybkiej śmierci płodu. Podobne zjawisko obserwowali Gray i wsp. (1955) i Miller i wsp. (1963). W późniejszym okresie ciąży dzieje się podobnie jeżeli duża dawka bakterii powoduje gwałtowny przebieg procesu chorobowego. Jak wynikało z poprzednich naszych obserwacji śmierć płodu następowała zanim doszło do bakteriemii we wszystkich jego narządach (Dąbska i wsp. 1967). W obecnym doświadczeniu zmniejszyliśmy dawkę zakażającą (używając 0,1 ml zawiesiny o gęstości 10^4 zamiast 10^5 bakterii w 1 ml), co pozwoliło na donoszenie płodu i urodzenie żywego potomstwa. O podatności łożyska na zakażenie przez *Listeria monocytogenes* sygnalizowali poprzednio Hagemann i wsp. (1953) i Seeliger i Charry (1957), wymieniając podobną reakcję ze strony tkanki nerwowej. Volland (cyt. wg Seeligera 1961) tłumaczy to pewnym powinowactwem chemicznym bakterii do wymienionych narządów i uważa hialuronidazę za czynnik uwrażliwiający.

Nasze badania wykazały w narządach królic dorosłych obecność bakterii stwierdzoną już uprzednio przez Bistera i Schwartz (1939) oraz Treuba (1943). Zestawienie wyników posiewów z różnych tkanek wskazuje na szczególną podatność układu nerwowego na to zakażenie. Analogiczne obserwacje u płodów świadczą o uogólnionej bakteriemii przy zakażeniu transłożyskowym, z jeszcze wyraźniej niż u zwierząt dorosłych zaznaczoną wrażliwością tkanki nerwowej. Według Jakoba (1967) może tu również odgrywać pewną rolę typ *Listerii*. Typ 4 (użyty również w naszym doświadczeniu) miałby częściej atakować układ nerwowy niż typ 1. Obserwacje bakteriologiczne znajdują potwierdzenie w weryfikacji morfologicznej, która wykazała, że po przeniknięciu bakterii do narządów rozwijają się w nich zmiany zapalne. Zmiany te występują z pewnym opóźnieniem i narastają stopniowo. U królic dorosłych są one uogólnione, z niewielką przewagą zmian w mózgu, natomiast u płodów uszkodzenie układu nerwowego wysuwa się zdecydowanie na pierwszy plan. Najczęściej występuje ono w postaci zapalenia opon. W kilku mózgach o bardziej nasilonych zmianach obserwowano przejście zakażenia na tkankę mózgową, stwierdzono również zmiany zapalne w splocie naczyniastym. Wydaje się godnym podkreślenia, że topografia zmian jest analogiczna do występującej w zakażeniach bakteryjnych dojrzałego układu nerwowego, mianowicie z pierwotnym zajęciem układu oponowo-naczyniowego i wtórnym przejściem na tkankę nerwową. Szczególnie wyraźne uszkodzenie okołokomorowej istoty białej jest niewątpliwie związane z warunkują-

cym jej wrażliwość stopniem dojrzałości. Na strukturę procesu (skład nacieków oponowych, ubogie odczyny przynaczyniowe) wpływa również niedojrzałość podłoża.

Nasze obserwacje odnoszące się do materiału zwierzęcego znajdują odpowiedniki w spostrzeżeniach dotyczących patologii ludzkiej (Boj, Liszewska 1962, Tison-Amiel 1963, Sepp, Roy 1963, i inni), które stwierdzają częste występowanie Listeriozy pod postacią zapaleń oponowych i oponowo-mózgowych u noworodków.

Na zakończenie warto wspomnieć, że u królików doświadczalnych poza zaobserwowanymi prawidłowościami w przebiegu płodowej Listeriozy spotkaliśmy wiele różnic indywidualnych, związanych prawdopodobnie z osobniczą wrażliwością zwierząt. Skłaniają one do prowadzenia dalszych badań w oparciu o duży materiał doświadczalny, które być może pozwolą na ustalenie dokładniejszych przesłanek odpowiedzialnych za reakcje badanych zwierząt na zakażenie.

WNIOSKI

1. Charakter i nasilenie uszkodzeń płodów króliczych przy transłożyskowym zakażeniu przez *Listeria monocytogenes* typ 4b jest zależny przede wszystkim od okresu zakażenia.

2. U zakażonych płodów rozwija się uogólniona bakteriemia, następnie narastają odczyny zapalne, z wyraźną przewagą zmian w układzie nerwowym szczególnie wrażliwym na obecność *Listeria monocytogenes*.

Autorzy dziękują dr med. K. Borowiczowej za konsultację preparatów z narządów wewnętrznych zwierząt doświadczalnych.

M. Домбска, Г. Дурось, М. Мартиняк

ПОВРЕЖДЕНИЕ ПЛОДОВ И КРОЛИЧЬИХ НОВОРОЖДЕННЫХ В ТЕЧЕНИЕ ГЕМАТОГЕННОГО ЛИСТЕРИОЗА У МАТЕРИ

Резюме

Работа касается экспериментальных исследований заражения *Listeria monocytogenes* (тип 4) во время беременности кроликов. Целью работы являлось прослеживание зависимости между временем заражения беременных животных и величиной и характером возникших изменений, которые исследовались бактериологически и морфологически. Изменения у плодов сравнивались с изменениями у матерей, принимая во внимание особенно нервную систему. Было обнаружено, что развивающаяся инфекция затрагивает прежде всего плаценту, после чего другие органы матери и плода. Морфологические изменения развиваются спустя несколько дней после вторжения бактерий. Проведенные

исследования свидетельствуют о чувствительности нервной системы к заражению особенно отчетливо выраженной у плодов, у которых развивается симптомокомплекс менинго-энцефалита.

M. Dąbmska, H. Duroś, M. Marciniak

INJURY OF FOETUSES AND NEWBORN RABBITS IN THE COURSE
OF HAEMATOGENIC LISTERIOSIS IN THE MOTHER

S u m m a r y

Experimental studies are described on infection with *Listeria monocytogenes* (type 4) during pregnancy, performed on rabbits. The purpose of the investigations was to find the relations between the period of infection of the pregnant animals, and the severity and character of the changes produced. The latter were examined bacteriologically and morphologically. The changes in the foetuses were compared with those in the mother, with particular attention to the nervous system. It was found that the developing infection involves first the placenta, and further other organs of the mother and foetus. Morphological changes appear several days after infection. The studies bring evidence of the sensitivity of the nervous system to this infection, particularly in the foetus in which a syndrome of meningo-encephalitis develops.

PIŚMIENICTWO

1. Bister H. E., Schwartz L. H.: A studies on *Listeria* infection in sheep. *J. Infect. Dis.* 1939, 64, 135—144.
2. Boj E., Liszewska J.: Dwa przypadki listeriozy wrodzonej. *P.T.L.* 1962, 34, 1345.
3. Bręborowicz A., Grębowicz Ł.: Listerioza noworodka. *P.T.L.* 1959, XIV, nr 44, 1945—1949.
4. Dąbmska M., Duroś H., Ferens Z.: Uogólniona krwiopochodna listerioza doświadczalna u królic ciężarnych. *Zwierzęta laboratoryjne.* 1967, V, 2, 88—94.
5. Duroś H., Krotochwil-Skrzypek M.: Listerioza a mononukleoza na podstawie własnych obserwacji. *Pediatrics Polska.* 1962, XXVII, 12, 1266—1276.
6. Gray M. L., Singh Ch., Thorp. F.: Abortion, stillbirth, early death of young rabbits by *Listeria monocytogenes*. *Proc. of Soc. Exper. Biol.* 1955, 89, 163—169, 169—175.
7. Hagemann N., Sienon H., Bienengraber A.: Die Listeriose der Frügeburt. *Zentrbl. Pathol.* 1953, 90, 17—23.
8. Heydegger K.: Przebieg doświadczalnego zakażenia *Listeria monocytogenes* u małych gryzoni. 1962, 16, 307—314.
9. Jakob W.: Weitere Experimentelle Untersuchungen zur Pathogenese der zerebralen Listeriose des Schafes. III Mitteilung *Archiv. für Experimentelle Veterinärmedizin.* 1967, 21, 4, 1061—1072.
10. Miller J. K., Muroschi T. F., Tompkins V. N.: Pathogenesis and immune response in listeriosis of pregnant rabbits. *Am. J. Obst and Gynecology* 1963, 85, 7, 883—891.

11. Rittenbach P.: Ein Beitrag zur experimentall Listeriose bei Haus — und Versuchstieren. XI. Mitteilung. 1966, 20, 1, 49—83.
12. Seeliger H. P., Charry W. B.: Human Listeriosis its nature and diagnosis. 1957. Atlanta.
13. Seeliger H. P.: Listeriosis. 1961. Basel.
14. Sepp A. H. and Roy T. E.: Listeria Monocytogenes Infections in Metropolitan Toronto A Clinicopathological Study. The Canadian Medical Assoc. J. Mar. 1963, 88, 549—561.
15. Stanley N. F.: Studies on listeria monocytogenes. I isolation of a monocytosis producing agent. Austr. J. of exper. Biol. 1949, 27, 123—131.
16. Tison-Amiel C., Fleurquin N., Larroche J. C., Minkowski A.: A propos de 7 observations de listerioses neo-natales. Pediatrie, 1963, XVIII, 5, 543—556.
17. Todeyon R. A., Larrol K. K., Murray R. G. E.: Factor affecting the yield and biological activity of lipid extract of Listeria monocytogenes. Canad. J. Microbiol. 1969, 15/5, 421—428.
18. Treub E.: Über eine mit Listerelle ähnlichen Bakterien vergescheftete Meningo-Encephalomyelitis der Kaninchen. Zbl. Bakt. Abl. I. Ouj. 1943, 149, 38—49.
19. Vialatte J., Satge P., Charreau J.: Listeriose du nouveau-né remarques sur la clinique et la prophylaxie. Arch. Françaises de Pédiatre. 1962, XIX, 6, 773—779.
20. Volland (cyt. wg. Seeligera).

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

ANDRZEJ STĘPIEŃ, EDWARD ZDERKIEWICZ

PRZYPADEK GRUŻLICZAKA ŚRÓDRDZENIOWEGO

Zakład Anatomii Patologicznej AM w Lublinie

Kierownik: doc. dr med. M. Rożynek

Klinika Neurochirurgii AM w Lublinie

Kierownik: prof. dr med. H. Koźniewska

Gruźliczaki o umiejscowieniu śródrdzeniowym należą do rzadkości. Podkreśla to wielu autorów (Bromowicz 1961, Rudnicki 1952, Carillo oraz Thalheimer cyt. wg Zülcha i Christiansena 1956).

Austin (1961) na 314 guzów rdzenia podaje dwa przypadki gruźliczaka (0,6%), Ectors i wsp. (1960) spotkali również dwa przypadki (1%) na 189 procesów uciskowych rdzenia. Z 572 guzów śródkanałowych objętych statystyką Elsberga (cyt. wg Rudnickiego 1952) tylko jeden był gruźliczakiem (0,2%). Stosunkowo częstsze występowanie ziarniniaków gruźliczych podaje Rudnicki (1952a), który na 114 operowanych guzów śródkregosłupowych spotkał dwa gruźliczaki śródrdzeniowe (1,7%), trzy nadtwardówkowe i trzy zewnątrzrdzeniowe. W niektórych statystycznych opracowaniach guzów śródrdzeniowych nie znajduje się w ogóle wzmianek o tych ziarniniakach (Greenwood 1963, Ingraham, Matson 1954, Ulatowski i wsp. 1965).

W materiale Kliniki Neurochirurgii AM w Lublinie, obejmującym 171 guzów śródkanałowych, stwierdziliśmy jeden przypadek gruźliczaka o umiejscowieniu śródrdzeniowym, który poniżej opisujemy.

Chora R. T. lat 54 przybyła do Kliniki Neurochirurgii 4.XI.69 r. Przed rokiem pojawiło się u niej drętwienie obu kończyn dolnych, do którego następnie dołączyły się bóle o charakterze opasującym na wysokości łuków żebrowych. Stopniowo rozwinął się niedowład kończyn dolnych, a dwa miesiące przed przybyciem do Kliniki wystąpiło zatrzymanie moczu. Chora przez dwa i pół miesiąca nie zgadzała się na proponowane badania i leczenie operacyjne. Przy przyjęciu chorej stwierdzono zwężenie lewej źrenicy, znaczny niedowład spastyczny kończyn dolnych, bardziej nasilony w zakresie prostowników z obu-

stronnym objawem Babińskiego oraz osłabienie czucia powierzchniowego od poziomu Th6 w dół.

