

~~FR. 6, 377~~

11

*lpr*

STOWARZYSZENIE NEUROPATOLOGÓW POLSKICH

01/01/1976



# NEUROPATHOLOGIA POLSKA

FR. 6

TOM XIV

1976

ZESZ. 2

---

WARSZAWA



# NEUROPATHOLOGIA POLSKA

KWARTALNIK

Tom XIV

Kwiecień—Czerwiec

Nr 2

## KOMITET REDAKCYJNY

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

## PRZY WSPÓŁPRACY

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

## REDAKCJA ŚCISŁA

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

## REDAKCJA

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

## ADRES REDAKCJI

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

Wydawca

PAŃSTWOWY ZAKŁAD WYDAWNICTW LEKARSKICH



HANNA JĘDRZEJOWSKA, WIESŁAWA WACH

ZMIANY MORFOLOGICZNE W NERWIE ŁYDKOWYM  
W NIEKTÓRYCH CHOROBAH OŚRODKOWEGO UKŁADU  
NERWOWEGO \*

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



Liczną grupę wśród tzw. chorób zwyrodnieniowych ośrodkowego układu nerwowego stanowią przypadki, w których istotą procesu chorobowego są genetycznie uwarunkowane zaburzenia metaboliczne. Ze względu na nowe możliwości badawcze powstałe z rozwojem biochemii i morfologii, grupa tych schorzeń jest obecnie przedmiotem szczególnego zainteresowania i intensywnych badań.

Jedną z poczynionych obserwacji odnosi się do możliwości występowania zmian w nerwach obwodowych. Lista chorób, w których stwierdzono uszkodzenie nerwów obwodowych jest obecnie już bardzo długa. Zapoczątkowana przed laty przez leukodystrofię metachromatyczną i leukodystrofię globoidalną Krabbego rozszerzyła się ostatnio o szereg przypadków, przede wszystkim z grupy neurolipidoz. I tak opisano występowanie zmian w nerwach w chorobie Fabry'ego (Bischoff i wsp. 1968, Kocen i Thomas 1970, Onishi i Dyck 1974), w chorobie Gauchera (Bischoff i wsp. 1967<sup>a</sup>), w chorobie Niemann-Picka (Navarro i wsp. 1973, Gumbinas i wsp. 1975) i w niedoborze  $\alpha$ -lipoprotein tj. w chorobie Tangierskiej (Thomas 1973). W niedoborze  $\beta$ -lipoprotein, czyli w chorobie Bassena-Kornzweiga znane jest występowanie objawów polineuropatii, jednakże jak dotąd brak jest opisów zmian histologicznych w nerwach.

W grupie leukodystrofii doniesiono ostatnio o występowaniu zmian we włóknach nerwowych w nadnerczach (przy prawidłowym obrazie n. łydkowego) w leukodystrofii sudanofilnej przebiegającej z niewydolnością nadnerczy (Powers i Schaumburg 1974) oraz zmian w nerwach obwodowych w gąbczastym zwyrodnieniu istoty białej mózgu typu van Bogaerta-Bertranda (Suzuki 1968).

\* Praca wykonana w ramach problemu węzłowego Nr 09.4.1.4.4.



W grupie innych zaburzeń metabolicznych zmiany w nerwach obserwowano w neuroaksonalnej dystrofii Seitelbergera (Kamoshita i wsp. 1968, Ule 1972, Sengel i wsp. 1972, Martin i Martin 1972), w chorobie Hallervordena-Spatza (Rozdilsky i wsp. 1968), w zespole z objawami klinicznymi zarówno choroby Refsuma jak i Hurler (Shy i wsp. 1967) oraz w glikogenozie typu Pompego (Araoz i wsp. 1974).

Podstawowym problemem, jaki się wyłania przy omawianiu tego tematu, jest zagadnienie związku pomiędzy procesem toczącym się w mózgu i w nerwach obwodowych i odpowiedź na pytanie, czy stwierdzane zmiany w nerwach obwodowych są wykładnikiem podstawowego procesu chorobowego, a zatem czy badanie morfologiczne może mieć znaczenie diagnostyczne i poznawcze w sensie głębszej oceny procesu chorobowego. Jak dotąd, zagadnienie to rozstrzygnięte zostało jedynie w stosunku do leukodystrofii metachromatycznej. Zmiany spostrzegane w leukodystrofii globoidalnej Krabbego, zdaniem wielu autorów mają charakter swoisty (Sourander i Olsson 1968, Bischoff i Ulrich 1969, Suzuki i Grover 1970, Schlaepfer i Prensky 1972), jednakże niekiedy widoczne są jedynie zmiany nieswoiste (Dunn i wsp. 1969). W stosunku do innych chorób zdania są również podzielone; wydaje się, że jest jeszcze zbyt mało obserwacji by wyciągnąć wnioski.

W związku z powyższym podjęliśmy badania morfologiczne nerwu łydkowego w przypadkach chorób ośrodkowego układu nerwowego, w których obraz kliniczny mógł nasuwać podejrzenie genetycznie uwarunkowanych zaburzeń metabolicznych. Przystępując do opracowania materiału natrafiliśmy na ogromne trudności, bowiem tylko w nielicznych przypadkach rozpoznanie choroby było zweryfikowane badaniem histologicznym mózgu. Zmuszeni zatem byliśmy włączyć do pracy przypadki o nieustalonym rozpoznaniu.

Niniejsza praca ma charakter opracowania wstępnego, omawiającego jedynie rodzaj stwierdzanych zmian, bez głębszej analizy ich cech strukturalnych i mechanizmów ich rozwoju.

#### MATERIAŁ I METODY

Materiał obejmuje 10 przypadków hospitalizowanych w Klinice Neurologicznej A.M. w Warszawie w latach 1969—1974. Poza dokładnym zebraniem wywiadu osobniczego i rodzinnego oraz badaniem przedmiotowym, w którym zwracano szczególną uwagę na ewentualne objawy polineuropatii, we wszystkich przypadkach wykonano podstawowe badania dodatkowe, badania radiologiczne, EEG, EKG, badanie płynu mózgowo-rdzeniowego, oraz frakcji białkowych, prób wątrobowych, poziomu elektrolitów, cukru, mocznika i cholesterolu w surowicy krwi. Rów-



nież u wszystkich chorych badano osad moczu w kierunku obecności ciał metachromatycznych, a w badaniu krwi i płynu mózgowo-rdzeniowego szczególną uwagę zwracano na wygląd limfocytów. U 2-ch chorych (Nr 4 i 10) oznaczono frakcje lipoproteidowe oraz ogólną ilość lipidów i ich frakcje w surowicy krwi.

Badania morfologiczne dotyczyły pobieranego na drodze biopsji nerwu łydkowego. Z materiału utrwalonego w formalinie lub płynie Bakera wykonywano szereg barwień histologicznych i histochemicznych, określanych w dalszej części pracy mianem badań rutynowych. Były to: barwienie hematoksyliną i eozyną, met. van Gieson, Holmesa i Klüvera-Barrery, PAS, błękitem toluidyny, kwaśnym fioletem krezyłu wg Hirscha i Peiffera oraz sudanem III lub IV. Z materiału utrwalonego w 1% r. czterotlenku osmu sporządzano tzw. preparaty czesane i w poszczególnych przypadkach oceniano 100 włókien. Część wycinka przeznaczoną do ilościowych badań w mikroskopie świetlnym i badań mikroskopowo-elektronowych utrwalano w 3—5% r. aldehydu glutarowego, a następnie w 1% r. czterotlenku osmu. Szczegóły metodyczne badania włókien czesanych oraz badań ilościowych znajdują się w pracy Jędrzejowskiej i wsp. (1972). Do badania mikroskopowo-elektronowego skrawki nerwu odwadniano w alkoholu o wzrastających stężeniach, zatapiano w Eponie 812 i skrawano na ultramikrotomie firmy Reichert. Preparaty dobarwiano cytrynianem ołowiu i octanem uranylu i oglądano w mikroskopie elektronowym JEM 7 oraz JEM 100 B\*.

## WYNIKI

### *Dane kliniczne*

**Przypadek 1.** Chłopiec M.B. lat 6. Opóźniony rozwój psychoruchowy. Od 4 r.ż. napady skłonów, duże napady padaczkowe, zaburzenia równowagi oraz postępująca degradacja umysłowa i regresja ruchowa. Wywiad rodzinny negatywny. Dno oczu — b.z. Płyn mózgowo-rdzeniowy — b.z. Biopsja mózgowa — wynik badania histologicznego i mikroskopowo-elektronowego: obraz odpowiada ceroid-lipofuscynozie\*\*.

**Przypadek 2.** Chłopiec E.S. lat 11. Od 6 r.ż. postępujące osłabienie wzroku, które doprowadziło po 2-ch latach do pełnej ślepoty. Od

\* Badania przy użyciu mikroskopu elektronowego JEM 100 B przeprowadzono w Pracowni Mikroskopii Elektronowej Instytutu Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego w Warszawie.

\*\* Przypadek opisany przez T. Majdeckiego i B. Badurską w pracy pt. „Zagadnienie ultrastruktury w przejściowej postaci idiotia amaurotica” *Neuropat. Pol.* 1971, 9, 1, 39—46.



10 r.ż. duże napady padaczkowe oraz postępująca degradacja umysłu. Wywiad rodzinny negatywny. Przedmiotowo: zanik nerwu wzrokowego i barwnikowe zwyrodnienie siatkówki, otępienie umysłowe, elementy niedowładu kurczowego w kończynach dolnych. Płyn mózgowo-rdzeniowy — b.z. Rozpoznanie kliniczne — podejrzenie neurolipidozy (młodzieńczej postaci *idiotia amaurotica familiaris* — I.A.F.).

Przypadek 3. Chłopiec J.R. lat 13. Od 7 r.ż. postępująca degradacja umysłu oraz nasilające się osłabienie ostrości wzroku, które doprowadziło po 2-ach latach do pełnej ślepoty. Od 9 r.ż. stopniowo narastające zaburzenia mózdkowe. W 12 r.ż. — pojawienie się dużych napadów padaczkowych. Wywiad rodzinny negatywny. Przedmiotowo: zanik nerwu wzrokowego i zwyrodnienie barwnikowe siatkówki typu *retinitis pigmentosa*, otępienie umysłowe, zespół mózdkowo-pozapiramidowy. W płynie mózgowo-rdzeniowym: białko — 99 mg%, cytoza 8 komórek w mm<sup>3</sup>. Wodniczki w limfocytach z krwi obwodowej. Rozpoznanie kliniczne: podejrzenie neurolipidozy (młodzieńczej postaci IAF).

Przypadek 4. Dziewczynka D.W. lat 5. Od 3 r.ż. regresja psychoruchowa oraz występowanie dużych napadów padaczkowych. W 4 r.ż. pojawienie się zaburzeń równowagi i mioklonie. Wywiad rodzinny negatywny.

Przedmiotowo: dziecko bez kontaktu z powodu wybitnego upośledzenia umysłowego, zanik nerwu wzrokowego i zwyrodnienie barwnikowe siatkówki, liczne mioklonie, objawy mózdkowe, piramidowe i pozapiramidowe (ruchy atetotyczne). Płyn mózgowo-rdzeniowy — b.z. Rozpoznanie kliniczne: podejrzenie neurolipidozy (późnodziecięcej postaci IAF).

Przypadek 5. Mężczyzna R.B. lat 22. Od 16 r.ż. narastający niedowład kurczowy kończyn, zaburzenia mózdkowe oraz osłabienie wzroku na skutek postępującego zaniku nerwów wzrokowych. Choroba przekazywana w sposób dominujący, autosomalny. Chory zmarł w 22 roku życia. Rozpoznanie histopatologiczne: choroba Pelizaeusa-Merzbachera.

Przypadek 6. Chłopiec T.K. lat 16. Opóźniony rozwój psychoruchowy. W 5 r.ż. pojawiły się ruchy mimowolne. W 10 r.ż. — osłabienie wzroku, a następnie zaburzenia równowagi. Brat choruje wśród podobnych objawów. Przedmiotowo: dominuje zespół pozapiramidowy — hiperkinetyczny (ruchy atetotyczne i torsyjne), ponadto — objawy mózdkowe i dyskretny niedowład kurczowy kończyn dolnych. Dno oczu — b.z. Intelpekt zachowany. Płyn mózgowo-rdzeniowy b.z. Rozpoznanie kliniczne: podejrzenie choroby Pelizaeusa-Merzbachera.

Przypadek 7. Dziewczynka T.O. lat 9. Od 7 r.ż. mioklonie, od 8 r.ż. duże napady padaczkowe oraz postępujące otępienie umysłowe. Choroba dziedziczy się w sposób dominujący. Przedmiotowo: dominują mioklonie mięśni kończyn i tułowia. Dno oczu — b.z. Płyn mózgowo-



-rdzeniowy — b.z. Rozpoznanie kliniczne: Padaczka miokloniczna Unverricht-Lundborga.

Przypadek 8. Dziewczynka G.K. lat 8. Opóźniony rozwój psychoruchowy. Nigdy nie była w pełni sprawna. W 5 r.ż. pojawiły się ruchy mimowolne, od 6 r.ż. — wyraźna regresja czynności ruchowych i psychicznych. Wywiad rodzinny negatywny. Przedmiotowo: dominują ruchy dystoniczne i torsyjne oraz atetotyczne w palcach stóp i dłoni. Ponadto zwyrodnienie barwnikowe siatkówki, ograniczenie ruchomości gałek ocznych, upośledzenie umysłowe. Rozpoznanie kliniczne: Zespół dystonii mięśniowej.

Przypadek 9. Chłopiec J.W. lat 7. Poród w zamartwicy, objawy toksycznego uszkodzenia nerek w okresie noworodkowym. Rozwój psychoruchowy w zasadzie prawidłowy, jednakże chłopiec nigdy nie był w pełni sprawny fizycznie. Od wczesnego dzieciństwa narastający niedosłuch i osłabienie wzroku. Wywiad rodzinny negatywny. Przedmiotowo: zespół piramidowo-mózdkowy z głuchotą i zwyrodnieniem barwnikowym siatkówki. Intelpekt zachowany. Płyn mózgowo-rdzeniowy — b.z. Rozpoznanie kliniczne: zespół Hallgrena\*.

Przypadek 10. Kobieta W.S. lat 20. Od 3 r.ż. powoli nasilające się drżenie rąk. Wyraźne pogorszenie w 15 r.ż. — dołączyły się: drżenie głowy, niepewność przy wykonywaniu ruchów. Wywiad rodzinny negatywny. Przedmiotowo: drżenie grubofaliste głowy i palców rąk, pojedyncze zrywania mięśniowe, objawy mózdkowe. Intelpekt zachowany. Dno oczu — b.z. Płyn mózgowo-rdzeniowy — b.z. Rozpoznanie kliniczne: Zespół pozapiramidowo-mózdkowy.

### *Badanie histologiczne*

Zmiany histologiczne obserwowane w mikroskopie świetlnym przedstawione są w tabeli 1.

Materiał kontrolny stanowiły wycinki nerwu łydkowego pobrane od 4-ch osobników w wieku od 6 do 24 lat nie wykazujących objawów uszkodzenia układu nerwowego. Średnia gęstość włókien mielinowych wynosiła 1158/0,1 mm<sup>2</sup> powierzchni pęczkowej (rozpiętość 694—1805), odsetek włókien z odcinkami demielinizacji i remielinizacji — 1,3% (rozpiętość 0—3,3%), odsetek włókien ze zwyrodnieniem aksonalnym — 0,4% (rozpiętość 0—1%), odsetek włókien regenerujących 0,9 (rozpiętość 0—3%)\*\*.

\* Przypadek opisany przez K. Jezierską i H. Woźniak w *Neurol. Neurochir. Pol.* 1971, 5, 921—923.

\*\* Badania przeprowadzone przez dr H. Drac.



Tabela 1. Zmiany histologiczne w nerwie lydkowym

Lp.	Płeć	Wiek w latach	Rozpoznanie kliniczne	Liczba włókien mielinowych na 0,1 mm <sup>2</sup> pow. pęczkowej	Rozkład średnic wł. miel.	Barwienia rutynowe	Grube skrawki eponowe	Włókna czesane
1	M	6	Ceroid lipofuscy-noza*	1116	b.z.	b.z.	b.z.	—
2	M	11	Podęjrzenie neurolipidozy (młodzieńczej postaci IAF**)	1555	b.z.	barwienie fioletem krężyłu niemiaraodajne	drobne, osmofilne ziarenka we włóknach mielinowych (ryc. 1)	—
3	M	13	Podęjrzenie neurolipidozy (młodzieńczej postaci IAF)	1132	b.z.	b.z.	b.z.	—
4	Ż	5	Podęjrzenie neurolipidozy (późno-dziecięcej postaci IAF)	933	b.z.	b.z.	Pojedyncze włókna zdmielinizowane, drobne, osmofilne ziarenka (ryc. 2)	8% włókien z demielinizacją okołoprzewęziową
5	M	22	Choroba Pelizae-usa-Merzbachera***)	1304	b.z.	b.z.	b.z.	b.z.
6	M	16	Podęjrzenie choroby Pelizae-usa-Merzbachera	1186	b.z.	b.z.	b.z.	—
7	Ż	9	Padaczka miokloniczna Unverricht-Lundborga	1447	b.z.	b.z.	Pojedyncze zmienione włókna (ryc. 3)	—
8	Ż	8	Zespół dystonii torsyjnej	1310	b.z.	Ograniczone rozdęcia aksonów w pojedynczych włóknach (ryc. 4)	Pojedyncze zdmielinizowane aksony	—
9	M	7	Zespół Hallgren****)	1478	b.z.	b.z.	Pojedyncze zdmielinizowane aksony	—
10	Ż	20	Zespół pozapiramidowo-mózdkowy	867	b.z.	b.z.	Pojedyncze remielinizujące aksony	2% włókien z odcinkową de- i remielinizacją, 1% włókna zregenerowane

Legenda: \*) rozpoznania ustalone na podstawie biopsji mózgu (T. Majdecki i B. Badurska. Neuropat. Pol., 1971, 9, 39—46)  
 \*\*) IAF — *idiotia amaurotica familiaris*  
 \*\*\*) rozpoznanie ustalone sekcynie  
 \*\*\*\*) przypadek opisany przez K. Jezierską i H. Woźniak w Neurol. Neurochir. Pol., 1971, 5, 921—923.  
 — badania nie przeprowadzono



*Badanie mikroskopowo-elektronowe*

Przypadek 1 — zmian nie stwierdzono.

Przypadek 2 — w cytoplazmie wielu mielinowych komórek Schwanna widoczne są ciała wtrętowe zazwyczaj otoczone pojedynczą błoną, zawierające materiał drobnoziarnisty oraz pęcherzyki o małej gęstości elektronowej (ryc. 5). Znacznie rzadziej podobne złogi widoczne są we włóknach bezmielinowych. W nielicznych komórkach Schwanna występują drobnoziarniste ciała wtrętowe zawierające równolegle ułożone pojedyncze błony elementarne (ryc. 6). Ponadto widoczne są niekiedy homogenne twory o małej gęstości elektronowej. W cytoplazmie pericytów włóściczek nieliczne ciała lizosomo-podobne, wypełnione materiałem o dużej gęstości elektronowej. Innych zmian nie stwierdza się.

Przypadek 3 — W dość licznych mielinowych komórkach Schwanna występują błoniaste ciała wtrętowe typu ciał zebrowatych („zebra-body”) oraz złogi o obrazie linii papilarnych („fingerprint”) (ryc. 7). W bezmielinowych komórkach Schwanna widoczne są ciała lipofuscynopodobne z wakuolami otoczonymi pojedynczą błoną o znacznie mniejszej gęstości elektronowej (ryc. 8).

Przypadek 4. W dość licznych komórkach Schwanna widoczne są puste wakuole oraz poszerzenie kanałów siatki śródplazmatycznej. W nielicznych mielinowych i bezmielinowych komórkach Schwanna stwierdza się wtręty o obrazie ciał skrzywnoliniowych („curvilinear body”) (ryc. 9), na obwodzie których widoczny jest niekiedy gęsty elektronowo materiał o rysunku linii papilarnych (ryc. 10). Ciała skrzywnolinijne widoczne są również w cytoplazmie pericytów włóściczek (ryc. 11). Ponadto stwierdza się pojedyncze włókna z cechami demielinizacji i remielinizacji.

Przypadek 5 — zmian nie stwierdzono.

Przypadek 6 — Widoczne bardzo dyskretne zmiany polegające na obecności ciał lipofuscynowych w niektórych komórkach Schwanna.

Przypadek 7 — Stwierdza się obecność pojedynczych włókien nerwowych z cechami demielinizacji, zdmielinizowanych i w fazie remielinizacji. Aksony tych włókien nie wykazują wyraźnych zmian (ryc. 12). Ponadto bez zmian.

Przypadek 8 — Na pierwszy plan wysuwają się zmiany w aksonach mielinowych wyrażające się nagromadzeniem różnych organelli, przede wszystkim mitochondriów. Obraz taki widoczny jest we włóknach z niezmienną mieliną (ryc. 13) jak również we włóknach ulegających demielinizacji i zdmielinizowanych (ryc. 14). Innych zmian nie stwierdza się.



Przypadek 9 — Stwierdza się pojedyncze włókna nerwowe ulegające demielinizacji. Aksony tych włókien wykazują wyraźnie zagęszczoną strukturę. Poza tym bez zmian.

Przypadek 10 — Widoczne pojedyncze włókna remielinizujące, otoczone kilkoma warstwami wypustek komórek Schwanna i kolagenu (ryc. 15). W kilkunastu komórkach Schwanna widoczne ziarnistości  $\pi$ . Ponadto stwierdza się pojedyncze pasma Büngnera oraz jedną grupę regenerujących włókien mielinowych.

#### OMÓWIENIE

Jak wynika z przedstawionych badań histologicznych w mikroskopie świetlnym i elektronowym w 2-ch spośród 10 przypadków nie stwier-

*Ryc. 1.* Przypadek 2. Drobne osmofilne ziarenka (strzałki) w pobliżu osłonek mielinowych. Gruby skrawek eponowy. Błękit metylenowy. Pow. 400  $\times$ .

*Fig. 1.* Case 2. Small osmophilic granules (arrows) located near myelin sheaths. Thick epon section. Methylene blue.  $\times$  400.

*Ryc. 2.* Przypadek 4. Pojedyncze zdemielinizowane włókna (strzałka) oraz drobne osmofilne ziarenka w niektórych włóknach. Gruby skrawek eponowy. Zmodyfik. met. Pala-Kulczyckiego. Pow. 200  $\times$ .

*Fig. 2.* Case 4. Few demyelinated fibers (arrow) and small osmophilic granules in some of the myelinated fibers. Modified Pal-Kulczycki method.  $\times$  200.

*Ryc. 3.* Przypadek 7. Pojedyncze włókna o wyraźnie zmienionej strukturze (strzałki). Gruby skrawek eponowy. Zmodyfik. met. Pala-Kulczyckiego. Pow. 400  $\times$ .

*Fig. 3.* Case 7. Several nerve fibers showing some abnormalities (arrows). Thick epon section. Modified Pal-Kulczycki method.  $\times$  400.

*Ryc. 4.* Przypadek 8. Ograniczone zgrubienia aksonalne na przekroju podłużnym. 4a — Hematoksylina-eozyna. Pow. 200  $\times$ ; 4b — met. Holmesa. Pow. 200  $\times$ .

*Fig. 4.* Case 8. Limited axonal swellings on the longitudinal section. 4a — Hematoxylin-eosin,  $\times$  200. 4b — Holmes method.  $\times$  200.

*Ryc. 5a.* Przypadek 2. Przekrój poprzeczny włókna mielinowego. W cytoplazmie komórki Schwanna ciała wtrętowe zawierające materiał drobnodziarnisty oraz pęcherzyki o małej gęstości elektronowej. Pow. ok. 12 000  $\times$ . 5b — ciało wtrętowe. Pow. ok. 40 000  $\times$ .

*Fig. 5a.* Case 2. Transverse section through the myelinated fiber. In cytoplasm of Schwann cell granulo-vesicular.  $\times$  12 000. 5b — Inclusion body.  $\times$  40 000.

*Ryc. 6.* Przypadek 2. Ciało wtrętowe o drobnodziarnistej budowie z kilkoma warstwami błon elementarnych o równoległym układzie (strzałka). Pow. ok. 45 000  $\times$ .

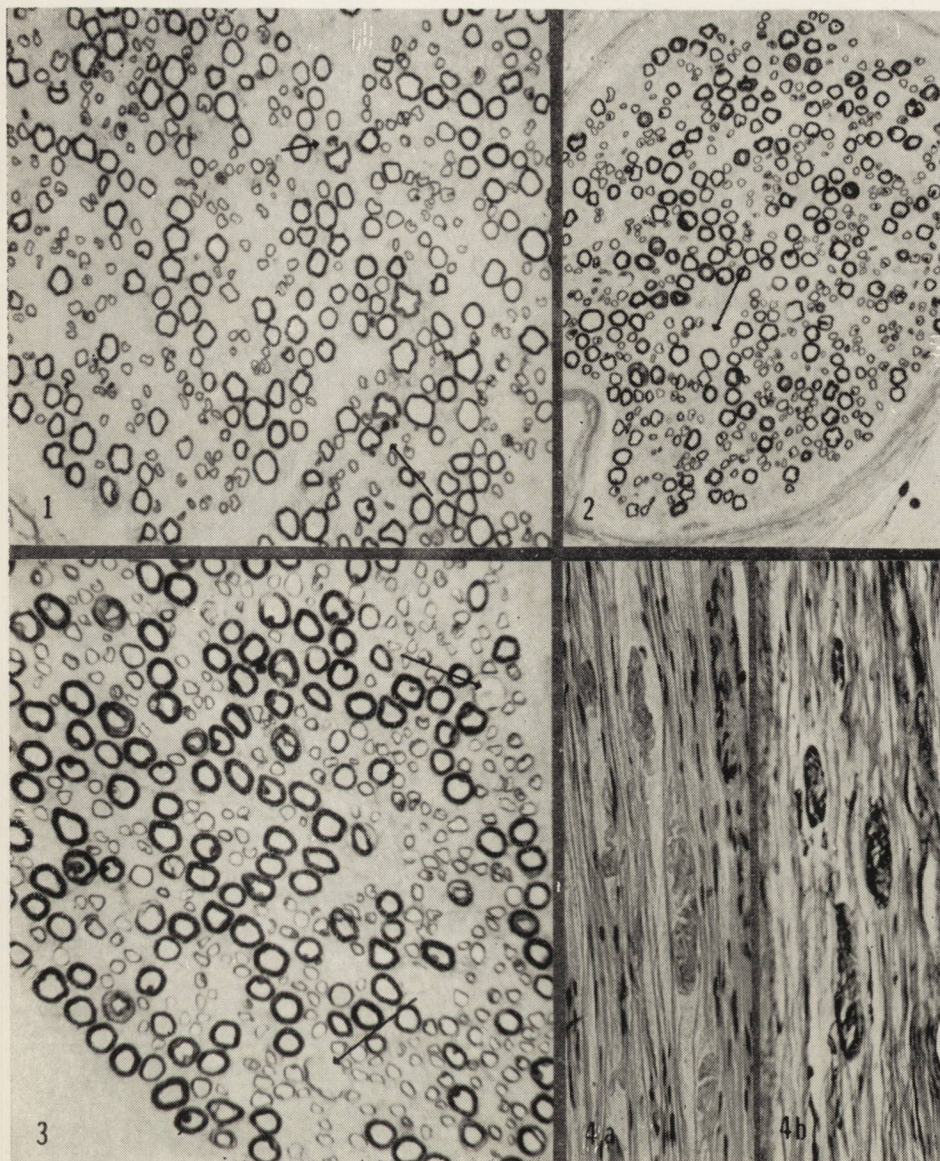
*Fig. 6.* Case 2. Inclusion body with fine granular material and parallelly arranged few layers of membrane units (arrow).  $\times$  45 000.

*Ryc. 7.* Przypadek 3. W cytoplazmie komórki Schwanna włókna mielinowego widoczne ciała błoniaste typu „zebra-body”, złogi o obrazie linii papilarnych (strzałka) oraz ziarna podobne do glikogenu. Pow. ok. 16 400  $\times$ .

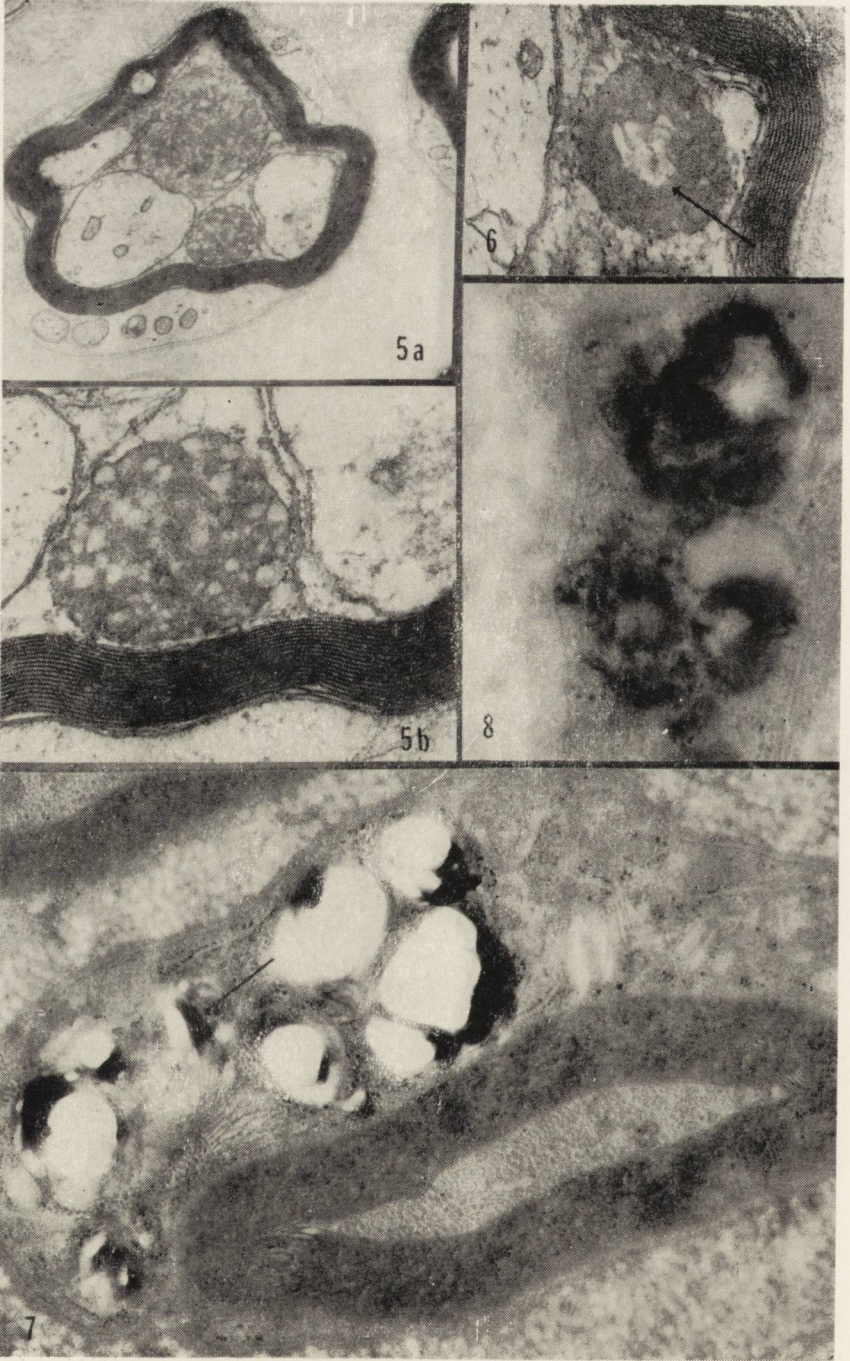
*Fig. 7.* Case 3. In cytoplasm of the Schwann cell related to myelinated axon inclusion bodies with parallelly arranged membranous structures (zebra-body), some finger-print material and glycogen-like particles.  $\times$  16 400.

*Ryc. 8.* Przypadek 3. W cytoplazmie bezmielinowego włókna ciało lipofuscynopodobne z wakuolą otoczoną pojedynczą błoną. Pow. 35 000  $\times$ .

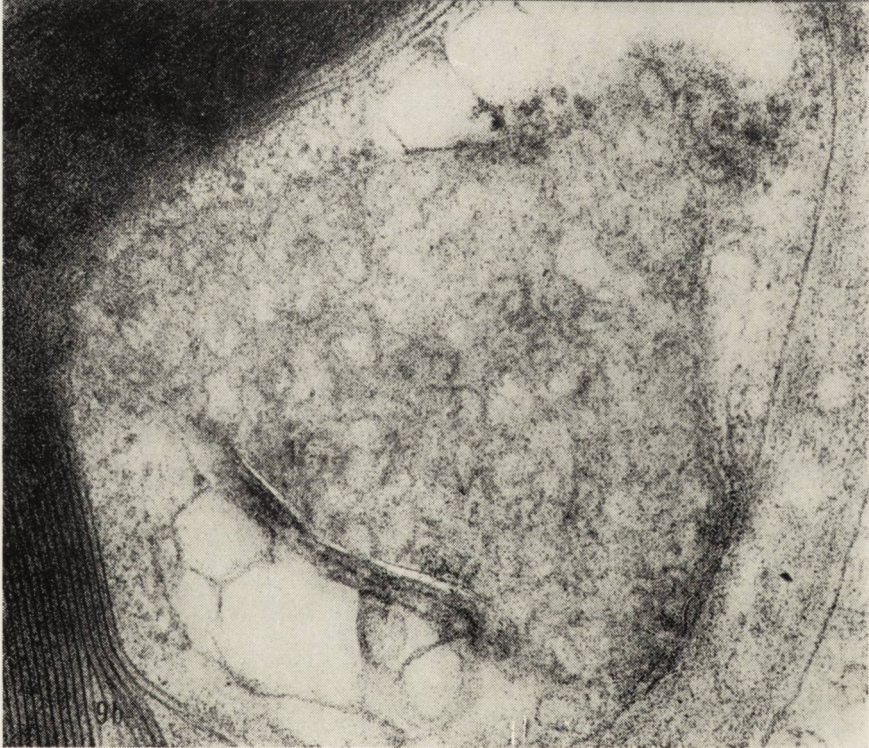
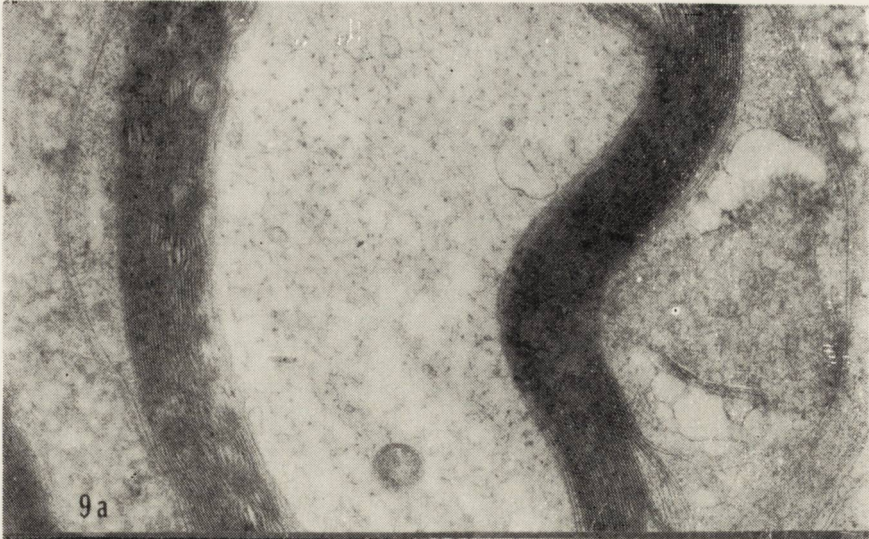




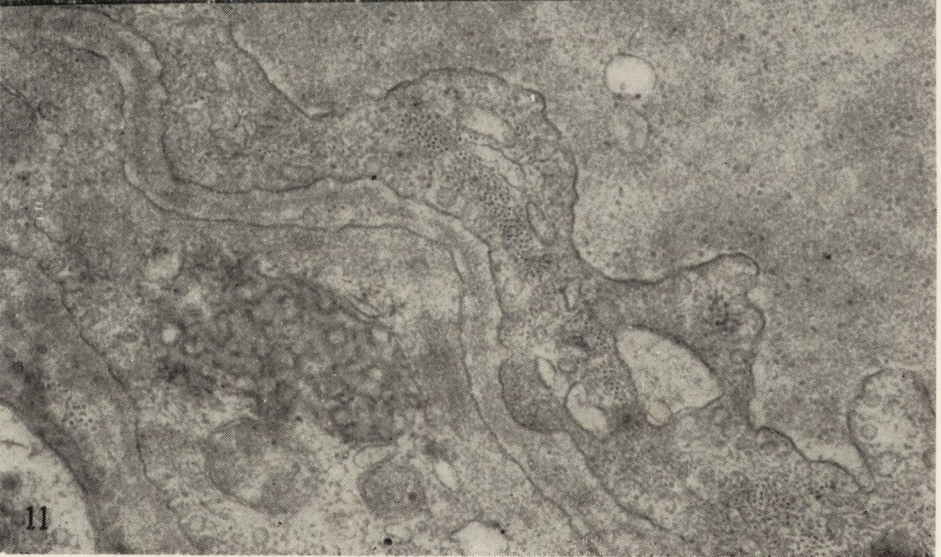
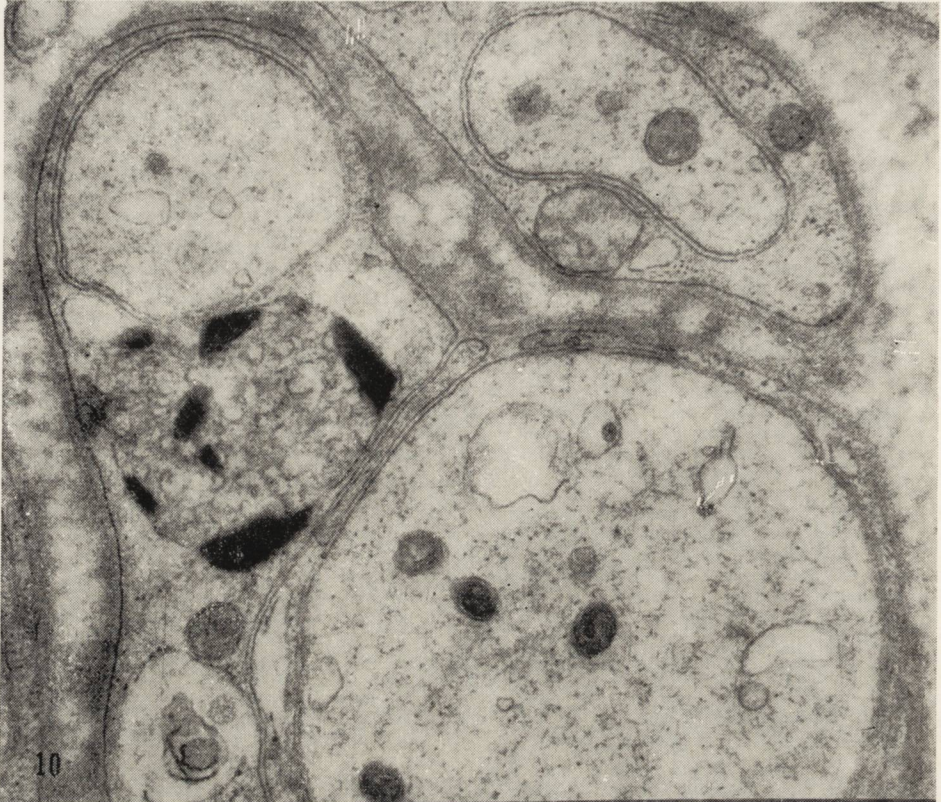




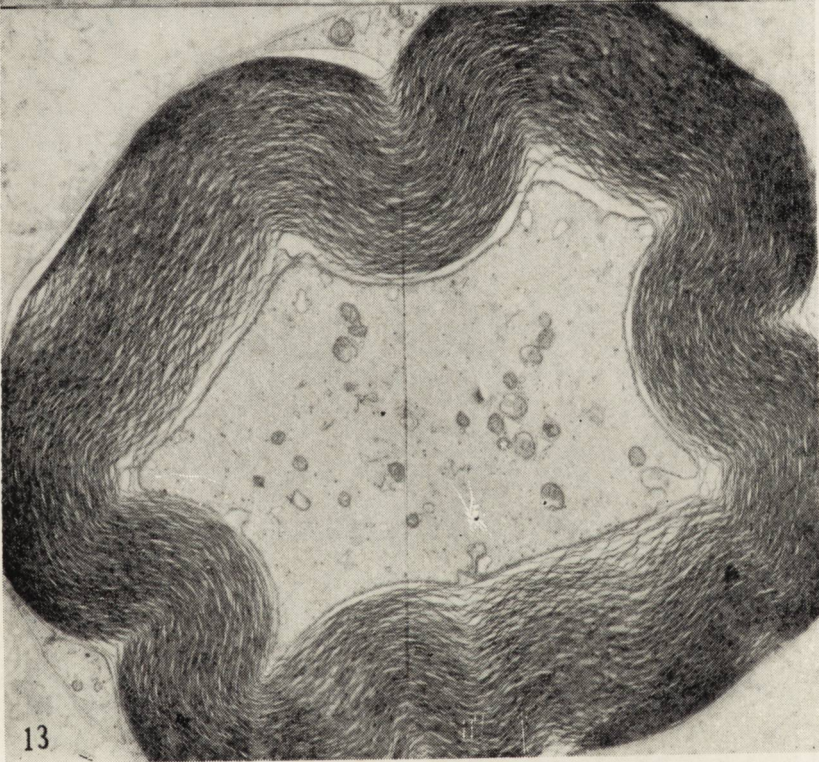
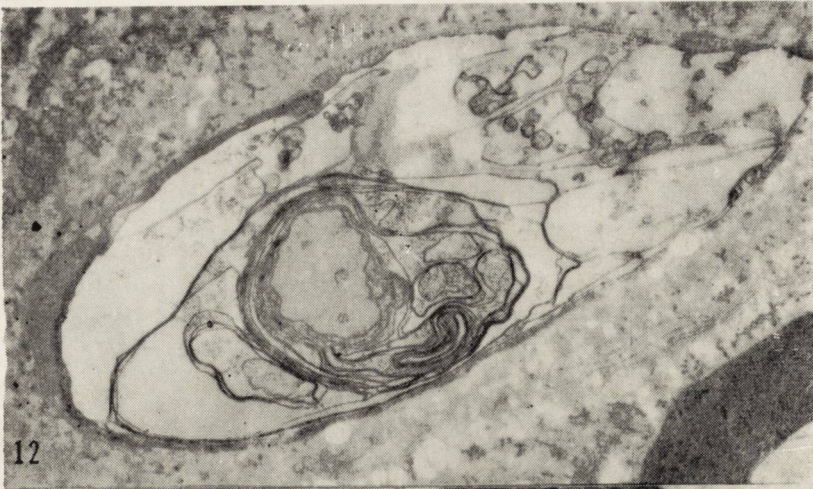




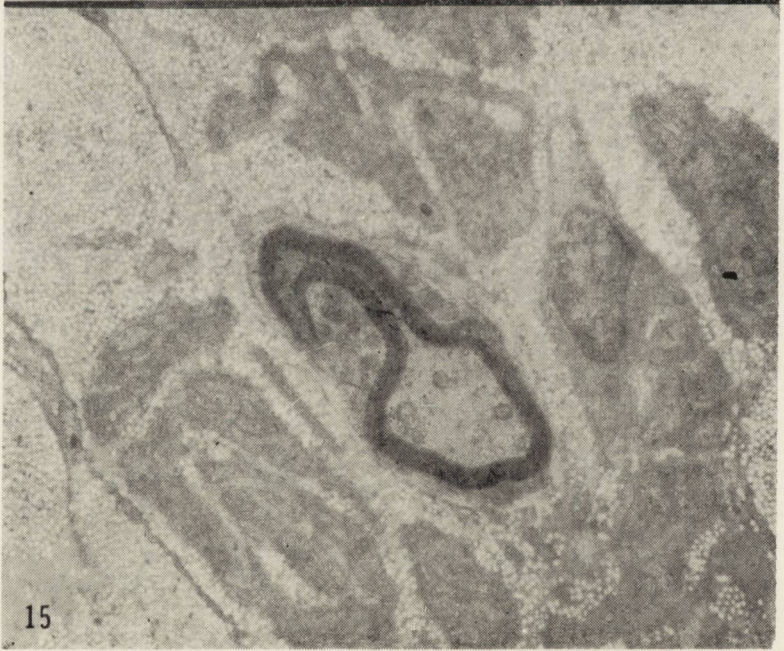
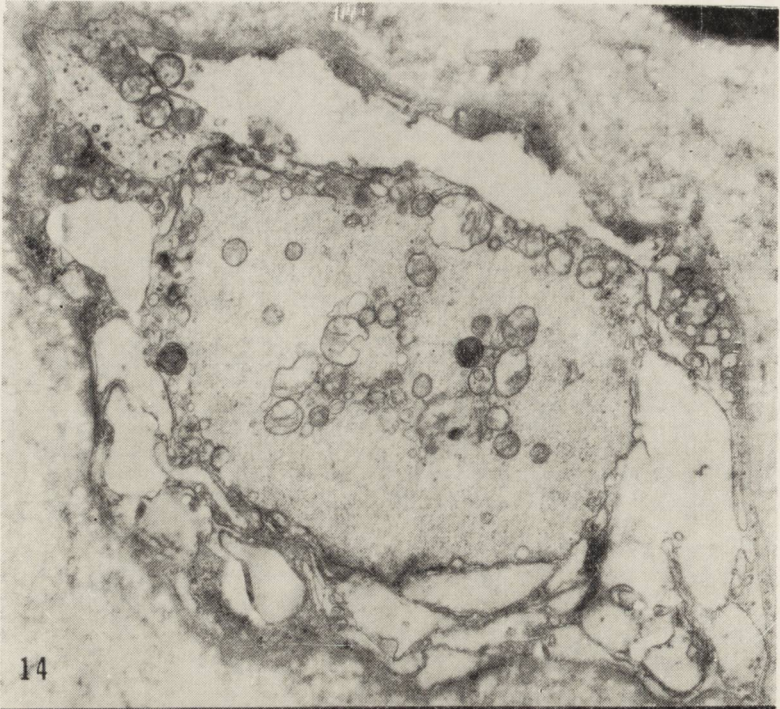














dzono zmian w nerwie łydkowym. Rozpoznanie w obu przypadkach było zweryfikowane morfologicznie: jeden należał do grupy neuropiloidoz (Nr 1), w drugim stwierdzono chorobę Pelizaeusa-Merzbachera (Nr 5). U następnych 2-ch chorych (Nr 6 i 9) stopień zmian był tak nikły, że mieszczą się one w granicach fizjologii (Ochoa i Mair 1969).