Podstawowe badania laboratoryjne krwi i moczu nie wykazały odchyleń od normy. Prześwietlenie klatki piersiowej ujawniło skąpe zmiany bliznowate, swoiste w obu szczytach i w lewym polu podobojczykowym. Nakłucie lędźwiowe wykazało patologiczną próbę Queckenstedta, a badaniem płynu mózgowo-rdzeniowego stwierdzono podwyższenie poziomu białka do 132 mg%. Mielografia zstępująca dała obraz zwężenia słupa kontrastu na wysokości C7-Th1 z bardzo powolnym jego przechodzeniem w kierunku worka końcowego. Płyn mózgowo-rdzeniowy z nakłucia podpotylicznego był prawidłowy. Wykonano lami-nektomię C6-Th2 i stwierdzono poszerzenie i rozdęcie rdzenia na wysokości Th1 z widocznym na jego powierzchni kilkumilimetrym ogniskiem sinawej barwy. Nakłucie rdzenia w miejscu tego ogniska nie wykazało obecności torbieli, przestano więc na zabiegu odbarczającym, nie zaszywając opony twardej.

Stan chorej, dość dobry bezpośrednio po zabiegu, po 9 dniach uległ pogorszeniu. Wystąpiły zaburzenia oddechowe z osłabieniem czynności mięśni międzyżebrowych oraz wytworzyła się przetoka płynowa w ranie pooperacyjnej. Następnie pojawiły się objawy niewydolności krążenia w postaci nie dającego się opanować spadku ciśnienia krwi i chora zmarła w 12 dni po operacji.

Na sekcji zwłok stwierdzono walcowaty twór guzowaty, leżący śródrdzeniowo na wysokości C7-Th1, spoistości chrząstki, na przekroju połyskujący, bladożółtawy, dość wyraźnie odgraniczony od otaczającej tkanki rdzenia, średnicy 0,8 cm i długości 1,4 cm (ryc. 1). Poniżej guza na wysokości Th1-Th4 rozciągało się pole rozmiękania rdzenia. Mikroskopowo stwierdzono typowe utkanie gruczlicze z komórkami olbrzymimi Langhansa, komórkami nabłonkowatymi i limfocytami (ryc. 2). Opony miękkie w okolicy guza były zwłókniałe i w zrostach z rdzeniem. Stwierdzono również gruczlicę włóknisto-guzkowatą, częściowo serowaciejącą płuc, węzłów chłonnych przytchawicznych i wnękowych, zmiany gruczlicze włókniejące jelita cienkiego oraz utkanie gruczlicze w obu nadnerczach.

OMÓWIENIE

Omówiony przypadek zasługuje na uwagę nie tylko ze względu na rzadkość występowania gruczliczaków śródrdzeniowych, ale również z powodu trudności diagnostycznych, które nie pozwoliły przyżyciowo na dokładne ustalenie rodzaju guza. Powolne narastanie niedowładu bez objawów zapalnych przemawiało za nowotworowym charakterem

procesu uciskowego. Badanie płynu mózgowo-rdzeniowego, ani badanie radiologiczne płuc nie wniosły nic do rozpoznania. Być może wcześniejsze zgłoszenie się chorej i badanie płynu mózgowo-rdzeniowego w początkowym okresie choroby pozwoliłoby na właściwe ustalenie charakteru schorzenia. Stwierdzone w sąsiedztwie guza zmiany włókniste opon świadczą o ich przebyłym stanie zapalnym, który mógł się ujawnić odczynem w płynie mózgowo-rdzeniowym. Wczesne rozpoznanie i wczesne rozpoczęcie leczenia może w sposób zasadniczy wpłynąć na wyniki leczenia tego rodzaju przypadków.

Nie zawsze istnieje możliwość operacyjnego usunięcia zmian gruczolnych rdzenia. Oprócz guzów odgraniczających się od otoczenia mogą one występować w postaci ziarniny naciekającej rdzeń. Powyżej przedstawiony przypadek potwierdza słuszność poglądu o konieczności dążenia do weryfikacji histopatologicznej w operacjach guzów wewnątrzrdzeniowych.

A. Степень, Е. Здеркевич

СЛУЧАЙ ИНТРАМЕДУЛЯРНОЙ ТУБЕРКУЛОМЫ

Резюме

Авторы обсуждают случай интрамедулярной туберкуломы, подчеркивая редкость выступления, а также трудности в диагнозе этого рода опухолей.

A. Stępień, E. Zderkiewicz

A CASE OF INTRAMEDULLARY TUBERCULOMA

Summary

The authors describe a case of intramedullary tuberculoma. Rarity of occurrence and difficulty in diagnosis are stressed.

PIŚMIENNICTWO

1. Austin G.: The spinal cord. Charles C. Thomas. Springfield. Illinois, 1961, 532.
2. Bromowicz J.: Guzy śródkanalowe. W „Neurologii klinicznej”, red. W. Jakimowicz. PZWL, Warszawa, 1961.
3. Ectors I., Achslog J., Saintes M. J.: Les compressions de la moelle cervicale. Masson et Cie. Paris 1960, 164.
4. Greenwood J. Jr.: Intramedullary tumors of spinal cord. J. Neurosurg. 1963, 20, 665.
5. Ingraham F. D., Matson D. D.: Neurosurgery of infancy and childhood. Charles C. Thomas. Springfield. Illinois 1954, 456.

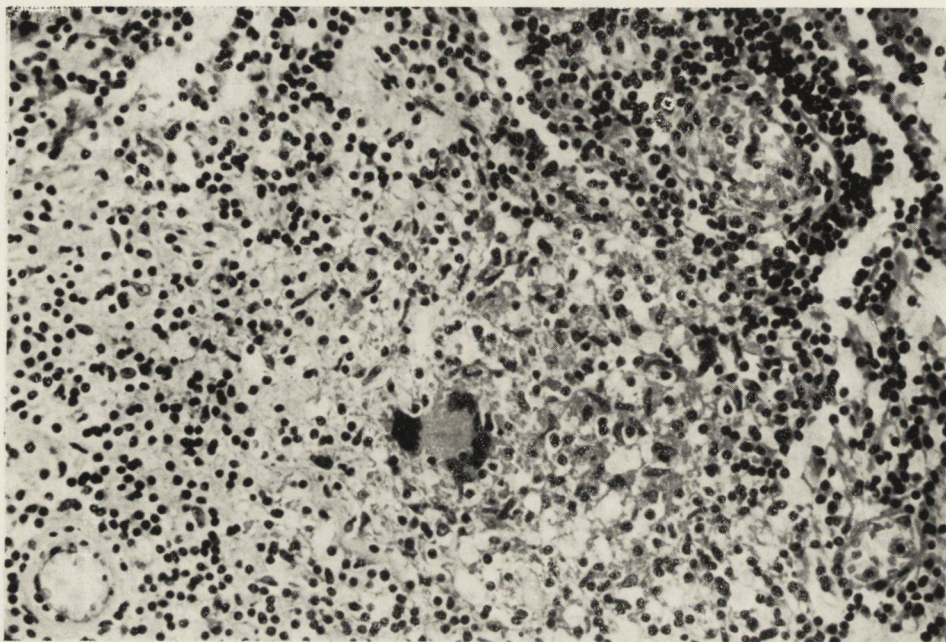
6. Rudnicki S.: Anatomia patologiczna, biologia, klinika i leczenie guzów śródkregosłupowych. *Neurol. Neurochir. i Psych. Pol.* 1952, 2, 261.
7. Rudnicki S.: Spostrzeżenia własne dotyczące 114 przypadków operowanych guzów śródkregosłupowych. *Neurol. Neurochir. Psych. Pol.* 1952, 4, 405.
8. Ulatowski M., Stachlewski P., Kinderman B.: Operacyjne leczenie guzów kanału kręgowego ze szczególnym uwzględnieniem guzów zewnątrzrdzeniowych podoponowych. *Biul. WAM* 1965, 8, 389.
9. Zülch K. J., Christiansen E.: *Hdb. der Neurochirurgie. III Band.* Springer Verlag, Berlin 1956, 597—601.

Adres autorów: Zakład Anatomii Patologicznej AM, Lublin, ul. Jaczewskiego 8.



Ryc. 1. Przekrój poprzeczny rdzenia z wyraźnie odgraniczonym tworem guzowatym. Pow. lupowe.

Fig. 1. Cross section of spinal cord with sharp separated tumor. Magn. glass.



Ryc. 2. Ziarnina gruźlicza w rdzeniu. Widoczna komórka olbrzymia. H-E. Pow. 150 x.

Fig. 2. Tuberculous granulation in spinal cord. Giant cell of Langhans type is seen. H-E. x 150.

JERZY WALESZKOWSKI, ZYGMUNT HAJDUKIEWICZ

CHOROBA RECKLINGHAUSENA Z ZAJĘCIEM OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO

Klinika Neurochirurgii AM w Łodzi

Kierownik: doc. dr J. Brzeziński

Pracownia Neuropatologii przy Zakładzie Anatomii Patologicznej AM w Łodzi

Kierownik Pracowni: doc. dr A. Głuszczyk

Rzadkość występowania oraz trudności klinicznego rozpoznawania ośrodkowej postaci choroby Recklinghausena (Cuneo, Raud 1952, Głowacki 1963, Głuszczyk 1965, Russel, Rubinstein 1959) skłoniły nas do przedstawienia obserwowanego przypadku.

Chory S.K., lat 62, rolnik, został skierowany do Kliniki Neurochirurgii AM w Łodzi z powodu stwierdzonych zmian zastoinowych na dnie oczu. Od dwu lat skarżył się na okresowo nasilające się osłabienie kończyn dolnych, zwłaszcza lewej a od około miesiąca miewał silne zawroty głowy. Od roku leczył się z powodu niedociśnienia krwi. W wywiadzie podawał liczne urazy głowy, w tym poważniejsze przed dwoma laty i przed pół rokiem. W dniu przyjęcia do Kliniki ogólny stan chorego był dobry, tętno prawidłowe, ciśnienie krwi 110/80. W badaniu internistycznym z odchyleniem od stanu prawidłowego stwierdzono jedynie nieco głuche tony serca. Na skórze górnej części grzbietu, wokół linii środkowej stwierdzono liczne kawowe przebarwienia oraz guzki różnej wielkości barwy brązowej (ryc. 1). Badanie morfologiczne krwi, OB i moczu bez zmian.

Z odchyleniem od prawidłowego stanu neurologicznego stwierdzono obustronnie tarczę zastoinową na 1,0 — 1,5 D, dyskretne drgnięcia oczopląsowe przy patrzeniu na boki, spływanie lewego fałdu nosowo-wargowego oraz nieznaczne osłabienie siły mięśniowej lewych kończyn z żywszymi odruchami głębokimi.

Badanie elektroencefalograficzne wykazało zapis niskonapięciowy z falami theta z nieznaczną ich przewagą w odprowadzeniach skroniowych po stronie lewej. Echoencefalografia wykazała echo środkowe nieprzemieszczone. Zdjęcia radiologiczne czaszki były prawidłowe.

W ciągu pierwszych dni pobytu w Klinice kontrolne badanie okulistyczne wykazało narastanie zmian zastoinowych na dnie oczu do 2,0 D. Wykonana angiografia prawej tętnicy szyjnej wspólnej nasuwała jedynie podejrzenie istnienia przestrzeni beznaczyniowej w okolicy skroniowo-ciemieniowej tylnej. Angiografia lewej tętnicy szyjnej wspólnej nie wykazała odchyień od normy. Kontrola operacyjna prawej okolicy skroniowej i ciemnieniowo-potylicznej nie wykazała domniemanego porażowego powikłania uciskowego, a zwiadowcze nakłucie płata skroniowego ujawniło prawidłowo ułożony wyraźnie poszerzony róg skroniowej komory. Po niepowodzeniu próby odmy frakcjonowanej, wentrykulografia ethiodanowa ujawniła obraz procesu uciskowego w tylnej jamie czaszki po stronie lewej, kwalifikującego się do operacji. Podczas zabiegu operacyjnego stwierdzono brak łuku atlasu po stronie lewej i powiększenie zbiornika mózdzku o wyraźnie zapalnie zmienionej i pogrubiałej ścianie z niewielką ilością płynu mózgowo-rdzeniowego. Prawa półkula mózdzku była większa od lewej. W nakłuciu przyrobakowej części lewej półkuli mózdzku natrafiono na torbiel, z której usunięto około 20 ml żółto-różowego płynu, a następnie na kulisty guz wielkości śliwki, barwy wiśniowej o gładkiej powierzchni, pokryty grubą torebką, spoczywający w kącie mostowo-mózdkowym. Usunięto go niemal całkowicie.