Pozostaje zatem 6 przypadków, w których nerw łydkowy był zmieniony chorobowo. W przypadku Nr 7 stwierdzono zmiany pod postacią odcinkowej demielinizacji i remielinizacji, w przypadku Nr 10 widoczna była zarówno demielinizacja jak i cechy zwyrodnienia aksonalnego (obecność pasm Büngnera oraz włókien regenerujących), w przypadku Nr 8 obok demielinizacji i dyskretnych zmian aksonalnych stwierdzono ograniczone obrzmienia aksonów odpowiadające tzw. sferoidom. Odcinkowa demielinizacja i obserwowane obrazy zwyrodnienia aksonalnego należą

---

*Fig. 8.* Case 3. In the Schwann cell cytoplasm of unmyelinated fiber lipofuscin-like body with a single membrane-bound vacuole.  $\times 35\ 000$ .

*Ryc. 9.* Przypadek 4. W cytoplazmie komórki Schwanna włókna mielinowego skrętnolinijne ciało wtrętowe. 9a — pow. 20 000  $\times$ . 9b — ciało skrętnolinijne w pow. 60 000  $\times$ .

*Fig. 9.* Case 4. Curvilinear body in the Schwann cell cytoplasm of myelinated fiber. 9a —  $\times 20\ 000$ , 9b — curvilinear body  $\times 60\ 000$ .

*Ryc. 10.* Przypadek 4. W cytoplazmie komórki Schwanna włókna bezmielinowego widoczne ciało skrętnolinijne. Na jego obwodzie materiał gęsty elektronowo o obrazie linii papilarnych. Pow. 29 400  $\times$ .

*Fig. 10.* Case 4. In the Schwann cell cytoplasm of unmyelinated fiber a curvilinear body. In the periphery of the inclusion electron-dense material resembling finger-print.  $\times 29\ 400$ .

*Ryc. 11.* Przypadek 4. Ciało skrętnolinijne w cytoplazmie pericyta. Pow. 29 400  $\times$ .

*Fig. 11.* Case 4. Curvilinear body in the pericyte cytoplasm.  $\times 29\ 400$ .

*Ryc. 12.* Przypadek 7. Widoczny rozpad mieliny, akson bez wyraźnych zmian. Pow. 10 200  $\times$ .

*Fig. 12.* Case 4. Disintegration of myelin. Axon without distinct abnormality.  $\times 10\ 200$ .

*Ryc. 13.* Przypadek 8. Nagromadzenie mitochondriów w aksonie mielinowego włókna. Rozwarstwienie mieliny jest artefaktem. Pow. 10 200  $\times$ .

*Fig. 13.* Case 8. Increased number of mitochondria within the myelinated axon. Splitting of myelin lamellae seems to be an artifact.  $\times 10\ 200$ .

*Ryc. 14.* Przypadek 8. Zdemielinizowany akson. Wewnątrz aksonu nagromadzenie mitochondriów oraz nieprawidłowe organelle o blaszkowatej budowie. Pow. 11 000  $\times$ .

*Fig. 14.* Case 8. In demyelinated axon increased number of mitochondria and abnormal organelles of lamellar structure.  $\times 11\ 000$ .

*Ryc. 15.* Przypadek 10. Wokół włókna mielinowego prawdopodobnie remielinizującego (dość cienka osłonka mielinowa) koncentrycznie ułożone warstwy kolagenu i wypustek komórek Schwanna. Pow. 10 200  $\times$ .

*Fig. 15.* Case 10. Concentrically arranged layers of Schwann cell processes and collagen around the myelinated fiber, probably remyelinating one (thin myelin sheath).  $\times 10\ 200$ .



do zmian nieswoistych i mogą być wywołane najrozmaitszymi czynnikami. Zgodnie z ostatnio wypowiedzianym poglądem (Dyck i wsp. 1971, 1973<sup>a</sup>, Thomas 1971) współistnienie w jednym nerwie odcinkowej demielinizacji i zwyrodnienia aksonalnego sugeruje wtórne pochodzenie demielinizacji w stosunku do zmian w aksonie. Ocena tego zjawiska wymaga jednak przeprowadzenia metod badań, które nie były stosowane w niniejszej pracy; toteż zagadnienie to nie będzie rozważane. Natomiast należałoby odpowiedzieć na pytanie, czy w omawianych 3 przypadkach istnieje związek pomiędzy podstawowym procesem chorobowym a zmianami stwierdzanymi w nerwie łydkowym. W jednym przypadku była to padaczka miokloniczna (Nr 7); w dwu pozostałych rozpoznanie było objawowe.

W przypadku padaczki mioklonicznej i hiperkinetycznego zespołu pozapiramidowego (przypadek Nr 10) nie wykryto w wywiadzie czynników, które mogłyby wywołać zmiany w nerwach obwodowych, ani też nie stwierdzono przyczyn miejscowych powodujących uszkodzenie nerwu łydkowego. Pozostaje zatem przypuszczenie, że w przypadkach tych istnieje zależność pomiędzy procesem chorobowym w mózgu a zmianami w nerwie, jednakże nie wiadomo na jakiej drodze dochodzi do powstania zmian w nerwie obwodowym. W przypadku Nr 8 tj. w zespole dystonii torsyjnej, mechanizm urazowego uszkodzenia nerwu mógłby być brany pod uwagę ze względu na nieprawidłowe ustawienie i ruchy mimowolne stóp, jednakże w tym przypadku, obok odcinkowej demielinizacji i nieswoistych obrazów zwyrodnienia aksonalnego, stwierdzono występowanie sferoidów. Zmiana ta nie była obserwowana w uszkodzeniach urazowych nerwów obwodowych, natomiast stwierdzano ją w sporadycznych przypadkach neuroaksonalnej dystrofii Seitelbergera (Kamoshita i wsp. 1968, Ule 1972, Martin i Martin 1972, Sengel i wsp. 1972), w chorobie Hallervordena-Spatza (Rozdilsky i wsp. 1968) i w zwyrodnieniu gąbczastym mózgu (Suzuki 1968). Być może przypadek nasz należał do jednej z powyższych grup, nie można jednak wykluczyć, że sferoidy w nerwach obwodowych mogą pojawiać się i w innych chorobach ośrodkowego układu nerwowego. W miarę gromadzenia informacji zagadnienie to powinno zostać wyjaśnione i znaczenie diagnostyczne sferoidów określone.

Przypadki 2, 3 i 4 wg klasycznych kryteriów odpowiadały pod względem obrazu klinicznego rozpoznaniu *idiotia amaurotica familiaris*: postaci późno-dziecięcej Jansky'ego i Bielschowsky'ego (przypadek Nr 4) i postaci młodzieńczej Battena, Spielmeyera i Vogta (przypadki Nr 2 i 3). Zatem, w myśl przyjętych obecnie poglądów, mogą one reprezentować przypadki z grupy ceroid-lipofuscynozy (termin wprowadzony przez Zemana i Dykena w 1969 r.) lub gangliozydoz. W przypadku Nr 2 wido-



czne były ciała wtrętowe głównie o budowie ziarnisto-pęcherzykowatej, a w przypadku Nr 3 występowały przede wszystkim ciała błoniaste typu „zebra-body” oraz materiał lipofuscyno-podobny. Czwarty przypadek charakteryzowała obecność wtrętów o obrazie ciał skrętnoliniwnych. We wszystkich trzech przypadkach ciała wtrętowe znajdowały się zarówno we włóknach mielinowych jak i bezmielinowych, a w przypadkach Nr 2 i 4 — również w cytoplazmie pericytów włosniczek. W przypadkach 2 i 3 były one liczne i stanowiły jedyną nieprawidłowość w badanym nerwie; w przypadku Nr 4 dotyczyły nielicznych włókien, obok których widoczne były pojedyncze włókna uległe demielinizacji. Wydaje się więcej niż prawdopodobne, że stwierdzone w tych przypadkach zmiany odpowiadały zaburzeniom przemiany lipidowej i są związane z podstawowym procesem chorobowym. Podobne ciała wtrętowe do obserwowanych w naszym materiale widywane były w mózgu w licznych przypadkach neurolipidoz, a w szczególności w grupie ceroid-lipofuscynoz (Gonatas i wsp. 1968, Suzuki i wsp. 1968, Duffy i wsp. 1968, Zeman i wsp. 1970, Towfighi i wsp. 1973). Jak wiadomo grupę tę cechuje polimorfizm ciał wtrętowych — spotyka się ciała skrętnoliniwne, złogi o obrazie linii papilarnych, ciała błoniasto-pęcherzykowe, lipofuscyno-podobne i inne (Zeman i wsp. 1970). Zróżnicowanie ciał wtrętowych nie idzie jednak w parze z obrazem klinicznym i w zasadzie nie można przeprowadzić ścisłej korelacji anatomo-klinicznej. Stosunkowo dużą stałość obrazu morfologicznego wykazują postaci późno-dziecięce, w których często stwierdza się obecność ciał skrętnoliniwnych (Zeman i Donahue 1963, Duffy i wsp. 1968, Gonatas i wsp. 1968, Zeman i wsp. 1970, Carpenter i wsp. 1974).

Obserwacje dotyczące ultrastruktury gromadzonych złogów w późnodziecięcych i młodzieńczych postaciach gangliozydoz  $G_{M1}$  i  $G_{M2}$  obejmują jak dotąd niewiele przypadków. Z prac odnoszących się do postaci późnodziecięcej gangliozydozy  $G_{M1}$  (Majdecki i Opałka 1973, Patel i wsp. 1973, Majdecki i Ryniewicz 1975), oraz późnodziecięcej i młodzieńczej postaci gangliozydozy  $G_{M2}$  (Seitelberger i wsp. 1968, Suzuki i wsp. 1970) wynika, że często stwierdzanymi ciałami wtrętowymi w tych przypadkach są złogi błoniaste o budowie policentrycznej. Rzadziej widuje się błoniaste ciała cytoplazmatyczne (MCB), charakterystyczne dla dziecięcej postaci gangliozydozy  $G_{M2}$ .

Szeroko zakrojone badania nad neurolipidozami wyraźnie kontrastują z nikłością informacji na temat obrazu morfologicznego nerwu obwodowego w tej grupie chorób. Nie natrafiono na żadną pracę odnoszącą się do zmian w nerwach w biochemicznie zweryfikowanych późnodziecięcych i młodzieńczych postaciach gangliozydoz  $G_{M1}$  i  $G_{M2}$ , a obserwacje Carpentera i wsp. (1972) i Joostena i wsp. (1973), dotyczące paru przy-



padków zaliczonych przez autorów do grupy ceroid-lipofuscynozy, nie mają potwierdzenia biochemicznego wykluczającego gangliozydozę. W przypadkach tych, w postaci późno-dziecięcej w cytoplazmie nielicznych komórek Schwanna stwierdzono obecność ciał skrętnoliniowych, a w przypadkach postaci młodzieńczej — ciała typu „zebra-body” i/lub złogi o obrazie linii papilarnych (Carpenter i wsp. 1972, Joosten i wsp. 1973). Spostrzegane przez nas obrazy w przypadkach Nr 3 i 4 ściśle odpowiadają powyższym obserwacjom, jednakże, podobnie do przypadków tych autorów nie wiadomo czy należą one do grupy ceroid-lipofuscynozy, czy do gangliozydoz. Można by przypuszczać, że typ złogów w przypadku Nr 4 przemawia raczej za ceroid-lipofuscynożą, a w przypadku Nr 3 — za gangliozydożą, jednakże nie można uznać tego za pewne. Rodzaj znalezionych złogów w przypadku Nr 2, jak się zdaje, nie upoważnia do wysuwania żadnych sugestii odnośnie ich charakteru. Podobne zmiany znaleziono sporadycznie w leukodystrofii metachromatycznej (Cravioto i wsp. 1966, Liu 1968), jednakże towarzyszyły im zawsze ciała wtrętowe uważane za bardziej charakterystyczne dla tej choroby (Webster 1962, Sługa 1971, Dyck 1973 b, Thomas 1974). Widać zatem, że wiele jeszcze należy uczynić, aby przydatność badania nerwu łydkowego w omawianej grupie chorób została ostatecznie określona. Jednocześnie wyłania się pytanie, czy wobec niestałości występowania zmian w nerwie łydkowym w tzw. ceroid-lipofuscynozach (Carpenter i wsp. 1972, Towfighi i wsp. 1973, przypadek Nr 1 naszego materiału), nerw obwodowy jest spośród tkanek pozamózgowych najbardziej właściwą tkanką do badania. Wiadomo bowiem, że w przypadkach neuropiloz ciała wtrętowe znajdują się w wielu różnych tkankach, przy czym podkreśla się ich częste i liczne występowanie w mięśniach (zarówno gładkich jak i poprzecznie prążkowanych) oraz w komórkach układu autonomicznego (Elsner i Prensky 1969, Van Haelst i Gabreels 1972, Rapola i wsp. 1973). Badania licznych tkanek pobranych od tego samego osobnika mogą rozstrzygnąć to zagadnienie.

Wstępne spostrzeżenia, które nasuwają przeprowadzone przez nas badania są następujące:

1. W chorobach ośrodkowego układu nerwowego należących do grupy genetycznie uwarunkowanych zaburzeń metabolicznych częściej aniżeli się to powszechnie uważa, można spotkać zmiany morfologiczne w nerwie łydkowym.

2. W niektórych przypadkach stwierdzane zmiany mają charakter nieswoisty i wyrażają się odcinkową demielinizacją i zwyrodnieniem aksonalnym typu Wallerowskiego. Związek pomiędzy występowaniem tych zmian a podstawowym procesem chorobowym toczącym się w mózgu nie jest jasny.



3. Wydaje się prawdopodobne, że niektóre rodzaje zmian spotykane niekiedy w nerwach obwodowych (np. tzw. sferoidy) będą mogły oddać pewne usługi diagnostyczne ograniczając różnicowanie do mniejszej grupy chorób.

4. Wydaje się, że badanie morfologiczne nerwu łydkowego będzie mogło odegrać pewną rolę w diagnostyce chorób z grupy neurolipidoz, jednakże konieczne jest prowadzenie dalszych badań w tym kierunku.

Autorki składają serdeczne podziękowanie dr med. Tadeuszowi Majdeckiemu za konsultacje zdjęć mikroskopowo-elektronowych i cenne uwagi podczas przygotowywania pracy do druku.

X. Енджеёвска, В. Вах

#### МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ N. SURALIS ПРИ НЕКОТОРЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

##### Резюме

В работе представлены результаты исследований в оптическом и электронном микроскопах n. suralis десяти случаев, относящихся к генетически обусловленным метаболическим заболеваниям нервной системы. В двух случаях диагноз был поставлен на основании биопсийного и аутопсийного исследования мозга, в остальных — на основании клинических данных. Ни в одном из случаев не было обнаружено клинических симптомов, указывающих на повреждение периферических нервов.

Предварительные наблюдения, вытекающие из проведенных исследований, являются следующими:

1) При заболеваниях центральной нервной системы, относящихся к группе генетически обусловленных метаболических нарушений, морфологические изменения n. suralis встречаются чаще, чем это предполагалось.

2) Изменения, наблюдаемые в некоторых случаях, носят неспецифический характер и выражаются в демиелинизации определенных отрезков и аксональной дегенерации типа Валлеровского. Связь между появлением этих изменений и основным процессом болезни неясна.

3) Некоторые изменения, выступающие в периферических нервах (например, так называемые, сферoidы) вероятно, могут быть использованы в диагностике, сужая этим список возможных диагнозов.

H. Jędrzejowska, W. Wach

#### MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE SURAL NERVE IN SOME DISEASES OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

##### Summary

The results of light and electron microscope studies of the sural nerve are presented for 10 cases from the group of hereditary metabolic disorders of CNS. In 2 cases the diagnosis was based on the biopsy and the autopsy of the brain, while in other cases on clinical data. No clinical symptoms indicating the damage of peripheral nerves were detected in any case. The preliminary observations are the following:



1. In CNS diseases from the group of hereditary metabolic disorders the morphological changes in the sural nerve may be observed more frequently than it is generally believed.

2. In some cases, the observed changes are of unspecific character and are expressed by segmental demyelination, as well as Wallerian-like axonal degeneration. The relationship between the occurrence of these changes and the basic pathological process is unclear.

3. It seems, that some changes encountered in peripheral nerves (e.g. spheroids) could play a diagnostical role, restricting the list of possible identifications.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Araoz C., C. N. Sun, R. Shenefelt, H. J. White: Glycogenosis type II (Pompe's disease): Ultrastructure of peripheral nerves. *Neurology (Minneap.)* 1974, 24, 739—742.
2. Bischoff A., Fierz V., Regli F., Ulrich J.: Peripher — Neurologische Störung bei der Fabry'schen Krankheit. *Klin. Wschr.*, 1968, 46, 666—671.
3. Bischoff A., Reutter F. W., Wegmann T.: Erkrankung des Peripheren Nervensystem beim Morbus Gaucher. *Neue Erkenntnisse auf Grund der Elektronenmikroskopie. Schweiz. Med. Wschr.*, 1967 a, 97, 35, 1139—1146.
4. Bischoff A., Ulrich J.: Peripheral Neuropathy in Globoid cell Leukodystrophy (Krabbe's disease). *Ultrastructural and Histochemical Findings. Brain*, 1969, 92, 861—870.
5. Carpenter S., Karpati G., Andermann F.: Specific Involvement of Muscle, Nerve and Skin in Late Infantile and Juvenile Amaurotic Idiocy. *Neurology*, 1972, 22, 170—186.
6. Cravioto H., O'Brien J. S., Landing B. J., Finck B.: Ultrastructure of Peripheral Nerve in Metachromatic Leucodystrophy. *Acta Neuropath.*, 1966, 7, 111—124.
7. Duffy P. E., Kornfeld M., Suzuki K.: Neurovisceral Storage Disease with Curvilinear Bodies. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1968, 27, 351—370.
8. Dunn H. G., Lake B. D., Dolman C. L., Wilson J.: The Neuropathy of Krabbe's Infantile Cerebral Sclerosis (Globoid cell Leucodystrophy). *Brain*, 1969, 92, II, 329—344.
9. Dyck P. J., Johnson W. J., Lambert E. H., O'Brien P. C.: Segmental Demyelination Secondary to Axonal Degeneration in Uremic Neuropathy. *Mayo Clin. Proc.*, 1971, 46, 400—431.
10. Dyck P. J.: Ultrastructural Alterations in Myelinated Fibers. W: *New Developments in Electromyography and Clinical Neurophysiology. J. E. Desmedt, tom 2, Karger, Basel* 1973 a, 192—226.
11. Dyck P. J.: 1973 b — doniesienie osobiste.
12. Elsner B., Prenskey A. L.: Ultrastructure of Rectal Biopsies in Juvenile Amaurotic Idiocy. *Neurology*, 1969, 19, 834—840.
13. Gonatas N. K., Gambetti P., Baird H.: A Second Type of Late Infantile Amaurotic Idiocy with Multilamellar Cytosomes. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1968, 27, 371—388.
14. Gumbinas M., M. Larsen, H. M. Liu: Peripheral neuropathy in classic Niemann-Pick disease: ultrastructure of nerves and skeletal muscles. *Neurology (Minneap.)* 1975, 25, 107—113.



15. Jezierska K., Woźniak H.: Zespół Hallgrena u 8-letniego chłopca. *Neurologia, Neurochir. Pol.* 1971, 5, 921—923.
16. Joosten E., Gabreels F., Standhouders A., Bolmers D., Gabreels-Festen A.: Involvement of Sural nerve in neuronal ceroid-lipofuscinoses: report of two cases. *Neuropädiatrie* 1973, 4, 98—110.
17. Kamoshita S., Neustein H. B., Landing B. H.: Infantile Neuroaxonal Dystrophy. Neuropathological and Electron Microscopics Observations on a Patient with Neonatal Onset. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1968, 27, 300—323.
18. Kocen R. S., Thomas P. K.: Peripheral Nerve Involvement in Fabry's Disease. *Arch. Neurol.*, 1970, 22, 81—88.
19. Liu H. M.: Ultrastructure of Central Nervous System Lesions in Metachromatic Leukodystrophy with Special References to Morphogenesis. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1968, 27, 624—644.
20. Majdecki T., Badurska B.: Zagadnienie ultrastruktury w przejściowej postaci idiotia amaurotica. *Neuropat. Pol.*, 1971, IX, I, 39—44.
21. Majdecki T., Opalka S.: Obraz mikroskopowo-elektronowy Gangliozydozy G<sub>M1</sub>. *Neuropat. Pol.* 1973, 11, 153—159.
22. Majdecki T., Ryniewicz B.: Przypadek późnodziecięcej postaci gangliozydozy G<sub>M1</sub>. *Neur. Neurochir. Pol.* 1965, 9, 271—273.
23. Martin J. J., Martin L.: Infantile Neuroaxonal Dystrophy. *Europ. Neurol.*, 1972, 8, 239—250.
24. Navarro J., Escourolle R., Berger B. i in.: Participation Nerveuse Peripherique De la Maladie de Niemann — Pick. *Ann. Pédiat.*, 1973, 20, 507—513.
25. Ochoa J., Mair W. G. P.: The normal sural nerve in man. I. Ultrastructure and numbers of fibers and cells. *Acta neuropath. (Berl.)* 1969 a, 13, 197—216.
26. Ochoa J., Mair W. G. P.: The normal sural nerve in man. II. Changes in the axons and Schwann cells due to ageing. *Acta neuropath. (Berl.)* 1969 b, 13, 217—239.
27. Onishi A., Dyck P. J.: Loss of Small Peripheral Sensory Neurons in Fabry Disease. *Arch. Neurol.*, 1974, 31, 2—14.
28. Patel V., Goebel H. H., Wantabe I., Zeman W.: Studies on G<sub>M1</sub> — gangliosidosis, type II. *Acta neuropath. (Berl.)* 1974, 30, 155—173.
29. Powers J. M., Schaumburg H. H.: Adreno-Leukodystrophy: Similar Ultrastructural Changes in Adrenal Cortical and Schwann Cells. *Arch. Neurol.*, 1974, 30, 406—408.
30. Rapola J., Haltia M.: Cytoplasmic inclusions in the vermiform appendix and skeletal muscle in two types of so-called neuronal ceroid-lipofuscinosis. *Brain*, 1973, 96, 833—840.
31. Rozdilsky B., Cumings J. N., Huston A. F.: Hallervorden — Spatz Disease Late Infantile and Adult Types, Report of two Cases. *Acta Neuropath.*, 1968, 10, 1—16.
32. Schlaepfer W. W., Prenskey A. L.: Quantitative and Qualitative Study of Sural Nerve Biopsies in Krabbe's Disease. *Acta Neuropath. (Berl.)*, 1972, 20, 55—66.
33. Seitelberger F., Sluga E., Bernheimer H.: Studies on neuronal lipid dystrophies, W: Cerebral lipidoses II. *Red. A. N. Vincente, P. Dustin i A. Lowenthal. Presses Académiques Européennes, Bruxelles*, 1968, 116—133.
34. Sengel A., Stoebner P.: Intérêt de la biopsie neuromusculaire dans le diagnostic de la dystrophie neuroaxonale infantile. Etude ultrastructurale de 3 cas dont 2 familiaux. *Acta neuropath. (Berl.)* 1972, 21, 109—116.



35. Siny G. M., Silberberg D. H., Appel S. H., Mishkin M. M., Godfrey E. H.: A Generalized Disorder of Nervous System, Skeletal Muscle and Heart Resembling Refsum's Disease and Hurler's Syndrome. I. Clinical, Pathological and Biochemical Characteristics. *Am. J. Med.*, 1967, 42, 163—168.
36. Sluga E.: 1971, doniesienie osobiste.
37. Sourander P., Olsson Y.: Peripheral Neuropathy in Globoid Cell Leucodystrophy (Morbus Krabbe). *Acta neuropath.*, (Berl.), 1968, 11, 69—81.
38. Suzuki K.: Peripheral Nerve Lesion in Spongy Degeneration of the Central Nervous System. *Acta neuropath.* (Berl.), 1968, 10, 95—98.
39. Suzuki K., Grover W. D.: Krabbe's Leukodystrophy. *Arch. Neurol.*, 1970, 22, 385—396.
40. Suzuki K., Johnson A. B., Marquet E., Suzuki K.: A case of Juvenile Lipidosis: Electron microscopic, histochemical and biochemical studies. *Acta neuropath.* (Berl.) 1968, 11, 122—139.
41. Suzuki K., Suzuki K., Rapin I., Suzuki Y., Nobuyoshi I.: Juvenile  $G_{M2}$ -gangliosidosis. Clinical variant of Tay-Sachs disease or a new disease. *Neurology* (Minneapolis) 1970, 20, 190—204.
42. Thomas P. K.: The Morphological Basis for Alterations in Nerve Conduction in Peripheral Neuropathy. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1971, 64, 295—298.
43. Thomas P. K.: Peripheral Nerve Involvement in Tangier Disease. *Trans. Am. Neurol. Assoc.*, 1973, 98, 73—75.
44. Thomas P. K.: 1974 doniesienie osobiste.
45. Towfighi J., Baird H. W., Gambetti P., Gonatas N. K.: The Significance of Cytoplasmic Inclusions in Late Infantile and Juvenile Amaurotic Idiocy. An Ultrastructural Study. *Acta neuropath.* (Berl.) 1973, 23, 32—42.
46. Ule G.: Progressive Neurogene Muskelatrophie bei Neuroaxonaler Dystrophie mit Rosenthalschen Fasern. *Acta neuropath.* (Gerl.), 1972, 21, 332—339.
47. Van Haelst U. J. G. M., Gabreels F. J. M.: The Electron Microscopic Study of the Appendix as Early Diagnostic Means in Batten-Spielmeier-Vogt Disease. *Acta neuropath.* (Berl.), 1972, 21, 169—175.
48. Webster H.: Schwann Cell Alterations in Metachromatic Leucodystrophy: Preliminary Phase and Electron Microscopic Observations. *J. Neuropath. Exp. neurol.*, 1962, 21, 534.
49. Zeman W., Donahue S.: Fine Structure of the Lipid Bodies in Juvenile Amaurotic Idiocy. *Acta Neuropath.*, 1963, 3, 144—149.
50. Zeman W., Donahue S., Dyken P., Green J.: The neuronal ceroid-lipofuscinoses (Batten-Vogt Syndrome). W: *Handbook of Clinical Neurology*. P. J. Vinken, G. W. Bruyn, t. 10. North-Holland Publ. Co. Amsterdam 1970, 588—679.
51. Zeman W., Dyken P.: Neuronal ceroid-lipofuscinosiis (Batten's disease): Relationship to amaurotic familial idiocy? *Pediatrics* 1969, 44, 570—583.

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



JOCHEN QUANDT, HELMA SOMMER

MORPHOLOGISCHE STUDIE ZUR PATHOGENESE DER  
ZEREBRALEN ENDANGIITIS OBLITERANS

Neuropathologische Abteilung des Bezirkskrankenhauses für Psychiatrie  
und Neurologie, Bernburg/DDR  
Leiterin: Dr. Dr. habil. H. Sommer

Im Rahmen der zerebralen Gefässerkrankungen ist die pathogenetische Einordnung der zerebralen *Endangiitis obliterans* immer noch problematisch, weil bei der Herausarbeitung dieser Gefässerkrankung die engen Beziehungen zwischen den zerebralen und extrakraniellen Gefäßen nicht genügend beachtet wurden. Unterdessen hat die allgemeine Gefäßpathologie und insbesondere die Arterioskleroseforschung so viele neue Gesichtspunkte ergeben, dass die Frage überprüft werden muss, ob die zerebrale *Endangiitis obliterans* eine eigenständige Gefässerkrankung oder eine Standortvariante im Rahmen der Arteriosklerose ist.

In den letzten Jahren ist die Eigenständigkeit der zerebralen *Endangiitis obliterans* immer wieder bezweifelt worden (Quandt 1959; Gannuschkina 1962; Romanul und Abramowicz 1964), da die klassischen morphologischen Befunde auf chronischen Fällen beruhten und so die pathomorphologische Dynamik nicht ableitbar war. Neue Hypothesen werden in Zukunft die Pathogenese der zerebralen *Endangiitis obliterans* nicht klären. Auch hier müssen wie in der allgemeinen Gefäßpathologie neben Experimentalbefunden exakte morphologische Auswertungen einschlägiger Fälle erfolgen, um jene Fragen zu klären, die bereits in zurückliegenden Publikationen angeschnitten wurden.

EIGENE BEOBACHTUNGEN

Diese experimentellen und pathologisch-anatomischen Untersuchungen bestätigen unsere bereits 1959 mitgeteilte Beobachtung, dass wir in



der zerebralen *Endangiitis obliterans* nur eine bestimmte Reaktionsform des zerebralen Gefäßsystems unter gedrosselter Durchblutung sehen. Wir haben die Arbeitshypothese anhand weiterer pathologisch-anatomischer Untersuchungen überprüft, von denen wir die folgenden Beobachtungen darstellen wollen.

Fall 1 (Sekt.-Nr. 3/58): 50-jähriger Patient, der am 10. Januar 1958 in ein benachbartes Krankenhaus mit den Zeichen einer rechtsseitigen Hemiparese und einer Aufhebung des Sprachverständnisses eingeliefert wurde. Dieses klinische Bild hatte sich innerhalb einer Stunde insultartig entwickelt. Bei unserer stationären Untersuchung bestand eine typische rechtseitige Hemiplegie zusammen mit einer sensorisch-motorischen Aphasie. Am 28. I. 58, 18 Tage nach den ersten klinischen Erscheinungen, erfolgte der *Exitus letalis*, dessen Ursache auf einer massiven Lungenembolie infolge Mobilisation eines frischen Thrombus aus der rechten *Vena femoralis* beruhte, wie die Obduktion ergab.

Bei der Gehirnsektion fanden wir 2 komplett thrombosierte Arterien im Bereich der Leptomeninx der linken Inselrinde (Abb. 1). Das dazugehörige zerebrale Versorgungsgebiet wies girlandenförmige anämische Nekrosen auf. Sowohl Lage der thrombosierten Gefäße wie Form der Nekrosen waren typisch für die Topographie der klassischen *Endangiitis obliterans*.

Die histologischen Schnittserienuntersuchungen ergaben eine frische Obturationsthrombos, die von einem akut aufgequollenen Intimabeet ausging (Abb. 2). In dem Intimabeet konnten Zeichen eines akuten intrafibrillären Ödems festgestellt werden. Die Thrombose selbst hatte einen umschriebenen Gefäßsektor völlig verschlossen und war distal nur von einer geringgradig veränderten Intima umgeben. Von hier wurde die Organisation des Thrombus eingeleitet. Weiter nach distal zeigte die Intima eine zellreiche Proliferation, die inselförmig in das Gefäßlumen hineinreichte und zum Teil zur zelligen Überbrückung des Gefäßlumens führte. Das subendotheliale Mesenchym war geringfügig aufgequollen. Im Bereich der Adventitia waren keine schwerwiegenden zellulären Reaktionen zu erkennen. Diese Veränderungen liessen sich auch in den Nebenästen der betroffenen Arterien feststellen. Die Nekrosen der Inselrinde waren anämisch und zeigten beginnende mesenchymale und gliöse Organisationen.

Zusammenfassend: Bei einem 50-jährigen Patienten hat sich auf dem Boden einer akuten arteriosklerotisch bedingten Verschluss thrombose zweier Inselarterien eine distale anämisch bedingte Intimaproliferation entwickelt, die innerhalb von 20 Tagen durch ihren Verlauf Einblick in die Entwicklung einer *Endangiitis obliterans* erlaubte.



Fall 2 (Sekt.-Nr. 46/55): Es handelt sich um einen 51-jährigen Patienten, der mit folgender Vorgeschichte eingewiesen wurde: Der Patient stand schon seit August 1947 in ärztlicher Behandlung. Er war als Gleisarbeiter beschäftigt und wurde wegen eines Durchfalles behandelt. Im Mai 1948 bestanden ausgeprägte Ödeme an beiden Beinen, die als Ernährungsschäden und Ausdruck einer Herzinsuffizienz aufgefasst wurden. Bereits damals soll der Patient intellektuell minderbegabt gewirkt haben. Im Sommer 1948 wurde er wegen einer Ruhr stationär behandelt. Da er sich im Anschluss an diese Krankheit nicht mehr erholte, wurde er invalidisiert. Im März 1953 wirkte der Patient stark abgemagert, war völlig apathisch, sprach unartikulierte und wies an den Fingern und Zehen Zeichen einer peripheren Durchblutungsstörung auf.

Bei der stationären Aufnahme am 22.4.1953. war eine Verständigung mit dem Patienten nicht möglich. Es schien eine schwere Aphasie vorzuliegen. Er lag mit angezogenen Beinen im Bett, wies einen grossen *Decubitus* auf und konnte nicht mehr laufen. Die neurologische Untersuchung ergab eine unartikulierte verwaschene Sprache, verständliche Worte konnten nicht mehr hervorgebracht werden. Die Augenbewegungen waren nicht prüfbar, Lichtreaktionen schwach, Konvergenzreaktion konnte nicht geprüft werden. Die Reflexe waren allgemein auslösbar, eine spastische Tonuserhöhung war nachweisbar. Eine differenzierte Sensibilitätsprüfung war nicht möglich. Über das Ausmass der peripheren Durchblutungsstörung fanden sich in dem Krankenblatt keine Aufzeichnungen. Im Verlauf der mehrmonatigen stationären Behandlung wirkte der Patient schwer dement. Er liess Stuhl und Urin unter sich, lag teilnahmslos im Bett und musste gefüttert werden. Später bildeten sich spastische Kontrakturen und ein pseudobulbärparalytisches Bild aus. Im Verlaufe einer Bronchopneumonie kam der Patient am 5.12.1954 *ad exitum*.

Die Obduktion ergab eine allgemeine schwere Arteriosklerose (Aortensklerose), stenosierende Sklerose beider Karotiden und eine fortgeschrittene Koronarsklerose. Als Todesursache wurde eine Bronchopneumonie bezeichnet.

Bei der Gehirnsektion fand sich eine fortgeschrittene Arteriosklerose der Hirnbasisarterien, multiple ischämische Erweichungen in der Brücke und *Striatum* (*Status lacunaris*) sowie girlandenförmige Rindennekrosen im parieto-okzipitalen Grenzgebiet. In mehreren Arterien fand man ein lockeres kern-armes Füllgewebe und vereinzelte Venen wiesen bindegewebig verschlossene Lumina mit Rekanalisation (organisierte Verschluss thrombose) auf. An einzelnen Arterien war eine Elastikaauflösung erkennbar. Perivascular war lediglich eine Vermehrung der lepto-



meningealen Zellelemente als Reaktion auf die bis zur *Pia mater* reichenden Rindennekrosen zu erkennen.

Zusammenfassend: Bei einem 51-jährigen Patienten hat sich auf dem Boden einer arteriosklerotisch bedingten Herzinsuffizienz und einer arteriosklerotisch bedingten Durchblutungsstörung eine Pseudobulbärparalyse mit fortschreitender Demenz entwickelt. Bei der Obduktion finden sich neben einer fortgeschrittenen Arteriosklerose der *A. carotis int.* und des *Circulus arteriosus Willisii* multiple Nekrosen im parieto-okzipitalen Grenzzonegebiet. Hier zeigen die Schnittserienuntersuchungen mehrere Gefäße (Arterien und Venen), die teils ein typisches lockeres Füllgewebe, teils rekanalisierte Thrombosen aufweisen.

Fall 3 (Sekt.-Nr. 20/66): 56-jähriger Patient, der bereits 1962 in unserem Krankenhaus wegen eines Suizidversuches mit Leuchtgas im Verlauf einer ehelichen Konfliktsituation behandelt worden war. Der Patient war damals nur kurzzeitig bewusstlos und zeigte keine nachhaltigen psychischen Veränderungen auf. 1964 traten zunehmende psychische Veränderungen auf. Der Patient sei reizbarer geworden und habe über nachlassende Leistungsfähigkeit geklagt. Im Herbst 1966 trat der erste Schlaganfall auf. Der rechte Arm und das rechte Bein war gelähmt. Sechs Wochen später wurde ein mehrere Tage anhaltender nächtlicher Verwirrheitszustand beobachtet. Am 15.1.1967 trat plötzlich eine erneute Apoplexie auf mit Verstärkung der rechtsseitigen Lähmung.

Die neurologische Untersuchung ergab jetzt eine unterschiedlich starke zentrale Tetraplegie mit wechselnden Pyramidenzeichen, eine komplexe Aphasie, eine ausgeprägte Affektlabilität mit Zwangswainen sowie eine Störung der zeitlichen und örtlichen Orientierung. Der Blutdruck betrug 230/120 mm Hg.

Trotz Kreislaufbehandlung war der Krankheitsverlauf progredient, so dass am 11.2.1967 der *Exitus letalis* infolge einer hypostatischen Bronchopneumonie eintrat.

Die Obduktion ergab neben einer hypostatischen Bronchopneumonie des rechten Lungenunterlappens, eine mittelschwere Koronarsklerose, mehrere bindegewebige Herzmuskelschwien, Hypertrophie der linken Herzkammer, mittelschwere Sklerose der Aorta, arteriosklerotische Veränderungen in beiden *Aa. carotis comm.* und in der rechten *A. carotis int.*, ausgeprägte Sklerose der *A. basilaris*, insbesondere beider *Aa. cerebri posterior* rechts stärker als links. Auch die *A. cerebri med.* zeigte beidseitig deutliche arteriosklerotische Veränderungen. Auf Frontalschnitten fand sich rechts ein partieller Posteriorinfarkt mit hämorrhagischen Nekrosen, der sich bis in den unteren *Thalamus* und *Gyrus hippocampus* erstreckte. Auch im *Sulcus collateralis* fanden sich multiple Nekrosen. In beiden *Corpora striata* ausgeprägter *Status lacunaris*.



Bei der histologischen Untersuchung fanden sich im Bereich der Leptomeninx unmittelbar oberhalb der nekrotischen Rindenbezirke mehrere frisch trombosierte Venen mit Zeichen der Organisation des Thrombus und Bildung eines Restlumens. Auch einzelne Arterien waren thrombosierte und liessen eine beginnende bindegewebige Obliteration erkennen (Abb. 3 und 4). Die basalen Arterien zeigten typische arteriosklerotische Veränderungen. Insbesondere war die *A. cerebri post.* kurz nach ihrem Abgang aus der *A. basilaris* durch ein arteriosklerotisches Beut erheblich stenosierte.

Zusammenfassend: Es handelt sich um einen 55-jährigen Patienten, der an einer chronischen zerebralen Arteriosklerose gelitten hat. Bereits vor der klinischen Beobachtung traten mehrere Schlaganfälle auf. Kurz vor dem *Exitus letalis* erfolgte ein erneuter Hirninfarkt, der im Bereich des Versorgungsgebietes der rechten *A. cerebri post.* auftrat und durch eine arteriosklerotische Herzinsuffizienz ausgelöst wurde. Die rechte *A. cerebri post.* zeigte eine arteriosklerotische Stenose; unmittelbar im Infarktgebiet waren einzelne Arterien und Venen thrombosierte und befanden sich bereits im Stadium der mesenchymalen Organisation.

Fall 4 (Sekt.-Nr. 107/66); 53-jähriger Patient, der seit 8 Jahren wegen einer klinisch gesicherten Hypertonie behandelt wurde. 3 Jahre vor dem *Exitus letalis* zunehmende spastische Gangstörung, verwaschene Sprache und Affektlabilität. Klinische Aufnahme erfolgte in einem auswärtigen Krankenhaus, da die häusliche Pflege auf Schwierigkeiten stiess. Hier trat eine komplette Aphasie auf; der *Exitus letalis* erfolgte am 25. 10.1966.

Eine Körpersektion ergab eine leichte Trübung der weichen Hirnhäute. Die Hirnwindungen klafften, die Gyri waren fronto-parietal beidseitig verschmälert; links parietal war die Leptomeninx bräunlich verfärbt und eingezogen. Mehrere leptomeningeale Arterien liessen arteriosklerotische Einlagerungen erkennen. Besonders eindrucksvoll waren die arteriosklerotischen Veränderungen an den Hirnbasisarterien. Die *A. basilaris* hatte eine gänsegurgelartige Beschaffenheit. Beide *Aa. cerebri post.* und *med.* liessen bereits makroskopisch umschriebene arteriosklerotische Stenosen erkennen. Auf Frontalschnitten zeigten die Querschnitte zahlreicher Arterien an der Hirnbasis und Konvexität unterschiedlich starke arteriosklerotische Stenosen und lipoidhaltige Einlagerungen; innerhalb der Stammganglien fanden sich mehrere bis stecknadelkopfgrosse zystische Nekrosen. Der linke *Thalamus* war durch mehrere zystische Nekrosen weitgehend destruiert. Die Rinde des *Lobus inferior* des linken Parietallappens wies girlandenförmige anämische



Nekrosen auf. Insgesamt war das Windungsrelief in allen Hirnschnitten verschmälert, das Marklager reduziert und die Seitenventrikel erweitert.

Die histologische Untersuchung ergab im Bereich der basalen Arterien (*A. basilaris*, *A. cerebri post.*, *A. cerebri med.*) ausgeprägte arteriosklerotische Veränderungen mit typischen lipoidhaltigen Intimapolstern und unterschiedlicher Lumeneinengung. Diese arteriosklerotischen Gefässveränderungen liessen sich im Bereich des Stromungsgebietes der *A. cerebri med.* bis in die extrazerebralen Hemisphärenäste verfolgen. Auch hier sah man arteriosklerotische Intimapolster mit regressiven Veränderungen und Cholesterinablagerungen. Sowohl in der Rinde wie im Bereich der Stammganglien waren die verschiedenen Stadien der hypertensiven intrazerebralen Gefässerkrankung erkennbar. Im *Thalamus* waren mehrere Arteriolen hyalinisiert und hatten eine Umwandlung zum hypertensiven Aneurysma erfahren. (Abb. 5). Im Bereich der distalen extrazerebralen Gefässe im Grenzgebiet zwischen *A. cerebri med.* und *post.* konnte man neben typischen arteriosklerotischen Gefässveränderungen sowohl an den mittelgrossen und kleineren Arterien und Venen verschiedene Stadien der endangiitischen Proliferation und der intravasalen Thrombosierung erkennen. Besonders eindrucksvoll sah man in der Nachbarschaft einer grösseren arteriosklerotisch veränderten Arterie sowohl eine kleine Arterie, deren Lumen durch eine endangiitische Proliferation eingeengt war, und eine kleine Vene, in der dem thromboendangiitische Verschluss bereits erheblich fortgeschritten war. (Abb. 6 und 7). Im Bereich der *Fossa Sylvii* fand man eine grössere Vene, die ein lockeres kernarmes Füllgewebe enthielt, ihr Lumen war unterschiedlich stark verengt. Bemerkenswerterweise fand man auch Arteriolen, die das Anfangsstadium der endangiitischen Proliferation bis zur Umwandlung in ein lockeres Füllgewebe mit Restlumen erkennen liessen. Daneben fanden sich auch an den grösseren Arterien typische exzentrische intravasale Halbmonde mit Schaumzellen. Infolge dieser Gefässveränderungen sah man in den zugehörigen Versorgungsgebieten unterschiedlich stark umschriebene oder girlandenförmige Nekrosen sowie im Hirnstamm Erweichungszysten mit Hämosiderinablagerungen. Ischämische Ganglienzellveränderungen waren in grosser Zahl vorhanden.

Zusammenfassend: Bei dem 53-jährigen Patienten ist seit 8 Jahren klinisch eine Hypertonie bekannt. Drei Jahre vor dem *Exitus letalis* entwickelt sich eine Pseudobulbärparalyse. Schliesslich tritt eine komplette Aphasie auf. Die histologische Untersuchung des Gehirnes ergibt das gleiche Vorkommen von fortgeschrittener extrazerebraler Arterio-



sklerose, intrazerebraler hypertonischer Gefässerkrankung (Hyalinose) und verschiedene Stadien der zerebralen Form der *Endangiitis obliterans*.

#### PATHOGENETISCHE AUSWERTUNG DES EIGENEN UNTERSUCHUNGSMATERIALS

Die von uns mitgeteilten 4 Beobachtungen sind aus unserem langjährigen Sektionsmaterial ausgesucht worden, weil sie das gleichzeitige Vorkommen von Arteriosklerose bzw. hypertonischer Gefässerkrankung und *Endangiitis* oder *Thrombangiitis obliterans* im Bereich des zerebralen Strömungsgebietes besonders gut erkennen lassen. Mehrere Fälle mit den gleichen histologischen Kriterien liegen vor. Diese Beobachtungen sind dann keine Seltenheit, wenn man in Gehirnen mit arteriosklerotischen Gefässprozessen Schnittserien nicht nur innerhalb der Gewebsnekrosen, sondern auch in den sogenannten arteriellen Grenzonen durchführt.

Welche pathogenetischen Schlussfolgerungen sind nun anhand dieses kasuistischen Materials unter Berücksichtigung unserer derzeitigen Kenntnisse vom morphologischen Ablauf der Arteriosklerose bzw. hypertonischen Gefässerkrankung möglich? Zweifellos bedarf es entweder eines ischämischen Drosselungseffektes oder einer erheblichen intravasalen Strömungsverlangsamung, um in einem zerebralen Versorgungsgebiet den Anstoss zur endangiitischen Proliferation zu geben. Im Falle eines Drosselungseffektes erfolgt im distalen Gefässabschnitt eine Reduzierung des Blutstromes und eine elektive Schädigung des nervösen Parenchyms. Bleibt die gleichzeitige Nekrose des Gefässendothels bzw. Gefässwand aus, ist jener Grad von Ischämie gegeben, der nach den Erfahrungen der allgemeinen Gefässpathologie genügt, die Intima zur Proliferation anzuregen und den endangiitischen Verschluss des Gefässes einzuleiten. Die Drosselungsbedingte Strömungsverlangsamung und nachfolgende Wandschädigung können gleichzeitig im nachgestalteten venösen Abschnitt die Thrombosebereitschaft erhöhen. Nicht selten können eine akute thrombotische Obturation infolge Arteriosklerose oder eine arteriosklerotische Stenose der endangiitischen Proliferation vorausgehen, wie unsere Beobachtungen zeigen. Dann sind die Gewebsnekrosen meist unregelmässig verteilt. Je proximaler bzw. herznaher der Drosselungseffekt liegt (z. B. Karotisthrombose), um so mehr entspricht der zerebrale Gewebsschaden der weitgehend symmetrisch verteilten granulären Atrophie und tritt mit auffälliger Akzentuierung in den bekannten arteriellen Grenzonen auf.

Die Entwicklung der *Endangiitis obliterans* erfolgt unterschiedlich schnell. Das von allen Untersuchern hervorgehobene Fehlen hämorrhagi-



gischer Infarkte spricht für einen subakuten Drosselungseffekt, bei dem das Gefässendothel und das kapillare Stromgebiet erhalten bleiben bzw. eine kreislaufbedingte Hyperämie und venöse Rückstauung fehlen. Auch lässt sich aus dieser Tatsache schliessen, dass der endangiitische Prozess auf der arteriellen Seite und nicht im venösen Schenkel beginnt, der erst sekundär in den end- bzw. thrombangiitischen Prozess einbezogen wird.

Aus der Morphologie der zerebralen *Endangiitis obliterans* lassen sich folgende grundsätzliche Schlussfolgerungen ziehen:

1. Die thrombotische Stenose oder Obliteration kann im Stadium jenes initialen Intimaödems erfolgen, das nach Bredt (1958) die Arteriosklerose einleitet. Dieses Stadium ist bei späteren morphologischen Untersuchungen des obturierten Gefässes meist nicht mehr zu erkennen, weil nach erfolgter Thrombose die gequollene Intima in den Organisationsprozess der Thrombose einbezogen wird. Mitunter weist eine geringe Elastikaufsplitterung darauf hin, dass arteriosklerotische Veränderungen der Thrombosierung vorausgingen.

2. Die Thrombose kann sich distal vom Entstehungsort aus über nachfolgende extrazerebrale Gefässstrecken mit ihren dazugehörigen Verzweigungen in bisher intakte Gefässabschnitte fortsetzen. Auf Serienschnitten erscheinen diese thrombosierten Gefässabschnitte ohne Veränderungen der Intima bzw. der *Elastica interna* und zeigen lediglich den Organisationsprozess im jeweiligen Stadium.

3. Der Vorgang: Intimaödem — obturierte Thrombose — bindegewebige Organisation kann sich mehrfach und an verschiedenen Gefässabschnitten wiederholen.

4. Thrombosiert ein arteriosklerotisch veränderter Gefässabschnitt während einer erneuten Intimaquellung oder einer arteriosklerotischen Ulzeration der Intima, so war es bisher in der Gefässpathologie eine

Abb. 1. Zwei komplett trombosierte meningeale Arterien (Pfeilchen) und anämische Nekrosen im Bereich der Inselrinde.

Ryc. 1. Dwie tętnice oponowe z zakrzepami (strzałki) w okolicy wyspy oraz ogniska martwicy w korze.

Abb. 2. Frische Obturationsthrombos der Inselgefäss (Abb. 1). H.-E.  $\times 200$ .

Ryc. 2. Świeży zakrzep w tętnicy wyspy (ryc. 1). H.-E. Pow. 200  $\times$ .

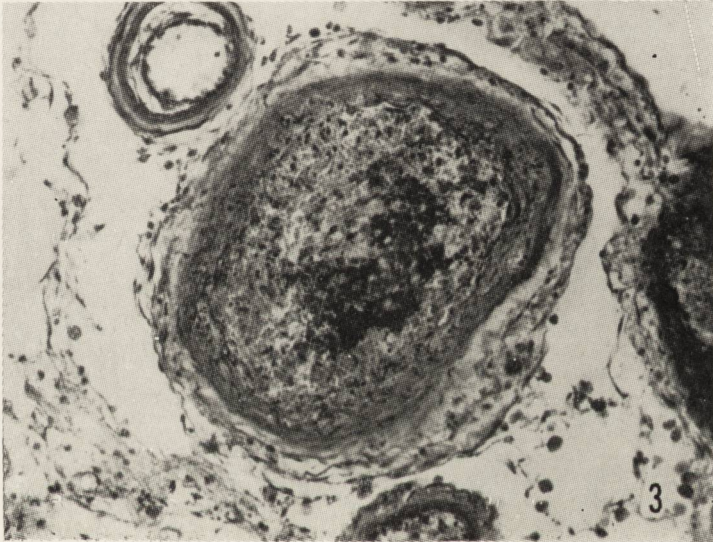
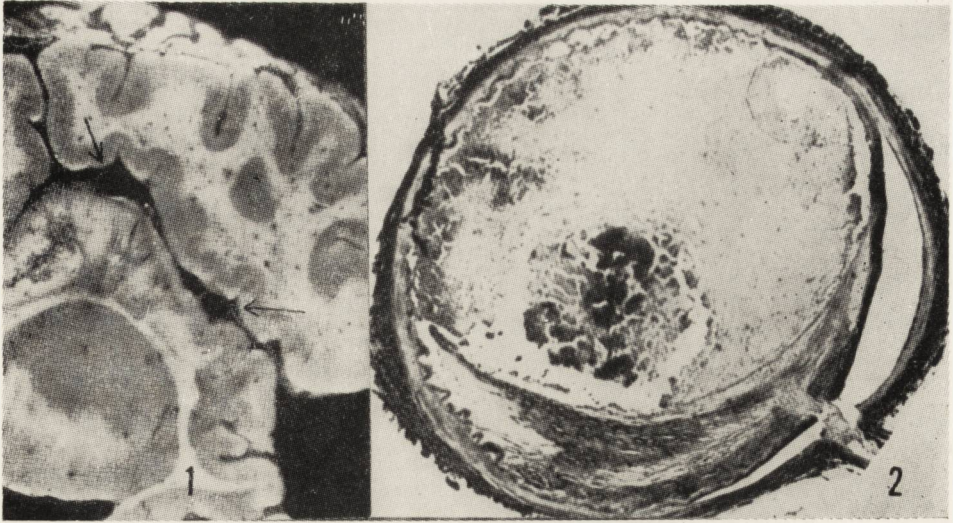
Abb. 3. Unmittelbar der nekrotischen Rindenbezirke frisch trombosierte meningeale Vene mit Zeichen der Organisation des Thrombos. H.-E.  $\times 220$ .

Ryc. 3. W sąsiedztwie świeżego ogniska martwicy zakrzep z rozpoczynającą się organizacją w tętnicy oponowej. H.-E. Pow. 220  $\times$ .

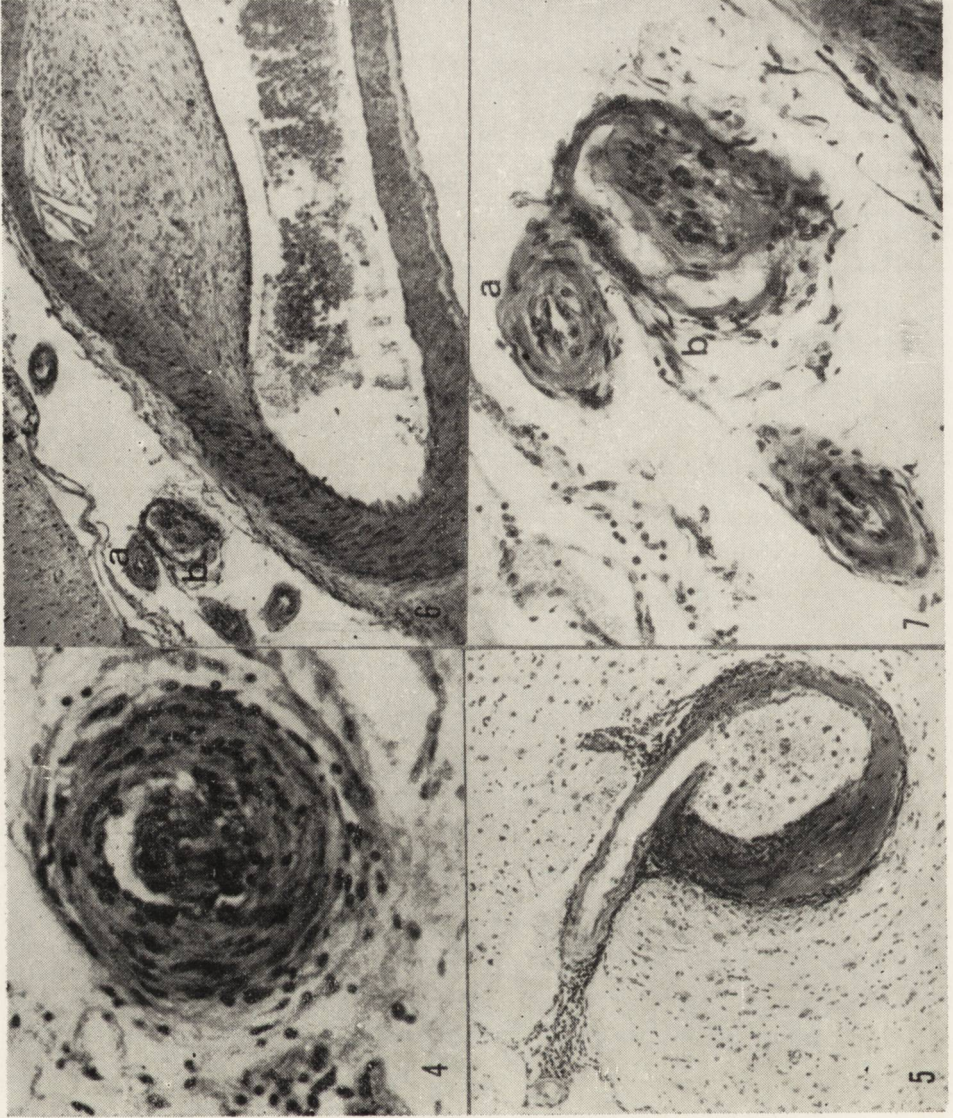
Abb. 4. Kleine meningeale Arterie deren Lumen durch endangiitische Proliferation eingeengt ist. H.-E.  $\times 320$ .

Ryc. 4. Zarostowe zmiany w artericli oponowej. H.-E. Pow. 320  $\times$ .











Ermessensfrage, ob man von einer obturierenden Thrombose bei Arteriosklerose oder von einer *Thrombangiitis obliterans* sprach.

5. Die *Endangiitis obliterans* kann sich auch ohne eine Thrombose distal vom *Circulus Willisii* entwickeln, wenn das Endothel durch subakute oder chronische Ischämie zur Proliferation angeregt wird, z.B. bei einer Stenose der *A. carotis comm.* oder *int.* oder bei einer Karotisthrombose. Diese Veränderungen spielen sich in den distalen Gefäßabschnitten ab und treten mitunter akzentuiert in den arteriellen Grenzonen auf. Begünstigend wirken hierbei Anomalien von *Circulus arteriosus Willisii* bzw. Disproportionen in der anastomotischen Versorgung der arteriellen Strömungsgebiete.

6. Verhältnismässig häufig findet man im extrazerebralen Randgebiet eines Hirninfarktes endangiitische Proliferationen und thrombosierte Venen, die nach Organisation des Infarktes das typische Gewebsbild der *Thrombangiitis obliterans* aufweisen. Auch hier erfolgten der proliferative Anstoss durch den hämodynamischen Drosselungseffekt und die venöse Thrombosierung durch eine Erhöhung toxischer Abbauprodukte im venösen Schenkel.

Die scharfe Trennung zwischen *Endangiitis obliterans* und Arteriosklerose sollte auch in der zerebralen Gefäßpathologie korrigiert werden. Beide Gefässerkrankungen sind auf annähernd gleiche Prozesse in der Intima zurückzuführen und werden durch ein fettfreies Intimaödem (Bredt) eingeleitet. Sie unterscheiden sich lediglich im Ablauf der Intima-Blutplasma-Reaktion, die bei der *Thrombangiitis obliterans* besonders stark zur thrombogenen Seite verschoben ist. Warum in den zerebralen Gefässen der primäre thrombotische Verschluss seltener ist als in der Gefässperipherie (z.B. im Bereich der Koronar- oder Femoralisarterien), ist eine noch nicht gelöste Frage. Vielleicht spielen hierbei hämodynamische Gesichtspunkte und nervale Faktoren (erhöhte Bereitschaft zu spastischen Kontraktionen der Koronar- und Extremitätenarterien)

Abb. 5. Die Umwandlung zum hypertonen Aneurysma einer hyalinisierten Arteriole. H.-E.  $\times 175$ .

Ryc. 5. Tętniak w przebiegu choroby nadciśnieniowej. Szklisto zmieniona ściana naczyń. H.-E. Pow.  $175 \times$ .

Abb. 6. Arteriosklerotische Intimapolster einer meningeal Gefässe. In der Nachbarschaft: a — eine kleine Arterie mit endangiitischen Proliferation und b — eine kleine Vene mit frischer Obturationsthrombos. H.-E.  $\times 175$ .

Ryc. 6. Duża blaszka miażdżycowa w naczyniu oponowym. W sąsiedztwie a — zmiany zarostowe w małej tętnicy i b — świeży zakrzep w małej żyły. H.-E. Pow.  $175 \times$ .

Abb. 7. Kleine Arterie (a) und Vene (b) — dieselbe wie im Abb. 6.  $\times 300$ .

Ryc. 7. Tętniczka i naczynie żyłne z poprzedniej ryciny w pow.  $300 \times$ .



eine Rolle. Letztere ist bekanntlich bei den zerebralen Arterien von untergeordneter Bedeutung.

Sofern das histologische Bild für eine zerebrale *Thrombangiitis obliterans* spricht, muss die stenosierende Thrombose apoplektiform erfolgen. Eine spezifische Intima-Blutplasma-Reaktion gibt hierzu den Anstoss. Die Voraussetzung für einen solchen thrombotischen Gefässverschluss sind an den mittelgrossen und kleineren Arterien der Hirnkongexität günstiger, als an den grossen zuführenden Stämmen. Sie sind bekanntlich die Prädilektionsstellen der *End-* oder *Thrombangiitis obliterans*. Hier herrscht eine physiologische Strömungs- und Druckminderung bei kleinem Gefässlumen.

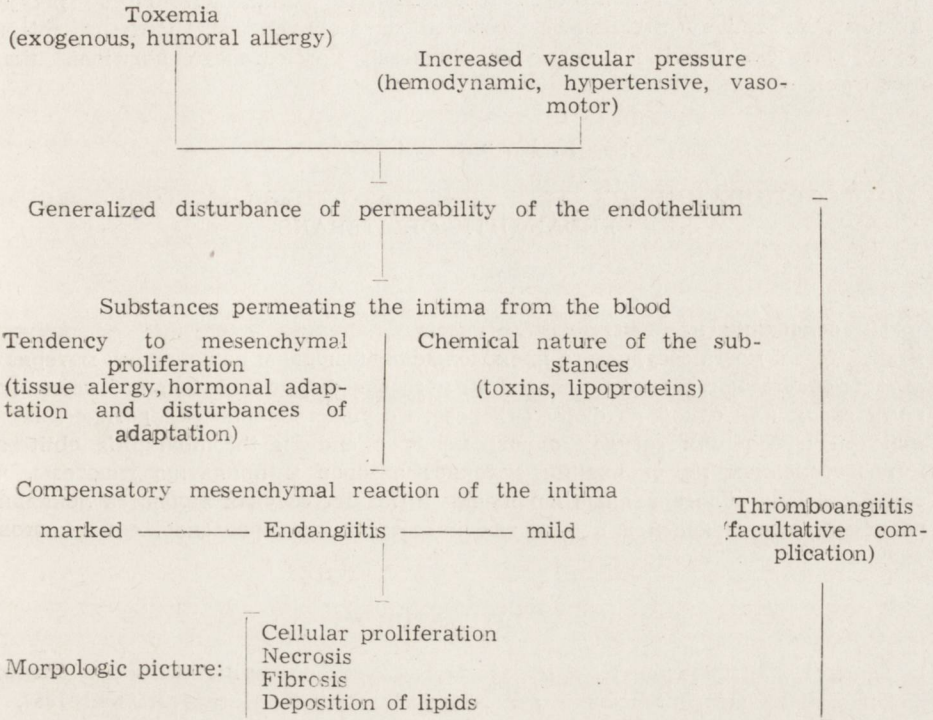
Unter diesen Gesichtspunkten ist es auch verständlich, warum die Erforschung der ätiologischen Pathogenese ohne Ergebnisse verlief. Die Hypothesen reichen von der Spasmentheorie über eine Nikotingefässschädigung bis zur Diskussion allergischer und nervaler Faktoren. Wir möchten in der zerebralen *Endangiitis obliterans* ein gewebliches Reaktionssyndrom sehen, das entweder durch einen Drosselungseffekt oder durch eine kritische Blutplasma-Intima-Reaktion auslöst werden kann. Dieses Reaktionssyndrom wird bei der Arteriosklerose des jugendlichen und mittleren Lebensalter in der Gefässpathologie, z.B. für die Koronartrombose, beschrieben und scheint in letzter Zeit sogar gehäuft in Erscheinung zu treten. Die mittleren und kleineren extrazerebralen Arterien werden zu Beginn der Arteriosklerose meist nicht betroffen. Deshalb ist dieses gewebliche Reaktionssyndrom hier seltener als z.B. am Koronargefässsystem. Eine arterielle Stenose kann jederzeit die endangiitische Proliferation anregen. Atypien des *Circulus arteriosus Willisii* sowie eine ungünstige kollaterale Kompensation sind lokale Faktoren für die Entwicklung der *Endangiitis obliterans*.

Die gelegentliche Kombination von *Endangiitis obliterans* und Hypertonie, die Eicke (1957) „besonders viele Rätsel aufgibt“, wird nunmehr verständlich. Bekanntlich löst die Hypertonie im mittleren Lebensalter heftige Blutplasma-Intima-Reaktionen im Bereich der mittelgrossen Hirnarterien aus (Quandt, 1969). Sie führt auch zur schnellen Entwicklung der Arteriosklerose in den mittleren zerebralen Ästen und zu Drosselungseffekten, wie u.a. aus einem Schema von Asang und Mittelmeyer (1957) hervorgeht, das die pathogenetische Verwandtschaft von Arteriosklerose und *Endangiitis obliterans* eindrucksvoll demonstriert.

In seltenen Fällen kann eine toxische Gefässschädigung oder eine hyperergische Blutplasma-Intima Reaktion die Grundlage einer zerebralen *Endangiitis obliterans* sein. Dabei bestehen gewisse Übergänge zur *Periarteriitis nodosa*.



Schema 1  
Schemat 1



Schematic review of the pathogenesis of *thromboangiitis* and its relationship to *endangiitis* (Asang and Mittelmeyer, 1957).

Wenn man den Ablauf und die Lokalisation der *Endangiitis obliterans* kennt, wird man bei der Untersuchung arteriosklerotischer Gehirne feststellen, dass das morphologische Gefässyndrom der *Endangiitis obliterans* häufiger ist, als in der Literatur beschrieben wird. Daraus erklärt sich auch, dass es im allgemeinen nicht möglich ist, eine überzeugende klinische Differentialdiagnose zwischen zerebraler Arteriosklerose und zerebraler *End- bzw. Thrombangiitis obliterans* zu finden (Scheid, 1953).

J. Quandt, H. Sommer

BADANIA MORFOLOGICZNE NAD PATOGENEZĄ MÓZGOWEJ POSTACI  
ENDANGIITIS OBLITERANS

Streszczenie

W oparciu o analizę kliniczno-morfologiczną 4 przypadków zmarłych z powodu naczyniopochodnych uszkodzeń mózgu (wyselekcjonowanych spośród większego materiału) autorzy zastanawiają się czy mózgową postać *endangiitis obliterans* jest



odrębnym zespołem chorobowym czy też jedną z postaci miażdżycy. Współistnienie zmian miażdżycowych w obrębie dużych pni naczyniowych i *end- i thrombangiitis obliterans* w ich końcowych rozgałęzieniach skłania autorów do przyjęcia hipotezy, że zmiany zakrzepowo-zarostowe w drobnych naczyniach są miejscowym odczynem rozwijającym się w obszarach upośledzonego ukrwienia tkanki mózgowej.

И. Къандт, Г. Соммер

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПАТОГЕНЕЗА МОЗГСВОЙ ФОРМЫ  
ENDANGIITIS OBLITERANS

Резюме

На основании клинико-морфологического анализа 4 случаев умерших от повреждений мозга сосудистого происхождения (выбраны из большого материала) авторы обсуждают вопрос, является ли мозговая форма отдельным болезненным комплексом или одной из форм склероза. Сосуществование склеротических изменений в больших сосудах одновременно с *end- и thrombangiitis obliterans* в разветвлениях их окончаний склоняет авторов к принятию гипотезы, что тромботически-облитеральные изменения в мелких сосудах являются локальной реакцией, развивающейся в областях недостаточного кровоснабжения мозговой ткани.

LITERATUR

1. Asang E., Mittelmeyer H.: Die symptomatische Endangiitis obliterans (zugleich ein Beitrag zur Pathogenese der Arteriosklerose. Z. Kreislaufforsch. 1957, 26, 143.
2. Bredt H.: Morphologie und Pathogenese der Arteriosklerose. In: G. Schettler -- Arteriosklerose, G. Thieme Verlag, Stuttgart, 1961.
3. Eicke W. J.: Die Endangiitis obliterans der Hirngefäße. Handbuch spez. path. Anat., Henke, Lubarsch, Rössle, Springer Verlag, Berlin, XIII/1-B, 1957.
4. Gannuschina J. W.: Zur Frage der reduzierten Hirndurchblutung und ihre morphologischen Veränderungen. I. Neuropathol. (Moskwa), 1962, 62, 1616.
5. Quandt J.: Cerebrale Form der Endangiitis obliterans. In: Die zerebralen Durchblutungsstörungen des Erwachsenenalters. Red. Quandt J., Sommer H., Verl. Volk u. Gesundheit, Berlin, 1959.
6. Romanul F., Abramowicz A.: Changes in brain and pial vessels in arterial border zones. Arch. Neurol. 1964, 11, 40.
7. Scheid W.: Zirkulationsstörungen des Gehirns und seiner Häute. In: Hdb. inn. Med. Springer Verlag, Berlin, 1953, V.3.

Anschrift der Verfasser: Prof. Dr J. Quandt, X 435 Bernburg, Olga Benario-Str. 20, DDR.



LUBOMIRA DYDYK, MARIA DĄMBSKA, TADEUSZ SZRETER

## WPLYW HYPEROKSJI NA DOJRZEWAJĄCY MÓZG KRÓLIKA \*

### I. ZMIANY WCZESNE

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej Polskiej Akademii Nauk

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

Oddział Intensywnej Terapii i Reanimacji Szpitala Klinicznego

im. prof. M. Michałowicza w Warszawie

Kierownik: doc. dr med. T. Szreter

Podawanie tlenu, stosowane szeroko w celach terapeutycznych, stało się paradoksem od momentu wykazania przez Smith'a (1899) uszkadzającego wpływu hyperoksji na płuca. Bruns i Shields (1954) obserwowali wpływ hyperoksji na powstawanie błon szklistych w płucach świnek morskich, a Aikawa i Bruns (1956) ustalili, że patologiczne działanie hyperoksji polega na wzroście przepuszczalności błon komórkowych śród-błonek naczyń włosowatych. W ostatnich kilkunastu latach pojawiło się wiele doniesień traktujących o niekorzystnym wpływie hyperoksji na metabolizm różnych narządów i tkanek (Norman i wsp. 1966 a i b, Brewis 1969). Ukazały się również prace dotyczące uszkadzającego działania nadmiaru tlenu na ośrodkowy układ nerwowy (Brown i Cox 1966; Beam i wsp. 1966; Janissen 1967; Mc Sherry i Veith 1968; Kanschepolsky 1972; von Schnakenburg i Nolte 1973), które wydaje się wtórne w stosunku do zmian płucnych, ale zagadnienie to nie zostało dotąd jednoznacznie rozstrzygnięte.

Z klinicznego punktu widzenia bardzo ważne jest zagadnienie uszkodzenia płuc i układu nerwowego w warunkach hyperoksji, która może wystąpić przy resuscytacji noworodków. Badania nad wpływem nadmiaru tlenu na ustrój w tym okresie życia trwają zaledwie kilka lat i dotyczą przede wszystkim płuc (Northway i wsp. 1967, Hawker i wsp. 1967, Shanklin i Wolfson 1967, Becker i Koppe 1969, Northway i wsp. 1969,

---

\* Praca częściowo finansowana w ramach umowy polsko-amerykańskiej P.L. 480 Nr 05-028-1.



Anderson i wsp. 1973). Prace dotyczące działania hyperoksji na mózg w okresie jego dojrzewania są dopiero zapoczątkowane.

Celem naszej pracy było zbadanie wpływu hyperoksji na mózg noworodka królika oraz zweryfikowanie współzależności między zmianami stwierdzanymi w mózgu i płucach.

#### MATERIAŁ I METODY

Pracę wykonano na 23 noworodkach króliczych, z których 7 stanowiło grupę kontrolną, a pozostałe poddawano działaniu hyperoksji. Zwierzęta doświadczalne podzielono na dwie grupy różniące się czasem przebywania w komorze gazowej. Czas ten w jednej grupie wynosił 6 godzin, a w drugiej — 24 godziny. Mioty królicze liczące 5—8 noworodków, umieszczano w pierwszym dniu życia w szklanej komorze o pojemności 3 l, posiadającej otwory na doprowadzanie tlenu, odprowadzanie powietrza i na połączenia z oksytestem i kapnografem. Temperatura w komorze wahała się w granicach 25—27°C, ciśnienie odpowiadało ciśnieniu barometrycznemu i wynosiło 760—765 mm Hg. Stosowano tlen o przepływie 4 l/min, przepuszczany przez nawilżacz ogrzany do temp. 26°C. Ciśnienie parcjalne tlenu w drogach oddechowych wynosiło średnio 649 mm Hg. Stężenie tlenu w komorze oznaczano oksytestem firmy Hartman-Braun. Oksytest skalowano powietrzem po uwzględnieniu poprawki na aktualne ciśnienie barometryczne. Stężenie O<sub>2</sub> w komorze wynosiło średnio 91,5%. Stężenie CO<sub>2</sub> w komorze oznaczano kapnografem firmy Godart, skalując go gazami o znanym stężeniu CO<sub>2</sub>. W czasie przebywania noworodków w komorze przez 6 i przez 24 godziny stężenie CO<sub>2</sub> wynosiło średnio 0,1%.

Króliki dekapitowano w narkozie eterowej w czwartym dniu życia dla zbadania wykształconych już zmian morfologicznych. Pobierano wyćinki z okolicy ruchowej kory mózgu, z opuszki i z płuc. Materiał do badań w mikroskopie świetlnym utrwalano w 10% formolu, zatapiano w parafinie i barwiono hematoksyliną-eozyną i fioletem krezyłu. Materiał do badań w mikroskopie elektronowym utrwalano paraformaldehydem w buforze kakodylowym i czterotlenkiem osmu lub czterotlenkiem osmu w buforze weronalowo-octanowym, odwadniano w etanolu i acetonie i zatapiano w Eponie 812. Materiał skrawano na ultramikrotomie LKB. Półcienkie skrawki barwiono błękitem toluidyny i oglądano w mikroskopie świetlnym. Ultracienkie skrawki kontrastowano octanem uranyle i cytrynianem ołowiu i oglądano w mikroskopie elektronowym Tesla-BS-500.



## WYNIKI

## Grupa I (po 6 godzinach hyperoksji)

W mikroskopie świetlnym: stwierdzono obraz mózgu charakterystyczny dla noworodka w 4 dniu życia bez uchwytnych cech uszkodzenia. Płuca przedstawiały również prawidłowy, zgodny z wiekiem obraz mikroskopowy.

W mikroskopie elektronowym: komórki nerwowe i glejowe kory mózgu i opuszki wykazywały cechy niedojrzałości (duże jądro otoczone wąskim rąbkim cytoplazmy zawierającej liczne wolne rybosomy i skąpą siatkę szorstką), wyrażone bardziej w korze. W cytoplazmie perikariów i wypustek tych komórek na plan pierwszy wysuwały się uszkodzenia mitochondriów w postaci ich obrzmienia i przejaśnień pomiędzy grzebieniami oraz poszerzenie kanałów siatki szorstkiej (ryc. 1). W niektórych komórkach i wypustkach obserwowano mniejszą gęstość elektronową hialoplazmy uwarunkowaną jej rozrzedzeniem. Opisane zmiany były bardziej nasilone w korze mózgu. Oligodendrocyty oraz śródbłonki naczyń włosowatych nie wykazywały zmian. Nieliczne osłonki mielino- we występowały wyłącznie w opuszce i nie wykazywały zmian. W wypustkach okołonacyniowych spotykano ziarna glikogenu (ryc. 2).

W materiale pobranym z płuc komórki śródbłonka naczyń i nabłonka pęcherzyków oraz błona podstawna nie wykazywały odchyłań od normy.

## Grupa II (po 24 godzinach hyperoksji)

W mikroskopie świetlnym: w mózgach 4-dniowych królików stwierdzono dystkretne zmiany, polegające na objawach obrzęku przynacyniowego oraz większą liczbę (w porównaniu z grupą kontrolną i grupą po 6 godzinach hyperoksji) neuronów ciemnych („dark neurons”) rozsią- nych w pniu mózgu, zwojach podstawy, a szczególnie licznie w V war- stwie kory mózgu. W płucach w świetle licznych pęcherzyków stwierdzo- no obecność krwinek czerwonych i wysięk surowiczy.

W mikroskopie elektronowym: zmiany w postaci poszerzenia kanałów siatki szorstkiej i obrzmienia mitochondriów w komórkach nerwowych i astrocytarnych były wyraźnie większe niż w pierwszej grupie doświad- czalnej. Obserwowano liczne ciała lizosomopodobne o strukturze drobno- ziarnistej (ryc. 3), a także poszerzenie przestrzeni okołonacyniowych (ryc. 4). Oligodendrocyty i osłonki mielino- we nie wykazywały zmian.

W płucach wyściółka śródbłonkowa naczyń ulegała pogrubieniu, a cytoplazma komórek śródbłonkowych była rozrzedzona i zawierała dużą liczbę pęcherzyków pinocytarnych (ryc. 5). W świetle pęcherzyków



stwierdzono plyn surowiczny, złuszczone struktury tubularne nabłonka i wydzielone struktury lamelarne komórek ziarnistych (ryc. 6).

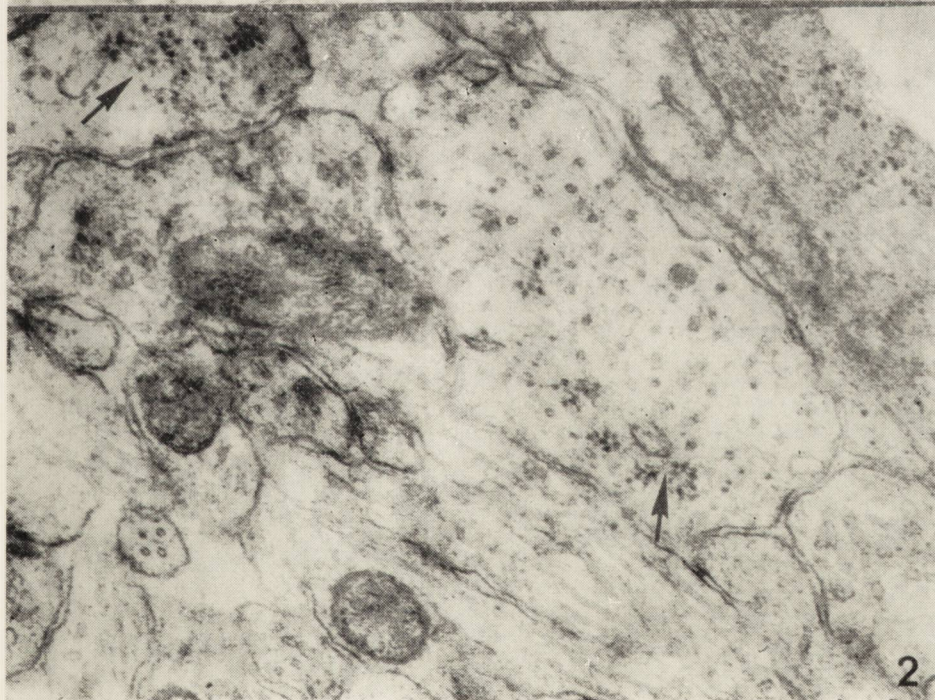
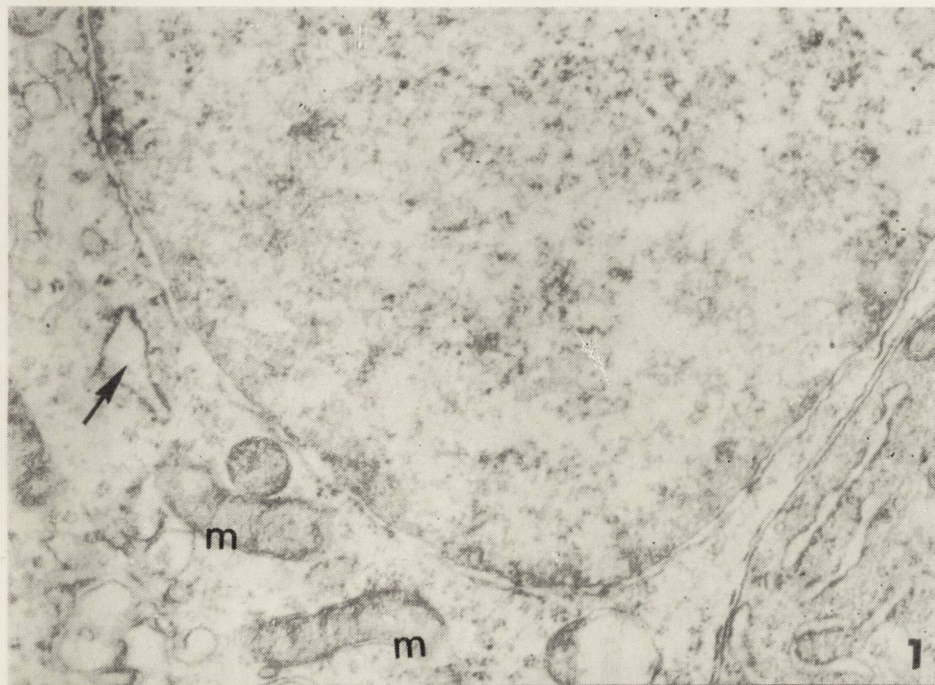
#### OMÓWIENIE

Przeprowadzone badania wykazały szkodliwy wpływ hyperoksji na dojrzewający mózg królika. W mikroskopie świetlnym w czwartym dniu po 6-godzinnej hyperoksji nie stwierdzono uszkodzeń, po 24 godzinnym działaniu nadmiaru tlenu zaobserwowano dyskretne zmiany. Badanie mikroskopowo-elektronowe pozwoliło na wykrycie zmian ultrastrukturalnych w obu grupach doświadczalnych.

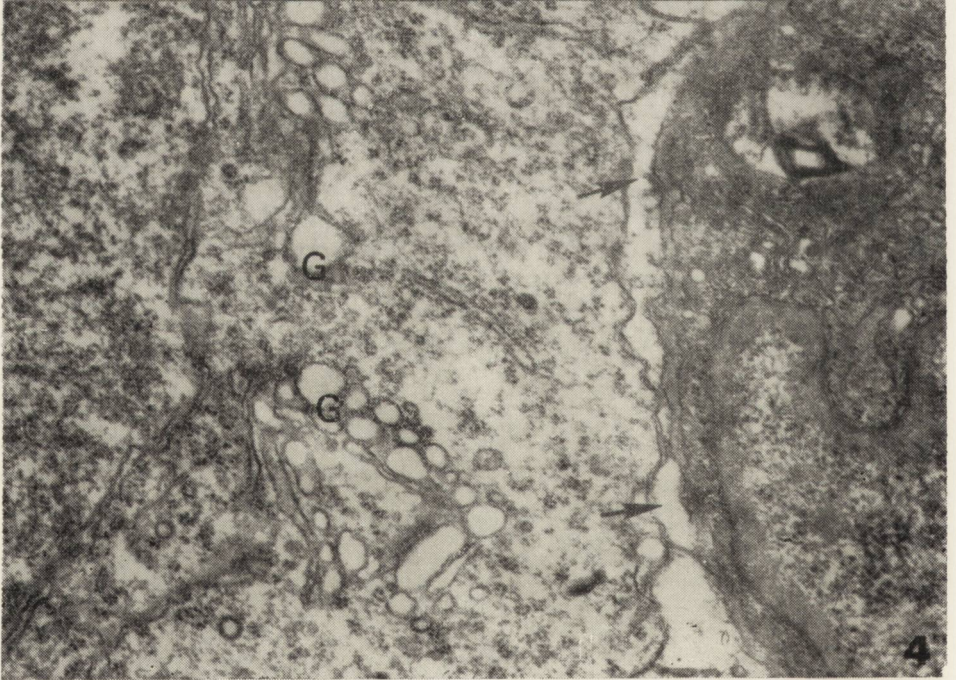
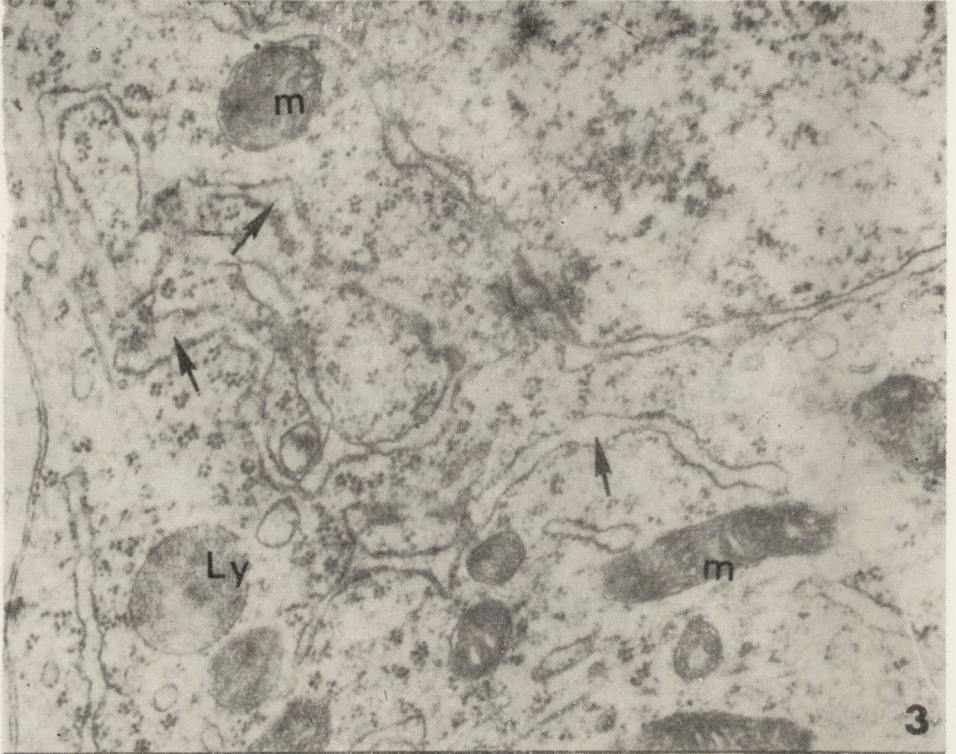
Obrzmienie mitochondriów i rozrzedzenie hialoplazmy w licznych komórkach nerwowych i astrocytarnych, jak również poszerzenie kanałów siatki szorstkiej i przestrzeni okołonaczyniowych sugerowały istnienie obrzęku mózgu, którego nasilenie wzrastało proporcjonalnie do czasu trwania hyperoksji. Obserwacje te były sprzeczne z wynikami badań Kanshepolsky'ego (1972), który leczył u dorosłych kotów obrzęk mózgu we wczesnym okresie jego rozwoju podawaniem tlenu pod ciśnieniem 2,5 atmosfer. Wydaje się, że te odmienne wyniki można wiązać przede wszystkim z różnicami w funkcjonowaniu bariery krew—mózg w narządzie dojrzałym i rozwijającym się. Farkas-Bargeton i Arsenio Nunes (1970) w pracy poświęconej dojrzewaniu ścian naczyń mózgowych i kształtowaniu się bariery krew—mózg wykazały, że w mózgu niedojrzałym przepuszczalność bariery zmienia się w zależności od wieku i okolicy mózgu i zależy od zapotrzebowania metabolicznego poszczególnych rozwijających się struktur. Gabryel (1973) przy użyciu peroksydazy chrzastkowej stwierdził, że bariera krew—mózg u królików uszczelnia się w okresie między 12 a 18 dniem życia. Do 12 dnia po urodzeniu transport peroksydazy odbywa się przez szpary pomiędzy komórkami śródbłonka. Obrazy mikroskopowo-elektronowe kory mózgu i opuszki obserwowane u naszych zwierząt odpowiadały obrazom stwierdzanym w stanach niedotlenienia mózgu. Było to zgodne z wynikami pracy Smith'a i wsp. (1963), którzy w doświadczeniach na psach wykazali, że przedłużona hyperoksja prowadzi do śmierci „hypoksyjnej”.