Badanie histopatologiczne ujawniło typowy obraz nerwiaka (*neurilemoma*), zbudowanego z komórek wydłużonych, zwięzających się wtkowato ku biegunom i łączących się szczytami z sąsiednimi komórkami w układy syncytialne. Jądra wydłużone, tępo zakończone na biegunach, skupiały się miejscami szeregowo z tworzeniem charakterystycznych palisad. W całości obrazu przeważały jednak układy komórek pasmowatych, falistych, bądź wirowatych. W podścielisku obecne były dość liczne włókna kolagenowe (barwienie wg met. van Gieson) i srebrnochłonne (barwienie wg met. Gordon-Sweeta).

Chory zmarł w cztery dni po zabiegu wśród objawów obustronnego zapalenia płuc i niewydolności krążenia.

W czasie sekcji, poza ubytkiem operacyjnym lewej półkuli mózdzku i ramienia mostu, znaleziono w podstawnej części lewego płata skroniowego nieckowate wgłębienie, spowodowane uciskiem drugiego guza nowotworowego wielkości śliwki, wyrastającego ze zwoju Gassera (ryc. 2). Guz był gładki, otoczony cienką torebką, na przekroju szaro-żółty, mało spoisty. Częściowo tylko przerastał domózgową blaszkę opony twardej i nie ujawniał ciągłości z usuniętym operacyjnie nerwiakiem kąta mostowo-mózdkowego. Guz ten miał utkanie odpowiadające bardziej nerwiako-włókniakowi (*neurofibroma*). Składał się on z pasm komórek wrzecionowatych tworzących chaotyczne wiry i skręty, przeplatanych pasmami i ogniskami włókien kolagenowych (ryc. 3).

W poszukiwaniu zmian wewnątrzmoźgowych zbadano mikroskopowo standardowe wycinki z mózgu. Ze zmian istotnych dla omawianej sprawy chorobowej znaleziono tzw. mostki glejowo-mezenchymalne Walkera połączone z rozrostem gleju, szczególnie obfite na powierzchni mózdzku, a rozsiane na powierzchni półkul mózgowych, guzkowate wybujłości gleju podwyściółkowego, odsznurowane zachyłki komorowe w rdzeniu przedłużonym pokryte wyściółką oraz zmiany w ścianach drobnych naczyń w postaci rozrostów błony wewnętrznej bądź zgrubienia, homogenizacji i szkliwienia całej ściany drobnych tętniczek. Zmiany w skórze pleców składały się z licznych przebarwień oraz z kilkunastu płasko wystających nad powierzchnię guzków, bądź uszypułowanych brodawek o średnicy 2 — 5 mm (ryc. 1). Obraz mikroskopowy guzków odpowiadał utkaniu *naevus epidermalis papillaris*, zaś brodawek — *verruca fibrosa hyalinisans*.

OMÓWIENIE

W patomorfologii omawianego przypadku na uwagę zasługują dwa zespoły zmian:

1. Współistnienie dwóch odrębnych guzów osłonkowych w jamie czaszki, wywodzących się z nerwów wewnątrzczaszkowych. Jeden z nich nerwiako-włókniak zwoju Gassera, jest guzem rzadko zdarzającym się, ale szczególnie typowym w tzw. śródczaszkowej odmianie choroby Recklinghausena (Głowacki 1963, Głuszczyk 1965).

2. Obecność zaburzeń rozwojowych typu dysraficznego (brak części łuku atlasu, odsznurowane zachyłki komorowe w pniu mózgu), mostków mezenchymalno-glejowych Walkera, szczególnie typowych dla tzw. wewnątrzmoźgowej odmiany choroby Recklinghausena oraz charakterystycznych dla tej odmiany zmian rozrostowo-zwyrodnieniowych w ścianach naczyń krwionośnych wreszcie wybujłości gleju podwyściółkowego.

Potwierdza to przypuszczenie Głuszczyka (1965), że dokładna analiza morfologiczna mózgowia w przypadkach tzw. odmiany śródczaszkowej omawianej choroby może częściej niż dotychczas przypuszczano, doprowadzić do wykrycia zmian w mózgu, pozwalających na połączenie odmiany śródczaszkowej i wewnątrzmoźgowej w jedną postać ośrodkową choroby Recklinghausena. Takie właśnie zakwalifikowanie przedstawionego przypadku wydaje się słuszne, mimo braku wewnątrzmoźgowych rozrostów nowotworowych. Współistniejące w podanym przypadku zmiany znamieniowo-rozrostowe skóry były ogniskowo ograniczone do okolicy linii środkowej górnej części grzbietu, co jest również typowe dla ośrodkowej postaci choroby Recklinghausena.

Klinicznie przypadek sprawiał od początku duże trudności rozpoznawcze. Liczne urazy głowy, w tym dwa poważniejsze, brak zarówno jakichkolwiek subiektywnych jak i obiektywnych objawów ze strony nn. V i VIII, lewostronny niedowład połowiczny, zmiany w zapisie elektroencefalograficznym oraz wynik badania angiograficznego prawej tętnicy szyjnej wspólnej, były przyczyną podejrzenia istnienia pourazowego procesu uciskającego nadnamiotowego, raczej zewnątrzmoźgowego (krwiaka). W szczególności należy podkreślić, że angiografia lewej tętnicy szyjnej wspólnej nie wykazała obrazu guza okolicy podskroniowej (guza zwoju Gassera), a dopiero wentrykulografia pozytywna określiła w części istotę i umiejscowienie procesu chorobowego.

Я. Валешковски, З. Хайдукевич

СЛУЧАЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ФОРМЫ БОЛЕЗНИ РЕКЛИНГАУЗЕНА

Резюме

Описан случай сосуществования шванномы мосто-мозжечкового угла с невромо-фибромой сплетения Гассера, а также с внутримозговыми изменениями в виде поверхностных гиперплазий глиозно-оболочечных гиперплазно-дегенеративных изменений в стенках сосудов и узелковых гиперплазии субэпендимальной глии. Эти изменения сопровождалась дистрофическими изменениями в виде отсутствия части дуги атланта и отшнурованных углублений IV желудочка в срединной линии мозгового ствола, родимыми пятнами, а также волокнисто-стекловидными бородавками вдоль срединной линии верхней части кожи спины.

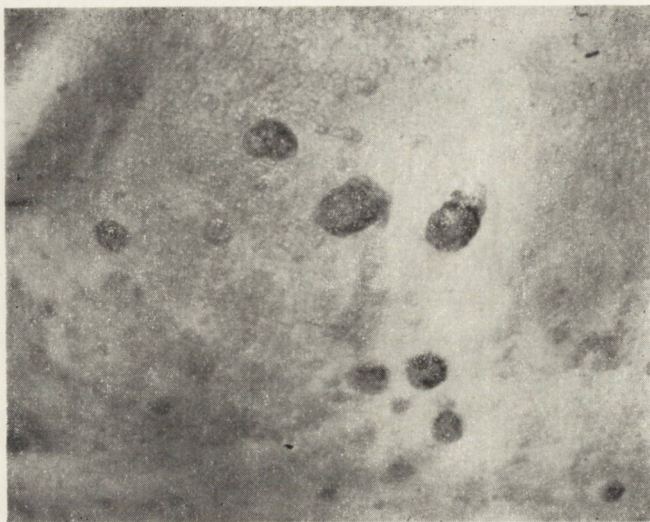
Авторы зачисляют случаи к центральной форме болезни Реклингаузена. Одновременно обращают внимание на диагностические трудности из-за отсутствия специфических субъективных симптомов, отрицательной ангиографии, касающейся опухоли сплетения Гассера и нетипической электроэнцефалографической записи.

J. Waleszkowski, Z. Hajdukiewicz

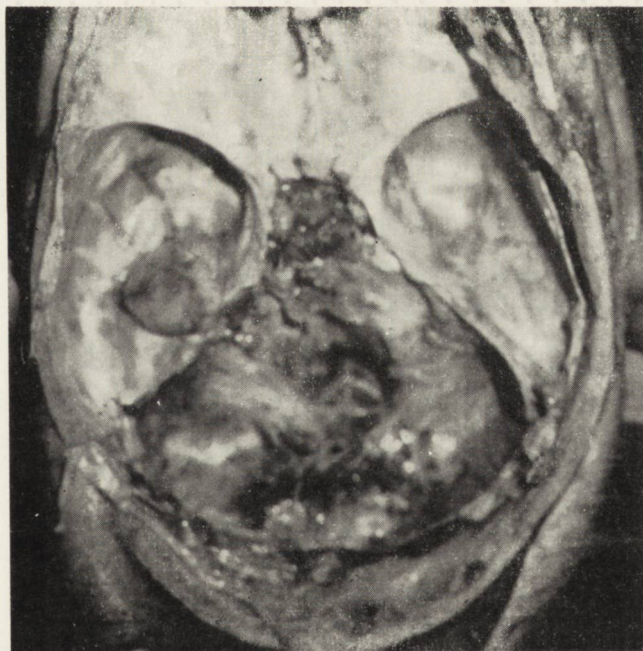
RECKLINGHAUSEN' DISEASE WITH INVOLVEMENT OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

S u m m a r y

A case of coexistence of neurilemmoma of the pontocerebellar angle, with neurofibroma of the Gasser ganglion as well as with intracerebral changes in the form of superficial gliomesenchymal proliferation and proliferative or degenerative changes in the vascular walls and nodular proliferation of subependymal glia is described. This was associated with dysraphic changes consisting in the



Ryc. 1. Znamiona i brodawki skórne wokół linii środkowej górnej części grzbietu.
Fig. 1. Naevi and epidermal warts around medial line of upper part of the dorsum.



Ryc. 2. Dno jamy czaszki z widocznym guzem zwoju Gassera po stronie lewej.
Stan po odpreparowaniu opony twardej z tylnej i środkowej jamy czaszki.
Fig. 2. Base of cranial fossa with left-sided Gasser ganglion tumour. State after removal of dura mater from posterior and middle cranial fossa.



Ryc. 3. Fragment utkania guza zwoju Gassera o obrazie nerwiako-włóknika.
H-E. Pow. 450 x.

Fig. 3. Fragment of neurofibroma of Gasser ganglion. H-E. x 450.

absence of a part of the atlas arch and superated recesses of the fourth ventricle in midline of the brain stem and naevoid nodules and fibro-hyaline warts along the midline of the skin of upper part of the dorsum.

The authors classify this case as central form of Recklinghausen disease. Attention is called to the diagnostic difficulties due to the absence of specific subjective symptoms, negative angiography as regards the Gasser ganglion tumour and the nontypical electroencephalographic record.

PIŚMIENNICTWO

1. Cuneo H.M., Raud C. W.: Tumors of the Gasserian Ganglion. *J. Neurosurg.* 1952, 9, 423—431.
2. Głowacki J.: Mnogie nowotwory mózgu w przebiegu choroby Recklinghausena. *Folia Med. Cracov.* 1963, 5, 99—130.
3. Głuszcz A.: Patomorfologia ośrodkowej postaci choroby Recklinghausena na podstawie analizy własnego przypadku. *Neuropat. Pol.* 1965, II/1—2, 71—86.
4. Russel D., Rubinstein L.: Pathology of tumours of the nervous system. Ed. Edward Arnold, London 1959.

Adres autorów: Klinika Neurochirurgii AM, Łódź, ul. Kopcińskiego 22.

JERZY HOŁYST

BADANIA DOŚWIADCZALNE NAD NIEDOSTATECZNOŚCIĄ KRAŻENIA KRWI W MÓZGOWIU*)

Klinika Neurologiczna AM we Wrocławiu

Kierownik Kliniki: prof. dr R. Arend

W ostatnich latach ukazało się wiele prac z zakresu anatomii i fizjopatologii krążenia krwi w mózgowiu. Wykazano, że zależy ono od wielu czynników ogólnych i miejscowych, m.in. od zmian ciśnienia śródczaszkowego, poziomu stężenia CO₂ i O₂ we krwi i w tkance mózgowej, pH itd. Przekonano się, że za objawy niedostateczności krążenia w mózgowiu są odpowiedzialne nie tylko zakrzepy i zatory naczyń mózgu, lecz również zmiany w tętnicach pozamózgowych, a więc szyjnych i kręgowych, ponadto zaburzenia hemodynamiczne (spadek ciśnienia krwi u chorych z anomaliami lub z miażdżycą naczyń), skurcz tętnic np. w wyniku pęknięcia tętniaków wewnątrzczaszkowych itd. ,

Zwężenie i niedrożność tętnic szyjnych — ze względu na coraz powszechniej stosowane leczenie chirurgiczne, jest przedmiotem szczególnego zainteresowania wielu autorów.

Wyniki badań doświadczalnych na zwierzętach stają się często podstawą do opracowania stwierdzeń, które wykorzystują klinicyści. Badania te mają jednak, z klinicznego punktu widzenia, istotny brak. Doświadczalną niedrożność tętnicy wywołuje się u zwierząt zdrowych, u których biochemiczne właściwości krwi oraz stan ścian naczyń różnią się od tych, jakie występują u chorych z zakrzepami, powstającymi najczęściej na skutek miażdżycy. Wyrównawcze możliwości u zdrowych osobników są znacznie większe niż u chorych na miażdżycę. Tym też należy tłumaczyć, że np. po zastosowaniu leczenia farmakologicznego lub chirurgicznego zanotowano znacznie gorsze efekty leczenia u ludzi, niż w warunkach doświadczalnych. Mimo tych różnic, badania doświadczalne na zwierzętach wnoszą jednak niemało danych, które pozwalają na ocenę krążenia obocznego, ciśnienia i przepływu krwi w

*) Praca została wykonana w latach 1967/68, przedstawiona z Kliniki Neurochirurgicznej we Wrocławiu (Kierownik Kliniki: dr med. J. Wroński) na posiedzeniach naukowych Wrocł. Oddz. Tow. Chir. Pol. (27.X.1970) i Oddz. Pólmocno-Zach. Pol. Tow. Neurochir. (28.XI.1970).

tętnicy przed i ponad miejscem niedrożności, rodzaju i szybkości powstawania zmian w tętnicy i w mózgowiu itd.

Opracowanie doświadczalnych modeli chorób pozwala na wyjaśnienie ich mechanizmu, lepsze zrozumienie zespołów klinicznych i wyciąganie odpowiednich wniosków terapeutycznych.

Celem niniejszej pracy było wykazanie zmian w tętnicach i w mózgowiu po podwiązaniu jednej, bądź obu tętnic szyjnych wspólnych. Prześledzono również wpływ podwiązania na stan ogólny i neurologiczny oraz zachowanie się zwierząt w okresie od 24 godzin do 5 miesięcy. Dodatkowo wywoływano zatory mózgowe i badano ich wpływ na stan zwierząt i zmiany w mózgu.

Już w 1912 r. Kramer badał rozmieszczenie krwi w tętnicach mózgowych w poszczególnych obszarach unaczynienia. Wstrzykiwał zwierzętom błękit metylenu do tętnicy szyjnej lub kręgowej i wykazał, że barwnik wypełniał tylko układ tętnicy szyjnej wewnętrznej i odpowiadającą połowę tętnicy łączącej przedniej i tętnicy łączącej tylnej. Błękit podany do tętnicy kręgowej zatrzymywał się w tętnicy łączącej tylnej. Dalsze badania prowadził Mc Donald i Potter (1951), a ich spostrzeżenia potwierdzili Shenkin i wsp. (1951). W Polsce szczególne zasługi na tym polu położyli Szapiro i wsp. (1962, 1964, 1966) oraz Wygodzka-Lipska (1966).

Można wyróżnić trzy grupy modeli doświadczalnych niedokrwienia mózgowego: 1) zaciśnięcie jednej lub obu tętnic szyjnych a nawet i kręgowych, tętnic wewnątrzczaszkowych zwłaszcza tętnicy środkowej mózgu, 2) spowodowanie ogólnego spadku ciśnienia krwi na skutek ustania czynności serca lub wywołania kontrolowanego podciśnienia krwi, 3) wywołanie zatorów mózgowych.

Już w pierwszej połowie XIX wieku Cooper (cyt. wg Szapiry i Pakuły, 1966) wykonał zabieg podwiązania obu tętnic szyjnych i kręgowych u psa. Zwierzę przeżyło zabieg i zostało uśmiercone po paru miesiącach. Pozwoliło to wspomnianemu badaczowi uwidocznić łącznice między tętnicami tarczowymi górnymi i dolnymi oraz wykazać obecność „tworzywa” w tętnicy kręgowej, obwodowo od podwiązania. Doświadczenie to powtarzali liczni badacze; Gildea i Cobb (1930) opracowali kilka wariantów modelu Coopera. Pierwsze nieodwracalne zmiany morfologiczne stwierdzano po pięciu minutach od chwili przerwania krążenia. Nie dochodziło jednak do całkowitego niedokrwienia mózgu, ponieważ krążenie było częściowo utrzymywane przez liczne bocznicę, zwłaszcza przez tętnicę rdzeniową przednią. Ljubomudrow (cyt. wg Szapiry i Pakuły, 1966) na podstawie żmudnych badań wykazał istotną rolę licznych tętnic i ich połączeń o zwiększonej nieraz liczbie i przekroju (tętnica tarczowa górna i dolna, szyjna wstępująca, szyjna głęboka, poprzeczna szyi, mię-

dzyżebrowa najwyższa i uszna tylna) w krążeniu obocznym mózgu. Whisnant i wsp. (1956) podwiązali obie tętnice szyjne i kręgowe u 12 psów. Zwierzęta przeżyły zabieg, a objawy były niekiedy znikome. Autorzy ci wykonali podobne doświadczenia na następnych 9 psach, starając się ograniczyć dopływ krwi do mózgu tak dalece, jak to było możliwe i wyłączyć z krążenia obustronnie tętnice kręgowe, tętnicę szyjną wspólną, szyjną wewnętrzną i zewnętrzną, gardłową wstępującą i potyliczną. Jedynie u trzech zwierząt wystąpiła śpiączka; u pozostałych objawy były znacznie lżejsze. W mózgowiu, aż w 7 przypadkach nie stwierdzono dużych zmian. Zachowanie się krążenia obocznego badano przez nastrzyknięcie tworzywem układu naczyniowego. Wykazano, że główną rolę w krążeniu obocznym odgrywały tętnice: piersiowa wewnętrzna i pień żebrowo-szyjny.

Stosunkowo prostą i łatwo powtarzalną metodę opracowali Kabat i Dennis (1938). Przerywali oni u psów dopływ krwi do mózgu przez zaciśnięcie szyi mankietem, w którym podnoszono ciśnienie do 700 mm Hg. Wadą metody, oprócz tego, że nie zawsze wywoływała niedokrwienie mózgowia, było powodowanie dodatkowo wzrostu ciśnienia śródczaszkowego, obrzęku mózgu i krwinkotoków. Inni autorzy uzyskiwali objawy niedostateczności krążenia krwi w mózgowiu przez wybiórcze podwiązanie tętnicy podstawnej (White 1937, Aguilar 1963). Ostatnio Kowada i wsp. (1968) opracowali metodę wywoływania niedokrwienia mózgowia przez podwiązanie tętnicy podstawnej i przejściowe zaciśnięcie tętnic szyjnych, połączone z uciśnięciem szyi mankietem do ciśnienia 350 mm Hg.

Modelem zawału mózgu jest podwiązanie u zwierzęcia tętnicy mózgu środkowej. Występuje wówczas niedowład połowiczny o różnym nasileniu. Martwica obejmuje część płata czołowego, skroniowego, ciemieniowego oraz zwoje podstawy, w których (zwłaszcza w głowie jądra ogoniastego oraz w łupinie) obserwuje się zawał krwotoczny. Utrzymanie ciśnienia krwi na odpowiednim poziomie zapewnia dobre krążenie oboczne, co zapobiega powstaniu nieodwracalnych zmian mózgowych (Corday i wsp. 1956, Denny-Brown, Meyer 1957). Na podstawie badań doświadczalnych ustalono, że krytyczną wartością jest ciśnienie poniżej 50 mm Hg.

Tradycyjna metoda zamknięcia tętnicy środkowej mózgu nie jest pozbawiona ujemnych stron, gdyż wymaga szerokiego otwarcia czaszki zwierzęcia, co powoduje zmianę warunków wewnątrzczaszkowych. Dla uniknięcia tego Rap i wsp. (1968) wywoływali zakrzep w tętnicy środkowej mózgu u kotów z pomocą stereotaksji. Miejscem wprowadzenia elektrody była okolica przebiegu tętnicy środkowej mózgu oznaczona stereotaktycznie, zaś czynnikiem powodującym zamknięcie światła na-

czynia był prąd elektrolityczny anodowy o natężeniu 1—2 mA, działający przez 90—60 minut. Zdaniem autorów zabieg ten jest prostszy technicznie i ma tę zaletę, że odbywa się w zamkniętej czaszce zwierzęcia, co zbliża warunki doświadczenia do tych, jakie obserwuje się w patologii ludzkiej. Wadą tej metody jest duża śmiertelność zwierząt, spowodowana przypuszczalnie uszkodzeniem podwzgórza oraz możliwością rozprzestrzeniania się zakrzepu z tętnicy środkowej mózgu na inne naczynia koła tętniczego Willisa.

Szczególnie interesujące doświadczenia przeprowadził Korthals (1969) na królikach, u których podwiązywano dogłową część tętnicy szyjnej wspólnej a w kierunku dosercowym wprowadzano kaniulę, połączoną z układem naczyń. Poprzez kaniulę upuszczano krew do zbiornika szklanego, doprowadzając zwierzęta do stanu śmierci klinicznej. Jako okres śmierci klinicznej przyjęto czas od ostatniego oddechu do chwili rozpoczęcia ożywiania, tzn. ponownego wtłaczania krwi do układu naczyniowego. U królików z 4—8-minutową śmiercią kliniczną równocześnie z rozpoczęciem ożywiania stosowano sztuczne oddychanie za pomocą aparatu. Ten model pozwala na wywołanie zmian patologicznych o znacznej rozpiętości i nasileniu. Dodatkową zaletą tej metody była możliwość łatwej reanimacji zwierząt i wywoływania zmian mózgowych zarówno ostrych, podostrych jak i przewlekłych.

Wyników badań na zwierzętach nie można „dosłownie” przenieść do patologii ludzkiej. Wiąże się to m. in. z faktem, że u zwierząt układ naczyń, zarówno zewnętrzny jak i wewnętrzny, jest zbliżony, ale nie taki sam jak u człowieka. I tak np. u kota tętnica szyjna wewnętrzna bywa słabo wykształcona, niekiedy szczątkowa. Końcowym jej odgałęzieniem w jamie czaski jest tętnica szyjna mózgowa (*a. carotis cerebialis*), która ma powiązanie z siecią cudowną (*rete mirabile*). Tętnica ta w okolicy przysadki mózgowej przebija oponę twardą, oddaje gałąź donosową i doogonową, po czym jej krótki pień dzieli się na tętnicę mózgową środkową i donosową (*a. cerebialis media et nasalis s. anterior*). Tętnice te wspólnie z tętnicą podstawną i odgałęzieniami tętnicy szczękowej wewnętrznej tworzą pierścień tętniczy mózgu (Martin 1923, Chungcharoen i wsp. 1952, Sobociński 1965).

Zaopatrzenie w krew znacznej części mózgowia pochodzi z dobrze rozwiniętej tętnicy szczękowej wewnętrznej, która jest odgałęzieniem tętnicy szyjnej zewnętrznej. Tętnica szczękowa wewnętrzna dzieli się i rozgałęzia, tworząc tzw. sieć cudowną zewnątrzoponową, która znajduje się między przysadką a pniem nerwu trójdzielnego. Odgałęzienia sieci cudownej tworzą inną, wewnętrzny szkielet naczyń, która ma powiązanie z tętnicą szyjną mózgowia i bierze udział w tworzeniu koła tętniczego mózgu (ryc. 1). Przyjmuje się, że u kotów zaopatrzenie

mózgowia w krew pochodzi głównie z obszaru tętnic szyjnych, a w znacznie mniejszym stopniu z tętnic kręgowych i tętnicy podstawnej (Chungcharoen i wsp. 1952).

Istnieje pewna analogia między połączeniami tętniczymi u zwierząt, u których oko i oczodół jest obszarem powiązania zewnątrz i wewnątrzczaszkowego, a krążeniem obocznym u ludzi poprzez tętnicę szyjną zewnętrzną i oczną w przypadkach niedrożności tętnicy szyjnej wewnętrznej (Tatelman 1960, Szapiro i wsp. 1962).

Poczynając od lamura, poprzez mały człekokształtne, aż do człowieka, średnica tętnicy szyjnej wewnętrznej powiększa się, a rola jej w ukrwieniu mózgu i oka wzrasta. W życiu pozapłodowym człowieka tętnica szyjna zewnętrzna traci znaczenie, które w rozwoju rodzajowym i osobniczym posiadała dla ukrwienia oka i mózgu. Dane kliniczne oftalmodynamometryczne i angiograficzne wskazują wyraźnie, że w przypadkach niedrożności tętnicy szyjnej wewnętrznej rola tętnicy szyjnej zewnętrznej staje się znów istotna, podobnie jak to ma miejsce u zwierząt (Szapiro i wsp. 1962).