Porównanie nasilenia uszkodzeń w korze i pniu mózgu wykazało w obu grupach doświadczalnych proporcjonalnie większe uszkodzenie kory, w której uboższa siatka szorstka i większa liczba wolnych rybosomów w cytoplazmie komórek, świadczyły o większej niedojrzałości w porównaniu z pniem (Howatson i Ham 1955, Munger 1958). Większa wrażliwość kory na hyperoksję związana była prawdopodobnie z jej intensywnym rozwojem w momencie uszkodzenia. Według Craige (1955) charakter i nasilenie uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego są uzależ-

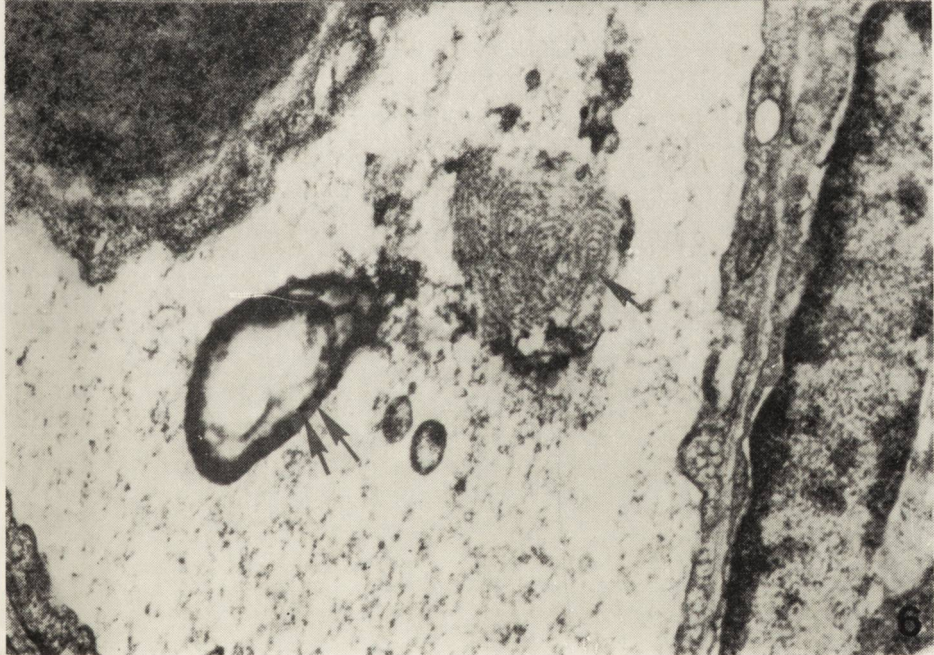
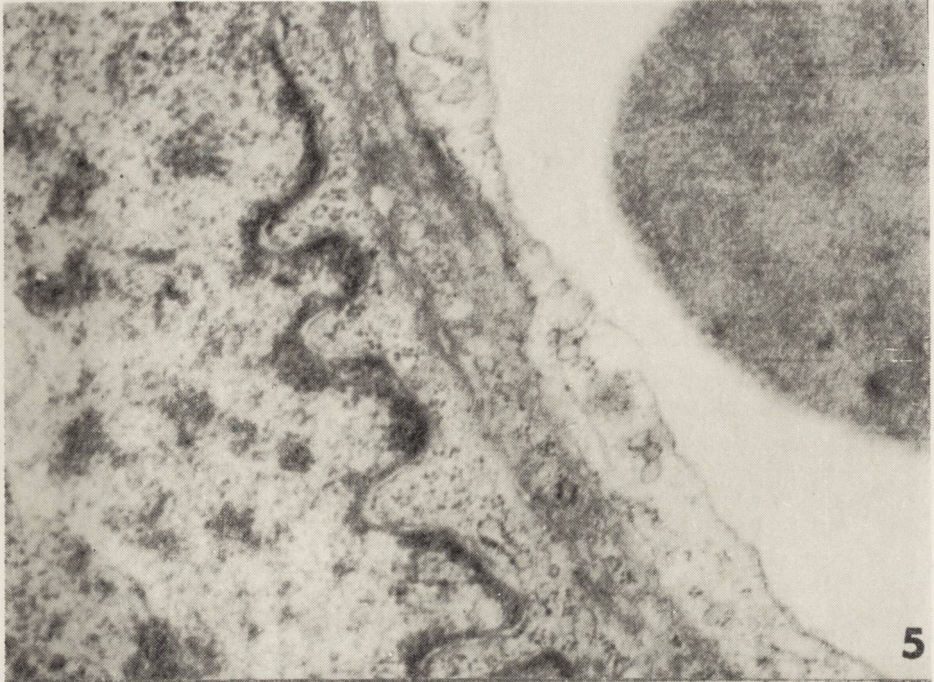














## OPIS RYCIN

*Ryc. 1.* Neurocyt w korze mózgu 4-dniowego królika po 6-godzinnej hyperoksji. Obrzmiałe mitochondria ze skróconymi grzebieniami (m). Poszerzone kanały szorstkiej siatki śródplazmatycznej (strzałka). Fragment oligodendrocytu bez zmian. Pow. 24 000 X.

*Fig. 1.* Cerebral cortex of 4-day old rabbit after 6h hyperoxia. Swollen mitochondria with shortened cristae (m). Distended channels of rough endoplasmic reticulum (arrow). Fragment of normal oligodendrocyte. X 24 000.

*Ryc. 2.* Ziarna glikogenu (strzałki) w komórce śródbłonka naczyniowego i wypustce okołonaczyniowej astrocytu w pniu mózgu 4-dniowego królika po 6-godzinnej hyperoksji. Pow. 32 000 X.

*Fig. 2.* Glycogen granules (arrows) in endothelial cell and perivascular processes of astrocyte in the brain stem of 4-day old rabbit after 6h of hyperoxia. X 32 000.

*Ryc. 3.* Pień mózgu 4-dniowego królika po 24-godzinnej hyperoksji. Fragment niedojrzałej komórki nerwowej z obrzmiałymi mitochondriami (m), poszerzonymi kanałami szorstkiej siatki śródplazmatycznej (strzałki) i ciałami lizosomopodobnymi (Ly) o strukturze drobnoziarnistej. Pow. 24 000 X.

*Fig. 3.* Brain stem of 4-day old rabbit after 24h hyperoxia. Fragment of immature nerve cells with swollen mitochondria (m), distention of endoplasmic channels (arrows) and fine granular, lysosome-like bodies (Ly). X 24 000.

*Ryc. 4.* Pień mózgu 4-dniowego królika po 24-godzinnej hyperoksji. Poszerzona okołonaczyniowa przestrzeń (strzałki). Poszerzone kanały układu Golgiego w komórce astrocytarnej (G). Pow. 27 000 X.

*Fig. 4.* Brain stem of 4 day old rabbit after 24h hyperoxia. Distension of perivascular space (arrows). Distended channels of Golgi apparatus in astrocyte (G). X 27 000.

*Ryc. 5.* Płuco 4-dniowego królika po 24-godzinnej hyperoksji. Poszerzone i wykazujące mniejszą gęstość elektronową śródbłonki naczynia, zawierające liczne pęcherzyki pinocytarne. Pow. 24 000 X.

*Fig. 5.* Lung of 4 day old rabbit after 24h hyperoxia. Widened, optically translucent cytoplasm of endothelial cells with multiple pinocytic vesicles. X 24 000.

*Ryc. 6.* Płuco 4-dniowego królika po 24-godzinnej hyperoksji. Światło pęcherzyka wypełnione wysiękiem surowiczym, w którym znajdują się struktury tubularne (arrow) pochodzące ze zniszczonych komórek wyściółki pęcherzyka i struktury lamelarne (dwie strzałki) komórki ziarnistej. Pow. 28 000 X.

*Fig. 6.* Lung of 4 day old rabbit after 24h hyperoxia. Lumen of alveolus filled with serous exudate in which tubular structures (arrow) from destroyed lining cells and lamellar structures (two arrows) of granular cells are seen. X 28 000.



nione od aktywności metabolicznej poszczególnych struktur i ich zapotrzebowania energetycznego, które w okresie rozwojowym łączą się przede wszystkim z dojrzewaniem i wzrostem.

Analiza obrazów histologicznych i mikroskopowo-elektronowych płuc u naszych zwierząt doświadczalnych nie wykazała zmian po 6 godzinnym działaniu tlenu, natomiast po 24 godzinnej hyperoksji stwierdzono obecność krwinek czerwonych w świetle pęcherzyków płucnych i obrzmienie wyściółki śródbłonkowej naczyń. Obecność zmian ultrastrukturalnych w mózгах królików już po 6 godzinnej hyperoksji wskazuje na wcześniejsze występowanie zmian morfologicznych w mózgu w porównaniu z płucami i przeczy dotychczasowym twierdzeniom, że zmiany w mózgu w hyperoksji są następstwem uszkodzenia płuc. Patogeneza uszkodzeń mózgu i płuc i ich wzajemnych powiązań przyczynowych wymaga szczególnej analizy, której poświęcimy drugą część naszych badań.

Л. Дыдык, М. Домбска, Т. Шретер

#### ВЛИЯНИЕ ГИПЕРОКСИИ НА СОЗРЕВАЮЩИЙ МОЗГ КРОЛИКА

##### I. Ранние изменения

##### Резюме

Целью работы было исследование влияния гипероксии на мозг новорожденного кролика и проверка взаимной зависимости изменений, обнаруживаемых в мозге и легких. Работа была проведена на 23 новорожденных кроликах, которое в первый день жизни были подвергнуты действию 91,5% кислорода, в течение 6 часов или в течение 24 часов. Материал для гистологических и ультраструктурных исследований брали из коры мозга, продолговатого мозга и легкого, на четвертый день жизни. Полученные результаты исследований показали, что: 1) Подача новорожденному кролику избытка кислорода ведет к „ультраструктурному” отеку мозга. 2) У новорожденного кролика, подвергаемого действию кратковременной гипероксии (6 часов), ультраструктурные изменения в мозге выступают раньше, чем изменения в легких. 3) Более длительное действие кислорода (24 часа) приводит к изменениям в легких и к большим изменениям в центральной нервной системе.

L. Dydyk, M. Dąbbska, T. Szreter

#### EFFECT OF HYPEROXIA ON THE DEVELOPING RABBIT BRAIN

##### I. Early changes

##### Summary

The aim of the work was to investigate the effect of hyperoxia on newborn rabbit brain and to verify the relationship of changes observed in brain and lungs. 23 newborn rabbits were submitted on the first day of life to the action of 91.5%



oxygen for 6 or 24 hours. The material for histological and ultrastructural studies was collected from the cerebral cortex, medulla and the lung, on the fourth day of life. The obtained results demonstrated the following: 1) The administration of oxygen excess to newborn rabbits leads to „ultrastructural” brain edema. 2) In newborn rabbits submitted to short hyperoxia (6 hours), the ultrastructural changes in the brain appear earlier than in lungs. 3) A longer oxygen action (24 hours) leads to the changes in lungs and to the intensification of changes in the central nervous system.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Aikawa J. Ń., Bruns P. D.: Pulmonary lesions in experimental oxygen poisoning. *Am. J. Dis. Child.*, 1956, 91, 614—620
2. Anderson W. R., Strickland M. B., Tsai S. H., Haglin J. J.: Light microscopic and ultrastructural study of the adverse effects of oxygen therapy on the neonate lung. *Am. J. Path.* 1973, vol. 73, 327—349
3. Beam J. W., Zea D., Thom B.: Pulmonary changes with convulsions induced by drugs and oxygen at high pressures. *J. Appl. Physiol.* 1966, 21, 865—872
4. Becker M. J., Koppe J. G.: Pulmonary structural changes in neonatal hyaline-membrane disease treated with high pressure artificial respiration. *Thorax* 1969, 24, 689—694
5. Brewis R. A. L.: Oxygen toxicity during artificial ventilation. *Thorax* 1969, 24, 656—658
6. Brown I. W., Cox B. G.: Role of the central nervous system and pulmonary damage as cause of respiratory failure in rats exposed to hyperbaric oxygen. *Proc. of the Third International Conf. on Hyperbaric Med.* Washington, 1966, p. 89—96
7. Bruns P. D., Shields L. V.: High oxygen and hyaline-like membranes. *Am. J. Obst. Gyn.*, 1954, 67, 1224—1236
8. Craige E. H.: Vascular patterns in the Developing Nervous System. In: *Biochemistry of the Developing Nervous System*. N. York, Academic Press, 1955, 28.
9. Farkas-Bargeton E., Arsenio Nunes M. L.: Maturation de l'equipment enzymatique des parois vasculaires du systeme nerveux. *Acta neuropath.*, 1970, 15, 251—271
10. Gabryel P.: Bariera krew-mózg, struktura i funkcja. *Pat. Pol.* 1973, 14, 217—235
11. Hawker J. M., Reynolds E. O. R., Taghizadeh A.: Pulmonary surface tension after respirator treatment for severe hyalinemembrane disease. *Lancet* 1967, 2, 75—77
12. Howatson A. F., Ham A. W.: Electron microscope study of sections of two rat liver tumors. *Cancer Res.*, 1955, 15, 62—69
13. Janissen D.: CNS and pulmonary damage in anaestetised rats exposed to hyperbaric oxygen. *J. appl. Physiol.*, 1967, 23, 235—240.
14. Kanshepolsky J.: Early and delayed hyperbaric oxygenation in experimental brain edema. *Bull. Los Angeles Neurol. Soc.*, 1972, 37, 84—89
15. McSherry Ch. K., Veith F. J.: The relationship between the central nervous system and pulmonary form of oxygen toxicity. Effect of THAM administration. *Surg. Forum.*, 1968, 19, 33—38



16. Munger B. L.: A phase and electron microscopic study of cellular differentiation in pancreatic acinar cells of the mouse. *Am. J. Anat.*, 1958, 103, 1—33
17. Norman J. N., Irvin T. T., Skene W. G., Smith G.: Renal response to hyperbaric oxygen. *Proc. Intern. Conf. Hyperbaric. Med. 3rd Natl. Acad. Sci., Washington, D. C.*, 1966a, 253—257
18. Norman J. N., Smith G., Douglas T. A.: The effect of oxygen at elevated atmospheric pressure and hypothermia on tissue metabolism. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1966b, 122, 778—784
19. Northway W. H., Rosan C. R., Porter D. Y.: Pulmonary disease following respirator therapy of hyaline-membrane disease: Bronchopulmonary dysplasia. *New Eng. J. Med.*, 1967, 276, 357—368
20. Northway W. H., Rosan R. C., Shahinian L., et al.: Radiologic and histologic investigation of pulmonary oxygen toxicity in newborn guinea pigs. *Invest. Radiol.*, 1969, 4, 148—155
21. Smith J. L.: The pathological effects due to increase of oxygen tension in the air breathed. *J. Physiol. (Lond.)* 1899, 24, 19—35
22. Smith C. W., Lehan P. H., Monks J. J.: Cardiopulmonary Manifestations with High Oxygen Tension at Atmospheric Pressure. *J. Appl.* 1963, 18, 849—853
23. Von Schnakenburg K., Nolte H.: Results of electron microscopic studies in the rat brain under oxygen at high pressure. *Aerospace Med.*, 1973, 44, 259—264
24. Shanklin D. R., Wolfson S. L.: Therapeutic oxygen as a possible cause of pulmonary hemorrhage in premature infants. *The New England J. of Med.*, 1971, 73, 327—349

Adres autorów: Pracownia Neuropatologii Rozwojowej CMDiK, ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa.

---

## DZIAŁ KRONIKI I INFORMACJI

W dniu 3 kwietnia 1976 r. odbyło się w Cambridge posiedzenie Rady Międzynarodowego Towarzystwa Neuropatologicznego.

Porządek dzienny przewidywał między innymi wybory dwu vice-prezydentów Towarzystwa oraz trzech członków Komitetu wykonawczego na miejsce osób, których kadencja się skończyła, oraz dyskusję nad tematyką następnego Międzynarodowego Kongresu Neuropatologicznego.

Na stanowiska Vice-prezydentów Towarzystwa wybrano Prof. M. J. Mossakowskiego oraz Prof. J. Moosy'ego (USA), na członków Komitetu Wykonawczego — Prof. J. H. Adamsa (Wielka Brytania), Prof. B. Bendarza (Czechosłowacja) oraz Prof. I. Yamamoto (Japonia).

Kolejny Międzynarodowy Kongres Neuropatologiczny odbędzie się w okresie od 24 do 29 września 1978 r. w Waszyngtonie. Przewodniczącym Komitetu Organizacyjnego został Prof. K. M. Earle, Sekretarzem dr H. Webster. Komitet Organizacyjny postanowił przyjmować do programu doniesienia na różne tematy, które następnie zostaną zebrane w odpowiednie grupy tematyczne. W czasie kongresu zostaną zorganizowane specjalne sympozja, poświęcone następującym problemom: neuropatologii doświadczalnej (włączając w to modele doświadczalne chorób układu nerwowego), neuropatologii rozwojowej, inwolucji układu nerwowego, chorobom nowotworowym oraz reakcji oun na leki.



Bezpośrednio przed Kongresem odbędzie się w Montrealu posiedzenie, poświęcone chorobom nerwowo-mięśniowym.

W przeddzień posiedzenia Rady M.T.N., tzn. 2.IV.76 r. odbyło się zebranie delegatów poszczególnych krajów poświęcone dyskusji nad sytuacją neuropatologii jako specjalności w różnych państwach oraz nad metodami szkolenia i wymaganiami przy uzyskiwaniu specjalizacji. Pozycję neuropatologii jako samodzielnej specjalności w Polsce przedstawił prof. M. J. Mossakowski.

Po dyskusji ustalono, że należy uznać za sprawę najwyższej wagi dążenie do uznania we wszystkich krajach neuropatologii jako odrębnej specjalności. Ponadto przyjęto rezolucję, określającą warunki uznania za specjalistę w zakresie neuropatologii. Minimalny okres szkolenia powinien wynosić 4 lata, które winny obejmować 2 lata kształcenia w uznanym ośrodku neuropatologicznym, 1 rok w zakładzie anatomii patologicznej oraz 1 rok alternatywnie: w zakładzie anatomii patologicznej, w klinice neurologicznej lub w ośrodku badawczym zajmującym się podstawowymi naukami neurologicznymi.

\* \* \*

Komisja Nagród Zarządu Głównego SNP przyznała nagrody naukowe za rok 1975 następującym kolegom:

Pierwszą nagrodę za najlepszą publikację otrzymał kol. Mieczysław Śmiałek na podstawie pracy pt. „Respiratory activity of isolated neurons from the rat c.n.s. following carbon monoxide intoxication” (Neuropatologia Polska 1975, XIII, 3—4, 381—388).

Dwie równorzędne drugie nagrody za najlepsze doniesienia przedstawione na posiedzeniach SNP otrzymali:

— kol. Krystyna Renkawek za pracę pt. „Właściwości morfologiczne i histoenzymatyczne śródbłonna naczyń mózgowych i opon mózgowych w hodowli organotopowej *in vitro*, charakterystyczne dla bariery naczyniowo-mózgowej”.

— kol. Jan Albrecht za pracę pt. „Synteza RNA w jądrach komórkowych oun szczura z ostrym i przewlekłym zatruciem tlenkiem węgla”.

\* \* \*

Kol. Jerzy Kulczycki otrzymał z dniem 1 lutego 1976 nominację na stanowisko Kierownika Kliniki Diagnostyki i Terapii Chorób Nerwowych Instytutu Psychoneurologicznego w Warszawie.

Jerzy Dymecki



MARIANNA SIKORSKA

## AKTYWNOŚĆ CYKLAZY ADENYLOWEJ W MÓZGU SZCZURA W WARUNKACH NIEDOTLENIEŃ

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

Obecność cyklazy adenylowej — enzymu bezpośrednio katalizującego przejście adozynotrójfosforanu w 3',5'-cykliczny adozynomonofosforan — wykazano w tkankach wszystkich zwierząt i w wielu organizmach jednokomórkowych. Spośród przebadanych tkanek zwierzęcych najwyższą aktywność enzymu stwierdzono w mózgu (Sutherland i wsp. 1962), co wydaje się wskazywać na szczególnie istotną rolę cyklazy adenylowej w regulacji metabolizmu i funkcji tkanki nerwowej.

Nieliczne są jednak w piśmiennictwie dane dotyczące zachowania się cyklazy adenylowej i poziomu cyklicznego adozynomonofosforanu w mózgu w warunkach patologicznych, a zwłaszcza w niedotlenieniu. Jedynie Goldberg i wsp. (1970) oraz Passonneau i Watanabe (1974) wykazali, że po zaburzeniach czynności mózgu u myszy związanych z elektro-wstrząsami oraz w następstwie niedotlenienia lub urazu wzrasta poziom cAMP w tkance nerwowej.

Celem przeprowadzonych badań było określenie aktywności cyklazy adenylowej (EC 4.6.1.1) w mózgu szczura w warunkach niedotlenienia ośrodkowego układu nerwowego wywołanego zatruciem tlenkiem węgla, niedokrwieniem oraz niedotlenieniem hipoksyjnym.

### MATERIAŁ I METODY

Materiał doświadczalny stanowiły szczury rasy Wistar, obojga płci, w wieku 6 tygodni, o średnim ciężarze około 180 g.

Badanie aktywności cyklazy adenylowej przeprowadzono w warunkach trzech doświadczalnych modeli niedotlenienia; tj. w modelu ostrego zatrucia tlenkiem węgla, umiarkowanego niedokrwienia wywołanego obu-



stronnym podwiązaniem tętnic szyjnych wspólnych oraz niedotlenienia hipoksyjnego.

#### *Zatrucie tlenkiem węgla*

Szczegółowe warunki doświadczenia opisane zostały przez Korthalsa i wsp. (1973). Szczury umieszczano w komorze o pojemności około 60 l, przez którą przepuszczano mieszaninę powietrza i tlenku węgla z szybkością 1 l/min., przez okres 60 min. Zawartość tlenu węgla w mieszaninie wahała się w granicach około 1%, zależnie od stanu klinicznego zwierząt, warunkowanego poziomem karboksyhemoglobiny we krwi. W okresie między 30 a 60 min. zatrucia wynosił on średnio około 75%. Po upływie 60 min. przerywano dopływ CO do komory, utrzymując przepływ powietrza przez okres dalszych 30 min. Łącznie szczury przebywały w atmosferze tlenku węgla przez 90 min.

Zwierzęta dekapitowano po 30, 60 i 90 min. przebywania w komorze doświadczalnej oraz po upływie 2, 4 i 24 godz. od zatrucia. Grupę kontrolną stanowiły szczury przebywające w standardowych warunkach zwierzętarnianych. Do badań pobierano półkule mózgowe po oddzieleniu jąder podstawy, pień mózgu oraz mózdzek.

#### *Doświadczalne niedokrwienie*

Niedokrwienie ośrodkowego układu nerwowego wywoływano przez obustronne podwiązanie tętnic szyjnych wspólnych. Trwający około 3 min. zabieg podwiązania tętnic wykonywano w ogólnej narkozie eterowej.

Warunki tego modelu wymagały wprowadzenia, oprócz grupy szczurów nie poddawanych żadnym zabiegom (normalnych) dodatkowo dwu grup kontrolnych, tj. grupy zwierząt, u których po podaniu narkozy eterowej wykonano kontrolny zabieg operacyjny, polegający na wyizolowaniu tętnic szyjnych, bez ich podwiązania oraz grupy zwierząt, którym podano trwającą około 3 min. narkozę eterową.

Zwierzęta badano po upływie 2, 10 i 30 min oraz 2 i 6 godz. od zakończenia eksperymentu. Aktywność cykazy adenylowej badano w półkulach mózgowych.

#### *Doświadczalne niedotlenienie hipoksyjne*

Dla wywołania hipoksji u szczurów stosowano mieszaninę azotu i tlenu (gazy techniczne) o składzie: 96% azotu i 4% tlenu. Podobnie jak w opisanym wyżej modelu zatrucia CO zwierzęta umieszczano w komorze doświadczalnej, stosując taką samą szybkość przepływu mieszaniny



gazów (1 l/min). Szczury dekapitowano po 30, 60 i 90 min. przebywania w atmosferze z obniżoną do 4% zawartością tlenu. Do badań pobierano półkulę mózgowe.

### Oznaczanie aktywności cyklazy adenylowej

Pobraną natychmiast po dekapitacji tkankę homogenizowano w 10 objętościach 50 mM buforu Tris-HCl, pH 7,5. We wstępnych badaniach aktywność enzymu oznaczano w pełnym homogenacie. Z uwagi na zbyt małą powtarzalność wyników uzyskiwanych dla mózgow prawidłowych zdecydowano homogenat odwirować przy  $600\times g$  przez 10 min. w temp.  $+2^{\circ}C$ .

Ilustracją do metodycznej części pracy są wyniki przedstawione w tabeli 1. Przedstawia ona aktywność cyklazy adenylowej w mózgow prawidłowych z oznaczeń w pełnym homogenacie oraz w nadsączu po odwirowaniu przy  $600\times g$ .

Tabela 1. Aktywność cyklazy adenylowej w mózgu szczura badana w pełnym homogenacie oraz w nadsączu

Table 1. Adenylate cyclase activity in rat brain assayed in whole homogenate and supernatant

Lp. No.	Impulsy/min/mg białka counts/min/mg protein	
	Homogenat Homogenate x	Nadsącz Supernatant x
1	3924	6236
2	3182	6930
3	3262	3904
4	8368	5951
5	6056	3652
6	10770	4107
7	12774	5228
8	5143	2387
9	8802	
	$\bar{x} \pm SEM$ 6920 $\pm$ 1338	$\bar{x} \pm SEM$ 4799 $\pm$ 542

x -- wyniki z poszczególnych doświadczeń  
results from individual experiments

$\bar{x} \pm SEM$  — średnia arytmetyczna  $\pm$  średni błąd średniej  
arithmetic mean  $\pm$  standard error of the mean

Postępowanie takie pozwalało uzyskiwać wyniki bardziej powtarzalne, jakkolwiek wyliczona na podstawie przedstawionych w tabeli wyników,



średnia aktywność cyklazy w nadsączu jest jednak niższa niż w pełnym homogenacie.

W warunkach doświadczalnego niedokrwienia oraz w zatruciu tlenkiem węgla aktywność cyklazy adenylowej oznaczano w nadsączu natomiast w modelu hipoksyjnym część badań wykonano w pełnym homogenacie, w trakcie realizacji są badania, wykonywane dla porównania w nadsączu.

Skład mieszaniny inkubacyjnej był następujący: 40  $\mu$ moli Tris-HCl pH 7,5, 15  $\mu$ moli teofiliny, 5  $\mu$ moli  $MgSO_4$ , 5  $\mu$ moli fosfoenolopirogronianu, 40  $\mu$ g kinazy pirogronianowej z dodatkiem 8  $\mu$ moli  $(NH_4)_2SO_4$ , 5  $\mu$ moli NaF, 3  $\mu$ Ci  $H^3$ -ATP, 0,4  $\mu$ mola oraz badaną próbkę zawierającą około 1 mg białka w całkowitej objętości 1 ml (Perkins i Moore 1971). Do prób ślepych dodawano zagotowane białko. Mieszaninę inkubowano przez 10 min w temp. 30°C, reakcję zatrzymywano przez zagotowanie prób. Zdenaturowane białko odwirowywano, a z nadsączu izolowano  $H^3$ -cykliczny AMP wg metody opisanej przez Krishna i wsp. (1968), opartej na rozdziale nukleotydów adeninowych na kolumnach z Dowexem 50W-X8 200—400 mesh w formie  $H^+$  (0,4×4,0 cm).

Radioaktywność badanych prób mierzono w liczniku scyntylicyjnym Izocap 300. Białko oznaczano metodą opisaną przez Lowry i wsp. (1951).

#### WYNIKI

Aktywność cyklazy adenylowej w mózgowiu szczurów badanych po zatruciu tlenkiem węgla przedstawiono w tabeli 2.

Po 30 min. działania tlenku węgla obserwowano bardzo znaczny wzrost aktywności enzymu we wszystkich trzech badanych strukturach, wynoszący w półkulach około 160%, w pniu mózgu około 240%, natomiast w mózdku wzrost ten był aż 8-krotny w stosunku do kontroli.

Po 60 min. przebywania zwierząt w atmosferze tlenku węgla aktywność cyklazy w mózdku była nieznacznie niższa niż po 30 min., przyrost w stosunku do kontroli około 7-krotny, w pozostałych dwu strukturach obserwowano dalszy kilkakrotny w stosunku do normy wzrost aktywności enzymu: w półkulach mózgowych około 8-krotny, a w pniu mózgu około 6-krotny.

W pozostałych przedziałach czasowych tj. po 90 min. przebywania w komorze doświadczalnej, jak również po upływie 2, 4 i 24 godz. od zatrucia nie zanotowano znamiennych różnic w aktywności cyklazy adenylowej w żadnej z badanych struktur mózgowia.

Tabela 3 zawiera wyniki wyrażające aktywność cyklazy adenylowej w półkulach mózgowych szczurów w warunkach niedokrwienia. Wyniki



Tabela 2. Aktywność cyklazy adenylowej w mózgach szczurów po ostrym zatruciu CO

Table 2. Adenylate cyclase activity in rat brain following carbon monoxide intoxication

Grupa doświadczalna		Aktywność enzymu (ilość imp/mg białka/min) Enzyme activity (counts/min/mg protein)		
		$\bar{x} \pm \text{SEM}$		
Experimental group		półkule brain hemispheres	pień mózgu brain stem	móżdżek cerebellum
kontrola control		2052± 327	2539± 412	3667± 675
Okres bezpośredniej ekspozycji CO Time of direct exposure to CO	30 min	*5305± 886	*8712±1295	*29809±3288
	60 min	*16758±3038	*15208±1722	*26282±2121
	90 min	2226± 241	2322± 217	5183± 767
Okres przeżycia po zatruciu CO Time of survival after CO intoxication	2 h	1457± 136	2132± 209	2613± 455
	4 h	2618± 463	2310± 280	5832±1004
	24 h	1752± 224	2071± 187	2795± 305

Obliczenia statystyczne wykonano wg wzoru Studenta (wyniki z 5 doświadczeń)  
Statistical calculation according to Student's test (results from five experiments)

\* —  $p \leq 0.05$

p — prawdopodobieństwo  
probability

obejmują grupę doświadczalną (szczury z obustronnie podwiązanymi tętnicami) jak również grupy kontrolne: sam zabieg operacyjny i narkozę eterową. Wyniki wyrażono w % kontroli. W części A tabeli za 100% przyjęto aktywność cyklazy adenylowej stwierdzaną w półkulach prawidłowych. W odniesieniu do tych wartości w mózgach szczurów badanych po podaniu narkozy eterowej stwierdzono nieznaczne i nieznamienne obniżenie aktywności enzymu po upływie 2 min., natomiast po 10 i 30 min. od podania narkozy znamiennej statystycznie jej przejściowy wzrost. Po 2 i 6 godz. aktywność enzymu nie różniła się od obserwowanej w warunkach prawidłowych.

Podobnie zachowywała się aktywność cyklazy adenylowej w mózgach szczurów, którym wykonano kontrolny zabieg operacyjny. Po 2 min. od zabiegu aktywność enzymu była niższa niż w normie, a poja-



Tabela 3. Aktywność cykazy adenylowej w mózgach szczurów w warunkach doświadczalnego niedokrwienia

Table 3. Adenylate cyclase activity in rat brain after experimental ischemia

Czas Time	Aktywność enzymu (% kontroli) Enzyme activity (% of control)	$\bar{x} \pm SEM$	
A) za 100% przyjęto wyniki uzyskane dla szczurów normalnych % of values obtained for normal rats			
	Obustronne podwiązanie Bilateral ligation	Zabieg operacyjny Sham operation	Narkoza eterowa Ether narcosis
2 min	114,9±24,0	<b>*69,3±11,2</b>	84,1±21,1
10 min	<b>*185,6±23,9</b>	<b>*118,9±10,0</b>	<b>*140,3±16,6</b>
30 min	<b>*177,4±16,3</b>	<b>*142,9±11,2</b>	<b>*119,3± 9,9</b>
2 h	<b>*144,9±22,6</b>	<b>*122,3±22,0</b>	102,8±18,9
6 h	122,6±24,2	112,3±15,1	104,2± 6,3
B) za 100% przyjęto wyniki uzyskane dla szczurów po zabiegu operacyjnym % of values obtained for rats examined after sham operation			
2 min	<b>*163,4±13,8</b>		
10 min	<b>*156,3±14,2</b>		
30 min	<b>*125,9±12,4</b>		
2 h	<b>*121,0± 5,7</b>		
6 h	92,4± 8,9		
C) za 100% przyjęto wyniki uzyskane dla szczurów po narkozie eterowej % of values obtained for rats examined after ether narcosis			
2 min	<b>*140,8±19,4</b>		
10 min	<b>*132,6±10,0</b>		
30 min	<b>*146,8±21,6</b>		
2 h	<b>*135,2± 7,7</b>		
6 h	110,1±11,8		

\* różnice znamienne statystycznie w stosunku do kontroli (wyniki z 5 doświadczeń)  
statistically significant as compared to the control (results from five experiments)

Tabela 4. Aktywność cykazy adenylowej w mózgach szczurów w warunkach niedotlenienia hipoksyjnego

Table 4. Adenylate cyclase activity in rat brain under conditions of hypoxic hypoxia

Czas trwania hipoksji Time of hypoxia	Aktywność enzymu (% kontroli) Enzyme activity (% of control)	n
	$\bar{x} \pm SEM$	
30 min	<b>*255,0±56,0</b>	5
60 min	<b>*149,0±11,0</b>	6
90 min	<b>*129,0± 6,0</b>	5

Za 100% przyjęto aktywność cykazy adenylowej stwierdzaną w mózgach prawidłowych

Results are expressed as % of values found in normal brain

n — liczba przebadanych zwierząt  
number of animals

\* — różnice znamienne statystycznie  
statistically significant as compared to the control



wiający się w następnych przedziałach czasowych wzrost aktywności utrzymywał się do 2 godz. po zabiegu. Różnice te były statystycznie znaczne. W mózgach zwierząt doświadczalnych (po obustronnym podwiązaniu) największy przyrost aktywności cyklazy stwierdzono po 10 min. od podwiązania tętnic. Po 30 min. oraz po 2 godz. od podwiązania aktywność enzymu była również znacząco wyższa niż w normie, zbliżając się po 6 godz. od podwiązania tętnic do wyników uzyskanych dla mózgow prawidłowych.

W części B tabeli przedstawiono aktywność cyklazy w mózgach szczurów doświadczalnych w stosunku do aktywności enzymu stwierdzonej w mózgach zwierząt po kontrolnym zabiegu operacyjnym, którą przyjęto za 100%. Największy wzrost aktywności enzymu występował po 2 min. od podwiązania i utrzymywał się po 10, 30 min i 2 godz. od podwiązania tętnic, powracając do wartości kontrolnych po upływie 6 godzin.

Część C tabeli zawiera wyniki wyrażające aktywność cyklazy adenyłowej w mózgach szczurów doświadczalnych w procentach kontroli po narkozie eterowej. Charakter wyrażonych w ten sposób zmian w aktywności enzymu jest zbliżony do obserwowanych w odniesieniu do kontroli po zabiegu operacyjnym. Wzrost aktywności enzymu utrzymywał się w okresie od 2 min. do 2 godz. po obustronnym podwiązaniu tętnic szyjnych wspólnych.

Aktywność cyklazy adenyłowej w mózgach szczurów w warunkach niedotlenienia hipoksyjnego przedstawiono w tabeli 4. Przedstawione wyniki dotyczą jedynie badań wstępnych, wykonanych w pełnym homogenacie. Badania dotyczące zarówno dalszych przedziałów czasowych jak i zachowania się aktywności enzymu w nadsączu są w trakcie realizacji.

We wszystkich trzech badanych przedziałach czasowych wzrost aktywności enzymu był znamieny statystycznie, przy czym największy wzrost obserwowano po 30 min., mniejszy po 60 min., a po 90 min. przebywania w warunkach z obniżoną zawartością tlenu przyrost ten wynosił tylko około 29%.

#### OMÓWIENIE

W warunkach każdego z trzech zastosowanych modeli niedotlenienia OUN stwierdzono wzrost aktywności cyklazy adenyłowej, przy czym najwyższy przyrost aktywności enzymu pojawiał się w mózgowiu szczurów po zatruciu CO, znacznie niższy u szczurów w warunkach niedotlenienia hipoksyjnego, najmniej wyraźne zmiany notowano w mózgowiu szczurów badanych po niedokrwieniu. Poprzednio stwierdzono wzrost



aktywności cyklazy adenylowej w mózgu królika w następstwie hipoksji krążeniowej (Sikorska 1974).

W oparciu o uzyskane wyniki można sugerować, że wzrost aktywności cyklazy adenylowej w mózgu jest zjawiskiem towarzyszącym niedostatkowi tlenu. Zjawisko to jednak nie wydaje się swoiste dla niedotlenienia. Aktywność enzymu mogą stymulować także inne czynniki, zaburzające metabolizm tkanki nerwowej, o czym świadczy obserwowany wzrost jej aktywności w mózgu szczurów poddanych wpływowi samej narkozy eterowej oraz po kontrolnym zabiegu operacyjnym.

W każdym z zastosowanych układów doświadczalnych zmiany aktywności cyklazy adenylowej miały charakter przejściowy. Wskazuje to na fakt, że mechanizmy adaptacyjne uruchamiane w warunkach niedotlenienia, oddziałują również na aktywność tego enzymu. Mechanizm stymulacji aktywności cyklazy adenylowej w mózgu w następstwie niedotlenienia nie jest znany, trudno jest zatem, w sposób jednoznaczny zinterpretować zmiany aktywności enzymu stwierdzone w stosowanych warunkach doświadczalnych. Jednymi z najlepiej poznanych czynników stymulujących aktywność cyklazy adenylowej są aminy biogenne, a zwłaszcza katecholaminy. Zdaniem wielu autorów cyklaza adenylowa spełnia funkcję receptorową dla licznych hormonów tkankowych, z czego wynika szczególna wrażliwość enzymu na ich działanie (Klainer i wsp. 1962, Robison i wsp. 1967, Sutherland i wsp. 1968). W następstwie niedotlenienia, zwłaszcza bezpośrednio po jego zadziałaniu poziom amin biogennych ulega zwykle obniżeniu (Chikvaidze i Melitauri 1974, Brown i wsp. 1974, Szumańska i wsp. 1976) lub też obniża się szybkość ich metabolizmu bez zmiany ich ogólnego stężenia w tkance (Davis, Carlson 1973). Trudno jest jednak bezpośrednio łączyć wzrost aktywności cyklazy adenylowej (pojawiający się już w czasie trwania niedotlenienia w zatruciu CO i w hipoksji hipoksyjnej lub bezpośrednio po podwiązaniu tętnic szyjnych w stosowanym modelu niedokrwienia) ze zmianami stężeń amin biogennych.

Weiss i Costa (1968) oraz Weiss i Crayton (1970) badając własności mózgowej cyklazy adenylowej przypuszczają, że aktywność tego enzymu może być regulowana przez obecne w tkance nerwowej nieznanne bliżej czynniki, prawdopodobnie o charakterze białkowym, mogące zmienić konformację cząsteczki enzymu lub oddziaływać bezpośrednio na jego syntezę lub degradację. Wydaje się przeto, że przy interpretacji zmian w aktywności enzymu obserwowanych w warunkach niedotlenienia hipotetycznie można rozważać również możliwość regulowania aktywności cyklazy w oparciu i o te czynniki.



Perkins i Moore (1971) wykazali, że w warunkach prawidłowych cyklaza adenylova w korze mózgu szczura może występować także w postaci, w której nie ujawnia się jej pełna aktywność. Czynniki takie jak detergenty, NaF, kilkakrotne zamrażanie i odmrażanie tkanki, powodują bowiem wzrost aktywności enzymu, stanowiący najprawdopodobniej efekt nieswoistych zmian w strukturze błon komórkowych. Pozwala to przypuszczać, że znaczny wzrost aktywności cyklazy adenylovej w mózgowiu szczurów obserwowany po zatruciu CO jest wynikiem nie tylko działania mechanizmów wyzwalanych przez niedotlenienie, ale również bezpośredniego toksycznego działania CO na błony komórkowe. W przypadku zatrucia CO, jak podaje Coburn (1970) około 10—15% tlenu węgla znajduje się poza naczyniami w tkance, w postaci związanej, a około 1% rozpuszcza się w płynach ustrojowych. Można więc przypuszczać, że przenikający do tkanki nerwowej tlenek węgla działa na struktury błonowe jej elementów komórkowych. Ich zmiany mogłyby być odpowiedzialne za aktywację cyklazy adenylovej. Badania Chance i wsp. (1970), Estabrook i wsp. (1970), Coopera i wsp. (1970) wskazują, że CO przenika przez błony komórkowe, zaburzając funkcję mitochondriów, oddziałując na siatkę endoplazmatyczną, a w szczególności na procesy utleniania zachodzące w mikrosomach.

Toksyczne oddziaływanie tlenu węgla na tkankę nerwową uwidoczni się również przy ilościowym porównaniu wyników uzyskanych w poszczególnych modelach doświadczalnych. W niedotlenieniu hipoksyjnym zawartość tlenu w mieszaninie gazów, którą oddychały zwierzęta, obniżono do 4%, co odpowiada mniej więcej stopniowi obniżenia dopływu tlenu do mózgu, przy 75% wysyceniu hemoglobiny tlenkiem węgla w zatruciu CO. Tymczasem w mózgowiu szczurów po ostrym zatruciu tlenkiem węgla wzrost aktywności cyklazy adenylovej jest średnio 8-krotny, a po trwającym równie długo niedotlenieniu hipoksyjnym tylko około 2—5-krotny. Najmniej wyraźne zmiany w aktywności enzymu obserwowano po niedokrwieniu półkul mózgowych. Wynika to zapewne z faktu, że obustronne podwiązanie tętnic szyjnych wspólnych u szczurów powoduje tylko krótkotrwałe obniżenie mózgowego przepływu krwi, wyrównujące się po upływie kilkunastu minut (Kapuściński 1976).

Obserwowany przez nas wzrost aktywności cyklazy adenylovej towarzyszący niedostatkowi tlenowemu, może warunkować podwyższenie poziomu cyklicznego adenylozynomonofosforanu (cAMP) w tkance nerwowej. Nukleotyd ten mógłby z kolei uczestniczyć w kontroli szeregu procesów metabolicznych m. in. takich jak przemiana glukozy, glikogenu,

---

Autorka serdecznie dziękuje pani Teresie Pańkowskiej za pomoc techniczną przy wykonywaniu pracy.



przemiany związane z biosyntezą białek, zaburzonych w wyniku obniżonego dopływu tlenu do mózgu.

М. Сикорска

### АКТИВНОСТЬ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ В МОЗГЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ

#### Резюме

Исследование активности аденилатциклазы (EC 4.6.1.1) было проведено на трех моделях экспериментальной кислородной недостаточности, т.е. на модели острого отравления окисью углерода, умеренной ишемии, вызванной двусторонней перевязкой общих сонных артерий, и наконец, гипоксической гипоксии. Экспериментальным материалом служили крысы обоего пола в возрасте 6 недель линии Вистар.

В каждой из трех использованных моделей было обнаружено временное увеличение активности аденилатциклазы, причем самый большой рост ферментной активности наблюдался в мозге крыс после отравления CO, значительно ниже у крыс в условиях гипоксической гипоксии, и самые незначительные изменения отмечались в мозге крыс после ишемии.

Нехватке кислорода сопутствует увеличение активности аденилатциклазы, однако оно не является чем-то специфическим для гипоксии. Активность фермента могут стимулировать и другие факторы, нарушающие метаболизм нервной ткани, приводимые в действие эфирным наркозом или контрольной операцией.

Временное увеличение активности аденилатциклазы может обуславливать увеличение в нервной ткани уровня циклической АМФ и её участие в регуляции ряда метаболических процессов, иначе протекающих в нервной ткани в условиях гипоксии.

M. Sikorska

### ACTIVITY OF ADENYLATE CYCLASE IN RAT BRAIN UNDER CONDITIONS OF HYPOXIA

#### Summary

The study of adenylate cyclase (EC 4.6.1.1) activity was carried out on the following models: acute carbon monoxide intoxication, mild ischemia produced by bilateral ligation of common carotid arteries, as well as hypoxic hypoxia. Wistar rats of both sexes, 6 weeks old, were used as experimental material. The enzyme activity was assayed according to the methods described by Perkins and Moore (1971) and Krishna et al. (1968). In all used models of CNS anoxia, a transient increase of adenylate cyclase activity was observed. The largest increase of the enzyme activity occurred in the brain of rats after CO intoxication, considerably lower in rats submitted to hypoxic hypoxia, and the smallest in the brain of rats submitted to ischemia.

The increase of adenylate cyclase activity accompanies the oxygen deficiency, however seems to be unspecific for anoxia. The activity of the enzyme may be stimulated also by other factors disturbing the metabolism of brain tissue, induced by ether anesthesia or the sham operation.