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenia przeprowadzono na 33 kotach, obu płci, wagi 2—5 kg. Zabiegi wykonywano w uśpieniu ogólnym, po domięśniowym podaniu Brietalu (Methohexital) 15—20 mg/kg wagi zwierzęcia.

Koty podzielono na trzy grupy: I grupa obejmowała 11 zwierząt, u których podwiązano tętnicę szyjną wspólną po jednej stronie; Grupę II stanowiło 13 kotów. Rozrózniono w niej dwie podgrupy: 1) 6 kotom podwiązano obie tętnice szyjne wspólne dwuetapowo — w odstępie tygodniowym, 2) 7 kotom wyłączono z krążenia jednocześnie tętnice szyjne obustronnie. Grupa III obejmowała 9 kotów. Wywoływano u nich zatory tłuszczowe mózgu przez podanie do tętnicy szyjnej powyżej jej zamknięcia około 0,5—1 cm ciężkiego 40% Lipiodolu (Iodized oil — preparat jodowy, który zawiera 40% jodu w oleju sezamowym).

Ponieważ tętnica szyjna wewnętrzna jest u kotów słabo rozwinięta istniały trudności z jej wyosobnieniem, dlatego też podwiązywano tętnicę szyjną wspólną. Zakładano zwykle dwie podwiązki z lnu oraz dodatkowo miejsce wykonanej niedrożności oznaczano za pomocą zacisku. U części zwierząt wykonano angiografię tętnic szyjnych, podając przez cewnik środek cieniujący (60% Uromiro). Zwierzęta uśmiercano przez uśpienie Brietalem i wykonanie perfuzji 10% roztworem formaliny w soli fizjologicznej po upływie 2 tygodni, 4 tygodni, 3 i 5 miesięcy po zabiegu.

Wypreparowano tętnice szyjne oraz naczynia podstawy mózgowia. Mózgowie utrwalano w formalinie, a następnie krojono w płaszczyźnie

czołowej. Wycinki z okolic czołowej, ciemieniowo-skroniowej i styku ciemieniowo-potylicznego, jak również z jąder podstawy, z pnia i mózdku zatapiano w parafinie. Skrawki barwiono hematoksyliną-eozyną, metodą van Gieson, Heidenhaina i Spielmejera.

WYNIKI BADAŃ

Grupa I. Z 11 kotów, w 4 przypadkach stwierdzono nakłuciem tętnicy szyjnej powyżej niedrożności znaczny wsteczny wypływ krwi. U tych kotów wykonano angiografię tętnic szyjnych. Obraz angiograficzny był prawidłowy.

Dwa koty padły w ciągu 24 godzin, jeden po podwiązaniu tętnicy szyjnej, drugi po angiografii. U pozostałych 9 kotów nie stwierdzono żadnych odchyłeń w zachowaniu się, ani zmian w stanie przedmiotowym.

W tętnicy szyjnej wspólnej między dwiema podwiązkami z lnu stwierdzono zakrzep wypełniający światło tętnicy. Podobne zmiany występowały również w tętnicy poza podwiązkami, w bezpośrednim sąsiedztwie niedrożności (w odległości około 1—2 cm), zwłaszcza w odcinku dośrodkowym. Stwierdzono różne fazy organizacji zakrzepu.

U trzech zwierząt, które przeżyły 5 miesięcy wykazano szerszą tętnicę łączącą tylną po stronie niedrożnej tętnicy szyjnej, a u czterech poszerzenie przeciwstronnej tętnicy szyjnej. U dwóch kotów, które zginęły w ciągu 24 godzin, stwierdzono objawy miernego obrzęku półkuli mózgu po stronie niedrożnej tętnicy szyjnej. U pozostałych zwierząt po upływie 2 i 4 tygodni, 3 i 5 miesięcy od zabiegu nie wykazano w mózgowiu zmian makro- ani mikroskopowych.

Grupa II. 1. Podgrupa: Wszystkie zwierzęta (6 kotów) wykazywały prawidłowe reakcje; nie obserwowano niedowładu kończyn, ani drgań. W mózgowiu nie stwierdzono zmian. U trzech kotów po obustronnym wyłączeniu tętnic szyjnych wspólnych wykonano angiografię. Mimo niedrożności tętnic szyjnych stwierdzono wsteczny wypływ krwi z tętnic powyżej niedrożności. Ponadto u dwu kotów wykazano angiograficznie wsteczne wypełnienie się łącznic między tętnicą szyjną a tętnicą podobojczykową (ryc. 2).

2. Podgrupa. U siedmiu kotów istniała uderzająca różnica w zachowaniu się w porównaniu z kotami podgrupy pierwszej. W ciągu pierwszej i drugiej doby zwierzęta nie reagowały na otoczenie; reagowały jedynie na bodźce bólowe, kręciły się wokół osi ciała lub leżały w jednej pozycji na boku. Dwa koty padły przed upływem 24 godzin wśród objawów odmóżdzeniowych. U pozostałych zwierząt w trzeciej dobie nastąpiła poprawa, a w piątej nie stwierdzono już odchyłeń w

stanie przedmiotowym. U dwóch kotów angiograficznie wykazano wsteczne wypełnienie się tętniczek na szyi poniżej zamknięcia tętnicy szyjnej. W tętnicach szyjnych, w zależności od czasu przeżycia, stwierdzono zmiany zakrzepowe w różnym okresie organizacji (ryc. 4 i 5). Bezpośrednio po podwiązaniu tętnic szyjnych stwierdzono wystąpienie obrzęku mózgu. Obserwacje te umożliwiło wykonanie obustronnej kraniektomii. Obrzęk mózgu, jednak o mniejszym nasileniu, był widoczny również u kotów po dwutygodniowym okresie przeżycia (ryc. 6 i 7).

W pięć miesięcy po zabiegu, na przekrojach mózgu nie stwierdzono zmian makro- i mikroskopowych.

Grupa III. U 9 kotów po wywołaniu zatorów tłuszczowych wykazano w tętnicy szyjnej charakterystyczne rozmieszczenie materiału zatorowego, jak również wsteczne wypełnienie się szeregu drobnych tętniczek na szyi (ryc. 3). Stan zwierząt był bardzo ciężki. Koty leżały na boku, niektóre nawet nie reagowały na bodźce bólowe. U pięciu obserwowano prężenia odmóżdzeniowe i uogólnione drgawki. Cztery koty padły po kilku godzinach od zabiegu.

U trzech spośród pięciu kotów, które przeżyły — stwierdzono w okresie poprawy stanu ogólnego, w drugiej — trzeciej dobie po zabiegu niedowład połowiczny bardziej wyraźny w kończynie tylnej. Ustąpił on w następnych 3—4 dniach i wówczas na podstawie zachowania się zwierząt trudno było ustalić po której stronie podawano oleisty środek cieniujący. Koty biegały swobodnie. Odnosiło się jednak wrażenie, że ruchy kończyny tylnej były nieco opóźnione w stosunku do ruchów kończyny przedniej. Makroskopowo jeszcze dwa tygodnie po zabiegu, stwierdzano znaczny obrzęk całego mózgowia (ryc. 8). W powiększeniu lupowym, a jeszcze bardziej w badaniu mikroskopowym, wykazano cechy obrzęku, wyrażające się poszerzeniem przestrzeni okołonaczyniowych i rozrzedzeniem struktury istoty białej. W korze neurocyty wykazywały charakterystyczne zmiany ischemiczne. Ponadto stwierdzono w obszarze unaczynienia tętnicy środkowej mózgu ogniska martwicy, szczególnie w środkowych warstwach kory (ryc. 9).

OMÓWIENIE

Po jednostronnym podwiązaniu tętnicy szyjnej wspólnej u kota nie obserwowano odchyień w zachowaniu się, ani morfologicznych zmian w mózgu zwierzęcia. Obserwacje te są zgodne z danymi Levine'a (1960). Wyrazem pewnych zaburzeń hemodynamicznych było u naszych zwierząt poszerzenie tętnicy łączącej tylnej po stronie niedrożnej tętnicy szyjnej i zwiększenie się wymiaru drugostronnej tętnicy szyjnej. Zmiany

te wykazano jedynie u zwierząt z przeżyciem pięciomiesięcznym; podobne spostrzeżenia poczynił już uprzednio Hassler (1963).

Poszerzenie tętnicy łączącej tylnej jest wynikiem przesunięcia tzw. „martwego punktu” („dead point” — Szapiro 1964) w tętnicy łączącej tylnej, co jest wyrazem uruchomienia krążenia obocznego (mechanizmów wyrównawczych). Badania doświadczalne i angiograficzne pozwoliły na wykrycie tych „martwych punktów” w kole Willisa. Występują one tam, gdzie stykają się ze sobą układy obu tętnic szyjnych oraz tętnic szyjnych z tętnicą podstawną. W miejscach tych ciśnienie krwi w każdym z wymienionych układów jest jednakowe. W warunkach prawidłowych „martwe punkty” znajdują się w tętnicach: łączącej przedniej i łączących tylnych (Szapiro 1964, Wygodzka-Lipska 1966).

Wyrównawcze poszerzenie drugostronnej tętnicy szyjnej jest następstwem wzrostu przepływu krwi. Dzięki temu, między innymi, nie dochodzi do zaburzeń krążenia mózgowego, gdyż ogólna ilość krwi, zaopatrującej mózgowie, nie ulega zmniejszeniu (Shenkin i wsp. 1951, Stern 1962, Kindt i wsp. 1967). Należy jednak liczyć się z faktem, że tkanka mózgowa jest wówczas niejako „wyczulona” na wszelkie zmiany ciśnienia krwi. W doświadczeniu na małpach stwierdzono, że mimo zwężenia światła tętnicy szyjnej do $1/5$, nie występowały objawy neurologiczne, ani zmiany w zapisie EEG. Dopiero po dodatkowym obniżeniu ciśnienia krwi dochodziło do ogniskowych objawów ubytkowych i pojawienia się bioelektrycznej czynności wolnej. Zapis EEG ulegał normalizacji, gdy ciśnienie krwi podnosiło się (Corday i wsp. 1956). Potwierdzają to również obserwacje u chorych z jednostronną niedrożnością tętnicy szyjnej, u których spadek ciśnienia tętniczego stwarza groźbę powstania niedostateczności krążenia krwi w mózgowiu (Denny-Brown, Meyer 1957, Kind i wsp. 1967).

Spostrzeżenia Hasslera (1963) dotyczące poszerzenia tętnic oponowych i zmniejszenia się wagi dotkniętej półkuli mózgu po stronie niedrożnej tętnicy szyjnej nie potwierdziły się. Spotykał te zmiany często u młodych królików, dopiero w kilka miesięcy po wyłączeniu z krążenia tętnicy szyjnej. Zmian strukturalnych w naczyniach mózgowych w postaci ubytków w błonie środkowej tętnic, po podwiązaniu tętnic szyjnych, które stwierdził Hassler (1961, 1962, 1963) u 15% królików, również nie udało się wykazać. Ubytki te stwarzają się w miejscach szczególnie narażonych na „stress hemodynamiczny” i prowadzą do powstania tętniaków. Wyniki badań Hasslera rzucają nowe światło na następstwa podwiązania tętnic szyjnych u ludzi w przypadkach niektórych tętniaków wewnątrzczaszkowych o określonym umiejscowieniu. Wyłączenie z krążenia tętnicy szyjnej jest zatem u tych chorych z jednej strony zabiegiem leczniczym, z drugiej jednak strony może powodować ryzyko

powstania nowych tętniaków (Hassler 1963). Pojedyncze doniesienia zdają się w pewnym stopniu potwierdzać to przypuszczenie (Nofzinger i wsp. 1965).

Również po obustronnym, ale dwuetapowym podwiązaniu tętnicy szyjnej nie obserwowano zmian w zachowaniu się kotów, nie stwierdzono ubytków neurologicznych, ani zmian makro- i mikroskopowych w mózgowiu. Tłumaczy się to sprawnym i rozległym krążeniem obocznym, stwierdzanym angiograficznie, u trzech kotów pod postacią zmiany kierunku przepływu krwi: krew spływała wstecznie z koła tętniczego mózgu do tętnicy szyjnej; równocześnie występowało wsteczne wypełnienie się odgałęzień-łącznic między tętnicą szyjną a tętnicą podobojczykową. U ludzi, może to odpowiadać np. zespoleniom między tętnicami tarczowymi górnymi i dolnymi, które są jedną z dróg krążenia obocznego w przypadkach niedrożności tętnicy szyjnej wspólnej (Tatelman 1960, Cook, Lin 1964, Youmans i wsp. 1967). Odpowiednikiem omawianego modelu doświadczalnego w patologii ludzkiej są przypadki powoli narastającej niedrożności tętnic szyjnych z nieznacznymi objawami klinicznymi i zmianami w mózgowiu.

Za ciężki stan zwierząt po obustronnym, jednoczesnym wyłączeniu z krążenia tętnic szyjnych był odpowiedzialny obrzęk mózgu, stwierdzony bezpośrednio po zabiegu i utrzymujący się przez dwa tygodnie. Fakt, że u większości zwierząt w późniejszym okresie nie stwierdzono zmian w mózgowiu dowodzi, że krążenie oboczne u kota jest bardziej wydolne niż u człowieka.

W porównaniu z następstwami podwiązania tętnic szyjnych, zator tłuszczowy mózgu powodował znacznie cięższy stan ogólny i neurologiczny zwierząt i większe zmiany w mózgowiu. Materiał zatorowy, który czasowo lub trwale zamyka liczne tętniczki, opóźnia wytworzenie się krążenia obocznego lub całkowicie uniemożliwia jego powstanie (Meyer i wsp. 1962). Stąd krążenie oboczne w przebiegu zatorów jest zwykle mniej wydolne, niż w przypadkach zamknięcia tętnicy środkowej mózgu, czy szyjnej.

Zmiany histologiczne o charakterze ischemicznym, w naszym materiale były szczególnie nasilone w środkowych warstwach kory, odpowiadały one obrazowi tzw. martwicy warstwowej — „laminar cortical necrosis” (Courville 1958). Zmiany ischemiczne były umiejscowione głównie w obszarze unaczynienia tętnicy środkowej mózgu. W ten sposób przez podanie materiału zatorowego do tętnicy szyjnej wywoływano niedostateczność krążenia w obszarze tętnicy środkowej mózgu. Odpowiada to częściowo doświadczalnemu podwiązaniu tej tętnicy (dodatkową zaletą stosowanej metody jest unikanie otwarcia jamy czaszki

i odsłonięcie tętnicy środkowej mózgu, które niewątpliwie powodują zmianę warunków wewnątrzczaszkowych).

Dokonane przeze mnie obserwacje są zgodne ze spostrzeżeniami Cartera (1964), który uważa, że zatory powodują najczęściej rozmiękanie korowe, powierzchniowe, nierzadko mnogie, zlewające się. Carter stwierdził je aż w 85% przypadków w obszarze tętnicy środkowej mózgu. Przejście cząstek zatorowych do tętnic powierzchniowych jest uwarunkowane położeniem tych naczyń. Umieszczenie zatorów w tętnicach głębokich jest trudniejsze z powodu ich odejścia od głównego pnia tętnicy środkowej mózgu pod kątem prostym. Swank i Hain (1952) uważają, że małe cząstki zatorowe powodują raczej uszkodzenie istoty białej (demielinizacja), większe — istoty szarej. Dochodzi do powstania mikrozawałów, tłumaczonych przechodzeniem małych cząstek zatorowych przez łożysko naczyniowe istoty szarej i zatrzymywaniem się ich w istocie białej, gdzie krążenie w kapilarach jest mniej wydolne.

Zmiany zakrzepowe w różnym okresie organizacji stwierdzono nie tylko w obszarze wyłączonego odcinka tętnicy szyjnej, ale również w najbliższym sąsiedztwie zamknięcia światła naczynia. U zwierząt z dłuższym okresem przeżycia (niektóre do 5 miesięcy) można było wykazać częściową rekanalizację światła tętnicy.

WNIOSKI

Wyniki przeprowadzonych badań doświadczalnych pozwalają na sformułowanie następujących wniosków:

1. Jednostronne podwiązanie tętnicy szyjnej u kota powoduje zaburzenia hemodynamiczne, które prowadzą do wyrównawczego poszerzenia tętnicy szyjnej po drugiej stronie oraz do zwiększenia światła tętnicy łączącej tylnej po stronie niedrożności.

2. W przypadkach doświadczalnej niedrożności tętnicy szyjnej wspólnej krążenie oboczne u kota, podobnie jak u ludzi, odbywa się przede wszystkim przez koło tętnicze mózgu oraz przez liczne odgałęzienia-łącznice między tętnicą szyjną zewnętrzną, a tętnicą podobojczykową.

3. W wyniku mechanicznej niedrożności tętnicy dochodzi do powstania zmian zakrzepowych nie tylko w obszarze wyłączonego odcinka naczynia, lecz również w najbliższym sąsiedztwie dokonanego zamknięcia tętnicy. W okresie późniejszym wytwarza się niekiedy częściowa rekanalizacja zakrzepu.

4. U kotów po jedno, a nawet obustronnym, dwuetapowym zamknięciu światła tętnicy szyjnej, nie stwierdzono uchwytnych zaburzeń w zachowaniu się, objawów ubytkowych, ani zmian morfologicznych w mózgowiu.

5. Obustronne, jednoczasowe wyłączenie tętnic szyjnych spowodowało u 1/3 zwierząt zejście śmiertelne wśród objawów odmóżdżenia. Pozostałe zwierzęta wykazywały przez kilka dni zmiany w zachowaniu się, a w mózgowiu stwierdzono przejściowo obrzęk mózgu.

6. Doświadczalne zatory tłuszczowe mózgu powodują u kota, podobnie jak u ludzi, ciężkie objawy ogólne i neurologiczne. W mózgowiu występują zmiany ischemiczne.

7) Wyniki przeprowadzonych badań mogą być pomocne dla lepszego zrozumienia patomechanizmu powstawania zespołów klinicznych i zmian mózgowych w następstwie niedrożności pni tętniczych i zatorów mózgu u ludzi.

Я. Хольст

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕДОСТАТОЧНОСТИ КРОВООБРАЩЕНИЯ В МОЗГУ

Резюме

В работе представлен вопрос недостаточности кровообращения в мозгу на основании опытов, проведенных на 33 кошках, которым односторонне или двухсторонне подвязывали одновременно или в двух этапах общую сонную артерию. Добавочно у 9 животных проводили жировую эмболию подачей в сонную артерию тяжелого 40% Липидола (Iiodized oil).

Было обнаружено, что подвязка сонной артерии у кошек вызывает гемодинамические нарушения, ведущие к компенсационному расширению другой стороны сонной артерии и увеличению просвета задней соединяющей артерии со стороны непроходимости.

В результате механической непроходимости артерий возникают тромбозные изменения не только в районе выключенного отрезка сосуда, но и в ближайшем соседстве закрытия артерии. Позднее образуется иногда частичная реканализация просвета сосуда. У кошек после одно-, а даже двухстороннего, двухэтапного закрытия просвета сонной артерии, не обнаруживается изменения в головном мозгу, кроме временного набухания. Это обусловлено эффективным и обширным коллатеральным кровообращением. В человеческой патологии соответствующей моделью является случаи медленно нарастающей обусторонней непроходимости сонных артерий с незначительными клиническими симптомами и изменениями в мозгу. Обустороннее, одновременное выключение сонных артерий вызвало у свыше 1/3 животных летальный исход с симптомами децеребрации.

Экспериментальная жировая эмболия мозга у кошки вызывает тяжелые общие и неврологические симптомы, в головном мозгу обнаруживаются изменения ischemического характера.

EXPERIMENTAL STUDIES ON CIRCULATORY INSUFFICIENCY IN BRAIN

S u m m a r y

The problem of circulatory insufficiency in the brain is considered in the light of experiments with 33 cats in which the common carotid artery was ligated unilaterally or bilaterally in one or in two steps. In nine animals fat emboli were induced by injection into the carotid artery heavy 40% Lipiodol (Iodized oil).

It was found that ligation of the carotid artery in cats produces haemodynamic disturbances leading to a compensatory widening of the contralateral artery and to an extension in the lumen of the posterior communicating artery on the side of the occlusion.

Owing to mechanical occlusion of the artery, thrombotic changes occur not only in the region of the ligated vascular segment, but also in the nearest vicinity of the occlusion of the artery. At a later period sometimes a partial recanalisation of the thrombus occurs. After one- and even two- steps occlusion of the carotid artery no changes were noted in the brain except for a transitory oedema. This may be ascribed to the efficient and extensive collateral circulation. In human pathology this model corresponds to cases of slowly increasing bilateral obstruction of the carotid arteries with slight clinical symptoms and morphological changes in the brain. Bilateral simultaneous occlusion of the carotid arteries caused in more than one third of the animals death with symptoms of decerebration.

Experimental fat emboli in the cat brain cause severe general and neurological symptoms. Ischemic changes occur in the brain.

PIŚMIENNICTWO

1. Aguilar J. A.: Cerebral vascular unsufficiency in rabbits after basilar ligation. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 1963, 22, 617—628.
2. Carter A. B.: Cerebral infarction. Pergamon Press, Oxford 1964.
3. Chungcharoen D., Daly M. B., Neil E., Schweitzer A.: The effect of carotid occlusion upon the intrasinus pressure with special reference to vascular communication between the carotid and vertebral circulations in the dog, cat and rabbit. *J. Physiol.* 1952, 117, 56—76.
4. Cook A. W., Lin T. H.: Blood flow at the bifurcation of the common carotid artery. *Surg. Gyn. Obst.* 1964, 119, 575—579.
5. Corday E., Rothenberg S., Weiner S. M.: Cerebral vascular insufficiency. *Arch. Int. Med.* 1956, 98, 683—690.
6. Courville C. B.: Etiology and pathogenesis of laminar cortical necrosis. *Arch. Neurol. Psychiat.* 1958, 79, 7—20.
7. Denny-Brown D., Meyer J. S.: The cerebral collateral circulation. Production of cerebral infarction by ischemic anoxia and its reversibility in early stages. *Neurology* 1957, 7, 567—579.

8. Gildea E. F., Cobb S.: The effects of anemia on the cerebral cortex of the cat. *Arch. Neurol. Psychiat.* 1930, 23, 876—903.
9. Hassler O.: Morphological studies on the large cerebral arteries. With special reference to the aetiology of subarachnoid haemorrhage. *Acta Psychiat.* 1961, suppl, 1954, 1—145.
10. Hassler O.: Media defects in intracranial arteries. *Acta Neurol. Scand.* 1962, 38, 29—32.
11. Hassler O.: Experimental carotid ligation followed by aneurysmal formation and other morphological changes in the circle of Willis. *J. Neurosurg.* 1963, 20, 1—7.
12. Kabat H., Dennis C.: Decerebration in the dog by complete temporary arrest of the cephalic circulation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1938, 38, 864—865.
13. Kindt G. W., Youmans J. R., Albrand O.: Factors influencing the autoregulation of the cerebral blood flow during hypotension and hypertension. *J. Neurosurg.* 1967, 26, 299—305.
14. Korthals J.: Doświadczalne niedokrwienie mózgu u królika. *Klinika i morfologia. Neuropat. Pol.* 1969, 7, 113—160.
15. Kowada M., Ames A., Majno G., Wright R. L.: Cerebral ischemia. I. An improved experimental method for study cardiovascular effects and demonstration of an early vascular lesion in the rabbit. *J. Neurosurg.* 1968, 28, 150—157.
16. Kramer S. P.: On the function of the circle of Willis. *J. Exp. Med.* 1912, 15, 348—364.
17. Levine S.: Anoxie-ischemic encephalopathy in rats. *Amer. J. Path.* 1960, 36, 1—17.
18. Martin P.: *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. IV Band. Schickhard-Ebner Verlag, Stuttgart, 1923.*
19. McDonald D. A., Potter J. M.: The distribution of blood to the brain. *J. Physiol.* 1951, 114, 356—371.
20. Meyer J., Gotoh F., Tazaki Y.: Circulation and metabolism following experimental cerebral embolism. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 1962, 21, 4—24.
21. Nofzinger J. D., Britt L. G., Murphey F., Pate J. W.: Unusual treatment of an intracranial aneurysm contralateral to a previous common carotid ligation. *J. Neurosurg.* 1965, 22, 182—184.
22. Rap Z. M., Wiśniewski H., Wermiński K., Korthals J.: Elektrolityczne wywoływanie zakrzepu w tętnicy środkowej mózgu u kotów przy pomocy stereotaksji. *Neuropat. Pol.* 1968, 6, 219—226.
23. Shenkin H. A., Cabieses F., van den Noordt G., Sayers P., Copperman R.: The hemodynamic effect of unilateral carotid ligation on the cerebral circulation of men. *J. Neurosurg.* 1951, 8, 38—45.
24. Sobociński M.: *Układ nerwowy zwierząt domowych. Państw. Wyd. Nauk. Warszawa, Wrocław 1965.*
25. Stern W. E.: A preliminary report of experimental and clinical observations upon carotid artery blood flow. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 1962, 25, 303—314.
26. Swank R. L., Hain R. F.: The effect of different sized emboli on the vascular system and parenchyma of the brain. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 1952, 11, 280—299.