The transient increase of adenylate cyclase activity may condition the rise of the level of cyclic-AMP in the nervous tissue as well as its participation in the regulation of various metabolic processes occurring differently in conditions of nervous tissue anoxia.

## PIŚMIENICTWO

1. Brown R. M., Carlson A., Ljunggren B., Siesjö B. K., Snider S. R.: Effect of ischemia on monoamine metabolism in the brain. *Acta physiol. scand.* 1974, 90, 789—791.
2. Coburn R. F.: The carbon monoxide body stores. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1970, 174, 11—22.
3. Cooper D. Y., Schleyder H., Rosenthal O.: Some chemical properties of cytochrome P-450 and its carbon monoxide compound (P-450.CO). *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1970, 174, 205—217.
4. Chance B., Erecińska M., Wagner M.: Mitochondrial responses to carbon monoxide toxicity. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1970, 174, 193—204.
5. Chikvaidze V. N., Melitauri N. N.: Effect of ischemia on the regional distribution of biogenic amines in the brain of rabbits. *Neuropat. Pol.* 1974, 12, 670—682.
6. Davis N. J., Carlson A.: The effect of hypoxia on monoamine synthesis, levels and metabolism in rat brain. *J. Neurochem.* 1973, 21, 783—790.
7. Estabrook R. W., Franklin M. R., Hildebrandt A. G.: Factors influencing the inhibitory effect of carbon monoxide on cytochrome P-450-catalyzed mixed function oxidation reactions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1970, 174, 218—232.
8. Goldberg N. D., Lust W. D., O'Dea R. F., Wei S., O'Toole A. G.: A role of cyclic nucleotides in brain metabolism. *Adv. Biochem. Psychopharm.* 1970, 3, 67—87.
9. Kapuściński A.: Badania nad ischemiczno-hipoksyjnym obrzękiem mózgu. *Neuropat. Pol.* 1976, 14, 137—142.
10. Klainer L. M., Chi Y.-M., Freidberg S. L., Rall T. W., Sutherland E. W.: The effects of neurohormones on the formation of adenosine 3', 5'-phosphate by preparations from brain and other tissues. *J. Biol. Chem.* 1962, 237, 1239—1243.
11. Korthals J., Mossakowski M. J., Śmiałek M.: Obraz histologiczny i ultrastrukturalny ostrej doświadczalnej encefalopatii tlenkowej. *Neuropat. Pol.* 1973, 11, 279—300.
12. Krishna G., Weiss B., Brodie B. B.: A simple, sensitive method for the assay of adenyl cyclase. *J. Pharmacol. Ex. Ther.* 1968, 163, 379—385.
13. Lowry O. H., Rosenbrough S. M., Farr A. L., Randall R. J.: Protein measurement with the folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951, 193, 265—270.



14. Perkins J. P., Moore M. M.: Adenyl cyclase of rat cerebral cortex. *J. Biol. Chem.* 1971, 246, 62—68.
15. Robinson G. A., Butcher R. W., Sutherland E. W.: Adenyl cyclase as an adrenergic receptor. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1967, 139, 703—715.
16. Szumańska G., Sikorska M., Gadamski R.: Zachowanie się amin katecholowych w mózgu szczura w następstwie zatrucia tlenkiem węgla. *Neuropat. Pol.* 1976.
17. Sutherland E. W., Robinson G. A.: The role of cyclic 3', 5'-AMP in responses to catecholamines and other hormones. *Pharmacol. Rev.* 1966, 18, 145—151.
18. Watanabe H., Passonneau J. V.: The effect of trauma on cerebral glycogen and related metabolites and enzymes. *Brain Res.* 1974, 66, 147—159.
19. Weiss B., Costa E.: Regional and subcellular distribution of adenyl cyclase and 3', 5'-cyclic nucleotide phosphodiesterase in brain and pineal gland. *J. Pharm. Ex. Ther.* 1968, 161, 2107—2116.
20. Weiss B., Crayton J. W.: Neural and hormonal regulation of pineal adenyl cyclase activity. *Adv. Bioch. Psychopharmacol.* 1970, 3, 217—239.

Adres autorki: Zespół Neuropatologii CMDiK, 00-784 Warszawa, Dworkowa 3.



GRAŻYNA SZUMAŃSKA, MARIA OSTENDA, MIROSLAW J. MOSSAKOWSKI

## AKTYWNOŚĆ NUKLEOZYDO-DWU- I TRÓJ-FOSFATAZ W MÓZGU SZCZURA W OSTRYM ZATRUCIU TLENKIEM WĘGLA

### BADANIA W MIKROSKOPIE ŚWIETLNYM I ELEKTRONOWYM

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

Zagadnienie obrzęku mózgu w zatruciu tlenkiem węgla nie jest jednoznacznie wyjaśnione. W piśmiennictwie neuropatologicznym, dotyczącym zatruc CO u ludzi podkreśla się jego występowanie, a nawet przypisuje się mu istotną rolę patogenetyczną w rozwoju zmian demielinizacyjnych (Jacob 1968, Jacob i wsp. 1962, van Bogaert 1947, Schwedenberg 1959). Wyniki badań doświadczalnych są znacznie bardziej zróżnicowane. Miyagishi i Suwa (1969) oraz Korthals i wsp. (1973) wykazali, że obrzęk mózgu w ostrym zatruciu tlenkiem węgla nie jest zjawiskiem stałym. Korthals i wsp. (1973) stwierdzali obecność mikroskopowo-elektronowych wykładników obrzęku jedynie w przypadkach bardzo ciężkiego, powtarzanego kilkakrotnie zatrucia. Przy jednorazowym zatruciu, prowadzącym do znacznych, choć przejściowych zaburzeń metabolicznych, cech obrzęku nie obserwowano. W tym samym modelu doświadczalnym Rap i wsp. (1974) nie stwierdzili cech uszkodzenia przepuszczalności naczyń mózgowych dla znaczników białkowych, leżącego u podłoża naczyniopochodnego obrzęku mózgu, wykazując jednak przejściowy przyrost zawartości wody w tkance interpretowany jako wykładnik obrzęku cytotoksycznego.

Zlokalizowanym w elementach złącza naczyniowo-tkankowego fosfatazom nukleozydów, przypisuje się istotną rolę w czynności transportowej (Torack, Barrnett 1964). Zmiany w ich aktywności towarzyszą zaburzeniom przepuszczalności naczyń, występującym w obrzęku naczyniopochodnym (Ostenda, Szumańska 1975).

Wydawało się przeto celowe prześledzenie aktywności tych enzymów w mózgu zwierząt poddanych jednorazowemu zatruciu tlenkiem węgla,



u których w oparciu o spostrzeżenia Rapa i wsp. (1974) oczekiwać można obrzęku cytotoksycznego, przebiegającego bez uszkodzenia naczyniowo-tkankowych mechanizmów barierowych.

#### MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 18 szczurach rasy Wistar, samicach, o ciężarze ciała około 150 g, które poddano zatruciu tlenkiem węgla wg sposobu opisanego przez Korthalsa i wsp. (1973). Zwierzęta przebywały w komorze doświadczalnej, przez którą przepuszczano w okresie 60 min. powietrze atmosferyczne zawierające 1% CO. Przez dalsze 30 minut pobytu zwierząt w komorze zawartość CO ulegała stopniowemu zmniejszeniu, na skutek odcięcia dopływu tlenu węgla, przy zachowanym ciągłym przepływie powietrza atmosferycznego z dotychczasową szybkością 1 l/min.

Badany materiał pochodził od zwierząt zabijanych w 20 min pobytu w komorze doświadczalnej, w momencie zakończenia zatrucia (czas „0”) oraz po upływie 2, 4, 24 i 48 godzin od zatrucia. Każda grupa doświadczalna składała się z 3 zwierząt. Materiał kontrolny stanowiły szczury żyjące w warunkach zwierzętarnianych.

Pobrane bezpośrednio po dekapitacji mózgi dzielono na bloki tkankowe, cięciami w płaszczyźnie czołowej przechodzącymi na wysokości rozwiniętych jąder podstawy, skrzyżowania wzrokowego oraz mózdzku.

Materiał do badań histochemicznych w mikroskopie świetlnym zamrażano w sproszkowanym suchym lodzie, a następnie bloki tkanki skrawano w kriostacie na skrawki o grubości 14  $\mu$ . Skrawki przetrzymywano przez okres 60 minut w roztworach inkubacyjnych zawierających substraty niezbędne dla ujawnienia aktywności cytozynotrójfosfatazy (CTP-azy), guanozynotrójfosfatazy (GTP-azy) i inozynodwufosfatazy (IDP-azy), przygotowanych wg sposobu Wachsteina i Meisela (1957). Temperatura inkubacji 37°C.

Do badań w mikroskopie elektronowym pobierano bloczki tkanki o grubości 1 mm, z okolicy czołowo-ciemieniowej, obejmujące korę mózgową i formacje podkorowe. Materiał utrwalano przez 2 godz. w roztworze aldehydu glutarowego w buforze kakodylowym o pH 7,2, w temperaturze 4°C. Po utrwaleniu tkanek płukano przez noc w 0,3 M roztworze sacharozy w buforze kakodylowym o pH 7,2. Następnego dnia, z tak przygotowanego materiału pobierano wycinki tkankowe 1 mm<sup>3</sup>, obejmujące fragmenty kory i istoty białej podkorowej i inkubowano je w roztworach przygotowanych według tej samej metody jaką stosowano dla materiału do badań histochemicznych w mikroskopie świetlnym, z uwzględnieniem modyfikacji zaproponowanej przez Toracka i Barrnetta (1964).



Po inkubacji bloczki tkankowe płukano w sacharozie, a następnie na kilka sekund zanurzano je w 2% roztworze czterotlenku osmu w buforze kakodylowym o pH 7,2. Tak przygotowany materiał po jego rutynowym odwodnieniu zatapiano w Eponie 812 i skrawano na ultramikrotomie. Niekontrastowane ultracienkie skrawki oglądano w mikroskopie elektronowym JEM 7A i Tesla 500 BS.

## WYNIKI

### *Obraz histochemiczny w mikroskopie świetlnym*

W grupie zwierząt kontrolnych wysoka aktywność cytozynotrójfosfatazy (CTP-azy) w naczyniach krwionośnych pozwala na prześledzenie ich przebiegu, określenie charakteru i różnicowanie właściwości angioarchitektoniki poszczególnych struktur morfologicznych ośrodkowego układu nerwowego. Gęstą zróżnicowaną sieć naczyniową stwierdzono w korze mózgu, jądrach podstawy, zawoju hipokampa oraz w warstwach ziarnistej i zwojowej kory mózdzku (ryc. 1, 2, 3), w przeciwieństwie do ubogonaczyniowej istoty białej. Wysoką aktywność enzymatyczną stwierdzono w ścianach tętniczek, drobnych żył i naczyń włosowatych oraz na powierzchni zawartych w ich świetle erytrocytów. Zwracała jednak uwagę śladowa aktywność enzymu w komórkach śródbłonna. Ziarniste, nierównomiernie rozrzucone na błonie komórkowej i jądrowej produkty odczynu histochemicznego, wyznaczały umiarkowaną aktywność komórek Purkinjego (ryc. 4), komórek piramidowych kory nowej (ryc. 5) oraz komórek dwupiramidowych zawoju hipokampa. Nieznaczne nagromadzenie produktu końcowego reakcji, obserwowano ponadto w jąderkach i cytoplazmie neuronów oraz w neuropilu otaczającym komórki nerwowe. Drobne ziarenka produktu końcowego w otoczeniu naczyń włosowatych wyznaczały również fragmentarycznie błony jądrowe komórek glejowych. W istocie białej nie stwierdzano pozanaczyniowej aktywności enzymu, z wyjątkiem grubych pasm włókien nerwowych, zlokalizowanych w bezpośrednim sąsiedztwie komory bocznej (ryc. 6).

Aktywność guanozynotrójfosfatazy (GTP-azy) występowała niemal wyłącznie w ścianach naczyń włosowatych i drobnych naczyń tętniczych i żylnych (ryc. 7), przy jej zupełnym braku w ścianach naczyń większego kalibru. Sporadycznie tylko obserwowano komórki nerwowe wykazujące słabą aktywność enzymatyczną, przy dyfuzyjnym charakterze odczynu histochemicznego.

Umiarkowana aktywność inozynodwufosfatazy (IDP-azy) charakteryzowała się rozmieszczeniem analogicznym jak GTP-aza (ryc. 8). Na-



gromadzenie produktu końcowego odczynu histoenzymatycznego obserwowano w ścianach drobnych naczyń krwionośnych, oraz na powierzchni nagromadzonych w ich świetle erytrocytów. Niska aktywność enzymatyczna występowała również w neuronach zawoju hipokampa. Ziarliste produkty końcowe reakcji rozmieszczone były na błonach komórkowej i jądrowej oraz w neuropilu otaczającym bezpośrednio komórki nerwowe.

U zwierząt zabijanych w 20 minucie zatrucia, odczyn histochemiczny ujawniający aktywność CTP-azy ulegał bardzo znacznemu obniżeniu zarówno w naczyniach krwionośnych (ryc. 9) jak i w jeszcze większym stopniu, w komórkach piramidowych kory mózgu, neuronach zawoju hipokampa, komórkach Purkiniego i w okołonacyniowym gleju. Zmniejszenie ilości ziarnistych produktów odczynu histoenzymatycznego, jak i zmiana jego charakteru z ziarnistego na dyfuzyjny, prowadziło do zatarcia zarysów komórkowych elementów strukturalnych OUN. Podobnie

*Ryc. 1.* Kora mózgu. Gęsta sieć naczyń krwionośnych wykazujących dodatni odczyn na CTP-azę; szczur kontrolny. Pow. 60 X.

*Fig. 1.* Cerebral cortex. Dense network of blood vessels revealing strong CTP-ase activity. Control rat. X 60.

*Ryc. 2.* Część czółowa zawoju hipokampa. Silna aktywność CTP-azy w naczyniach, komórkach nerwowych oraz w ich wypustkach. Szczur kontrolny. Pow. 200 X.

*Fig. 2.* Frontal part of hippocampal gyrus. Strong CTP-ase activity in the blood vessel walls, neurons and their processes. Control rat. X 200.

*Ryc. 3.* Warstwa ziarnista i zwojowa mózdzku. Gęsta sieć naczyń krwionośnych wykazujących silną aktywność CTP-azy. Szczur kontrolny. Pow. 100 X.

*Fig. 3.* Granular and Purkinje cells layers of the cerebellum. Dense network of blood vessels showing strong CTP-ase activity. Control rat. X 100.

*Ryc. 4.* Mózdzek. Obok silnego odczynu ujawniającego aktywność CTP-azy w naczyniach, umiarkowana aktywność w komórkach Purkiniego. Szczur kontrolny. Pow. 400 X.

*Fig. 4.* Cerebellum. In addition to the remarkable CTP-ase activity in blood vessel walls, moderate enzyme activity in Purkinje cells. Control rat. X 400.

*Ryc. 5.* Warstwa 2 i 3 kory mózgu. Aktywność CTP-azy w warstwie komórek piramidowych — w błonie komórkowej i jądrowej. Silny odczyn w naczyniach. Szczur kontrolny. Pow. 400 X.

*Fig. 5.* Second and third layers of cerebral cortex. Activity of CTP-ase in cell and nuclear membranes of pyramidal neurons. Strong enzyme activity in vascular walls. Control rat. X 400.

*Ryc. 6.* Dodatni odczyn na CTP-azę we włóknach nerwowych istoty białej w sąsiedztwie komory bocznej. Szczur kontrolny. Pow. 200 X.

*Fig. 6.* CTP-ase activity in the white matter nerve fibers in the vicinity of the lateral ventricle. Control rat. X 200.

*Ryc. 7.* Aktywność GTP-azy w naczyniach kory mózgowej. Śladowa reakcja w elementach komórkowych. Szczur kontrolny. Pow. 400 X.

*Fig. 7.* GTP-ase activity in cortical blood vessels. Traces of enzyme activity in cellular elements of the cerebral cortex. Control rat. X 400.

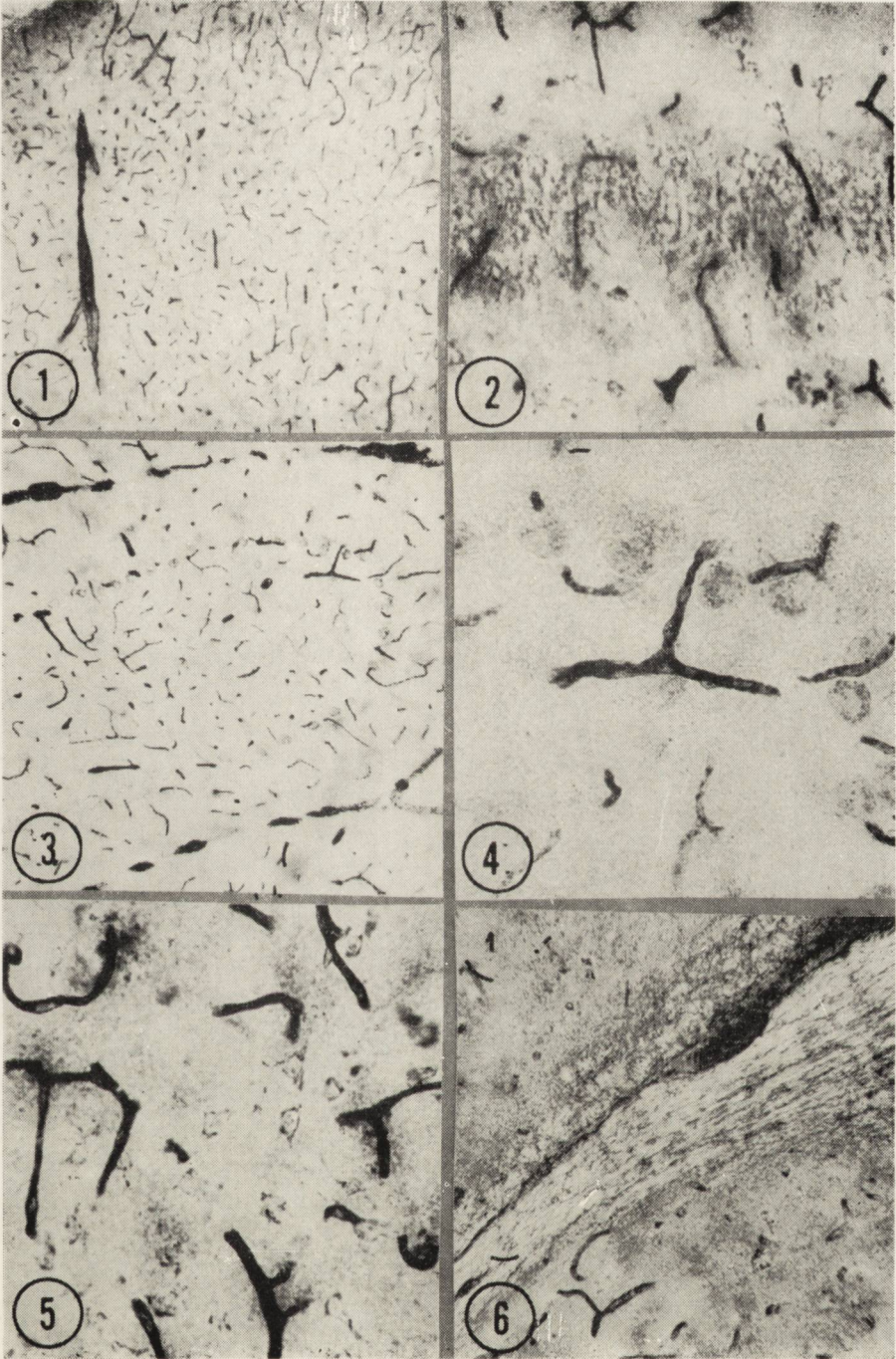
*Ryc. 8.* Umiarkowana aktywność IDP-azy w naczyniach kory mózgowej. Szczur kontrolny. Pow. 400 X.

*Fig. 8.* Moderate IDP-ase activity in the cortical blood vessels. Control rat. X 400.

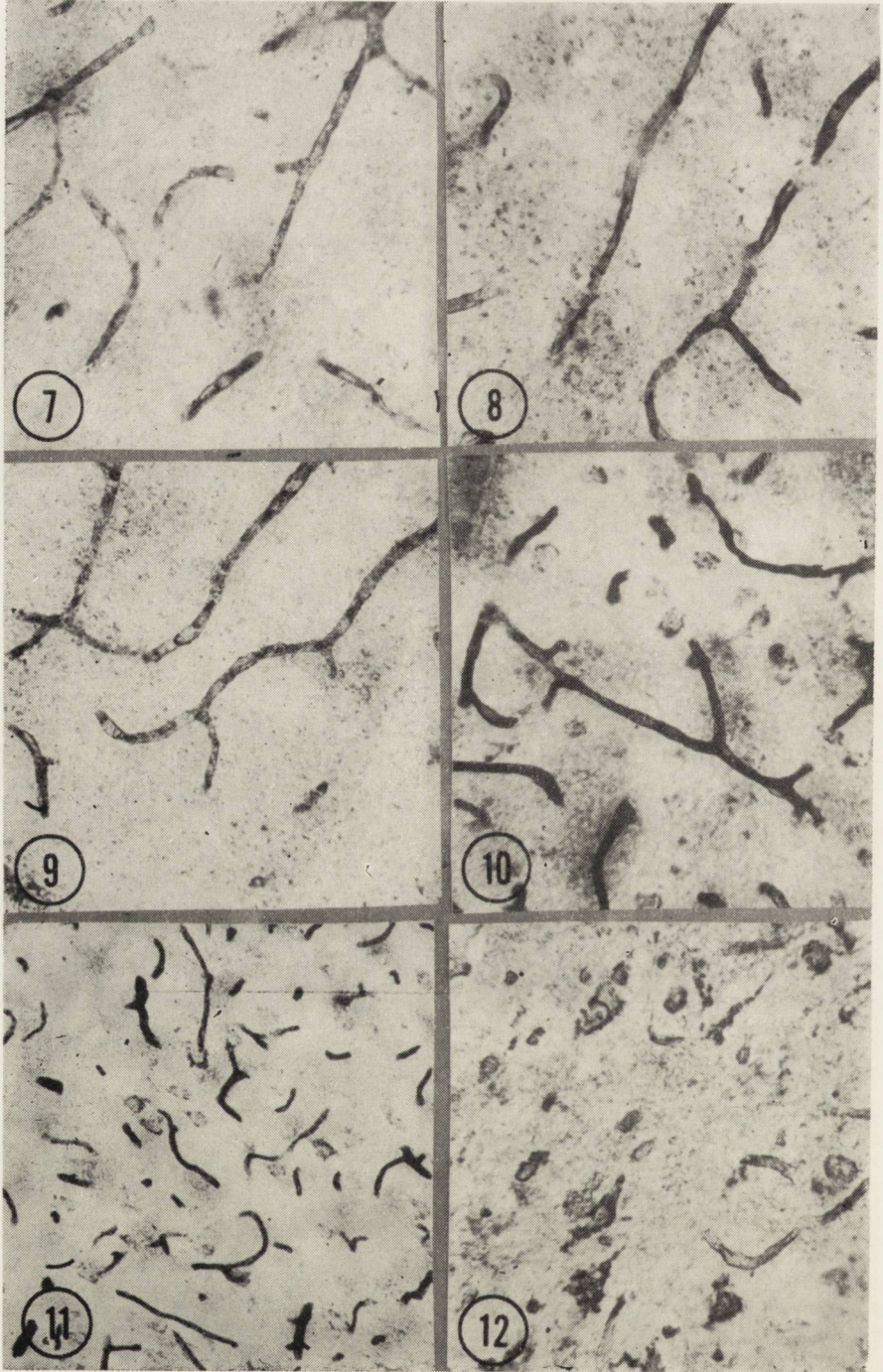
*Ryc. 9.* Obniżenie aktywności CTP-azy w naczyniach kory mózgowej i elementach komórkowych po 20 minutach zatrucia (porównaj ryc. 5). Pow. 400 X.

*Fig. 9.* Decrease of CTP-ase activity in vascular walls and cellular elements of the cerebral cortex at 20th min of CO poisoning (see fig. 5). X 400.

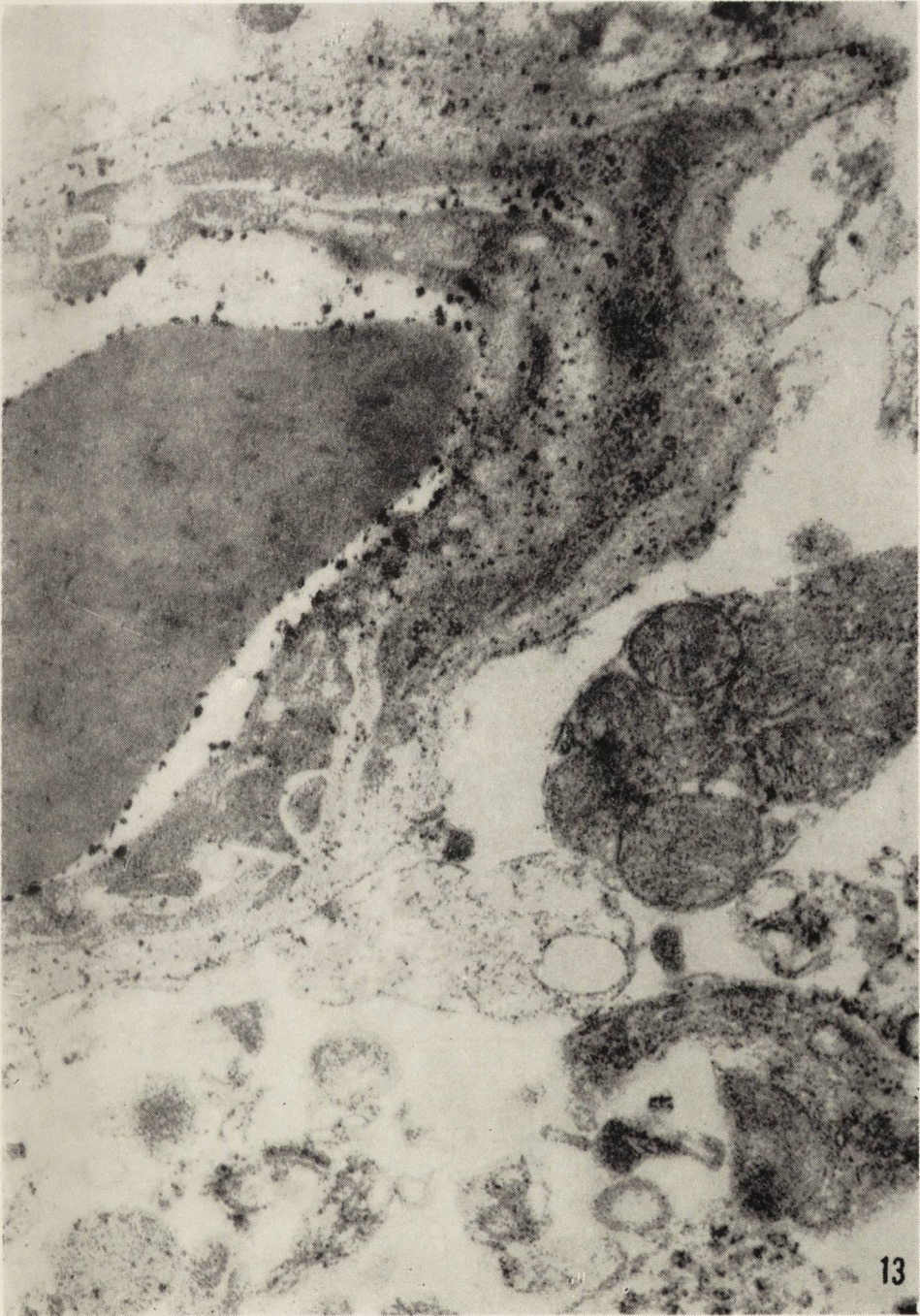




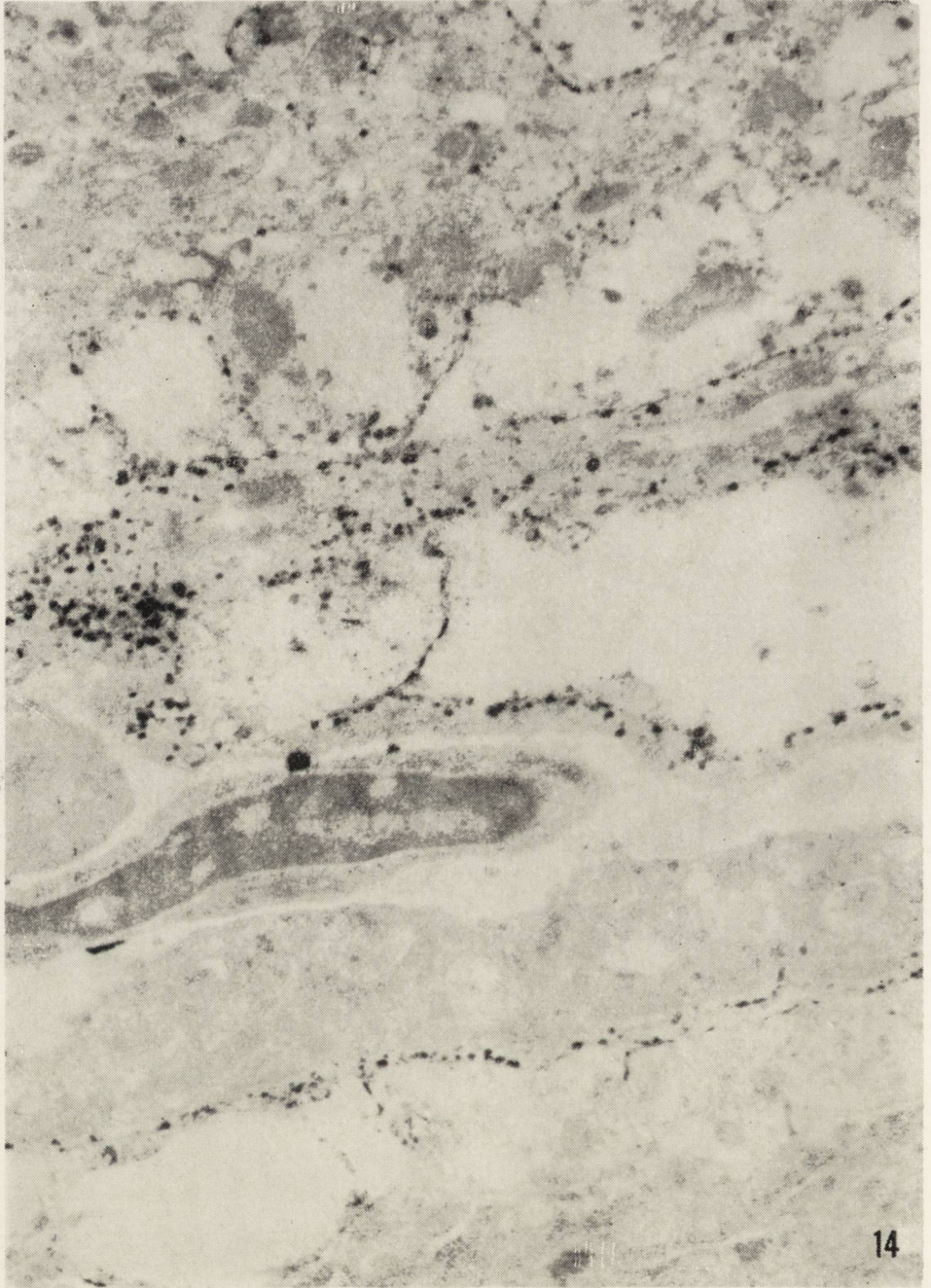




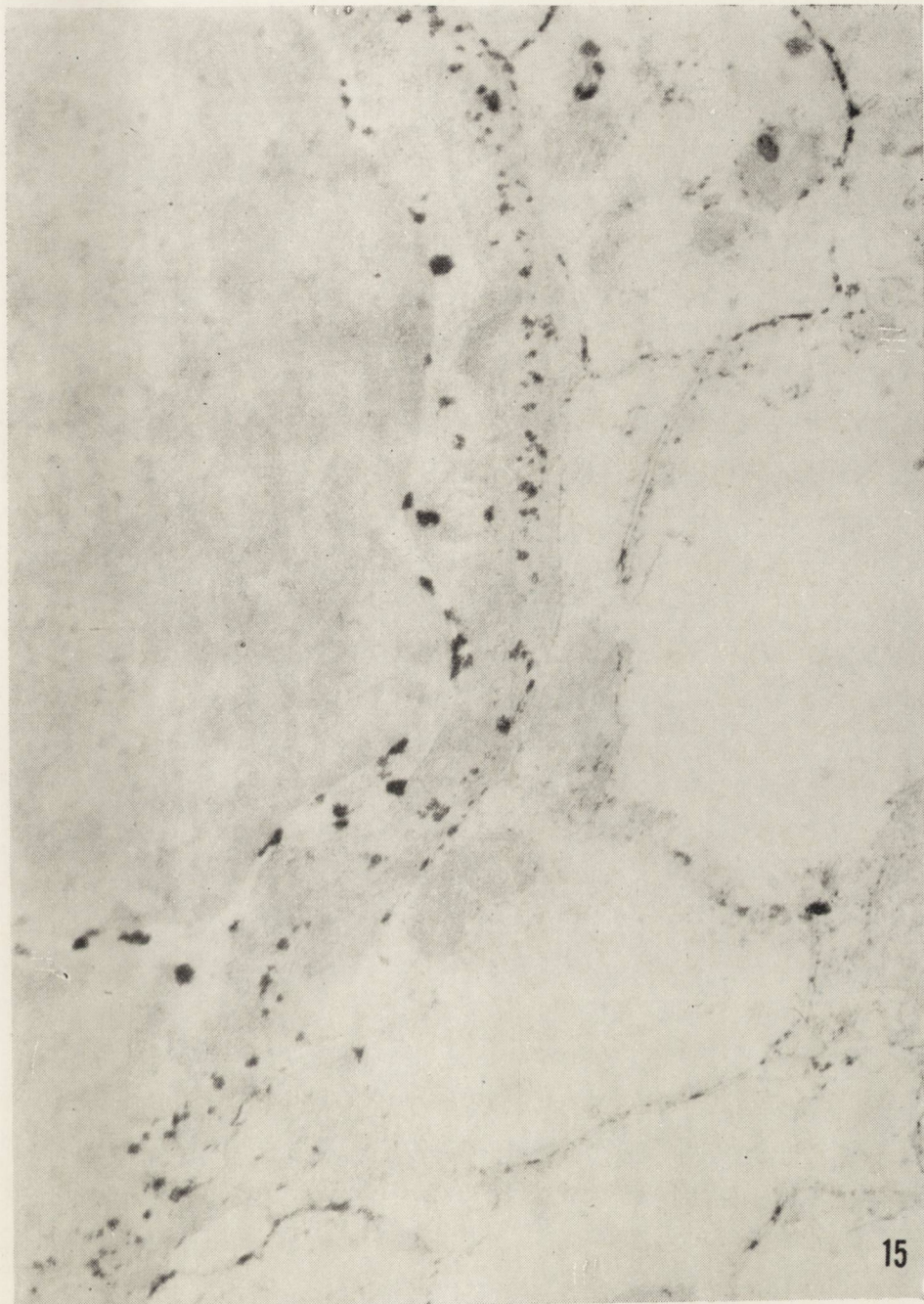




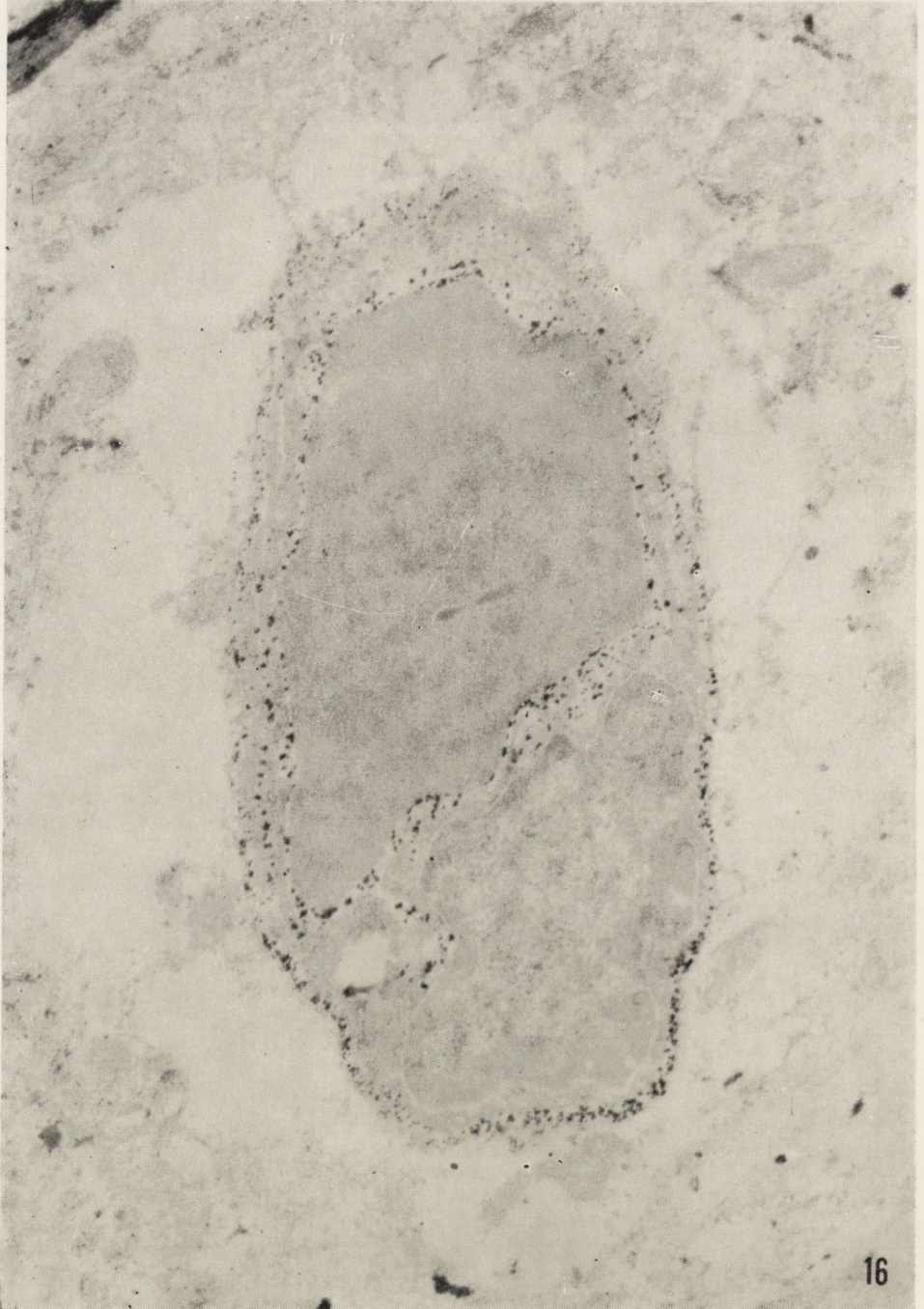














bardzo znacznie osłabił odczyn ujawniający aktywność GTP-azy w sieci naczyńniowej mózgu. Natomiast bardzo znacznie wzrastała aktywność IDP-azy w ścianie naczyń mózgowych przede wszystkim w naczyniach kory mózgu, o promienistym w stosunku do jej powierzchni przebiegu (ryc. 10). Silniejszy był również odczyn histochemiczny w komórkach nerwowych, zwłaszcza w neuronach zawoju hipokampa. Pojawiała się aktywność enzymu w komórkach glejowych spoidła wielkiego, nie uwiadcniająca się u zwierząt kontrolnych.

W czasie „0” oraz 2 i 4 godzinie po zatruciu obserwowano wzmocnienie odczynu histochemicznego ujawniającego aktywność CTP-azy i GTP-azy, którego intensywność przypominała obrazy spostrzegane u zwierząt kontrolnych (ryc. 11). Zwracał jednakże uwagę nierównomierny rozkład produktu reakcji enzymatycznej w ścianach naczyń krwionośnych. Wzdłuż przebiegu naczyń włosowatych widoczne były odcinki o wyso-

---

*Ryc. 10.* Wzrost aktywności IDP-azy w naczyniach kory mózgu i elementach komórkowych po 20 minutach zatrucia (por. ryc. 8). Pow. 400 X.

*Fig. 10.* Increased IDP-ase activity in vascular walls and cellular elements of the cerebral cortex at 20th min of CO intoxication (see fig. 8). X 400.

*Ryc. 11.* Wzrost aktywności CTP-azy w naczyniach i komórkach w porównaniu do kontroli; 2 godz. po zatruciu. Pow. 200 X.

*Fig. 11.* Increased, as compared to the control animals, activity of CTP-ase in the vascular walls and cellular elements of the cerebral cortex. Two hours following carbon monoxide intoxication. X 200.

*Ryc. 12.* Aktywność GTP-azy w korze mózgu w 4 godz. po zatruciu. Wzdłuż przebiegu kapilarów widoczne odcinki o wysokiej aktywności i miejsca wykazujące śladowy odczyn. Podobne zróżnicowanie aktywności enzymatycznej w komórkach nerwowych i glejowych. Pow. 400 X.

*Fig. 12.* Activity of GTP-ase in cerebral cortex 4 hours following carbon monoxide intoxication. Fragments of capillary reveal high enzyme activity, the other ones demonstrate trace enzyme activity. The differences in the activity of enzyme concern also nerve and glial cells. X 400.

*Ryc. 13.* Aktywność CTP-azy wyrażona w postaci elektronoptycznie gęstych stratów w błonie podstawnej naczynia. Szczur kontrolny. Pow. 48 000 X.

*Fig. 13.* CTP-ase activity demonstrated as electron dense deposits localized in the basal membrane of the capillary vessel. Control rat. X 48 000.

*Ryc. 14.* Produkt reakcji enzymatycznej znajduje się w błonie podstawnej naczynia oraz na błonach komórek glejowych otaczających naczynie, wypełniając przestrzenie międzykomórkowe; 20 minut zatrucia. IDP-aza. Pow. 7 000 X.

*Fig. 14.* Products demonstrating IDP-ase activity are visible in the basal membrane of the capillary wall and membranes of surrounding glial cells filling extracellular spaces; 20th min of carbon monoxide intoxication. X 7 000.

*Ryc. 15.* Produkt reakcji enzymatycznej znajduje się w błonie podstawnej, na powierzchni krwinki czerwonej oraz na błonach komórek glejowych, wypełniając okolonaczyniowe przestrzenie pozakomórkowe; 20 minut zatrucia. IDP-aza. Pow. 7 000 X.

*Fig. 15.* Deposits demonstrating IDP-ase activity are present in the basal membrane of the capillary wall, on the surface of the red blood cell and on the membranes of perivascular glia, filling adjacent intermembrane spaces. Rat at 20th min of carbon monoxide intoxication. X 7 000.

*Ryc. 16.* Aktywność IDP-azy zlokalizowana w błonie podstawnej włóscizki oraz na powierzchni krwinki czerwonej, podobnie jak w materiale kontrolnym, 24 godz. po zatruciu. Pow. 7 000 X.

*Fig. 16.* Activity of IDP-ase localized in capillary basal membrane and on the surface of erythrocyte 24 hours following carbon monoxide poisoning. X 7 000.



kiej aktywności obok miejsc o śladowym jedynie odczynie. To samo zróżnicowanie odczynu histochemicznego dotyczyło jąder komórek nerwowych i glejowych (ryc. 12). Niektóre z nich w odczynie na CTP-azę miały ostro i wyraźnie zarysowaną błonę jądrową, sugerując wzrost aktywności enzymatycznej w stosunku do kontroli, podczas gdy w innych stwierdzano jedynie śladową ilość złogów produktu końcowego reakcji. W tych samych przedziałach czasowych odczyn na IDP-azę przypominał obrazy spostrzegane w materiale kontrolnym.

U zwierząt zabijanych w 24 godzinie po zatruciu obraz reakcji histochemicznej na CTP-azę i GTP-azę zbliżony był do obrazu charakterystycznego dla zwierząt, które nie uległy zatruciu CO, z tym jednak, że nadal występował nierównomierny rozkład produktu końcowego odczynu w pojedynczych naczyniach włosowatych. Pełną normalizację obrazu histochemicznego stwierdzono natomiast u zwierząt zabijanych po 48 godzinach.

#### *Obraz histochemiczny w mikroskopie elektronowym*

U zwierząt kontrolnych, aktywność badanych enzymów dla wszystkich trzech substratów wykazywała podobne umiejscowienie. Stwierdzono ją w ścianach naczyń krwionośnych, na powierzchni i w samej *membrana basalis*, przy jej braku w komórkach śródbłónka oraz na powierzchni erytrocytów występujących w świetle naczyń (ryc. 13). Aktywność enzymatyczna występowała również w jądrach komórek nerwowych i glejowych, zlokalizowana przede wszystkim na błonie jądrowej, jak również w zbiornikach i kanałach zespołu Golgiego neurocytów. Produkty reakcji enzymatycznej były zwykle drobnoziarniste, jedynie w skrawkach inkubowanych w roztworach zawierających inozynodwufosforan, tworzyły się niekiedy gruboziarniste konglomeraty o dużej gęstości elektrono-optycznej.

U zwierząt zabitych w 20 minucie zatrucia produkty reakcji enzymatycznej, obok ich rozmieszczenia w błonie podstawnej naczyń włosowatych, występowały obficie na błonach komórek glejowych otaczających naczynia, wypełniając okołonaczyniowe przestrzenie międzybłonowe (ryc. 14 i 15). W tej grupie czasowej aktywność enzymatyczna występowała również w jądrach komórek oraz w kanałach zespołu Golgiego, zarówno komórek nerwowych jak i glejowych.

W czasie „0” nie stwierdzono istotnych zmian w lokalizacji aktywności badanych enzymów. Wydawało się jednak, że zarówno w porównaniu z grupą kontrolną jak i grupą badaną w czasie ekspozycji na działanie tlenku węgla, znacznie mniejsza ilość naczyń wykazywała aktywność enzymatyczną. W dwie godziny po ekspozycji na działanie CO zwraca-



cało uwagę bardzo znaczne nagromadzenie produktu reakcji w jądrach komórkowych oraz ich znaczny ubytek w ścianach naczyń krwionośnych. Sporadycznie pojawiały się one również w śródbłonkach naczyńiowych. Aktywność enzymatyczną jąder komórek charakteryzowało wybitne zróżnicowanie intensywności. Obok jąder pokrytych produktami odczynu histoenzymatycznego, stwierdzano jądra całkowicie ich pozbawione. Na podkreślenie zasługuje fakt, że w tej właśnie grupie czasowej w preparatach kontrastowanych, stwierdzano zmiany w obrazie mikroskopowo-elektronowym mitochondriów, wyrażające się ich obrzmieniem i ubytkiem grzebieni, oraz poszerzenie kanałów siatki śródplazmatycznej.

U zwierząt z 4-godzinnym przeżyciem obraz histochemiczny na poziomie ultrastrukturalnym był podobny do stwierdzanego w 2 godziny po ekspozycji na działanie CO. Odczyn w ścianie naczyniowej nadal słaby, był umiejscowiony w błonie podstawnej. Na podkreślenie zasługuje fakt, że w przedziale czasowym 0—4 godz. po zatruciu, zmniejszała się ilość produktów końcowych reakcji zlokalizowanych na błonach gleju okołonaczyniowego i wypełniających przynaczyniowe przestrzenie międzybłonowe. Podobnie w tych grupach czasowych nie obserwowano aktywności hydrolaz w zbiornikach i kanałach zespołu Golgiego neurocytów i gleju.

W grupie zwierząt z 24-godzinnym przeżyciem aktywność badanych enzymów występowała w licznych naczyniach krwionośnych, wykazując umiejscowienie identyczne jak u zwierząt niezatrutowanych (ryc. 16). Bardzo rzadko produkty reakcji enzymatycznej zlokalizowane były w błonach okołonaczyniowego gleju, wypełniając przestrzenie międzybłonowe. Aktywność hydrolaz stwierdzano również w jądrach komórek nerwowych i glejowych przede wszystkim na błonach jądrowych i w okolicy jąderka.

W żadnej grupie czasowej zespoleń międzyśródbłonkowe naczyń włosowatych nie zawierały produktów reakcji enzymatycznej.

#### OMÓWIENIE

Przedstawione powyżej obserwacje wskazują, że ostre zatrucie tlenkiem węgla prowadzi do stosunkowo niegłębokich i przejściowych zaburzeń w aktywności badanych dwu- i trój-fosfataz nukleozydowych, którym przypisuje się istotny udział w czynności transportowej przez złącza naczyniowo-tkankowe w ośrodkowym układzie nerwowym (Torack, Barnett 1964). Zaburzenia te charakteryzuje określona dynamika w czasie po zatruciu i ich cofanie się po upływie 48 godzin.

We wczesnej fazie zatrucia, przypadającej na okres uogólnionego niedokrwienia ośrodkowego układu nerwowego (Mossakowski 1975), wyrażają się one spadkiem aktywności CTP-azy i GTP-azy w ścianie naczyń



krwionośnych, widocznym na poziomie mikroskopu świetlnego oraz pojawieniu się aktywności enzymatycznej na błonach komórkowych gleju okołonaczyniowego, stwierdzanym w badaniach mikroskopowo-elektronowych. Być może to ostatnie zjawisko uznać należy, za wykładnik czynności kompensacyjnych, związanych ze spadkiem aktywności enzymatycznej w elementach strukturalnych ściany naczyniowej. W przedziale czasowym 0—4 godziny po zatruciu wzorzec reakcji enzymatycznej w elementach złącza naczyniowo-tkankowego ulega zmianie. W obrazach z mikroskopu świetlnego zmiana ta wyraża się nierównomiernym spadkiem aktywności histoenzymatycznej, obejmującym poszczególne naczynia lub ich odcinki. W mikroskopie elektronowym, obok nierównomiernego występowania aktywności enzymów w poszczególnych naczyniach, stanowiącego odpowiednik zmian z mikroskopu świetlnego, obserwuje się obniżenie aktywności enzymatycznej w błonie podstawnej kapilarów i stopniowe jej zmniejszanie się w błonach komórkowych gleju okołonaczyniowego. Zmiany powyższe przypadają na tę fazę nieprawidłowości mikrokrazenia mózgowego, w której dominują ogniskowe zaburzenia ukrwienia mózgu, nałożone na cechy jego uogólnionego przekrwienia (Mossakowski 1975).

W świetle poglądów Toracka i Barnetta (1964) oraz Gabryela (1973), stojących na stanowisku, że spadek lub brak aktywności hydrolaz w ścianie naczyniowej, a zwłaszcza w błonie podstawnej kapilarów, stanowi wskaźnik upośledzenia przeznaczyniowego transportu substancji, należy przyjąć, iż w okresie między zakończeniem zatrucia a 4 godziną po zatruciu dochodzić może do zaburzenia czynności transportu czynnego. Przypadają one na okres narastania zawartości wody w tkance, poprzedzony jej statystycznie znamionym spadkiem obserwowanym w czasie „0”. Poprzedzają one jednak jej maksymalny przyrost, stwierdzany w 12 godzinie po zatruciu (Rap i wsp. 1974). Przyrost zawartości wody w tkance, przy równoczesnym braku zmian przepuszczalności naczyń dla białkowych znaczników barierowych, wskazuje na cytotoksyczny charakter obrzęku, rozwijający się w zastosowanych warunkach zatrucia. Być może przeto, obserwowane przez nas zmiany stanowią histochemiczny wykładnik zaburzeń przepuszczalności naczyń, występujących w obrzęku cytotoksycznym. Różnią się one w sposób istotny od zmian obserwowanych w obrzęku naczyniopochodnym, któremu towarzyszy zanik aktywności hydrolaz w błonach podstawnych kapilarów i pojawienie się jej w komórkach śródbłonek (Ostenda, Szumańska 1975). Stwierdzony przez nas typ zmian histoenzymatycznych w elementach złącza naczyniowo-tkankowego w warunkach doświadczonego zatrucia tlenkiem węgla, nie prowadzącego do nieodwracalnych uszkodzeń tkankowych, a jedynie do odwracalnych zaburzeń metabolicznych



(Albrecht 1973, Szumańska 1973, Śmiałek i wsp. 1973) nie przesądza oczywiście o ich charakterze przy głębszym zatruciu, w którym Korthals i wsp. (1973) obserwowali mikroskopowo-elektronowe wykładniki obrzęku naczyniopochodnego.

Nieprawidłowości histoenzymatyczne dotyczące komórek nerwowych i gleju, obserwowane do 4 godziny po zatruciu i wyrażające się w mikroskopie świetlnym obniżeniem aktywności enzymatycznej neuronów, a w mikroskopie elektronowym spadkiem aktywności enzymatycznej w aparacie Golgiego w neurocytach i komórkach glejowych oraz zmianami aktywności jąder komórkowych są trudne do wyjaśnienia w oparciu o dotychczasowe rozważania.

Wydaje się słuszne odnosić je do uszkodzenia cytomembran komórkowych, w których zlokalizowane są nukleozydofosfatazy (Szczeklik 1974). Czynnikiem uszkadzającym w tym przypadku może być zarówno hypoksemia anemiczna, związana z blokowaniem hemoglobiny przez tlenek węgla, jak i jego bezpośrednie działanie toksyczne na elementy komórkowe tkanki nerwowej i glejowej, lub wreszcie współdziałanie obu czynników (Korthals i wsp. 1973). Podobieństwo uszkodzeń ultrastrukturalnych ze zmianami stwierdzanymi w materiale z hodowli pozaustrojowej (Korthals i wsp. 1973b) popiera ewentualność toksycznego działania CO. Za taką interpretacją przemawia ponadto obecność w naszym materiale uszkodzeń innych organelli subkomórkowych, przede wszystkim mitochondriów, korespondujących z opisanym przez Szumańską (1973) spadkiem aktywności oksydazy cytochromowej i dehydrogenazy bursztynianowej.

Г. Шуманьска, М. Остенда, М. Я. Моссаковски

#### АКТИВНОСТЬ НУКЛЕОЗИД-ДИ- И ТРИФОСФАТАЗ В МОЗГЕ КРЫС ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ ОКИСЬЮ УГЛЕРОДА

##### Резюме

На уровне оптического и электронного микроскопов была прослежена активность нуклеозидных дву- и трифосфатаз в элементах сосудисто-мозгового соединения у крыс, подвергнутых однократному отравлению окисью углерода.

В оптическом микроскопе было обнаружено на 20 минуте отравления снижение активности ферментов в стенках кровеносных сосудов и клеточных элементах центральной нервной системы, и возрастание ее вновь в период между временем „0” и 4 часом после отравления. Обращало на себя внимание неравномерное распределение конечного продукта гистоэнзиматической реакции в стенках кровеносных сосудов в период после отравления.

В электронно-микроскопической картине можно было наблюдать, что электронно-плотные осадения, определяющие активность исследуемых ферментов, были локализованы на 20-ой минуте отравления в базальной мембране капилляров и клеточных оболочках околососудистой астроцитной глии, обильно заполняя межклеточное пространство. Период после отравления характеризо-



вался неравномерностью распределения продуктов гистоэнзиматической реакции в базальной мембране отдельных капилляров вплоть до полного их отсутствия, уменьшением количества отложений в оболочках околососудистых глиальных клеток и изменениями в распределении в субклеточных структурах нейронов и глии. Через 24 часа после отравления электронно-микроскопическая картина активности исследуемых ферментов в мозге экспериментальных животных не отличалась от наблюдаемой у контрольных животных.

G. Szumańska, M. Ostenda, M. J. Mossakowski

#### ACTIVITY OF NUCLEOSIDE PHOSPHATASES IN RAT BRAIN FOLLOWING CARBON MONOXIDE INTOXICATION

##### Summary

The studies concerned the activity of nucleoside phosphatases in cellular elements of the blood-brain interphase in rats subjected to carbon monoxide intoxication.

On the light microscopy significant reduction of enzymatic activity in the blood vessel walls and in cellular elements of the nerve tissue was observed at 20th min of CO poisoning. This was followed by its increase observed in the period between the end of intoxication and 4th hour of recovery. Normalization of the histochemical picture was noted 24 and 48 hours following CO poisoning.

On electron microscopy level at 20th min of intoxication deposits indicating the site of enzyme activity were localized in the basal membranes of capillaries as well as on the cell membranes of perivascular glia, being accumulated in intermembraneous spaces. First hours of the postintoxication period were characterized by significant reduction of the electron dense deposits in the capillary basal membranes, their unequal distribution, progressive diminution of their accumulation on the cell membranes of perivascular glia and by their abnormal distribution in neurons and glial cells. At 24th hr following intoxication electron microscopic picture of the enzymatic activity in experimental animals did not show any differences as compared to the control ones.

The above presented enzymatic changes in cellular elements of the blood-brain interphase have been considered as abnormalities accompanying the evolution of cytotoxic brain edema occurring in those experimental conditions.

##### PISMIENNICTWO

1. Albrecht J.: Effect of carbon monoxide on individual steps of protein synthesis in rat brain. *J. Neurochem.* 1973, 21, 1563—1566.
2. Gabryel P.: „Bariera krew-mózg” struktura i funkcja. *Pat. Pol.* 1973, 24, 218—235.
3. Jacob H.: Das Nervensystem bei Infectionen, Intoxicationen und anderen Allgemein- und Organerkrankungen. W Hdb. der Spez. Path. Anatomie. Red. O. Lubarsch, F. Henke, R. Rössle. Springer, Berlin 1958, 13, 2A.
4. Jacob H., Mumme C., Solcher H.: Entmarkung bei zerebralen Oedemschaden. *Arch. Z. ges. Neurol.* 1962, 203, 311—320
5. Korthals J., Mossakowski M. J., Śmiałek M.: Obraz histologiczny i ultrastrukturalny ostrej doświadczalnej encefalopatii tlenkowejłowej. *Neuropat. Pol.* 1973a, 11, 279—300



6. Korthals J., Hoppe B., Karwacka H.: Badania mikroskopowo-elektronowe nad toksycznym wpływem tlenu węgla na tkankę glejową hodowaną in vitro. *Neuropat. Pol.* 1973b, 11, 315—322
7. Miyagishi T., Suwa N.: Electron microscopic studies on the cerebral lesions of rats in experimental carbon monoxide poisoning. *Acta neuropath. (Berlin)* 1969, 14, 118—125
8. Mossakowski M. J.: Zaburzenia ukrwienia mózgu w ostrym zatruciu tlenkiem węgla u szczurów. *Neuropat. Pol.* 1975, 13, 241—250
9. Ostenda M., Szumańska G.: Lokalizacja ultrastrukturalna aktywności enzymów hydrolizujących estry fosforanowe w mózгах królików po przebytej hipoksji. *Neuropat. Pol. w druku*
10. Rap. Z., Kapuściński A., Sikorska M.: Ocena stanu bariery krew-mózg i zawartości wody w mózgu w doświadczalnym ostrym zatruciu tlenkiem węgla. *Neuropat. Pol.* 1974, 12, 403—412
11. Schwedenberg T. M.: Leucoencephalopathy following carbon monoxide asphyxia. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1959, 18, 597—608
12. Szumańska G.: Obraz histochemiczny mózgu szczura w ostrym zatruciu tlenkiem węgla. *Neuropat. Pol.* 1973, 11, 301—314
13. Smialek M., Sikorska M., Korthals J., Bicz W., Mossakowski M. J.: The glycogen content and its topography and UDPglucose-glycogen glucosyltransferase activity in rat brain after experimental carbon monoxide intoxication. *Acta neuropath. (Berl.)* 1973, 24, 222—231
14. Szczeklik F.: *Enzymologia Kliniczna*. Warszawa, PZWL 1974
15. Torack R. M., Barnett R. J.: The fine structural localization of nucleoside phosphatase activity in the blood-brain barrier. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1964, 23, 46—59
16. Van Bogaert L.: La methode histopathologique et les problems des maladies de la substance blanche. *J. Belg. de Neurol.* 1947, 47, 82—110

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



JERZY W. BOROWICZ, BARBARA GAJKOWSKA

ELECTRON MICROSCOPIC STUDIES ON THE SUPRAOPTIC  
AND PARAVENTRICULAR NUCLEI OF RAT IN ACUTE  
MORPHINE POISONING

Electron Microscopy Unit, Experimental and Clinical Medical Research Centre,  
Polish Academy of Sciences  
Head: Ass. Prof. J. W. Borowicz

It has been established that giant neurons of the supraoptic and paraventricular nuclei are responsible for synthesis, transport and secretion of protein hormones — vasopressin and oxytocin. During the last few years numerous experimental data have accumulated elucidating the mechanism of synthesis of neurosecretory granules. Neurosecretory granules appear in close connection with well developed rough endoplasmic reticulum and Golgi apparatus and migrate along the fibers to the hypophysis where they are secreted as hormones to the blood vessels.

Biochemical studies concerning the effect of morphine on the central nervous system are numerous (Eidelberg, Schwartz, 1970; Way et al. 1968; George, 1971; Dodge, Takemori, 1968, Takemori, 1965) and on their basis it may be assumed that the changes taking place in the central nervous system under the effect of morphine may be due to hypoxia. However, the studies on the effect of morphine on ultrastructure of the central nervous system are few (Borowicz et al., 1974).

The aim of this study was to investigate ultrastructure of the supraoptic and paraventricular nuclei in animals after acute morphine poisoning. The attempt was undertaken to determine the action of morphine on the activity of neurosecretory cells.

MATERIAL AND METHOD

The experiments were carried out on 15 male Wistar rats, weighing 200 g. Animals were divided into two experimental groups. 1 group:



controls — 5 healthy animals. 2 group: animals after acute morphine poisoning — 10 rats. Rats received a dose of 50 mg/kg of body weight of morphine (*Morphinum hydrochloricum „Polfa”*) subcutaneously, in the dorsal region. This dose did not cause any circulatory-respiratory disorders, however, animals displayed a diminished reaction to external stimuli and increased somnolence.

One and half an hour after the injection of morphine sections from the supraoptic and paraventricular nuclei were obtained for examination. The material was fixed in 3% glutaraldehyde for 1 hr, in 2%  $\text{OsO}_4$  for 1.5 hr and dehydrated in increasing concentrations of alcohol and propylene oxide, embedded in Epon 812. Ultrathin sections were stained with saturated aqueous uranyl acetate and Reynolds reagent. Pictures were taken in JEM-7A electron microscope with the accelerating voltage 80 kV on ORWO EU 2 photographic plates.

## RESULTS

I group: control animals.

The appearance of the neurons of the supraoptic and paraventricular nuclei is the same as in the previous study (Borowicz, Gajkowska, 1972; Gajkowska, 1974).

II group: animals after acute morphine poisoning.

1. Supraoptic nucleus. Most neurons of the supraoptic nucleus display the appearance similar to that observed in control animals. There are neurons with a large nucleus and well developed rough endoplasmic reticulum densely covered with ribosomes. Between the channels of rough endoplasmic reticulum many polyribosomes and neurotubules are observed. Golgi apparatus located in the region of the cell nucleus appears in form of numerous, narrow channels and of various size vesicles. Few coated vesicles are present in the Golgi apparatus region. Multivesicular bodies and single neurosecretory granules, lysosomes and rather numerous, round oval, or elongated mitochondria with clear matrix and transversely placed cristae are found (Fig. 1, 2). Besides these neurosecretory cells which resemble neurons of control animals, less numerous neurons are noted in the supraoptic nucleus displaying slight changes. Giant nuclei of these neurons (always containing electrondense nucleolus) have irregular shape, their nuclear envelope is deeply invaginated. Dilated space is noted between the external and inner nuclear membranes, also



numerous pores are seen in the nuclear envelope (Fig. 3). In these cells dilated channels of the Golgi apparatus are electron translucent (Fig. 4). Very seldom single neurosecretory granules are found in the region of the Golgi apparatus, more frequently lysosomes and multivesicular bodies are seen (Fig. 5). Axonal fibers of the supraoptic neurons contain numerous and long neurotubules, elongated mitochondria and scarce neurosecretory granules (Fig. 6).

2. Paraventricular nucleus. All the neurons of the paraventricular nucleus display prominent but varying in intensity changes. Nuclei of the neurons show deep invaginations. Frequently one or two nucleoli are seen consisting of nonhomogenous substance of great electron density (Fig. 7). There are dilated spaces between the membranes of nuclear envelope. Numerous pores are present. Golgi apparatus localized near the nucleus consists of numerous, elongated channels. Sometimes these channels seem to be significantly dilated, but always optically empty. No neurosecretory granules were encountered in the vicinity of the Golgi apparatus, only single multivesicular bodies and lysosomes were observed (Fig. 7 and 8). In the remaining area of the cell there are few and randomly distributed neurosecretory granules. The rough endoplasmic reticulum in some neurons is slightly less abundant than in normal neurosecretory cells but normally developed. More numerous multivesicular bodies are encountered there, as well as lysosomes and single so-called nucleolus — like bodies and mitochondria with normal structure (Fig. 9). In other, less numerous neurons it may be observed that the endoplasmic reticulum channels are short and dilated, and the entire arrangement is irregular (Fig. 10). Mitochondria in these neurons are often round, with clear matrix and scanty, often shortened cristae (Fig. 10). In axons of the neurons of the paraventricular nucleus almost no neurosecretory granules were found, and in the axon hillock there were only fragments of rough endoplasmic reticulum, numerous delicate neurotubules, lysosomes and small mitochondria. Neurosecretory granules were not seen (Fig. 11).

#### DISCUSSION

On the basis of the conducted studies it may be assumed that acute morphine poisoning affects the activity of neurosecretory cells of the paraventricular and supraoptic nuclei. The character of the observed changes in both neurosecretory nuclei is the same and mainly concerns the Golgi-endoplasmic reticulum — lysosomes system (GERL). Dilation of the Golgi apparatus channels which appear optically empty, and a di-



*Fig. 1.* Supraoptic nucleus. Fragment of the neuron with prominent Golgi apparatus and few neurosecretory granules in the vicinity. Well developed rough endoplasmic reticulum, some channels slightly dilated.  $\times 25\ 000$ .

*Ryc. 1.* Jądro nadwzrokowe. Fragment neuronu. Dobrze wykształcony aparat Golgiego, w jego okolicy pojedyncze ziarnistości neurosekrecyjne. Siatka śródplazmatyczna szorstka dobrze rozwinięta, niektóre kanały lekko poszerzone. Pow. 25 000  $\times$ .

*Fig. 2.* Supraoptic nucleus. Abundant rough endoplasmic reticulum, few neurosecretory granules, neurotubules, mitochondria and Golgi apparatus.  $\times 21\ 000$ .

*Ryc. 2.* Jądro nadwzrokowe. Obfita siatka śródplazmatyczna szorstka, pojedyncze ziarnistości neurosekrecyjne, neurotubule, mitochondria i aparat Golgiego. Pow. 21 000  $\times$ .

*Fig. 3.* Supraoptic nucleus. Nuclear envelope with deep invaginations and many pores.  $\times 32\ 000$ .

*Ryc. 3.* Jądro nadwzrokowe. Widoczne duże wgłobienia błony jądrowej i liczne pory. Pow. 32 000  $\times$ .

*Fig. 4.* Supraoptic nucleus. Altered Golgi apparatus, some of its channels prominently dilated.  $\times 27\ 300$ .

*Ryc. 4.* Jądro nadwzrokowe. Zmieniony aparat Golgiego, niektóre jego kanały znacznie poszerzone. Pow. 27 300  $\times$ .

*Fig. 5.* Supraoptic nucleus. Fragment of cell nucleus. Dilations of perinuclear space, multiple lysosomes in the vicinity of the Golgi apparatus.  $\times 24\ 000$ .

*Ryc. 5.* Jądro nadwzrokowe. Fragment jądra komórkowego. Poszerzenie przestrzeni okołojądrowej oraz duża ilość lizosomów w okolicy aparatu Golgiego. Pow. 24 000  $\times$ .

*Fig. 6.* Supraoptic nucleus. Neurosecretory granules, numerous neurotubules and mitochondria in the axon.  $\times 15\ 000$ .

*Ryc. 6.* Jądro nadwzrokowe. We włóknach osiowych widoczne ziarnistości neurosekrecyjne i znaczna ilość neurotubul i mitochondriów. Pow. 15 000  $\times$ .

*Fig. 7.* Paraventricular nucleus. Large nucleus with electron-dense nucleolus and well developed Golgi apparatus with empty channels. Multivesicular body present.  $\times 17\ 000$ .

*Ryc. 7.* Jądro przykomorowe. Duże jądro z elektronowo-gęstym jąderkiem i dobrze wykształconym aparatem Golgiego o pustych kanałach. Widoczne również ciało wielopęcherzykowe. Pow. 17 000  $\times$ .

*Fig. 8.* Paraventricular nucleus. Optically empty channels of the Golgi apparatus, some of them distinctly dilated.  $\times 43\ 500$ .

*Ryc. 8.* Jądro przykomorowe. Aparat Golgiego optycznie pusty, niektóre kanały wyraźnie poszerzone. Pow. 43 500  $\times$ .

*Fig. 9.* Paraventricular nucleus. Fragment of the cell. Mitochondria, multivesicular bodies and single nucleolus-like body are present.  $\times 29\ 000$ .

*Ryc. 9.* Jądro przykomorowe. Fragment komórki. Widoczne mitochondria, ciała wielopęcherzykowe i pojedyncze ciało jąderkopodobne. Pow. 29 000  $\times$ .

*Fig. 10.* Paraventricular nucleus. Dilated channels of rough endoplasmic reticulum. Numerous polyribosomes, lysosomes and mitochondria with clear matrix.  $\times 12\ 000$ .

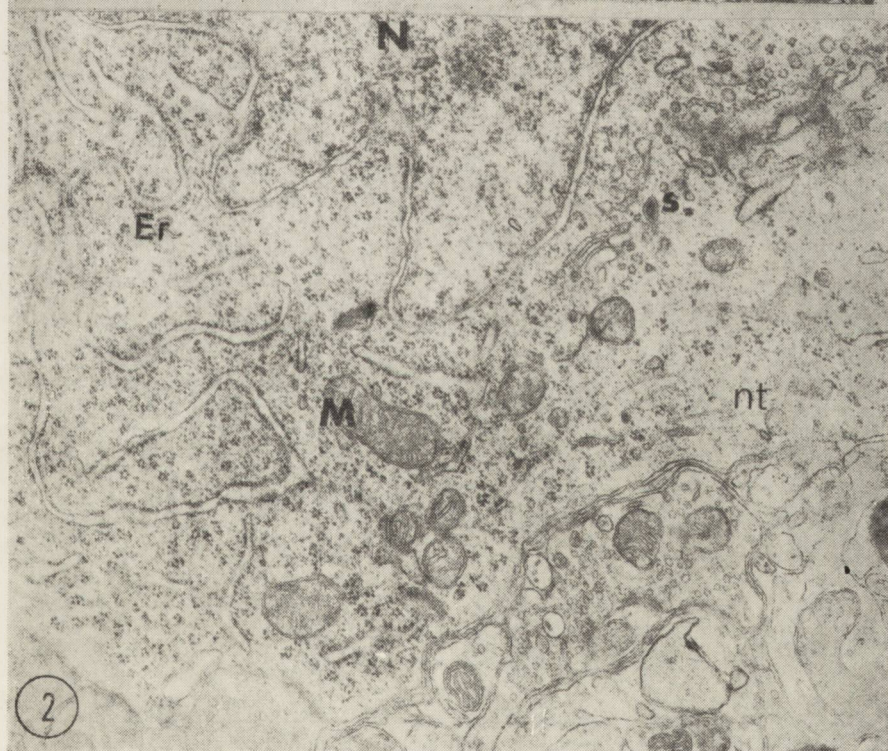
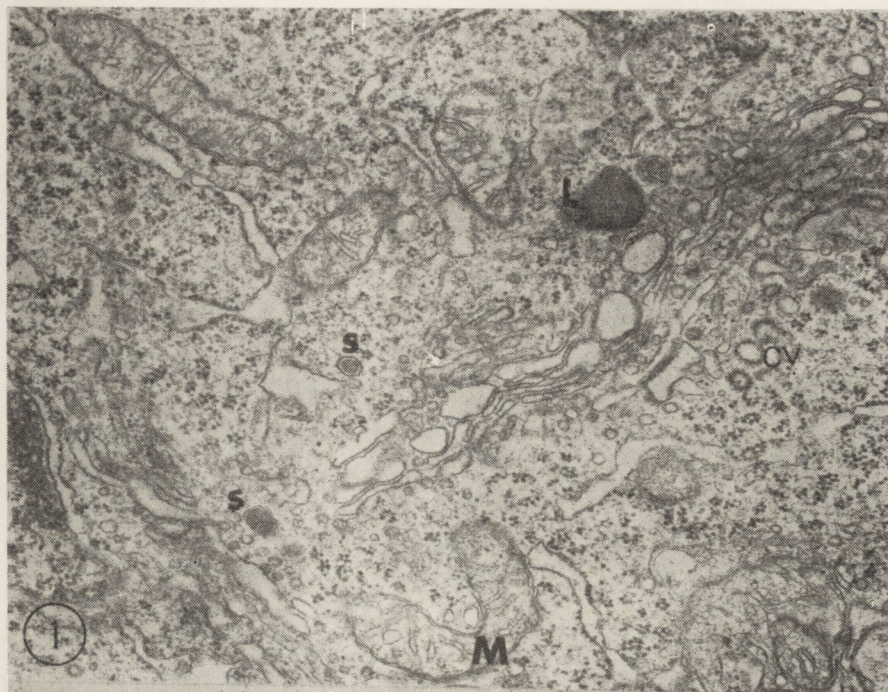
*Ryc. 10.* Jądro przykomorowe. Kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej rozdęte. Widoczne liczne polirybosomy, lizosomy oraz mitochondria o jasnej macierzy. Pow. 12 000  $\times$ .

*Fig. 11.* Paraventricular nucleus. Axon hillock with fragments of rough endoplasmic reticulum, numerous neurotubules, mitochondria and lysosomes.  $\times 14\ 700$ .

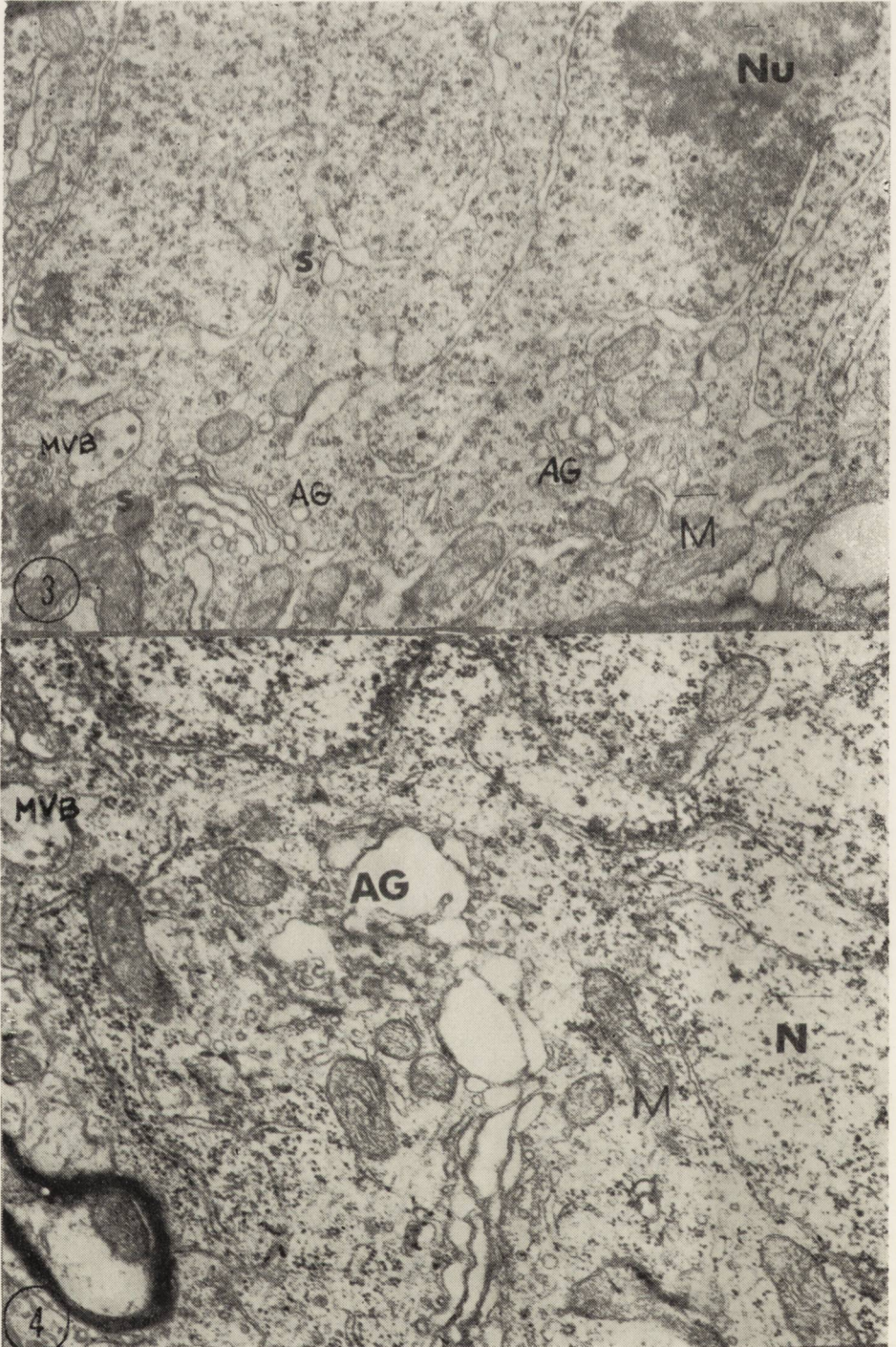
*Ryc. 11.* Jądro przykomorowe. Stożek aksonu z fragmentaryczną siatką śródplazmatyczną szorstką, licznymi neurotubulami, mitochondriami i lizosomami. Pow. 14 700  $\times$ .

Abbreviations	Objaśnienia
N — cell nucleus	N — jądro komórkowe
Nu — nucleolus	Nu — jąderko
AG — Golgi apparatus	AG — aparat Golgiego
Er — rough endoplasmic reticulum	Er — siatka śródplazmat. szorstka
L — lysosomes	L — lizosomy
M — mitochondria	M — mitochondria
MVB — multivesicular body	MVB — ciała wielopęcherzykowe
cv — coated vesicles	cv — pęcherzyki oplaszczone
s — neurosecretory granules	s — ziarnistości neurosekrecyjne
nt — neurotubules	nt — neurotubule
NLB — nucleolus-like body	NLB — ciało jąderkopodobne

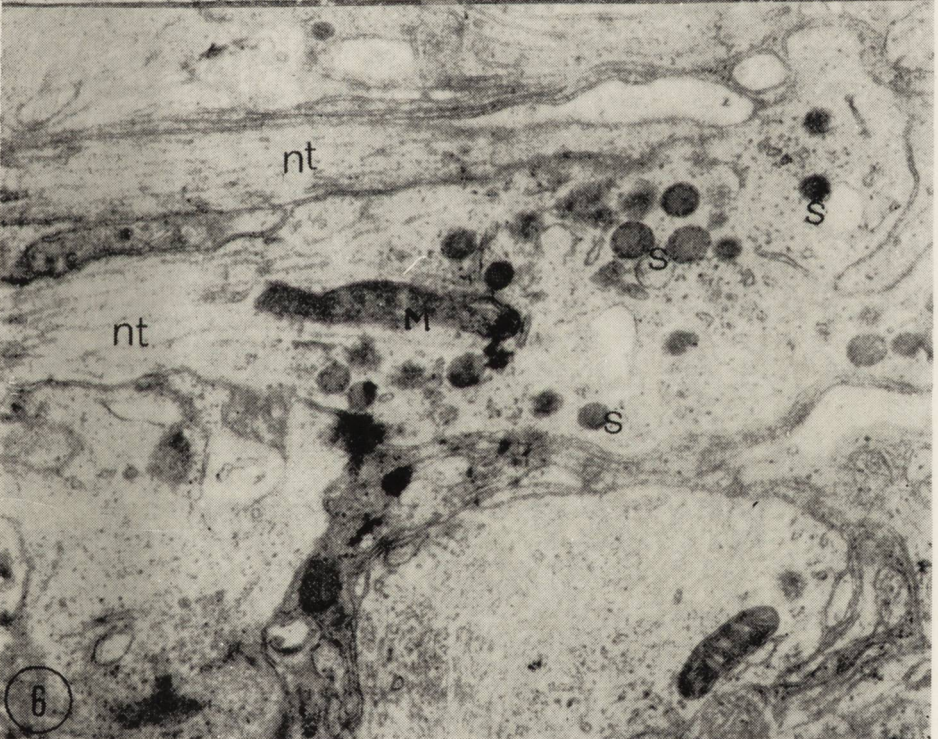
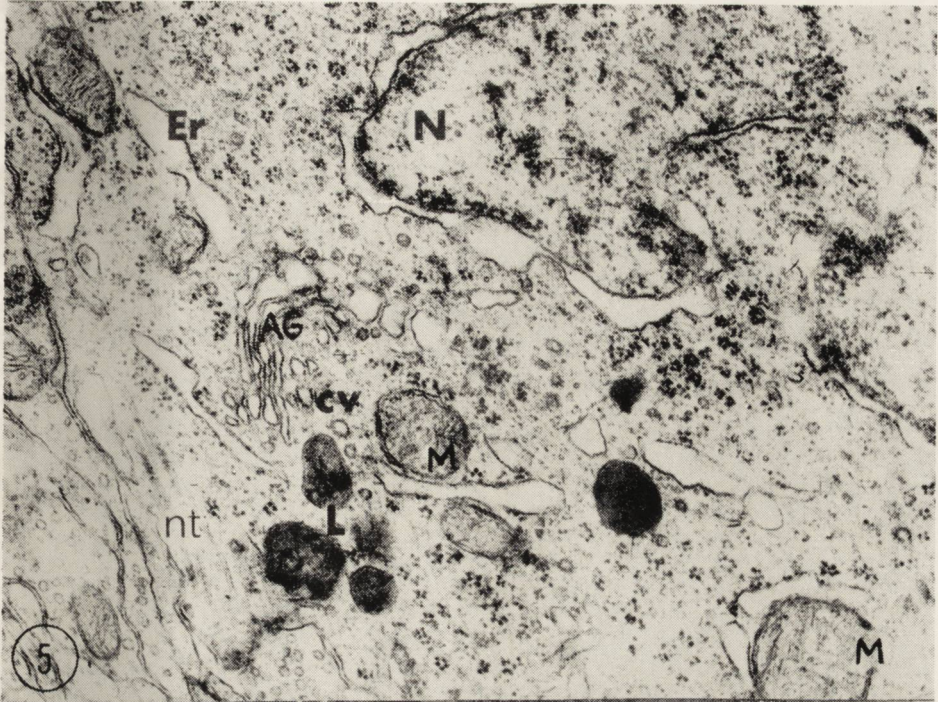




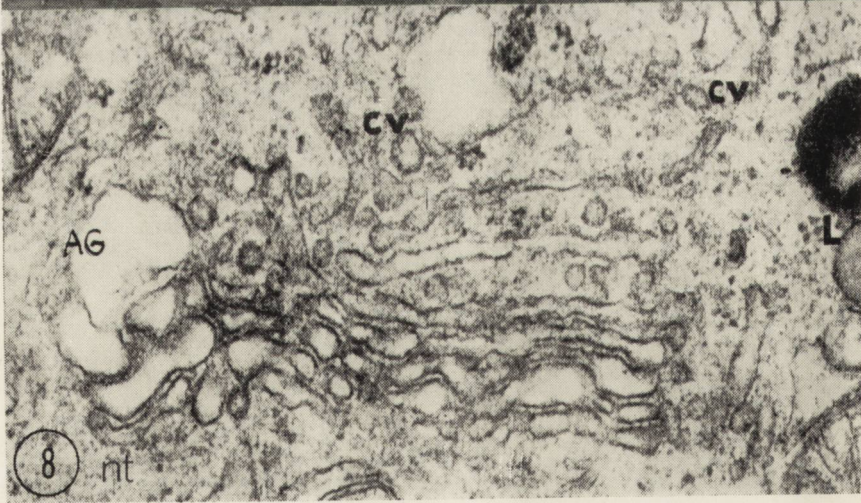
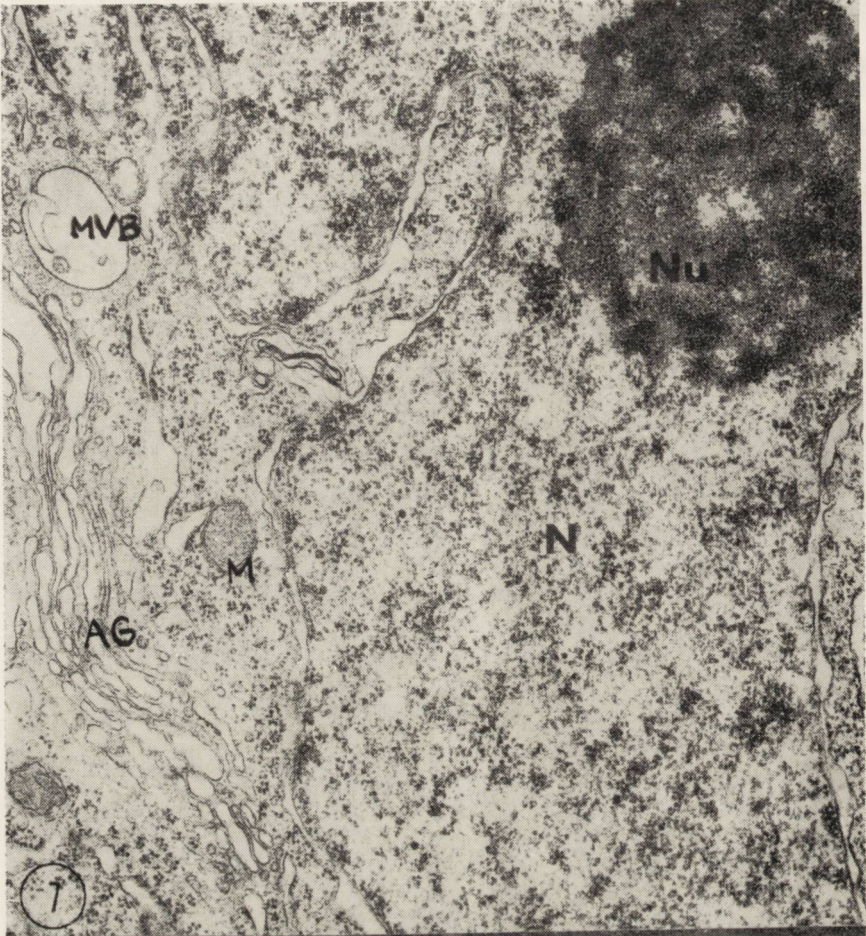




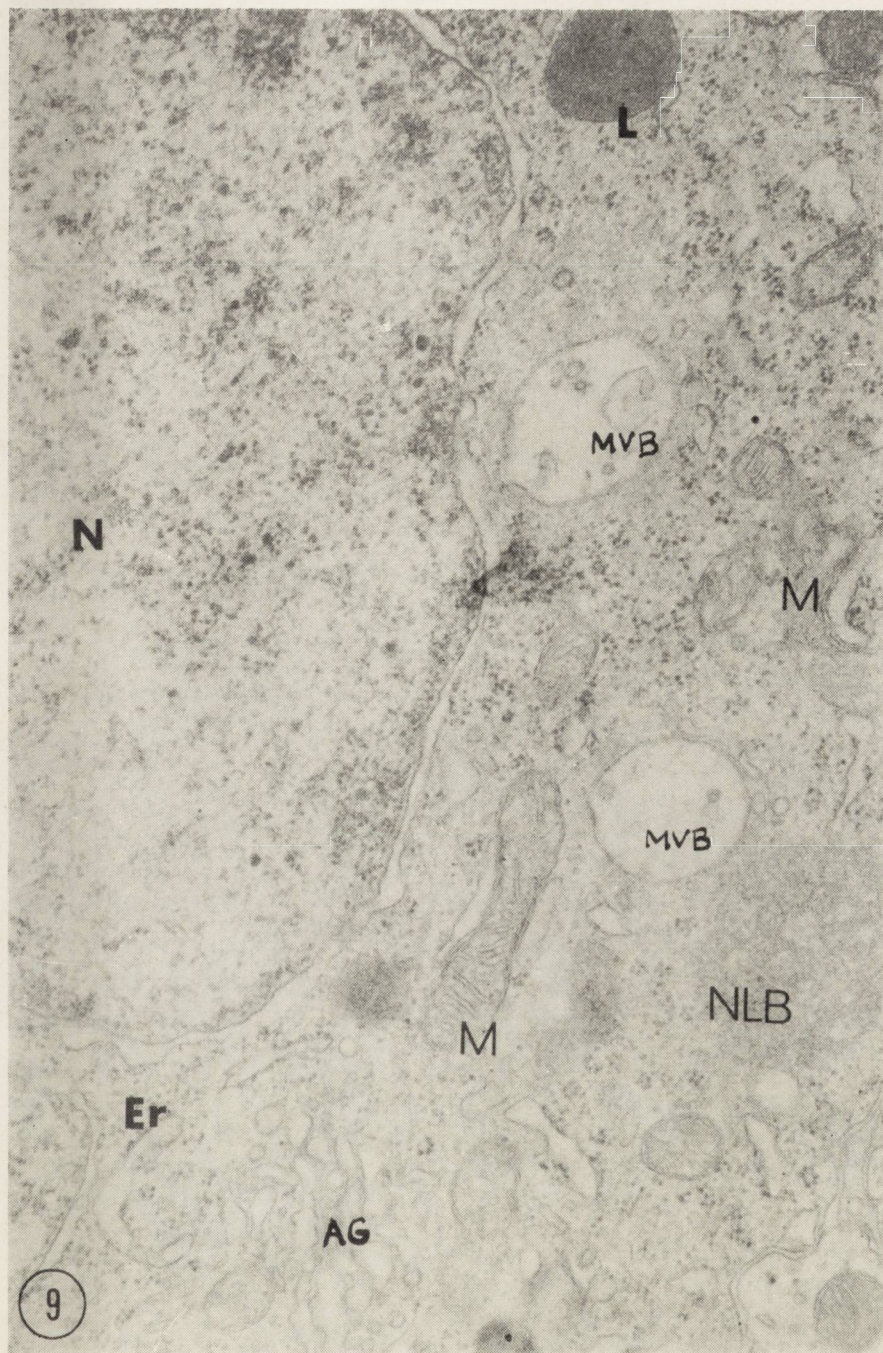




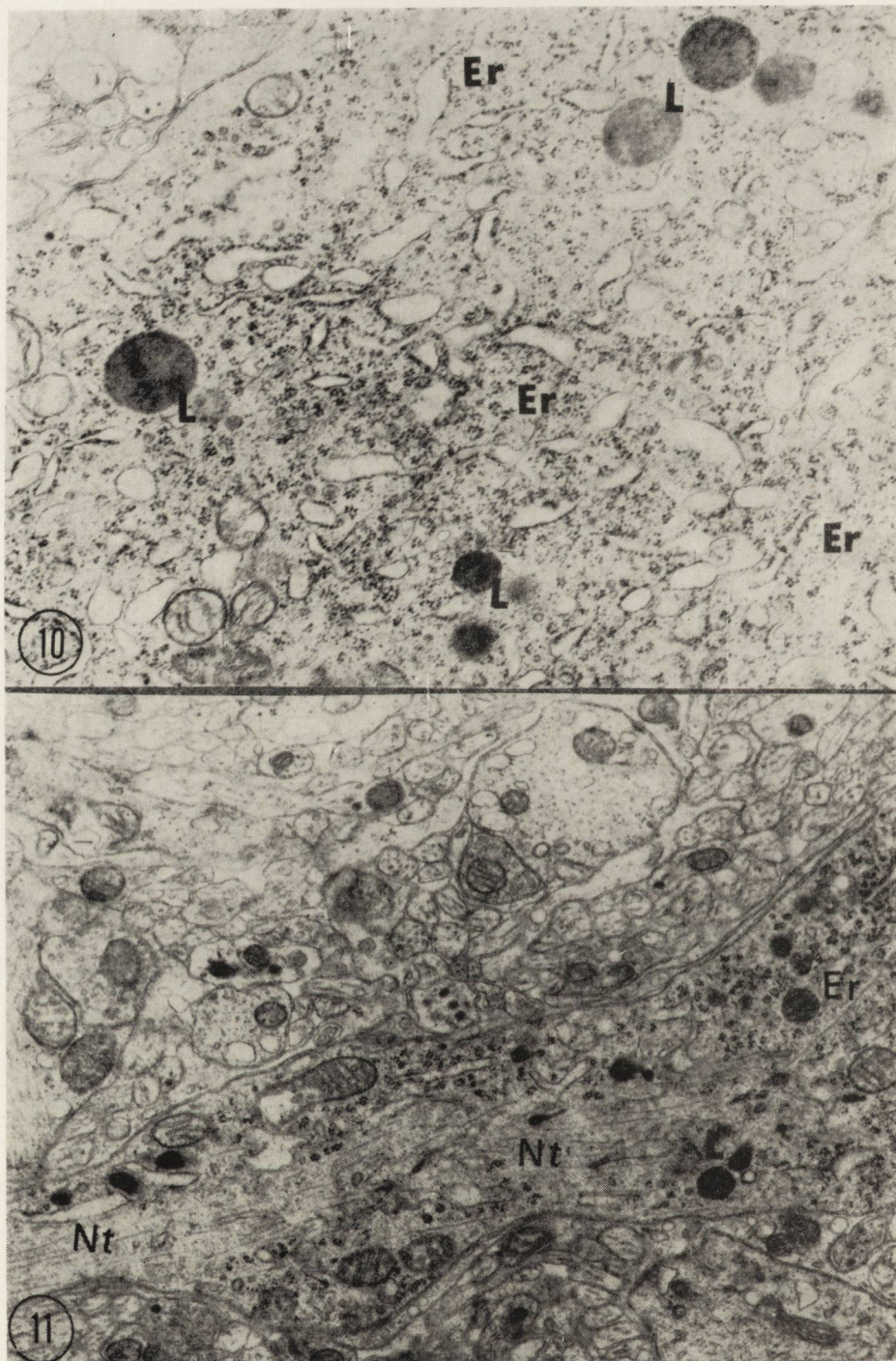














diminished number of neurosecretory granules may be noted in the perikaryon as well as in the processes of the neurons. In some cells, in the vicinity of the Golgi apparatus great number of multivesicular bodies and lysosomes is found. These changes seem to be more pronounced in the paraventricular nucleus. The observed changes are mainly connected with disorders of the secretory function in these nuclei. The effect of morphine on the central nervous system has not been well investigated yet, however, morphine is known to exert a very strong depressing action on the respiratory centers (Florez et al., 1968). A decline of protein synthesis, probably due to hypoxia (Clouet, Ratner, 1967, Clouet, 1971) may also explain a diminished secretory activity in the neurons of the supraoptic and paraventricular nuclei. The interpretation of the changes observed in our experiment is very difficult due to the fact stressed by many authors (Pilgrim 1970, Borowicz, Gajkowska 1972) that neurons of the neurosecretory nuclei, even in normal conditions and in the same time are in various phases of the neurosecretory cycle. Therefore, in the neurons of the supraoptic and paraventricular nuclei we found the cells with normally developed rough endoplasmic reticulum containing neurosecretory granules. However, most neurons displayed the changes characteristic of the inhibition of secretion (optically empty Golgi apparatus, lack of neurosecretory granules in perikaryon and in the axons) with a simultaneous enlargement of the cell nucleus, deep invaginations of the nuclear envelope, great number of pores and electron dense nucleus. These morphological changes may suggest that the cell has initiated the secretory process.