27. Szapiro J., Goetzen B., Świetliczko I., Pakuła H., Głuszcz A.: W sprawie możliwości morfologicznych krążenia obocznego do mózgu i siatkówki. *Annal. Acad. Med. Łódź* 1962, 2, 142—170.
28. Szapiro J.: Niektóre zagadnienia fizjopatologii niedokrwienia tkanki mózgowej. *Neurol. Neurochir. Psych. Pol.* 1964, 14, 509—515.
29. Szapiro J.: Cerebrovascular insufficiency and collateral circulation. *Neuropat. Pol.* 1964, 2, 5—34.
30. Szapiro J., Pakuła H.: W sprawie możliwości morfologicznych krążenia obocznego do mózgu i kończyny górnej. II Układ tętniczy aortalno-mózgowy tylny. *Annal. Acad. Med. Łódź* 1966, 7, 261—275.
31. Tatelman M.: Pathways of cerebral collateral circulation. *Radiology* 1960, 75, 349—362.
32. Whisnant J. P., Millikan C. H., Wakim K. G., Sayre G. P.: Collateral circulation to the brain of the dog following bilateral ligation of the carotid and vertebral arteries. *Amer. J. Physiol.*, 1956, 186, 2.
33. White R. R.: An experimental method for the production of decerebrate in dogs by vascular occlusion. *J. Nerv. Ment. Dis.* 1937, 85, 663—667.
34. Wygodzka-Lipska B. J.: Rozmieszczenie środka cieniującego podczas angiografii tętnicy szyjnej w angiogramach „prawidłowych” i patologicznych. Rozprawa habilit. Łódź 1966.
35. Youmans J. R., Kindt G. W., Mitchell O. C.: Extended studies of direction of flow and pressure in the internal carotid artery following common carotid artery ligation. *J. Neurosurg.* 1967, 27, 250—254.

Adres autora: Wrocław, ul. Szczytnicka 28/2.

PODPISY POD RYCINY

Ryc. 1. Układ tętnic szyjnych i kręgowych oraz podstawnej u kota (wg Chungcharoen i wsp. 1952). 1 — T. szyjna wspólna; 3 — T. szyjna zewnętrzna; 4 — T. potyliczna; 5 — T. gardłowa wstępująca; 6 — T. językowa; 7 — T. szczękowa zewnętrzna; 8 — T. szczękowa wewnętrzna; 9. — T. sieć zewnętrzna; 10 — T. oczodołowa; 11 — T. sitowa zewnętrzna; 12 — T. sitowa wewnętrzna; 13 — T. zespalająca; 15 — T. rdzeniowa przednia; 16 — T. kręgowa; 17 — T. podstawna.

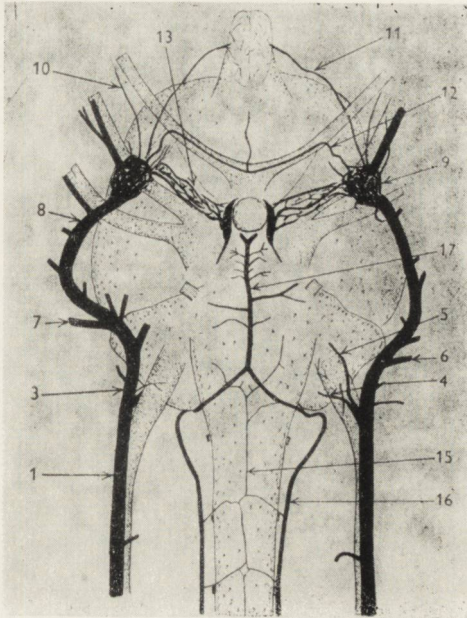
Fig. 1. System of carotid and vertebral arteries and basilar artery of the cat (after Chungcharoen et al. 1952). 1 — Common carotid a.; 3 — External carotid a.; 4 — Occipital a.; 5 — Pharyngeal upper a.; 6 — Lingual a.; 7 — Maxillary external a.; 8 — Maxillary internal a.; 9 — Rete externa; 10 — Orbital a.; 11 — External ethmoidal a.; 12 — Internal ethmoidal a.; 13 — Anastomotic a.; 15 — Spinal anterior a.; 16 — Vertebral a.; 17 — Basilar a.;

Ryc. 2. Kot nr 15. Angiogram tętnicy szyjnej. Wsteczne wypełnienie się tętniczek na szyi (strzałki). Widoczny cewnik tkwiący w tętnicy, poniżej zacisk naczyniowy.

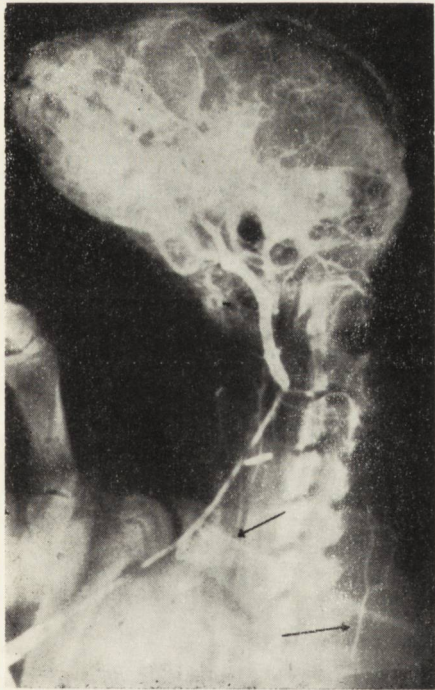
Fig. 2. Cat no 15. Angiogram of carotid artery. Regressive filling of arterioles in neck (arrows). Catheter inserted in artery and clamp below are visible.

Ryc. 3. Kot nr 31. Angiogram tętnicy szyjnej. Charakterystyczne rozmieszczenie Lipiodolu w tętnicy szyjnej. Strzałki górne wskazują na przerwy w słupie oleistego środka cieniującego. Widoczne wsteczne wypełnienie się licznych odgałęzień — łącznice między tętnicą szyjną a tętnicą podobojczykową (strzałki przerywane).

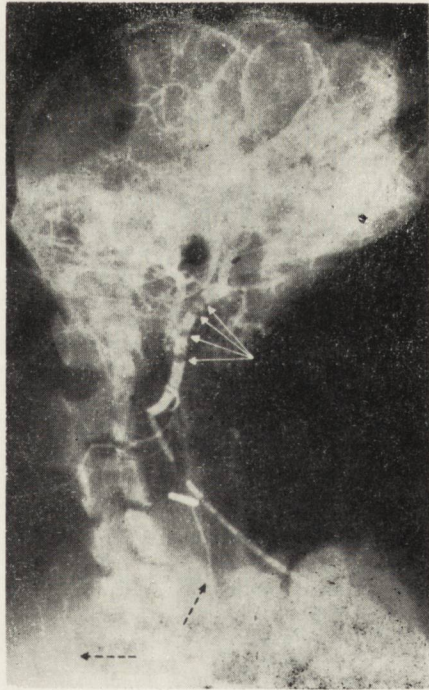
Fig. 3. Cat no 31. Angiogram of carotid artery. Characteristic Lipiodol distribution in carotid artery. Upper arrows indicate gaps in stem of oily contrast. Regressive filling of numerous branchings — anastomoses between carotid and subclavian arteries (dashed arrows).



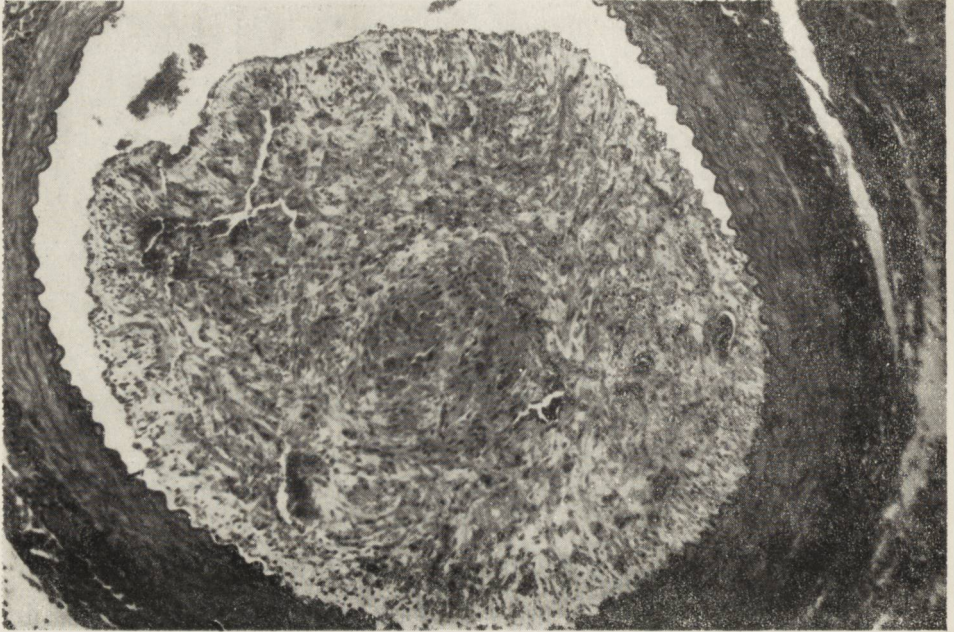
Ryc. 1.



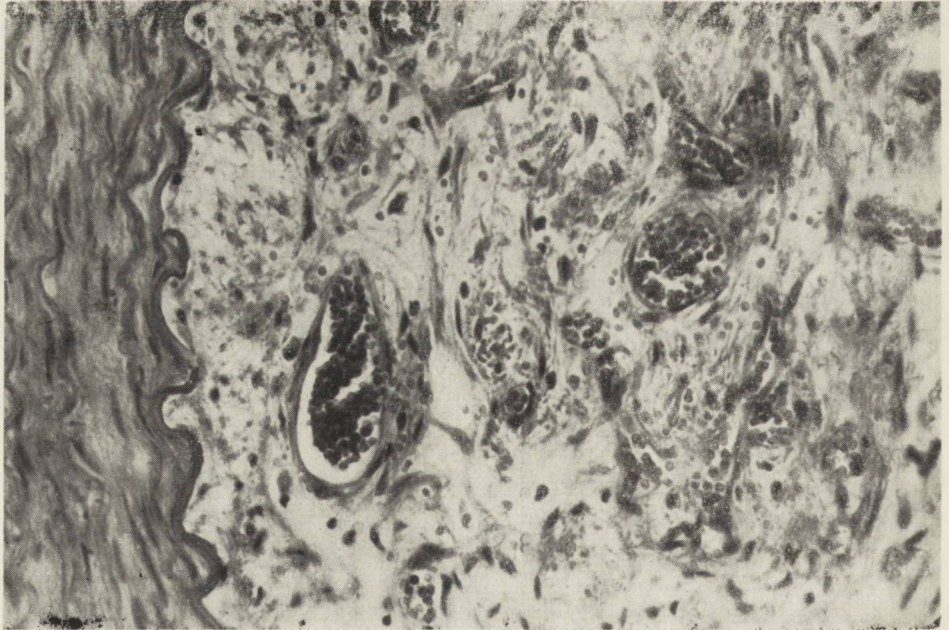
Ryc. 2.



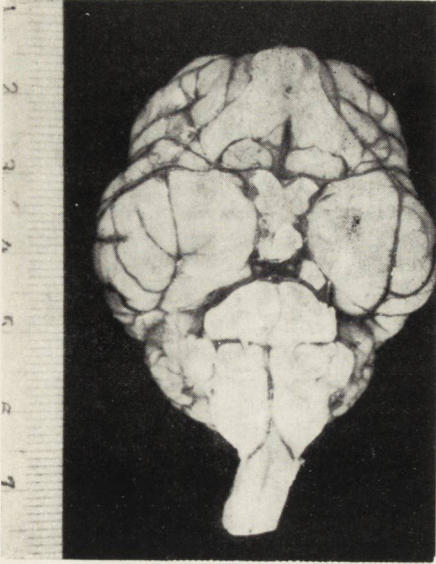
Ryc. 3.



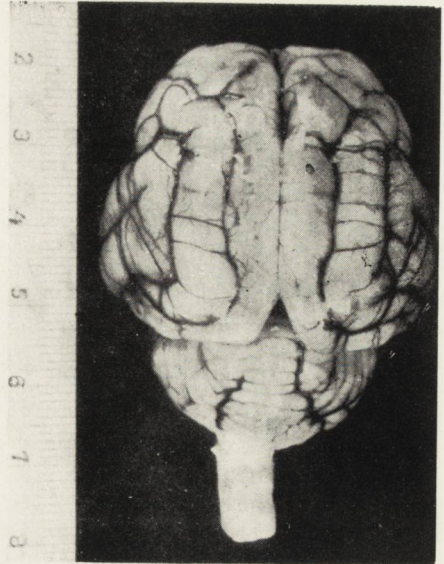
Ryc. 4.



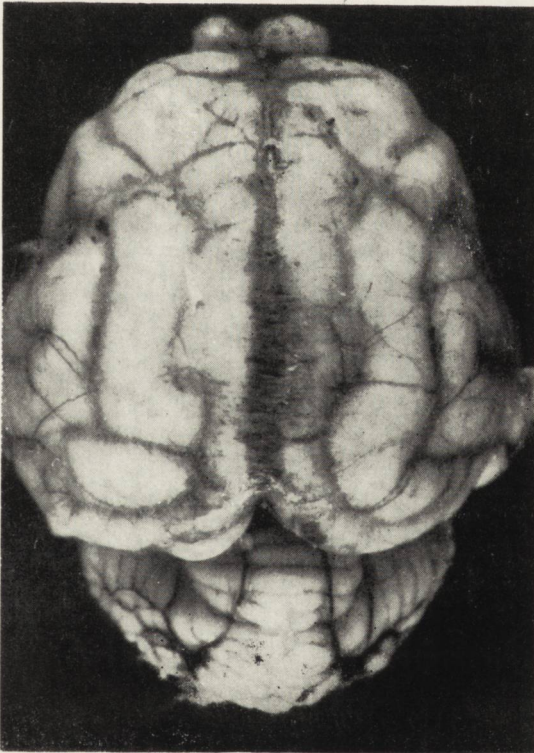
Ryc. 5.



Ryc. 6.



Ryc. 7.



Ryc. 8.



Ryc. 9.

Ryc. 4. Kot nr 23 (przeżycie 3 miesiące). Zorganizowany zakrzep wypełniający światło tętnicy szyjnej. Przeważają elementy łącznotkankowe. H-E. Pow. 90 x.

Fig. 4. Cat no 23 (survival 3 months). Organised thrombus occupying entire lumen of carotid artery. Connective tissue elements prevail. H-E. x 90.

Ryc. 5. Kot nr 23. Fragment ściany tętnicy oraz zakrzepu. Widoczne drobne naczynia wypełnione krwinkami. H-E. Pow. 340 x.

Fig. 5. Cat no 23. Fragment of arterial wall and thrombus. Minute capillaries filled with erythrocytes are visible. H-E. x 340.

Ryc. 6. Kot nr 25 (przeżycie 2 tygodnie). Umiarkowany obrzęk mózgowia. Powierzchnia wypukła mózgowia.

Fig. 6. Cat no 25 (survival 2 weeks). Moderate brain oedema. Convex surface of brain.

Ryc. 7. Kot nr 25 (przeżycie 2 tygodnie). Umiarkowany obrzęk mózgowia. Powierzchnia podstawna mózgowia.

Fig. 7. Cat no 25 (survival 2 weeks). Moderate brain oedema. Basal surface of brain.

Ryc. 8. Kot nr 33 (przeżycie 2 tygodnie). Znaczny obrzęk mózgowia. Sklepiście mózgowia.

Fig. 8. Cat no 33 (survival 2 weeks). Considerable brain oedema. Convex surface of brain.

Ryc. 9. Kot nr 27 (przeżycie 4 tygodnie). W II i III warstwie kory amonalnej widoczny stan gąbczasty, który układa się „girlandowato” równolegle do powierzchni kory. H-E. Pow. 160 x.

Fig. 9. Cat no 27 (survival 4 weeks). In layers II and III of ammonal cortex a spongy state is visible, following „girland-like” the cortical surface. H-E. x 160.

TEMATYKA POSIEDZEŃ NAUKOWYCH
STOWARZYSZENIA NEUROATOLOGÓW POLSKICH

w r o k u 1970

Styczeń

Zmiany histopatologiczne i ultrastrukturalne w nerwach obwodowych w niektórych schorzeniach ośrodkowego układu nerwowego.

H. Jędrzejowska, A. Fidziańska — Klinika Neurologiczna AM, Warszawa.
Morfologiczne i ultrastrukturalne zmiany komórek glejowych po podaniu ouabainy in vitro.

K. Renkawek — Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN.

Luty

Transfer — RNA i rybosomalny RNA w guzach mózgu.

G. Viale, H. Kroh, G. Grosso, E. Viale — Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN.

Niektóre obserwacje aktywności dehydrogenazy bursztynianowej i mleczanowej w doświadczalnych stanach drgawkowych u królików.

L. Iwanowski, R. Wasilewski — Klinika Neurologiczna AM, Warszawa.

Uszkodzenie układu nerwowego u płodu donoszonego, w przypadku nagłej śmierci matki.

D. Maślińska — Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN.

M ar z e c

Pathology and Pathogenesis on Protracted Post-Traumatic Encephalopathy.
Subacute Necrotizing Encephalomyelopathy.

K. Jellinger — Neurologisches Institut der Universität, Wien.

K w i e c i e ń

Przypadek torbieli skórzastej IV komory o niezwyklej przebiegu klinicznym.

S. Stefanko — Klinika Neurologiczna AM, Kraków.

Zmiany neuropatologiczne w przebiegu doświadczalnego zatrucia benzyną etylizowaną.

J. Karkos — Pracownia Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego, Pruszków.

Niektóre problemy enzymatycznej aktywności aminokwasów w tkance nerwowej.

B. Zgorzalewicz — Klinika Neurologiczna AM, Poznań.

M a j

Badania histochemiczne mięśni w chorobach ruchowego neuronu obwodowego.

H. Strugalska — Klinika Neurologiczna AM, Warszawa.

Morfologia i histochemia doświadczalnych glejaków mózgu *in vitro*.

H. Kroh, Z. Kraśnicka, K. Renkawek — Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN.

Czerwiec

Zmiany w drogach wzrokowych w przebiegu nosówki nerwowej u psów.

A. Taraszewska — Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN.

Przypadek przerzutu rakowiaka jelita biodrowego do mózdzku.

J. Karkos — Pracownia Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego, Pruszków.

Wrzesień

Neuropathological investigations on alcoholics. A pathological study of the nervous system of 57 alcoholics.

I. Tariska — Postgraduate School of Medicine, Budapest.

Neuropathological study of tyrosinosis.

J. Dymecki, M. Wojnarowski, P. Kanabus — Pracownia Neuropatologii i Instytutu Psychoneurologicznego, Pruszków.

A case of Alpers disease.

J. Kałuża, M. Gościńska, Pracownia Patologii Neurochirurgicznej Zakładu Farmakologii PAN, Kraków.

Październik

Spontaniczne poszczepienne zapalenie mózgu u małpy.

E. Osetowska, B. Chojnacka — Zespół Neuropatologii, Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN.

Zwyrodnienie włóknikowe komórek glejaków.

A. Głuszcz — Pracownia Neuropatologii Zakładu Anatomii Patologicznej AM, Łódź.

Listopad

Glycolysis in human brain tumours.

Oxidative metabolism in human brain tumours.

Ribosomes and ribosomal ribonucleic acid in human brain tumours.

Transfer ribonucleic acid in human brain tumours.

G. L. Viale — Institute Di Clinica Neurochirurgica Dell' Università Di Genova.

Grudzień

Zwyrodnienie włóknikowe i włókna Rosenthala w glejakach hodowanych *in vitro*.

L. Giernat, K. Habryka, A. Głuszcz, B. Lach, W. Papierz — Pracownia Neuropatologii Zakładu Anatomii Patologicznej AM, Łódź.

Glioblastosis cerebri diffusa et multifocalis.

S. Stefanko, J. Kałuża, H. Szydłowska — Pracownia Neuropatologii Instytutu Neurologii AM oraz Pracownia Patologii Neurochirurgicznej Zakładu Farmakologii PAN, Kraków.

Sprawozdanie z pobytu naukowego w Japonii.

M. Mossakowski — Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN.

SPIS TREŚCI

Z. Kraśnicka, M. J. Mossakowski, K. Renkawek: Morphologie et histochimie de neurones de ganglions spinaux cultivés <i>in vitro</i> dans les conditions d'anoxie	93
B. Hoppe: Aktywność oksydazy cytochromowej w tkance glejowej hodowanej <i>in vitro</i>	130
G. Szumańska, Z. M. Rap: Rozmieszczenie glikogenu i aktywność niektórych enzymów w motoneuronach rdzenia kręgowego w zwyrodnieniu osiowym	111
M. Wender, Z. Adamczewska, J. Dymecki, J. Kulczycki: Brain fatty acid pattern in amaurotic idiocy	127
M. Dąbska, B. Schmidt-Sidor: Deux cas d'agryrie et son rapport aux malformations du cerveau à l'incidence familiale	139
E. Osetowska, J. Pietrzyk, B. Chojnacka: Zapalenie mózgu po szczepionce Salka u mały Cercopithecus	145
M. Dąbska, H. Duroś, M. Marciniak: Uszkodzenie płodów i noworodków króliczych w przebiegu krwiopochodnej Listeriozy u matki	153
A. Stępień, E. Zderkiewicz: Przypadek gruźliczaka śródrzeniowego	161
J. Waleszkowski, Z. Hajdukiewicz: Choroba Recklinghausena z zajęciem ośrodkowego układu nerwowego	165
J. Hołyst: Badania doświadczalne nad niedostatecznością krążenia krwi w mózgowiu	171

СОДЕРЖАНИЕ

З. Красъницка, М. Я. Моссаковски, К. Ренкавек: Морфология и гистохимия сенсорных нейронов в тканевой культуре в гипоксии	93
В. Гоппе: Активность цитохромной оксидазы глиальной ткани, выращиваемой <i>in vitro</i>	103
Г. Шуманьска, З. М. Рап: Размещение гликогена и активность некоторых энзимов в мотонейронах спинного мозга в аксиальной дегенерации	111
М. Вендер, З. Адамчевска, Я. Дымецки, Я. Кульчицки: Образец жирных кислот мозга в амавратической идиотии	127
М. Домбска, Б. Шмидт-Сидор: Два случая агирии и дефекты мозга, наблюдающиеся в семье	139
Е. Осетовска, Я. Петшик, Б. Хойнацка: Энцефалит после прививки Салька у обезьяны Cercopithecus	145
М. Домбска, Г. Дурось, М. Мартиняк: Повреждение плодов и кроличьих новорожденных в течение гематогенного листериоза у матери	153
А. Стемпень, Е. Здеркевич: Случай интрамедулярной туберкуломы	161
Я. Валешковски, З. Хайдукевич: Случай центральной формы болезни Реклингаузена	165
Я. Холыст: Экспериментальные исследования недостаточности кровообращения в мозгу	171

CONTENTS

Z. Kraśnicka, M. J. Mossakowski, K. Renkawek: Morphologie et histochimie de neurones de ganglions spinaux cultivés <i>in vitro</i> dans les conditions d'anoxie	93
B. Hoppe: Cytochrome oxidase activity in glial tissue cultured <i>in vitro</i>	103
G. Szumańska, Z. M. Rap: Distribution of glycogen and some enzymes activity in motoneurons during degeneration	111
M. Wender, Z. Adamczewska, J. Dymecki, J. Kulczycki: Brain fatty acid pattern in amaurotic idiocy	127
M. Dąmbska, B. Schmidt-Sidor: Deux cas d'agryrie et son rapport aux malformations du cerveau à l'incidence familiale	139
E. Osetowska, J. Pietrzyk, B. Chojnacka: Encephalitis after Salk's vaccine in the monkey <i>Cercopithecus</i>	145
M. Dąmbska, H. Duroś, M. Marciniak: Injury of fetuses and newborn rabbits in the course of hematogenic Listeriosis in the mother	153
A. Stępień, E. Zderkiewicz: A case of intramedullary tuberculoma	161
J. Waleszkowski, Z. Hajdukiewicz: Recklinghausen' disease with involvement of the central nervous system	165
J. Hołyst: Experimental studies on circulatory insufficiency in brain	171

WARUNKI PRENUMERATY

Cena prenumeraty krajowej:

rocznie — 100.—

półrocznie — 50.—

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

Prenumeratory indywidualni w terminie do 10 dnia miesiąca poprzedzającego okres prenumeraty mogą opłacać prenumeratę w urzędach pocztowych i u listonoszy, lub dokonywać wpłat na konto PKO Nr 1-6-100020 — Centrala Kolportażu Prasy i Wydawnictw „Ruch”, Warszawa, ul. Towarowa 28.

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

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

Indeks 36910