The fact that the organelles in axons (particularly neurotubules) were not damaged indicated normal transport and flow of neurosecretory granules (Flament-Durant, Dustin, 1972, Edstrom et al. 1973). The amount of neurosecretory granules encountered in the fibers of the supraoptic nucleus was much greater than the amount observed in the fibers of the paraventricular nucleus. Although, this observation does not permit to draw conclusions, nevertheless, seems to imply that under the effect of morphine there is total inhibition or decline of secretory activity of the neurons of the paraventricular nucleus.

#### CONCLUSIONS

1. Acute morphine poisoning affects the activity of the cells of the supraoptic and paraventricular nuclei causing diminished synthesis of neurosecretory granules.
2. The intensity of the changes is more pronounced in the neurons of the paraventricular nucleus than in the supraoptic nucleus.



J. W. Borowicz, B. Gajkowska

BADANIA MIKROSKOPOWO-ELEKTRONOWE JĄDRA NADWZROKOWEGO  
I PRZYKOMOROWEGO PODWZGÓRZA MÓZGU SZCZURA W OSTRYM  
ZATRUCIU MORFINĄ

## Streszczenie

Badano ultrastrukturę jądra nadwzrokowego i jądra przykomorowego podwzgórza mózgu szczura po ostrym zatruciu morfiną. Wykazano, że *morphinum hydrochloricum* w dawce 50 mg/kg wagi ciała wpływa na aktywność komórek neurosekrecyjnych badanych jąder. Obserwowane zmiany morfologiczne w układzie GERL wskazują na zmniejszenie syntezy ziarnistości neurosekrecyjnych. Zmiany te są bardziej nasilone w neuronach jądra przykomorowego.

E. B. Борович, Б. Гайковска

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ  
СУПРАОПТИЧЕСКОГО И ПАРАВЕНТРИКУЛЯРНОГО ЯДЕР  
ГИПОТАЛАМУСА КРЫС ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ МОРФИЕМ

## Резюме

Исследовали ультраструктуру супраоптического и паравентрикулярного ядер гипоталамуса при остром отравлении морфием.

Было обнаружено, что гидрохлорид морфия в дозе 50 мг/кг веса тела влияет на активность нейросекреторных клеток обоих исследованных ядер. Наблюдаемые морфологические изменения в системе ГЭРЛ указывают на снижение синтеза нейросекреторной зернистости. Эти изменения были более значительными в нейронах паравентрикулярного ядра.

## REFERENCES

1. Borowicz J., Gajkowska B.: Zmiany w ultrastrukturze neuronów jądra nadwzrokowego szczura w wyniku odwodnienia organizmu. *Patol. Pol.* 1972, 23, 247—261
2. Borowicz J., Jurkiewicz J., Olszewska K.: Electron microscopic changes in acute morphine poisoning of the rat brain. *Annals Med. Sect. Pol. Acad. Sc.* 1974, 19, 2.
3. Gajkowska B.: Zmiany mikroskopowo-elektronowe jądra nadwzrokowego i jądra przykomorowego podwzgórza szczura w niedoczynności nadnerczy. *Neuropatol. Pol.*, 1974, 12, 329—343.
4. Clouet D.: The effects of narcotic analgesics on protein and RNA metabolism in „Narcotic Drugs”, *Biochemical Pharmacology* (D. H. Clouet, ed.) New York 1971.
5. Dodge P., Takemori A.: Changes in rat cerebral glycolytic intermediates in vivo after treatment with morphine, nalorphine or pentobarbital. *Biochem. Pharmacol.* 1969, 18, 1873—1882.
6. Edström A., Hansson H., Norstrom A.: Effect of chlorpromazine and tetracaine on the rapid axonal transport of neurosecretory material in the hypothalamo-neurohypophyseal system of rat. *Z. Zellforsch.* 1973, 143, 71—91.



7. Eidelberg E., Schwartz A.: Possible mechanism of action of morphine on brain. *Nature* 1970, 225, 1172.
8. Flament-Durand J., Dustin P.: Studies on the transport of secretory granules in the magnocellular hypothalamic neurons. I. Action of colchicine on axonal flow and neurotubules in the paraventricular nucleus. *Z. Zellforsch.* 1972, 130, 455—462.
9. Florez J., Mc Carthy L., Borison H.: A comparative study in the cat of the respiratory effects of morphine. *J. Pharmacol. Ex. Therap.* 1968, 163, 445—448.
10. George R.: The effects of narcotic analgesics on the hypothalamus: Pituitary gland in „Narcotic Drugs” *Biochemical Pharmacology* (D. H. Clouet, ed.) New York 1971.
11. Pilgrim Ch.: Function of lysosomes in neurosecretory cells. In *Aspects of Neuroendocrinology*, 1970, 349—350.
12. Takemori A.: Effects of central depressant agents on cerebral G-6-P-dehydrogenase activity of rats. *J. Neurochem.* 1965, 12, 407—415.
13. Way E., Loh H., Shen F.: Neuroanatomical correlates of morphine dependence. *Science* 1968, 162, 1219.

Authors address: Electron Microscopy Unit, Experimental and Clinical Medical Research Centre, 3 Dworkowa Str. 00-784 Warszawa.



MIECZYŚLAW WENDER, HELENA FILIPEK-WENDER,  
JANINA STANISŁAWSKA

## CHOLESTERYL ESTERS AND NONESTERIFIED FATTY ACIDS OF RAT BRAIN IN TRIETHYL TIN INDUCED EDEMA \*

Institute of Nervous and Sensory Organs Diseases and Department of Biochemistry of the Institute of Physiological Sciences  
Academy of Medicine, Poznań, Poland

In our previous investigations of the content and composition of brain cholesteryl esters (CE) in various demyelinating diseases as well as in experimental models leading to myelin decomposition we have shown that changes in both the concentration and fatty acid (FA) composition of CE of the brain are a characteristic feature for these pathological processes.

The dominating cholesteryl ester species in multiple sclerosis (M.S.) plaques was made up to monoenoic esters, with all the other fractions (saturated as well as polyunsaturated esters) contributing at considerably lower proportions to the total. Cholesteryl esters extracted from demyelinated brain areas from patients with multiple sclerosis differed significantly with respect to proportions of individual esters from those of carbon monoxide myelinopathy and of subacute sclerosing panencephalitis (Wender et al. 1974).

Comparative histochemical and biochemical studies (Petrescu et al. 1975) have shown that in early demyelinating foci, where numerous lipomacrophages can be revealed by means of histochemical techniques, it is the monoenoic CE fraction which makes up the bulk of CE found in these plaques. In older plaques, where the number of lipomacrophages is considerably smaller, the proportion of saturated and polyunsaturated FA esterified with cholesterol increases, at the expense of the monoenoic fatty acyl residues mainly. The observed compositional changes

---

\* This investigation was supported by the Polish Academy of Sciences (No 09.4.1.3.2.2.).



occurring in the course of ageing of the lesion are most likely the result of a net effect of both the active esterification of cholesterol with FA, and hydrolysis of the esters formed as well as of the consequent discharge of products formed.

In the brain of guinea pigs with EAE the monoenoic esters contributed at significantly increased proportions to the total at the expense of polyenoic esters, the decline in the relative contribution of polyenoic esters correlating appreciably with the advancement of the illness (Wender et al. 1976).

In cyanide encephalopathy, appreciable alterations of the brain CE composition, appertaining mainly to the polyenoic esters were seen in all experimental groups, i.e. in the early as well as in the late periods following HCN intoxication, without any correspondence of these changes to the macrophage reaction, which is usually seen only during the proper demyelinating period (Wender et al. 1976).

Basing on these observations we have raised the suggestion that some pathogenic factors or conditions, affecting enzyme activities responsible for esterification of cholesterol or hydrolysis of CE, as well as those modifying the actual concentration and composition of the respective substrates may be responsible for the early concentration and compositional changes independently of processes leading to accumulation or discharge of CE during the chemical phase of myelin decay, in which macrophages are grossly involved. We think that esterification of cholesterol could function as an early primary factor injuring the myelin membrane. It is conceivable to assume that even a slight degree of esterification of cholesterol may sufficiently weaken the structure and function of the myelin sheath to promote its further degradation.

To get some more data for the support of our view we have undertaken a study on the brain CE content and composition as well as on the nonesterified fatty acid (NEFA) level as one of the substrates for esterification of cholesterol in another model of leukoencephalopathy, produced by TET intoxication, during which the myelin sheaths become injured as a result of cytotoxic edema, but without involvement of lipomacrophages and without signs of chemical degradation of the sheaths.

#### MATERIAL AND METHODS

The experiments were conducted on Wistar rats of either sex, weighing 200 to 300 g. Experimental animals were injected intraperitoneally with 4 mg triethyl tin sulphate (TET) per kg of body weight. Three experimental groups comprised animals sacrificed 5 hours, 24 hours and 28 days following TET administration. The animals were decapitated under



ethyl ether anaesthesia, the brains removed instantly and separated into grey and white matter and immediately extracted. All manipulations were performed at 0°C.

**Histology.** For histological purposes, frozen sections were stained according to Spielmeyer and H+E. Paraffin embedded material was stained by Klüver-Barrera, Nissl and H+E methods. Celloidine embedded material was stained according to Woelcke-Heidenhain, as well as by the Nissl and H+E technique.

**Chemical methods.** The grey and white matter specimens were homogenized with ice cold chloroform:methanol (2:v/v), and homogenates from 10 or 5 brains respectively were pooled and further processed according to the extraction procedure of Folch-Pi et al. (1957). The experimental conditions adopted for NEFA determinations were such as to ensure comparable results between the control and experimental groups, i.e. the brain specimens being subjected to extraction at preselected time intervals after decapitation, to keep the postmortem FA release from the fresh brains at comparable rates (Strcsznajder et al. 1972, Bazan, 1970).

The extracted lipids were separated by means of thin layer chromatography according to the degree of unsaturation of the fatty acyl residues essentially as described by Tichý (1971). The cholesterol content of the total CE and of its fractions was determined essentially according to Vahouny et al. (1963). For details see our previous publication (Wender et al. 1973).

The nonesterified FA content of the brain specimens was determined as follows. The chloroform:methanol extracts equivalent to about 0.5 g of brain tissue were evaporated to dryness at 45°C under a gentle stream of nitrogen, and the dry residues extracted with hexane. The hexane extracts were passed through activated silicic acid columns and the neutral lipids extracted with 12% ethyl ether in hexane. The free fatty acid content in these extracts was determined using microtitration according to Dale as modified by Trout et al. (1960).

## RESULTS

The experimental rats developed a clinical syndrome closely corresponding to that described by Magee et al. (1957) as characteristic for TET-induced cerebral edema.

**Morphology.** Histological evaluation of the experimental animal brains revealed diffuse spongioid changes predominantly in the white matter. The characteristic pattern were the numerous irregular and sharply demarcated empty spaces. In general in the white matter neither glial



nor mesenchymal reaction was seen. Many cortical neurocytes demonstrated an acute vacuolar degeneration. The perivascular Virchow-Robin spaces were broadened. The above described changes were seen both in the early and in the late experimental period.

**Biochemistry.** The results obtained in the studies of cerebral white matter are presented in Tables 1 and 2. During the very early period (5 hours after TET injection) of this experimental disease, the total CE content per g of cerebral white matter dropped to almost one half of the control values. This concentration change was accompanied by significant compositional alterations as reflected in both the percent contribution of the individual ester fractions and in their molar concentrations.

At this stage of the illness the tri-, and tetraenoic esters were present at a significantly lower percentage on the expense of saturated and penta-, and hexaenoic ones. However, when judged on the basis of molar concentrations it appeared that it was almost entirely the tri-, and tetraenoic fraction which was responsible for the drop in the total CE content as well as for the shift in their percent distribution.

24 hours after administration of the toxic agent, the total CE content was still lower than in control brains, but the percent composition of the particular esters, due to a considerable dispersion of individual values was no longer statistically significant. However, it was still the  $\Delta_{3+4}$  CE fraction which showed significantly lower molar concentration values than control specimens, although compared to the first experimental group — a decisive increase within this fraction could be seen.

In the third experimental group, comprised of animals sacrificed 28 days following intoxication, the total CE content was significantly increased, both in relation to control and the two former experimental groups. When compared with controls the relative CE composition was again shifted towards higher proportions of saturated and penta-, and hexaenoic esters, the percentage of tri-, and tetraenoic esters showing still significantly lower values. However, the absolute amounts of the individual CE fractions in the white matter of these animals compared to control animals were not only significantly but also considerably increased in all instances except for the tri-, and tetraenoic CE fraction. The rates of accumulation were different for the individual esters, and so, the saturated esters were concentrated nearly 5 times, the penta-, and hexaenoic almost 3 times, the mono-, and dienoic ester fraction ca 2 times, whereas the fraction of cholesterol esterified with three- and fourfold unsaturated fatty acids only just reached its control concentration.



Table 1. Cholesteryl esters and nonesterified fatty acids in the cerebral white matter of rats in triethyl tin intoxication  
 Tabela 1. Estry cholesterolu i niezestryfikowane kwasy tłuszczowe istoty białej mózgu szczurów w zatruciu trójetylkim cyny

Experimental conditions Warunki doświadczenia	Total cholesteryl esters in $\mu\text{M}/100$ g of fresh tissue Ogólna zawartość estrów cholesterolu w $\mu\text{M}/100$ g świeżej tkanki	Nonesterified fatty acids in $\mu\text{M}/100$ g of fresh tissue Niezestryfikowane kwasy tłuszczowe w $\mu\text{M}/100$ g świeżej tkanki	NEFA/CE molar ratio Stosunek molarny	Fractions of cholesteryl esters in $\mu\text{M}/100$ g of fresh tissue Fracje estrów cholesterolu w $\mu\text{M}/100$ g świeżej tkanki				
				Fraction I ( $_0\Delta$ )	Fraction II ( $_1\Delta$ )	Fraction III ( $_2\Delta$ )	Fraction IV ( $_3+4\Delta$ )	Fraction V ( $_5+6\Delta$ )
Normal animals Norma	$10.9 \pm 2.1$	$97.6 \pm 7.4$	8.9	$0.49 \pm 0.08$	$0.59 \pm 0.08$	$0.62 \pm 0.08$	$8.38 \pm 1.71$	$0.83 \pm 0.18$
5 hrs after TET intoxication 5 godz. po zatruciu TET	$5.4 \pm 0.5^*$	$78.2 \pm 3.6^*$	14.5	$0.62 \pm 0.05$	$0.59 \pm 0.08$	$0.47 \pm 0.05$	$2.54 \pm 0.46^*$	$1.11 \pm 0.08$
24 hrs after TET intoxication 24 godz. po zatruciu TET	$6.4 \pm 0.8$	$65.5 \pm 7.6^*$	10.1	$0.44 \pm 0.05$	$0.34 \pm 0.16^*$	$0.49 \pm 0.02$	$4.32 \pm 0.96$	$0.85 \pm 0.04$
28 days after TET intoxication 28 dni po zatruciu TET	$15.8 \pm 1.1^*$	$88.6 \pm 6.0$	5.6	$2.12 \pm 0.39^*$	$1.35 \pm 0.26$	$1.32 \pm 0.18^*$	$8.82 \pm 0.91$	$2.22 \pm 0.31^*$

Mean  $\pm$  SE

Średnia  $\pm$  średni błąd średniej

Significant differences marked by\*

Istotne różnice oznaczono\*



Table 2. Fractions of cholesteryl esters in the cerebral white matter of rats in triethyl tin intoxication expressed in % of total cholesteryl esters

Tabela 2. Frakcje estrów cholesterolu istoty białej mózgu szczurów w zatruciu trójetylkciem cyny wyrażone w % całości estrów cholesterolu

Experimental conditions Warunki doświadczalne	Fraction I ( <sub>0</sub> Δ)	Fraction II ( <sub>1</sub> Δ)	Fraction III ( <sub>2</sub> Δ)	Fraction IV ( <sub>3</sub> + <sub>4</sub> Δ)	Fraction V ( <sub>5</sub> + <sub>6</sub> Δ)
Normal animals Norma	5.2±0.7	7.8±1.5	8.2±1.7	71.3±3.3	7.5±1.6
5 hrs after TET intoxication 5 godz. po zatruciu TET	12.0±1.1*	11.8±1.5	9.5±1.1	45.0±4.6*	21.7±1.9*
24 hrs after TET intoxication 24 godz. po zatruciu TET	8.1±1.8	6.2±1.8	8.4±1.3	62.8±6.6	14.6±2.4
28 days after TET intoxication 28 dni po zatruciu TET	13.0±2.3*	8.2±1.5	8.0±0.8	56.9±5.9*	13.9±2.0*

Mean ± S.E.

Średnia ± średni błąd średniej

Significant differences marked by\*

Istotne różnice oznaczono\*

The concentrations of NEFA in the white matter of experimental rats sacrificed during the early stages after intoxication (5 and 24 hours) were significantly, though only by about 20 and 30 per cent (resp.) lower than in control specimens. However the molar ratios of the NEFA and CE varied considerably between the individual groups. In the first experimental group, i.e. 5 hours after intoxication, this ratio increased by about 63 per cent to reach control values in animals sacrificed 24 hrs after TET administration and to drop in the last experimental group to less than 63 per cent of control values.

The results appertaining to the cerebral grey matter are presented in Tables 3 and 4.

Compared to the white matter, the grey one contains almost three times less esterified cholesterol. However, contrary to the white matter, there was no decrease of the CE content observed in the early stages of the experiment. In the last experimental group however (4 weeks after TET administration) the concentration of total esterified cholesterol reaches values 2.7 times as high as in normal brains.



Table 3. Cholesteryl esters and nonesterified fatty acids in the cerebral grey matter of rats in triethyl tin intoxication  
 Tabela 3. Estrы cholesterolu i niezestryfikowane kwasy tłuszczowe istoty szarej mózgu szczurów w zatruciu trójetylkiem cyny

Experimental conditions Warunki doświadczalne	Total cholesteryl esters in $\mu\text{M}/100\text{ g}$ of fresh tissue Ogólna zawartość estrów cholesterolu w $\mu\text{M}/100\text{ g}$ świeżej tkanki	Nonesterified fatty acids in $\mu\text{M}/100\text{ g}$ of fresh tissue Niezestryfikowane kwasy tłuszczowe w $\mu\text{M}/100\text{ g}$ świeżej tkanki	NEFA/CE molar ratio Stosunek molarny	Fractions of cholesteryl esters in $\mu\text{M}/100\text{ g}$ of fresh tissue Fracje estrów cholesterolu w $\mu\text{M}/100\text{ g}$ świeżej tkanki				
				Fraction I ( $_0\Delta$ )	Fraction II ( $_1\Delta$ )	Fraction III ( $_2\Delta$ )	Fraction IV ( $_3+4\Delta$ )	Fraction V ( $_5+6\Delta$ )
Normal animals Norma	$2.94 \pm 0.50$	$152.8 \pm 4.2$	51.9	$0.28 \pm 0.10$	$0.41 \pm 0.10$	$0.31 \pm 0.10$	$1.42 \pm 0.13$	$0.52 \pm 0.13$
5 hrs after TET intoxication 5 godz. po zatruciu TET	$2.90 \pm 0.33$	$122.4 \pm 7.0^*$	42.4	$0.24 \pm 0.05$	$0.60 \pm 0.16$	$0.24 \pm 0.05$	$1.16 \pm 0.13$	$0.66 \pm 0.05$
24 hrs after TET intoxication 24 godz. po zatruciu TET	$3.56 \pm 0.31$	$114.8 \pm 7.5^*$	32.2	$0.44 \pm 0.08$	$0.34 \pm 0.02$	$0.26 \pm 0.02$	$1.55 \pm 0.28$	$0.98 \pm 0.10^*$
28 days after TET intoxication 28 dni po zatruciu TET	$7.96 \pm 1.69^*$	$135.2 \pm 5.6$	17.0	$1.40 \pm 0.28^*$	$0.83 \pm 0.13^*$	$0.75 \pm 0.18^*$	$3.48 \pm 0.85^*$	$1.50 \pm 0.39^*$

Mean  $\pm$  SE

Średnia  $\pm$  średni błąd średniej

Significant differences marked by\*

Istotne różnice oznaczono\*



Table 4. Fractions of cholesteryl esters in the cerebral grey matter of rats in triethyl tin intoxication expressed in % of total cholesteryl esters

Tabela 4. Fractions estrów cholesterolu istoty szarej mózgu szczurów w zatruciu trójetylkim cyny wyrażone w % całości estrów cholesterolu

Experimental conditions Warunki doświadczalne	Fraction I ( <sub>0</sub> Δ)	Fraction II ( <sub>1</sub> Δ)	Fraction III ( <sub>2</sub> Δ)	Fraction IV ( <sub>3</sub> + <sub>4</sub> Δ)	Fraction V ( <sub>5</sub> + <sub>6</sub> Δ)
Normal animals Norma	9.3±1.6	12.9±1.1	10.3±1.5	50.3±3.9	17.2±2.4
5 hrs after TET intoxication 5 godz. po zatruciu TET	9.0±1.8	19.4±2.8*	8.2±2.6	40.1±2.8	23.3±2.4
24 hrs after TET intoxication 24 godz. po zatruciu TET	13.1±3.2	9.2±0.9*	7.4±0.9	42.6±4.9	27.7±3.6*
28 days after TET intoxication 28 dni po zatruciu TET	18.3±2.5*	11.8±1.9	8.9±1.3	42.6±2.7	18.4±1.8

Mean ± S.E.

Średnia ± średni błąd średniej

Significant differences marked by\*

Istotne różnice oznaczono\*

The percent composition of grey matter CE remained fairly constant during the TET induced experimental disease, the only changes seen, were the statistically significant increase in the percentage of <sub>5+6</sub>Δ enoic CE in the second experimental group (24 hrs following TET administration) and the almost doubled percentage of saturated esters in the grey matter of animals killed 28 days after intoxication.

Contrary to the white matter, the molar concentrations of individual CE remained unaltered in the early phase of the experimental disease, except for the significant elevation of the <sub>5+6</sub>Δ enoic CE in the second experimental group. In the late phase of the illness, the molar concentration of all CE fractions was elevated, the saturated esters showing the highest indices of accumulation (a 5 fold increase) followed by the penta-, and hexaenoic esters (3 fold increase). The remaining fractions were increased twofold.

The level of NEFA in the grey matter of normal rats was significantly higher (50%) than in the white matter. In the course of the experiment the free fatty acid level behaved similarly to that in the white matter.

The molar FA/CE ratios were due to the lower CE and higher FA contents in the grey matter obviously different from those in the white



one. Unlike in the white matter, they did not change during the early stages of the experiment, instead in the late one, this ratio was almost threefold decreased.

#### DISCUSSION

Intoxication with triethyl tin sulphate brings about generalized biochemical effects, such as inhibition of oxidative phosphorylation and of mitochondrial ATP-ase, depression of tissue respiration, both *in vivo* and *in vitro*. However these overall effects are unspecific as far as the nervous tissue is concerned, and their significance for the development of brain edema and of other pathological changes in the CNS is of questionable value. These changes are particularly prominent in the cerebral white matter, where massive intramyelin vacuoles filled with edematous fluid are formed following TET intoxication. According to Kozik (1972) the cortical neurocytes are evidently swollen in this experimental model as well.

In our previous studies (Wender et al. 1975) we have shown that TET intoxication exerts an inhibitory effect on the activity of several  $s$ RNA amino acyl synthetases of the white matter and on amino acid incorporation rates (Wender et al. 1974). According to our experience (Wender et al. 1973), the content of phospho-, and galactolipids as well as the ganglioside spectrum of the nervous tissue is practically unchanged, which would indicate that the metabolism of these components of the neuronal membranes remains fairly unimpaired during this experimental disease.

Instead, in the TET induced brain edema, there have been observed decreased content of free cholesterol along with changes in the CE content. In the present study, which aimed at following up the compositional changes in the CE pattern as well as at correlating the NEFA concentration with the amount of esterified cholesterol in the white and grey matters during the course of TET induced cytotoxic brain edema, we have found that, very much like in cyanide induced encephalopathy (Wender et al. 1976), both the cholesteryl ester content and composition undergo substantial alterations as early as 5 hours after administration of the toxic agent.

The drop in the total CE content of the white matter 5 hrs following intoxication could be easily explained by the diluting effect of the edematous fluid. However, if this would be the only cause responsible for the concentration change of CE, all fractions should be decreased to approximately the same extent. This was not the case, the only depleted CE species were the tri-, and tetraenoic esters, the other fractions



remaining at more or less constant levels. Also the much smaller decrease of NEFA (20—30 per cent) compared to over 50 per cent decrease of CE would speak against the simple diluting effect of the edematous fluid on the observed concentration changes of compounds under investigation.

It thus should be assumed that TET intoxication brought about a considerable change in the discharge rates of CE and NEFA, the tri-, and tetraenoic esters being the most preferred compounds transported off from the affected tissue. However an increased esterification of cholesterol during this period should also be assumed, and this because of the fact that the concentration of tri-, and tetraenoic CE becomes almost doubled during a period less than 20 hours (difference between the first and second experimental groups).

The observed accumulation of CE in the late phase should be regarded as resulting from an increased esterification of cholesterol which obviously exceeded the capacity of the tissue to remove these esterification products, the saturated esters showing the highest coefficients of accumulation (4.3) followed by the penta and hexaenoic esters (2.7), the monoenoic and dienoic esters (2.26 and 2.12 resp.) and finally the tri-, and tetraenoic ones (1.05).

The obviously different behaviour of the CE of the grey matter in the course of the experimental disease can be explained by the fact, that it is mainly the white matter that develops severe intramyelin edema. Instead, those resulting from alterations in the cholesterol metabolism evoked by the noxious agent applied (increased esterification and changes in the composition of the NEFA pool) have been observed in both cerebral structures.

Esterification of cholesterol in the brain has so far been assumed to serve the process of rendering inert the fatty acids liberated from polar lipids constituting myelin membranes during pathological processes. It could be regarded also as a primary factor that would weaken the structure of the membrane in question — to promote its further disruption.

That is why we were interested in determining the concentration of NEFA along with changes in the CE spectrum in the rat brain during the TET induced brain injury. Several factors, such as anoxia, ischemia, electroconvulsive shocks have been shown to induce an elevation of the free fatty acid pool in the brain (Bazan 1970, Strosznajder et al. 1972).

The results obtained in our experiments, gave no indication as to a definite increase of the NEFA pool after TET intoxication. They also showed that only in the white matter, and only in animals sacrificed 5 hrs following TET administration the molar FA/CE ratio was increased, indicating that only in this stage of the experimental disease — the



release of NEFA exceeded the process of rendering them inert by means of CE formation. We thus are inclined to suggest, that it is probably not so much the amount of NEFA that determine the yield of cholesterol esterification. It should be rather assumed that it is the amount of cholesterol set free from the affected membranes that becomes available for esterification with the free fatty acid pool, and that this determines the formation of cholesterol esters in the brain. The observed compositional changes in the CE pattern are most likely a net effect of both the availability of individual FA in the NEFA pool and the different rates at which the particular CE species are transported off.

The high metabolic activity of the tri-, and tetraenoic CE as well as the accumulation of saturated and  $\Delta_{5+6}$  unsaturated CE in the light of the revealed rapid disappearance of the  $\Delta_{3+4}$  CE just after intoxication on one hand, the preferred release of arachidonate, stearate and docosahexanoate from brains in various experimental conditions or from brain slices during incubation (Lunt and Rowe 1968, Bazan 1970) on the other, is by no means unexpected.

Anyhow, it should again be stressed that the observed alterations in the CE metabolism of the brain in TET induced brain edema were not related to the reaction of macrophages. In this respect our results harmonize with our suggestion raised in the paper on cyanide leucoencephalopathy (Wender et al. 1976) that changes in the brain CE content and composition are the result of pathological disturbances in the overall cholesterol metabolism, determined both by alterations in the concentration and composition of the respective substrates for cholesterol esterification and by changes in the discharge rates of the products formed.

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

ESTRY CHOLESTEROLU I NIEZESTRYFIKOWANE KWASY TŁUSZCZOWE  
MÓZGU SZCZURA W OBRZĘKU WYWOŁANYM TRÓJETYLKIEM CYNY

Streszczenie

Przeprowadzono badanie estrów cholesterolu i niezestryfikowanych kwasów tłuszczowych istoty białej i szarej mózgu szczura w obrzęku wywołanym zatruciem trójetylkiem cyny, podawanym w dawce 4 mg na kg wagi ciała.

We wczesnym okresie po zatruciu stwierdzono spadek ogólnej zawartości estrów cholesterolu w istocie białej mózgu, uzależniony szczególnie od obniżenia stężenia estrów trzy- i czteronienasyconych. W tym samym okresie obserwowano lekki spadek zawartości niezestryfikowanych kwasów tłuszczowych. Powyższe zmiany wydają się uzależnione od efektu rozcieńczenia przez płyn obrzękowy oraz od zwiększenia odtransportowywania niektórych frakcji estrów cholesterolu. W późniejszym okresie występował wyraźny wzrost estyfikacji cholesterolu, przekraczający możliwość odtransportowywania powstałych produktów.



Stwierdzone zaburzenia przemiany estrów cholesterolu w zatruciu trójetylkowym cyny nie są związane z odczynem makrofagów, wydają się natomiast związane z poważnymi odchyleniami w składzie i przemianie lipidowych składników mieliny.

M. Вендер, X. Филипек-Вендер, Я. Станиславска

ЭФИРЫ ХОЛЕСТЕРИНА И НЕЭСТЕРИФИЦИРОВАННЫЕ ЖИРНЫЕ  
КИСЛОТЫ МОЗГА КРЫС ПРИ ОТЕКЕ, ВЫЗВАННОМ ТРЕХОКИСЬЮ ОЛОВА  
(ТЭТ)

Резюме

Были проведены исследования эфиром холестерина и неэстерифицированных жирных кислот белого и серого веществ мозга крыс при отеке, вызванном отравлением ТЭТ в дозе 4 мг/кг веса тела. В ранний период после отравления в белом веществе было обнаружено падение общего содержания эфиров холестерина, зависимое особенно от снижения концентрации три- и тетраненасыщенных эфиров. В этот же период отмечалось незначительное снижение содержания неэстерифицированных жирных кислот. Эти изменения зависят, по всей вероятности, от разведения отечной жидкостью, а также от увеличения транспорта некоторых фракций эфиров холестерина. В более поздний период наступает явное увеличение эстерификации холестерина, превышающее возможности мозговой ткани транспортировать образующиеся продукты.

Обнаруженные нарушения обмена холестеринных эфиров при отравлении ТЭТ не связаны с реакцией макрофагов, однако, по-видимому, связаны с серьезными отклонениями в составе и обмене липидных составных миеллина.

REFERENCES

1. Bazan N. G.: Effects of ischemia and electroconvulsive shock on free fatty acid pool in the brain. *Biochim. Biophys. Acta*, 1970, 218, 1—10.
2. Dawson A., Selwyn M.: The action of trialkyltin compounds on mitochondrial respiration. *Biochem. J.* 1974, 138, 349—357.
3. Folch-Pi J., Lees M., Sloane-Stanley G.: A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 1957, 226, 497—511.
4. Kozik M.: Doświadczalny obrzęk neuronu w świetle badań histoenzymatycznych. *Neuropat. Pol.*, 1972, 10, 1—15.
5. Lunt G. G., Rowe C. E.: The production of unesterified fatty acid in brain. *Biochim. Biophys. Acta*, 1968, 152, 682—693.
6. Magee P., Stoner H., Barnes J.: The experimental production of edema in the central nervous system of the rat by triethyltin compounds. *J. Path. Bact.*, 1957, 73, 107—124.
7. Owsianowski M.: Cholesterol metabolism in TET induced brain oedema. *International Danube Symposium of Neurology, Neuropathology, and Paediatrics Neurology*, Poznań, 1974, 35.
8. Petrescu A., Wender M., Filipek-Wender H., Stanisławska J.: Cholesterol esters in demyelinating lesions in the light of histochemical and biochemical correlations. *IIIrd Neuropath. Conf.*, 1975, Warsaw.



9. Strosznajder J., Gromek A., Łazarewicz J.: Wpływ niedokrwienia na zawartość wolnych kwasów tłuszczowych w mózgu świnek morskich. *Neuropat. Pol.*, 1972, 10, 447—455.
10. Tichý J.: Cholesterol esters in foetal brains. *Neurobiology*, 1971, 1, 162—170.
11. Trout D. L., Estes E. H. Jr., Friedberg S. J.: Titration of free fatty acids of plasma; a study of current methods and a new modification. *J. Lip. Res.*, 1960, 1, 199—202.
12. Vahouny G., Borja C., Weersing S.: Radioactive and analytical determination of free and esterified cholesterol following microthin-layer silicic acid chromatography. *Analyt. Biochem.*, 1963, 6, 555—559.
13. Wender M., Piechowski A., Adamczewska Z.: Biochemical investigations of the rat brain in triethyl tin intoxication. *Neuropat. Pol.*, 1973, 11, 223—234.
14. Wender M., Zgorzalewicz B., Piechowski A.: Cell-free protein synthesis by rat brain in triethyl tin intoxication. *Acta Neurol. scand.*, 1974, 40, 103—108.
15. Wender M., Zgorzalewicz B., Piechowski A.: Activity of sRNA amino acyl synthetases in TET induced brain oedema. *International Danube Symposium of Neurology, Neuropathology and Paediatric Neurology*, Poznań, 1974, 34.
16. Wender M., Filipek-Wender M., Stanisławska J.: Cholesteryl esters of the brain in demyelinating diseases. *Clin. Chim. Acta*, 1974, 54, 269—275.
17. Wender M., Stanisławska J., Filipek-Wender H.: Cerebral cholesteryl esters in cyanide encephalopathy. *Neuropat. Pol.*, in press.
18. Wender M., Filipek-Wender H., Stanisławska J., Goncerzewicz A.: Cerebral cholesteryl ester composition in experimental allergic encephalomyelitis. *Neuropat. Pol.*, in press.

Authors address: Prof. M. Wender, Department of Neurology, 49 Przybyszewskiego Str., 60-355 Poznań, Poland.



## KOMUNIKATY

W dniach od 22 do 27 sierpnia 1976 r. odbędzie się w Waszyngtonie IV Kongres Międzynarodowego Towarzystwa dla Badań Naukowych nad Niedorozwojem Umysłowym. Adres Komitetu Organizacyjnego: IASSMD REGISTRATION c/o Ben Franklin Station, 12th Pennsylvania Ave, P.O. Box 72, Washington, D.C. 20044, USA.



W dniach od 29 sierpnia do 3 września 1976 r. odbędzie się w Bukareszcie V Międzynarodowy Kongres Histochemii i Cytochemii. Adres Komitetu Organizacyjnego: 8 Progresului Str., 70 Bucharest, Romania.



W okresie od 23 do 25 września 1976 r. odbędzie się w Warszawie Polsko-Niemieckie Sympozjum Neuropatologiczne zorganizowane przez Stowarzyszenie Neuropatologów Polskich i Towarzystwo Neuropatologiczne NRD. Tematem sympozjum będą „Chemiczne uszkodzenia mózgu oraz guzy mózgu”. Adres Komitetu Organizacyjnego: Dr med. M. Śmiałek, CMDiK PAN, ul. Dworkowa 3, 00-784 Warszawa.



W okresie od 11 do 16 września 1977 r. odbędzie w Amsterdamie XI Światowy Kongres Neurologii. Głównymi tematami będą:

choroby nerwowo-mięśniowe,  
neuroimmunologia,  
zaburzenia przytomności i świadomości,  
czynniki geograficzne w neurologii,  
doniesienia wolne.

W czasie trwania Kongresu odbędą się następujące posiedzenia:

Towarzystwa Stwardnienia Rozsianego,  
Fundacji Parkinsona,  
Komitetu Bólów Głowy S.F.N.,  
Towarzystwa im. Fultona,  
Międzynarodowej Ligi do Walki z Padaczką.

Adres Sekretariatu Kongresu: c/o Holland Organizing Centre, 16 Lange Voorhout, The Hague, the Netherlands.



ANNA WILMOWSKA-PIETRUSZYŃSKA

WPLYW DOŚWIADCZALNEJ POSOCZNICY GRONKOWCOWEJ  
NA OŚRODKOWY UKŁAD NERWOWY KRÓLIKA  
W WYBRANYCH OKRESACH ROZWOJU

Klinika Neurologii Dziecięcej Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie

Kierownik: doc. dr med. R. Michałowicz

Pracownia Neuropatologii Rozwojowej Centrum Medycyny Doświadczalnej  
i Klinicznej PAN

Kierownik: doc. dr med. M. Dąbska

Zakażenia w okresie okołoporodowym stanowią duże zagrożenie dla niedojrzałego mózgu i mogą być przyczyną zejścia śmiertelnego lub trwałego uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego (Klein, Marcy 1970, Kramer 1971, Nelson 1960, Olding 1966, Smith i wsp. 1956, Ylppö 1937). Zmiany w mózgu wywołane przez bakterie tak rozpowszechnione jak gronkowce, odgrywające znaczną rolę w patologii noworodków i niemowląt nie są wyczerpująco opracowane. Na podstawie dotychczasowych doniesień trudno ustalić w jakim stopniu niedojrzały układ nerwowy jest wrażliwy na zakażenie gronkowcem i określić zespół uszkodzeń występujących w układzie nerwowym płodu i noworodka w przebiegu tego zakażenia. Ze względu na znaczne podobieństwo przebiegu zakażenia gronkowcowego u człowieka i królika (Hagen 1963, Osebold i Gray 1960) wybrano królika do przeprowadzenia badań.

Celem pracy jest analiza zmian morfologicznych w ośrodkowym układzie nerwowym płodów i noworodków króliczych w przebiegu doświadczalnej posocznicy gronkowcowej oraz porównanie ich ze zmianami stwierdzanymi w mózгах królic dorosłych, a ponadto — przesłedzenie odpowiedzi serologicznej u płodów, noworodków i ich matek i porównanie jej z odczynem u królic nieciężarnych.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na królikach nierasowych wagi 2,5—3,5 kg w wieku 1—2 lat. Zwierzęta podzielono na 3 grupy: I — królice ciężar-



ne zakażane na początku 3 dekady ciąży (23 szt), od których uzyskano płody i noworodki (59 szt), II — noworodki królicze zakażane w 1 i 2 dobie życia (47 szt), III — królice dorosłe nieciężarne (30 szt).

Materiał kontrolny stanowiły: Ia — królice ciężarne (8 szt), od których uzyskano płody i noworodki (28 szt), IIa — noworodki królicze w 1 i 2 dobie życia (20 szt), IIIa — królice dorosłe nieciężarne (12 szt).

Królice zakażano szczepem gronkowca złocistego koagulazo-dodatniego nr 197, wyhodowanego w Instytucie Matki i Dziecka w W-wie, z krwi dziecka, które zmarło z powodu posocznicy gronkowcowej, przepasowanego przez staw kolanowy królika. Zawiesina stosowana do zakażenia zawierała  $10^5$  bakterii w 1 ml. Dawkę zakażającą podawano dożylnie: królicom ciężarnym 0,4 ml/kg wagi ciała, a królicom nieciężarnym i noworodkom króliczym 0,7 ml/kg wagi ciała. Wielkość dawki ustalano na podstawie wstępnych badań wykonanych z różnymi stężeniami zawiesiny bakteryjnej.

Surowice do badań serologicznych pobierano od królików z żyły usznej co drugi dzień od 2-go dnia po zakażeniu.

W celu wykazania aktywności antygenowej zastosowanego szczepu gronkowca oznaczano w surowicy badanych zwierząt miano aglutynin gronkowcowych met. Oedinga. Dla wykazania swoistości aglutynin dla szczepu uzyskanego z posiewów, przeprowadzono próby absorpcyjne z innymi szczepami gronkowca złocistego koagulazo-dodatniego i z enterokokami.

Badania bakteriologiczne wykonywano przyżyciowo z krwi zwierząt od 2-go dnia po zakażeniu, a pośmiertnie z mózgu i narządów wewnętrznych. Posiewy wykonywano na podłożach płynnych, a następnie na podłożu Chapmana. Badano również zdolność wyhodowanych drobnoustrojów do wytwarzania koagulazy.

---

*Ryc. 1.* Grupa I. Naciek w oponie królicy dorosłej. Fiolet krezyłu. Pow. 200 ×.  
*Fig. 1.* Group I. Meningeal infiltration in adult rabbit. Cresyl violet. × 200.

*Ryc. 2.* Ropień w wężomózgowiu z wczesną martwicą w części centralnej u dorosłej królicy. Grupa I. H.-E. Pow. 100 ×.

*Fig. 2.* Abscess with early necrosis in the central part. Adult rabbit. Group I. H.-E. × 100.

*Ryc. 3.* Krwotok do układu komorowego u noworodka. Grupa I. H.-E. Pow. 8 ×.

*Fig. 3.* Haemorrhage into ventricular system in the newborn rabbit. Group I. H.-E. × 8.

*Ryc. 4.* Naciek w oponie u noworodka grupy I. Fiolet krezyłu. Pow. 200 ×.

*Fig. 4.* Meningeal infiltration in the newborn. Group I. Cresyl violet. × 200.

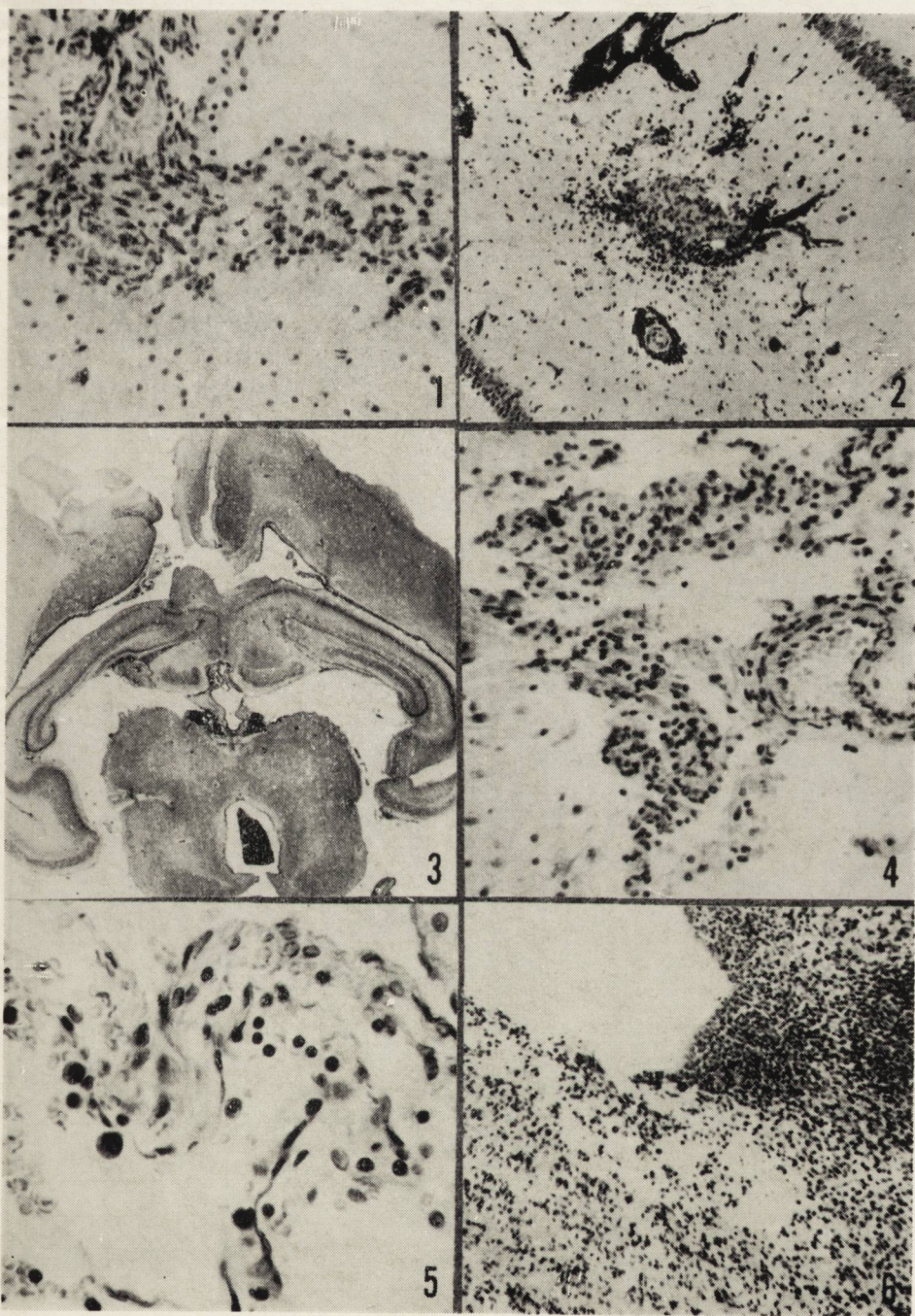
*Ryc. 5.* Duże wielojądrowe komórki w nacieku oponowym u noworodka grupy I. H.-E. Pow. 400 ×.

*Fig. 5.* Large polynuclear cells in the meningeal infiltration in the newborn of group I. H.-E. × 400.

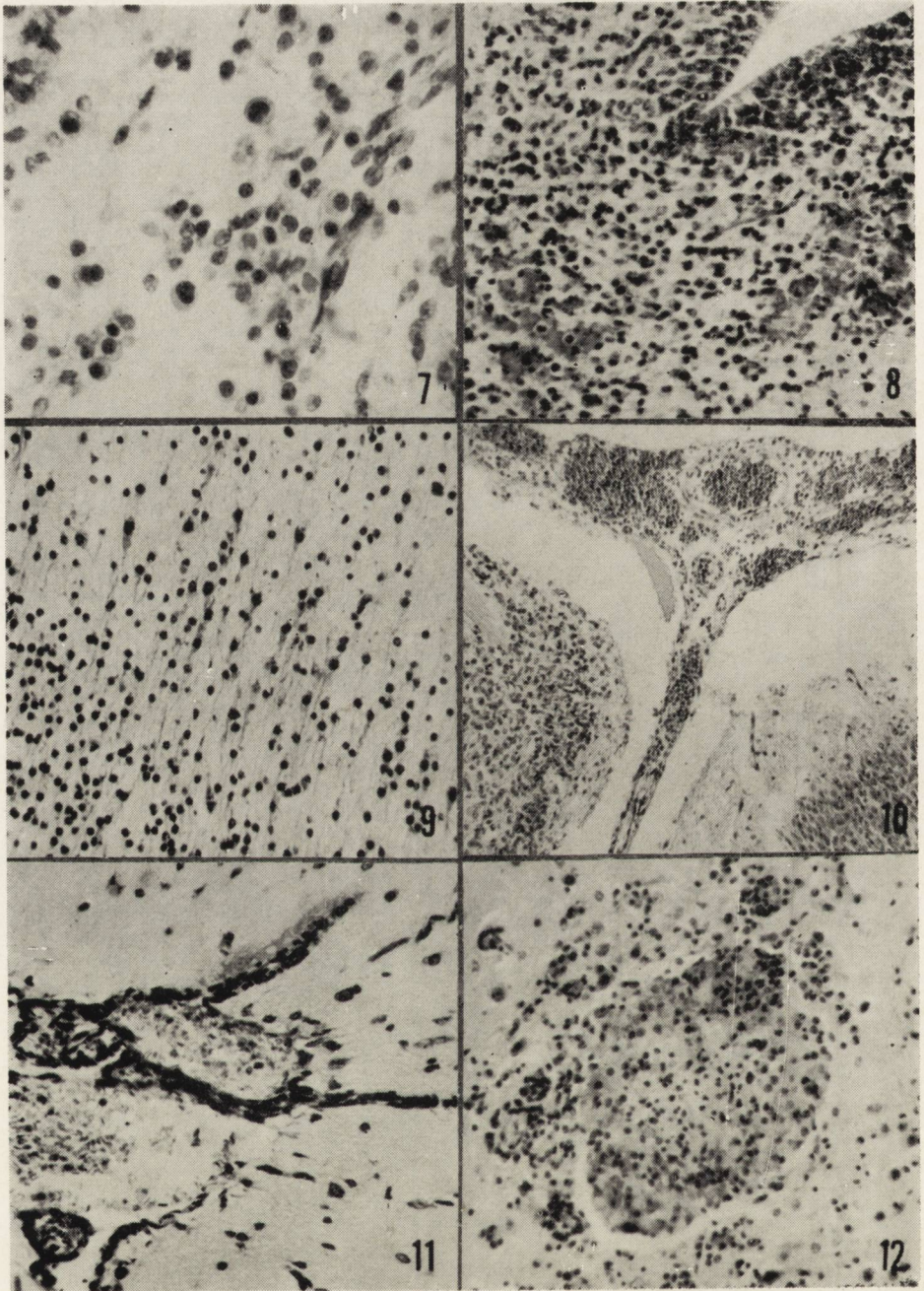
*Ryc. 6.* Ognisko martwicy okołokomorowej u noworodka grupy I. H.-E. Pow. 200 ×.

*Fig. 6.* Focus of periventricular necrosis in the newborn. Group I. H.-E. × 200.











Część zwierząt padła, pozostałe były usypiane Eunarconem. Noworodki po zakażeniu transłożyskowym usypiano, gdy znajdowały się w ciężkim stanie ogólnym w okresie od 1 do 4-go dnia życia. Noworodki zakażane po urodzeniu i królice dorosłe usypiano między 10 a 16 dniem po zakażeniu.

Do badania neuropatologicznego pobierano mózgi zwierząt, które utrwalano w formalinie (2 przekroje przez półkule mózgu i pień z mózdzkiem), zatapiano w parafinie i barwiono hematoksyliną-eozyną i fioletem krezyłu.

#### WYNIKI

##### *Grupa I — zakażone królice ciężarne i ich potomstwo*

Obserwacje kliniczne. Bezpośrednio po wstrzyknięciu zawiesiny gronkowcowej u zwierząt obserwowano niepokój ruchowy. W następnych dniach narastało u nich ogólne pobudzenie i agresywność, które przechodziły w dalszym przebiegu choroby w spowolnienie. Zwierzęta niechętnie jadły. Ich oddech był przyspieszony, stwierdzono tachykardię. Leukocytoza sięgała 31500. W czterech przypadkach wystąpiły porody przedwczesne, a w trzech obumarcie płodów w macicy. Żywo urodzone noworodki były słabe i źle ssały. Słabe potomstwo było często zjadane przez matkę.

Badanie bakteriologiczne. Dodatnie posiewy z krwi matek stwierdzono w 100% już w drugiej dobie po zakażeniu. Posiewy z krwi noworodków wykonane bezpośrednio po urodzeniu były również dodatnie. Najwyższą liczbę dodatnich posiewów uzyskano z mózgu i macicy królic ciężarnych oraz z mózgu płodów i noworodków (Tabela 1). Wykonane

---

*Ryc. 7.* Komórki żerne w ognisku martwicy okołokomorowej u noworodka grupy I. H.-E. Pow. 400 ×.

*Fig. 7.* Macrophages in the focus of periventricular necrosis in the newborn. Group I. H.-E. × 400.

*Ryc. 8.* Wynaczynienie w warstwie macierzy pod wyściółką komory bocznej u noworodka grupy I. H.-E. Pow. 200 ×.

*Fig. 8.* Exsanguination in the subventricular matrix. Newborn rabbit. Group I. H.-E. × 200.

*Ryc. 9.* Uszkodzenie komórek nerwowych w korze mózgu noworodka grupy I. Fiolet krezyłu. Pow. 200 ×.

*Fig. 9.* Damaged neurons in cerebral cortex of the newborn rabbit. Group I. Cresyl violet. × 200.

*Ryc. 10.* Krwotok do opony miękkiej u noworodka grupy II. H.-E. Pow. 100 ×.

*Fig. 10.* Group II. Meningeal haemorrhage in the subventricular matrix in the newborn. H.-E. × 100.

*Ryc. 11.* Przechodzenie nacieków z opon na tkankę nerwową u noworodka grupy II. H.-E. Pow. 200 ×.

*Fig. 11.* Penetration of meningeal infiltrates into nervous tissue in the newborn. Group II. H.-E. × 200.

*Ryc. 12.* Ropień w płacie czołowym królicy nieciężarnej. H.-E. Pow. 200 ×.

*Fig. 12.* Abscess in the frontal lobe of the not pregnant female. H.-E. × 200.



*Tabela 1.* Wynik badania bakteriologicznego mózgu i narządów wewnętrznych królic ciężarnych i ich potomstwa  
*Table 1.* Results of bacteriological examination of the brain and inner organs of pregnant rabbits and their offspring

Zwierzęta Animals	Mózg	Brain	Pluca	Lungs	Wątroba	Liver	Macica	Uterus
	Liczba badań Number of exami- nations	Wyniki dodatnie Positive results	Liczba badań Number of exami- nations	Wyniki dodatnie Positive results	Liczba badań Number of exami- nations	Wyniki dodatnie Positive results	Liczba badań Number of exami- nations	Wyniki dodatnie Positive results
Dorosłe — matki Adult — females	23	21 91%	21	17 81%	20	15 75%	22	20 90,9%
Plody i noworodki Fetuses a. newborns	54	50 92,5%	36	29 80,3%	34	23 67,5%		



w pojedynczych przypadkach posiewy z łożyska dały również wyniki dodatnie.

Badanie serologiczne. Narastanie miana aglutynin gronkowcowych u królic ciężarnych stwierdzono od 2-go dnia po zakażeniu. Miano wyjściowe (przed zakażeniem) wynosiło 1:20—1:40. W momencie porodu wahało się od 1:640 do 1:1280. U noworodków miano aglutynin gronkowcowych badane jednorazowo, bezpośrednio po porodzie wahało się od 1:160 do 1:640. Wysokość miana aglutynin gronkowcowych u noworodków była związana z wysokością miana aglutynin u matki. Stwierdzono również osobnicze wahania wysokości miana przeciwciał u noworodków króliczych pochodzących od jednej matki (wykres 1).

Badanie neuropatologiczne. W mózgach królic dorosłych makroskopowo stwierdzono w 5 przypadkach krwotok podpajęczynówkowy, a w 3 krwiak podtwardówkowy.

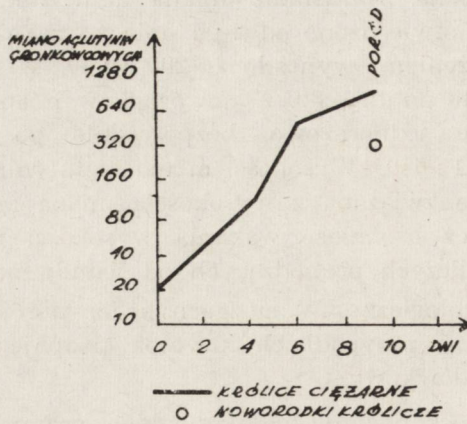
W badaniu mikroskopowym we wszystkich przypadkach zaobserwowano przekrwienie opon i splotów. W 12 przypadkach stwierdzono zespół zapalenia oponowo-mózgowego. Wyrażał się on w oponach niewielkimi naciekami drobnookrągłokomórkowymi z pojedynczymi leukocytami (ryc. 1). Śródkankowe nacieki okołonaczyniowe były najliczniejsze w wężomózgowiu. W 3 przypadkach stwierdzono świeże ropnie mózgu (ryc. 2). Widoczne były ubytki, uszkodzenia komórkowe i zgąbczenia w III i V warstwie kory mózgu oraz uszkodzenie komórek Purkiniego w mózdzku. W kilku przypadkach stwierdzono ponadto drobne wynaczynienia w półkulach mózgu.

W mózgach płodów i noworodków w wielu przypadkach zaobserwowano krwotoki podoponowe i wynaczynioną krew w komorach (ryc. 3).

Mikroskopowo niemal we wszystkich przypadkach stwierdzono przekrwienie naczyń opon miękkich i splotów. W większości przypadków znaleziono nacieki w oponach mózgowych (ryc. 4) sklepiści i pnia mózgu. W skład nacieków wchodziły przede wszystkim komórki limfocytopodobne, duże komórki jednojądrzaste, makrofagi i pojedyncze leukocyty (ryc. 5). W 18 przypadkach stwierdzono przechodzenie procesu zapalnego wzdłuż naczyń do tkanki mózgu. W tkance podoponowej zaznaczało się pobudzenie gleju. Nacieki okołonaczyniowe śródmózgowe obserwowano w kilku przypadkach, najczęściej w wężomózgowiu. W 22 przypadkach stwierdzono okołokomorowe ogniska martwicy (ryc. 6), w obrębie gniazd macierzy i na ich pograniczu. W 2 przypadkach powstały małe jamki wypełnione komórkami żernymi (ryc. 7). W niektórych przypadkach martwice występowały w sąsiedztwie drobnych wybroczyn (ryc. 8). Ponadto stwierdzono uszkodzenia komórek warstwy pośredniej czyli migrujących neuro- i spongioblastów. Komórki w korze mózgu w



kilku przypadkach były przerzedzone. Widoczne było również rozsiane uszkodzenie neuronów tej struktury (ryc. 9) oraz komórek Purkiniego.



Wykres 1. Średnie wartości miana aglutynin gronkowcowych u królic ciężarnych i ich potomstwa po zakażeniu w III dekadzie ciąży.

Diagram 1. Mean values of staphylococcal agglutinin titer in pregnant rabbits and their offspring after infection in the third decade of gestation.

#### Grupa II — noworodki królicze zakażone w 1 i 2 dobie życia

Obserwacje kliniczne: 17 noworodków padło w trzeciej i czwartej dobie po zakażeniu. Wykazywały one ciężkie objawy ogólne (podwyższona ciepłota ciała, przyspieszenie czynności serca, osłabienie zdolności ssania). W tej grupie 6 noworodków zostało zjedzonych przez matkę. W pozostałych 30 przypadkach stwierdzono jedynie małą ruchliwość zwierząt i niechęć do ssania.

Badanie bakteriologiczne. Uzyskano wyniki dodatnie w posiewach tkanki mózgowej w 90,2%, płuc 87,1%, wątroby 79,4%.

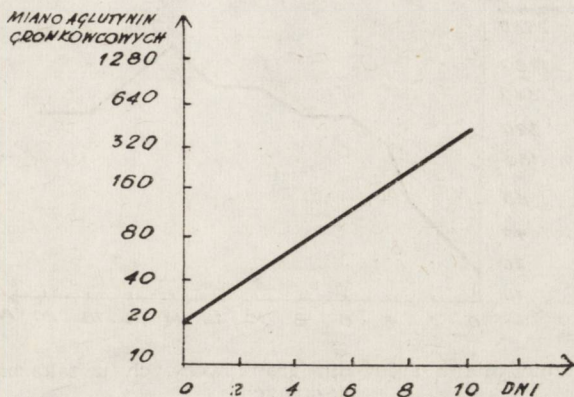
Badanie serologiczne. Miano wyjściowe aglutynin gronkowcowych u noworodków wynosiło 1 : 10—1 : 40 (wykres 2). W 10-tej dobie od momentu zakażenia stwierdzono miana wahające się w granicach 1 : 320—1 : 640.

Badanie neuropatologiczne. Makroskopowo stwierdzono w większości przypadków przekrwienie w oponach i splocie, w wielu z nich krwotoki dokomorowe, podpajęczynówkowe i podtwardówkowe (ryc. 10), a także zakrzep zatoki strzałkowej górnej.

W oponach mózgowych u większości noworodków króliczych zaobserwowano nacieki zapalne o strukturze takiej jak u noworodków po zakażeniu transłożyskowym. U noworodków starszych udział monocytów wielkojądrzastych w naciekach był nieco mniejszy. W połowie przypadków proces zapalny przechodził na tkankę nerwową (ryc. 11). Podobnie



jak w grupie poprzedniej, szczególnie często stwierdzano nasilenie procesu zapalnego w wężomózgowiu. Drobne naczynia włosowate wykazywały przekrwienie, wokół niektórych widoczne były drobne krwotoczki. Ponadto stwierdzono ubytki i obkurczenia neuronów w korze. Jako wtórną zmianę w 4 przypadkach napotkano poszerzenie układu komorowego.



Wykres 2. Narastanie miana aglutynin gronkowcowych u noworodków króliczych zakażonych po porodzie.

Diagram 2. Increase of staphylococcal agglutinin titer in rabbit newborns infected after parturition.

### Grupa III — zakażone królice nieciężarne

Obserwacje kliniczne. Bezpośrednio po wstrzyknięciu zawiesiny gronkowców obserwowano u zwierząt niepokój ruchowy, przyspieszenie oddechu, tachykardię, ślinotok i defekację. Obraz rozwijających się zaburzeń polegał na utrzymującej się podwyższonej do  $40^{\circ}$  ciepłocie ciała, dreszczach, tachykardii, duszności, bieguncie, stopniowym wychudzeniu, prowadzącym do ciężkiego stanu ogólnego. Leukocytoza sięgała do 35 000. Pięć zwierząt padło w 10-tym dniu trwania choroby.

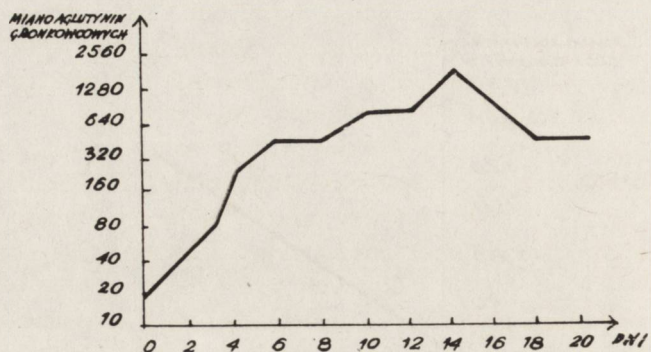
Badanie bakteriologiczne. Dodatnie posiewy z krwi królików uzyskano od 3-ej doby po zakażeniu. W posiewach z mózgu, płuc i wątroby we wszystkich przypadkach uzyskano wyniki dodatnie.

Badanie serologiczne. Wzrost poziomu aglutynin gronkowcowych zaobserwowano od 3-ej doby zakażenia. Miano przeciwciał narastało do 14-go dnia trwania choroby, w którym wahało się w granicach 1 : 1280 — 1 : 2560, a następnie zmniejszało się do wartości 1 : 640. (Wykres 3).

Badanie neuropatologiczne. Makroskopowo stwierdzono w mózgach wszystkich zwierząt znacznego stopnia przekrwienie opon, a w 6 przypadkach krwotoki podpajęczynówkowe. W 4 przypadkach zaobserwowa-



no zakrzep zatoki strzałkowej górnej. Mikroskopowo stwierdzono w około połowie przypadków w oponach nacieki leukocytarne z domieszką makrofagów. Nacieki okołonaczyniowe występowały śródkankowo w mózgu (w 9 przypadkach), wokół nich wyraźne było pobudzenie gleju. W 6 przypadkach zmiany zapalne były szczególnie duże, stwierdzono w



Wykres 3. Narastanie miana aglutynin gronkowcowych u zakażonych królic nie-cieżarnych.

Diagram 3. Increase of staphylococcal agglutinin titer in infected not pregnant rabbits.

nich ropnie z centralnym rozpadem tkanki, otoczone obfitym leukocytarnym naciekiem (ryc. 12). Nasilenie zmian zapalnych było największe w węchomózgowiu. Ponadto napotkano pojedyncze leukocyty rozrzucone w zrębie splotów naczyniastych. Obserwowano również przerzedzenie i obkurczenie neurocytów w korze i ubytki komórek Purkiniego w mózdzku.

We wszystkich grupach zwierząt kontrolnych (Ia, IIa, IIIa) posiewy z krwi, mózgu i narządów wewnętrznych były ujemne. Miano aglutynin gronkowcowych wahało się w granicach 1 : 10—1 : 40. W badaniu neuropatologicznym nie stwierdzono zmian krwotocznych, zapalnych ani uszkodzeń neuronalnych.

#### OMÓWIENIE

Z przedstawionych badań wynika, że dożylnie wprowadzenie gronkowca złocistego koagulazo-dodatniego królikom w różnych okresach rozwoju wywołało u nich posocnicę gronkowcową.

U królic zakażonych w III dekadzie ciąży największe zmiany bakteriologiczne występowały w macicy. Potwierdza to szczególną wrażliwość macicy ciężarnej na infekcję, obserwowaną również i w innych typach zakażeń. Rozwijająca się posocznica objęła płody, których narządy wy-



kazywały podobne zmiany jak narządy matek. Zestawienie wyników posiewów z różnych tkanek wskazuje na szczególną podatność układu nerwowego płodów na zakażenie w przebiegu posocznicy.

Posocznica wywołała żywą produkcję aglutynin gronkowcowych zarówno u królic nieciążarnych jak i ciężarnych (Wilmowska-Pietruszyńska, Duroś-Kawecka 1973). W grupie noworodków zakażonych transłożyskowo stwierdzono bezpośrednio po urodzeniu podwyższone miano aglutynin gronkowcowych. Zależność wielkości miana aglutynin u noworodków od wysokości miana u matek wydaje się przemawiać za nabytym biernie charakterem odporności. Nie można ustalić czy płody królicze wytwarzały również własne przeciwciała. Schultze i Heremans (1966) w zależności od zdolności transportu białek odpornościowych matki do płodu podzielili ssaką na trzy grupy: zwierzęta, u których nie zachodzi przechodzenie immunoglobulin przez łożysko („non transmitters”) — przeżuwacze, zwierzęta, u których przez błony płodowe przenikają homologiczne immunoglobuliny („transmitters”) — zwierzęta naczelne i człowiek oraz zwierzęta, u których całkowicie przenikają białka odpornościowe matki do płodu („full transmitters”) — gryzoni. Badania dotyczące mechanizmów przenikania immunoglobulin u gryzoni przeprowadził również Brambell (1966). Wynika z nich, że u królika, jak i u innych gryzoni wszystkie białka odpornościowe przenikają od matki do płodu, więc nawet szczegółowe badania immunologiczne nie dałyby odpowiedzi na pytanie, jak kształtuje się stosunek nabytych i własnych przeciwciał w zakażeniach płodów króliczych. Wyniki badania grupy noworodków zakażonych w pierwszych dwóch dobach życia wskazują, że w tym okresie posiadają one zdolność wytwarzania własnych przeciwciał, o mianie niższym niż w ustroju dojrzałym, ale istotnie różnym od miana stwierdzanego w grupie kontrolnej. Wytworzone zakażenie gronkowcove okazało się bodźcem wystarczającym do pobudzenia biosyntezy przeciwciał u noworodków króliczych, podobnie jak to stwierdzili Smith i Eitzman (1964) u noworodków ludzkich.

Obserwacje bakteriologiczne i serologiczne znajdują potwierdzenie w weryfikacji morfologicznej, która w przeprowadzonych badaniach wykazała, że po przeniknięciu bakterii do układu nerwowego rozwijają się w nim odczyny komórkowe o typie zmian zapalnych. U królic dorosłych obraz zmian neuropatologicznych był typowy dla posocznicy gronkowcovej. Proces miał charakter ropnego zapalenia opon i mózgu z wytworzeniem ropni śródtkankowych. Nasilenie odczynów zapalnych u królic ciężarnych było nieco mniejsze niż u zwierząt nieciążarnych i mogło wiązać się z niższą dawką bakterii użytych do ich zakażenia.

U płodów dominowało uszkodzenie układu nerwowego mimo istnienia podwójnej bariery: łożyskowej i krwiomózgowej. Przyjmuje się, że jady



bakteryjne, jady wewnątrzpochodne i zastój krwi uszkadzają barierę na poziomie ścian naczyń, szczególnie u płodów i noworodków (Bakay 1953). Niezależnie od poglądów na istotę i działanie bariery krwio-mózgowej, takie oddziaływanie pozwala zrozumieć szczególną skłonność noworodków i niemowląt do zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych (Berman i Banker 1966, Michałowicz i wsp. 1968). Powyższe poglądy znajdują potwierdzenie w przedstawionych wynikach badań bakteriologicznych tkanki nerwowej u noworodków króliczych i tłumaczą nasilenie zmian morfologicznych. Zmiany te różniły się od stwierdzanych u królic dorosłych, zarówno pod względem struktury jak i topografii uszkodzeń. W naciekach uderzał w porównaniu ze zmianami stwierdzanymi u matek, stosunkowo niewielki udział leukocytów, z przewagą komórek młodych, niekiedy o wyraźnie „blastycznym” obrazie. Im wcześniejszy okres życia płodowego, tym mniej podobna do dojrzałej jest reakcja tkanek na działanie czynnika zakaźnego. Płód najpierw zdolny jest do reakcji histiocytarnej (Wohlwill, Bock 1929), a następnie do okołonaczyniowego odczynu erytroblastycznego, jako odpowiedzi na czynniki zapalne (Zollinger 1945). W przebiegu dalszego rozwoju pojawiają się u płodów leukocyty i limfocyty (Flamm 1959, Gesner 1965). Van Furth i wsp. (1965) napotkali już u 20-to tygodniowych płodów komórki limfoidalne i plazmocytopodobne. Zgodnie z ogólnym „dojrzewaniem” reakcji zapalnej u płodów, jako najwcześniejszy odczyn komórkowy w oponach stwierdzono pobudzenie miejscowych komórek histiocytarnych, pojawienie się makrofagów i dużych młodych komórek odpowiadających elementom ognisk krwiotwórczych (Dąbska 1967, Gabryel 1969). W naciekach pojawiały się później leukocyty oraz limfocyty i komórki plazmatyczne.

Poza odmiennym składem morfologicznym nacieków stwierdzono w grupie płodów i noworodków zakażonych transłożyskowo przykomorowe ogniska martwicy. Przypominały one okołokomorowe ogniska martwicy w mózgach płodów i noworodków ludzkich, które od dawna nasuwały trudności interpretacyjne. Usiłowano ustalić rolę zaburzeń naczyniopochodnych i infekcyjnych w mechanizmie ich powstawania (Schwartz 1921, Głuszczyk 1961, Spatz 1939). Głuszczyk doszedł do wniosku, że w mózgach wcześniaków mogą one być następstwem uogólnionego zakażenia na skutek przenikania do tkanki składników krwi zawierających bakterie i ich jady. Można sądzić, że w mechanizmie powstawania ognisk rozsianej martwicy okołokomorowej istotne znaczenie ma uszkodzenie bariery krwio-mózgowej przez czynnik infekcyjny (Leviton, Gilles 1973), w przekrwionym i niedotlenionym mózgu. Samo niedotlenienie może być również przyczyną rozmiękania w okolicy przykomorowej w mózgu nie-dojrzałym (Banker, Laroche 1962). Istotnym czynnikiem dla powsta-



wania tego typu uszkodzeń zarówno infekcyjnych jak i aseptycznych jest stan podłoża. Powstanie martwicy jest wypadkową bezpośredniego działania czynnika uszkadzającego tkankę i jej szczególnej miejscowej wrażliwości (Dąbska 1967). Stwierdzone w przedstawionym materiale ogniska martwicy w obrębie przykomorowych gniazd macierzy są pierwszymi doświadczalnie wywołanymi zmianami tego typu w przebiegu zakażenia bakteryjnego.

W przedstawionym materiale często stwierdzano również zmiany naczyńopochodne (krwotoki podpajęczynówkowe, wylewy do komór), co świadczy o uszkodzeniu ścian naczyń przez bakterie i ich jady. Obserwacje te są zgodne z dokonywanymi w czasie badania sekcyjnego mózgow dzieci, zmarłych z powodu posocznicy gronkowcowej (Michałowicz i wsp. 1968). Oprócz nacieków, ognisk martwicy przykomorowej i zmian naczyniowych, wykazano także obecność wtórnych uszkodzeń struktur szarych ośrodkowego układu nerwowego (uszkodzenie komórek migrujących w obrębie warstwy pośredniej i neuronów w korze mózgu i mózdzku, w czterech przypadkach — poszerzenie układu komorowego). Jeśli przyjmiemy, że pewna liczba zakażonych płodów i noworodków przeżyje infekcję, zmiany tego typu pozostaną jako trwałe uszkodzenie po przebytych zapaleniu oponowo-mózgowym.

#### WNIOSKI

1. Doświadczalna posocznica gronkowcowa powoduje zespół zapalenia oponowo-mózgowego u królic ciężarnych i ich potomstwa oraz u noworodków króliczych zakażonych w 1-szej i 2-giej dobie życia.
2. Skład nacieków oponowych jest różny u noworodków króliczych i u królic dorosłych. U noworodków zawierają one młode elementy histiocytarne i krwiopochodne. Udział leukocytów w naciekach jest minimalny.
3. W grupach płodów i noworodków króliczych zakażonych transłożyskowo stwierdzono ogniska okołokomorowej martwicy mózgu.
4. Struktura zmian morfologicznych (oponowych i śródtkankowych) jest uwarunkowana stopniem rozwoju ośrodkowego układu nerwowego.
5. Stwierdzony zespół zapalenia oponowo-mózgowego prowadzi do rozsianych uszkodzeń dojrzewającego układu nerwowego.
6. U noworodków zakażonych transłożyskowo, jak i u noworodków zakażonych po porodzie stwierdzono podwyższone miana aglutynin gronkowcowych, świadczące zarówno o przechodzeniu przeciwciał od matki, jak i wytwarzaniu ich przez noworodki.



А. Вильмовска-Петрушиньска

ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СТАФИЛОКОККОВОГО СЕПСИСА  
НА ЦЕНТРАЛЬНУЮ НЕРВНУЮ СИСТЕМУ КРОЛИКА В ОПРЕДЕЛЕННЫЕ  
ПЕРИОДЫ РАЗВИТИЯ

Резюме

Целью работы был морфологический анализ изменений в центральной нервной системе эмбрионов и новорожденных при экспериментальном стафилококковом сепсисе, вызванном путем трансплацентного заражения и заражения новорожденных, а также наблюдение серологического ответа эмбрионов, новорожденных и их матерей по сравнению с реакцией небеременных крольчих.

Как у новорожденных, так и у беременных крольчих и их потомства был обнаружен синдром менингоэнцефалита. Инфильтраты мозговых оболочек у новорожденных кроликов отличались от обнаруживаемых у взрослых крольчих и состояли из молодых гистиоцитозных и кровепроизводных элементов. Участие лейкоцитов было минимальным. В группе новорожденных, зараженных трансплацентно, были обнаружены очаги околожелудочкового некроза. Синдром менингоэнцефалита приводил к рассеянными повреждениями созревающей нервной системы. Как у новорожденных, зараженных трансплацентно, так и у зараженных после рождения, был обнаружен повышенный титр стафилококковых агглютининов, свидетельствующий как о переходе антител от матери, так и об их образовании у новорожденных.

A. Wilmowska-Pietruszyńska

EFFECT OF EXPERIMENTAL STAPHYLOCOCCEMIA ON RABBIT CENTRAL  
NERVOUS SYSTEM IN SELECTED PERIODS OF DEVELOPMENT

Summary

The aim of the work was the morphological analysis of changes in the central nervous system of fetus and newborns during experimental staphylococemia, produced by transplacental infection and infection of newborns, as well as the investigation of the serologic response in fetus, newborns and their mothers, as compared to the reaction of non-pregnant does.

In newborns, as well as in pregnant does and their progeny the meningitis syndrome was observed. Meningeal infiltrations in newborn rabbits were different from those observed in adult does, and were composed of young histiocytic and hematogenic elements; the participation of leukocytes was minimal. In the group of newborns infected transplacentally the focuses of periventricular necrosis were observed. The meningitis syndrome led to scattered injuries of the maturing nervous system. In newborns infected transplacentally, as well as in those infected after birth, an increased titer of staphylococcal agglutinins was observed, evidencing both the penetration of antibodies from the mother, as well as their formation in newborns.

PIŚMIENNICTWO

1. Bakay L.: Studies on blood-brain barrier with radioactive phosphorus. Arch. Neurol. Psych. 1953, 70, 30—39.
2. Banker B., Larroche J. C.: Periventricular leukomalacia of infancy. A form of neonatal anoxic encephalopathy. Arch. Neurol. 1962, 7, 386—410.



3. Eerman P. H., Banker B. Q.: Neonatal meningitis. A clinical and pathological study of 29 cases. *Pediatrics* 1966, 38, 6—24.
4. Brambell F. W. R.: The transmission of immunity from mother to young and catabolism of immunoglobulins. *Lancet* 1966, II, 1087—1093.
5. Dąbbska M.: Martwica a zapalenia w mózgu płodów i noworodków. *Neuropatol. Pol.* 1967, 5, 1—32.
6. Flamm H.: Die pranatalen Infektionen des Menschen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1959.
7. Gabryel P., Rucka A.: Odczyny morfologiczne w mózgu płodu i noworodka w przebiegu zakażenia. Pamiętnik I Konferencji Naukowej Sekcji Med. Perinatalnej Poznań 1969, 75—84.
8. Gesner M. B.: The life history and function of lymphocytes. The inflammatory process. *Acad. Pres. N. York* 1965, 281—317
9. Głuszczyk A.: Rozsiana okołokomorowa martwica posocznicowa mózgu, a toksoplazmoza u wcześniaków, Łódź 1961.
10. Hagen K. W.: Disseminated staphylococcal infection in young domestic rabbits. *Journ. Amer. Vet. Med. Assoc.* 1963, 142, 1421—1422.
11. Klein J. O., Marcy S. M.: Infection in the newborn. *Clin. Obst. Gynecol.* 1970, 13, 321—347.
12. Kramer W.: Prenatal infections of the central nervous system. *Develop. Med. Child Neurol.* 1971, 13, 252—253.
13. Leviton A., Gilles F. H.: An epidemiological study of perinatal telencephalic leucoencephalopathy in an autopsy population. *J. Neurol Sci.* 1973, 18, 53—66
14. Michałowicz R., Milanowski A., Wilmowska A.: Wpływ posocznicy gronkowcowej na naczynia mózgowe u dzieci. *Neurol. Neurochir. Pol.* 1968, 2, 165—169.
15. Nelson W. E.: On the role of infections in neonatal mortality. *J. Ped.* 1960, 56, 274—284.
16. Olding L.: Bacterial infection in cases of perinatal death. A morphological and bacteriological study based on 264 autopsies. *Acta Paediatr. Scand. (Suppl)* 1966, 171.
17. Osebold J. W., Gray D. M.: Disseminated staphylococcal infections in wild Jack Rabbits. *J. Infect. Dis.* 1960, 106, 91.
18. Schultze H. E., Heremans J. F.: The exchange of proteins between mother and child to molecular biology of human proteins. Tom I Nature and metabolism of extracellular proteins. Elsevier Publ. Company, 1966.
19. Schwartz P.: Die Geburtsschädigungen des Gehirns und die Virchowsche-Encephalitis interstitialis neonatorum. *Zblt. Path.* 1921, 32, 57.
20. Smith J. A., Jennison R. F., Langley F. A.: Perinatal infection and perinatal death. *Lancet* 1956, 2, 903—906.
21. Smith R. T., Eitzman D. V., Catlin M. E., Wirtz E. O., Miller B. E.: The development of the immune response. Characterization of the response of the human infant and adult to immunization with Salmonella Vaccines. *Pediatrics* 1964, 33, 163—183.
22. Spatz H.: Pathologische Anatomie der Kreislaufstörungen des Gehirns. *Z. Neur.* 1939, 167, 301—357.



23. Van Furth R., Schuit H., Hijmans W.: The immunological development of the human fetus. *J. Exp. Med.* 1965, 122, 1173-1187.
24. Wohlwill F., Bock H. E.: Über Entzündungen der Plazenta und fötale Sepsis. *Arch Gyn.* 1929, 153, 271—319.
25. Wilmowska-Pietruszyńska A., Duroś-Kawecka H.: Badanie odpowiedzi immunologicznej w przebiegu doświadczalnej posocznicy gronkowcowej u królików w różnych okresach rozwoju ontogenetycznego. *Probl. Med. Wieku Rozwojowego* 1973, 3, 127—131.
26. Ylppö A.: Über die Mortalität und Pathologie der Frühgeburten und Neugeborenen. *Monatschr. Kinderheilk.* 1937, 69, 407—415.
27. Zollinger H.: Foetale Entzündung und heterotype Blutbildung. *Schweitz Ztschr. Path. Bacteriol.* 1945, 8, 311—331.

Adres autorki: Instytut Matki i Dziecka, Klinika Neurologii Dziecięcej, ul. Kasprzaka 17, 01-211 Warszawa.



TADEUSZ MAJDECKI, JERZY KULCZYCKI

BADANIE MIKROSKOPOWO ELEKTRONOWE  
PRZYPADKU PODOSTREGO STWARDNIAJĄCEGO ZAPALENIA  
MÓZGU

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

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

Klinika Neurologiczna Pomorskiej Akademii Medycznej

Kierownik: prof. dr med. M. Jarema

Badania ostatnich lat ujawniły wiele faktów przemawiających za wirusową etiologią stwardniającego podostrego zapalenia mózgu. Jeden z nich stanowi obecność cząstek wirusa w komórkach ośrodkowego układu nerwowego w badaniu mikroskopowo elektronowym. Znane są również przypadki podostrego stwardniającego zapalenia mózgu, w których nie udało się wykazać ciał wirusopodobnych. Poniżej przedstawiono obraz mikroskopowo elektronowy tkanki mózgowej z przypadku podostrego stwardniającego zapalenia mózgu, w którym nie wykryto cząstek wirusa, natomiast znaleziono zmiany ultrastrukturalne o niejasnym pochodzeniu i znaczeniu.

OPIS PRZYPADKU

Przypadek dotyczy 17 letniego chłopca, u którego pierwsze objawy choroby zaobserwowano około 10 miesięcy przed pobraniem do badania tkanki mózgowej. Rozpoznanie podostrego stwardniającego zapalenia mózgu postawiono na podstawie typowego obrazu klinicznego oraz wyniku histologicznego badania tkanki mózgu pobranej przyżyciowo. W komórkach nerwowych nie ujawniono w mikroskopie świetlnym wtretów, obserwowano natomiast w jądrach niektórych komórek glejowych nietypowe eozynofilne ciała. Dokładne dane kliniczne i histopatologiczne tego przypadku opisano w odrębnym doniesieniu (Fryze, Kulczyckj 1974).

Badanie mikroskopowo elektronowe przeprowadzono na pobranej drogą biopsji, świeżej tkance z okolicy płata czołowego mózgu. Materiał utrwalono w 1%  $O_5O_4$  w buforze octanowo-weronalowym o pH 7,4. Od-



wodniony w roztworach etanolu materiał zatopiono w Eponie 812. Skrawki dobarwiano octanem uranylu i cytrynianem ołowiu. Materiał oglądano w mikroskopie elektronowym JEM-7A.

### *Badanie mikroskopowo-elektronowe*

W obrazie mikroskopowo elektronowym kory nie stwierdzono istotnych zmian. Zarówno w cytoplazmie jak i w karioplazmie neurocytów nie wykryto ciał wtrętowych. W przestrzeniach okołonaczyniowych i poza nimi obserwowano komórki plazmatyczne (ryc. 1), znacznie rzadziej limfocyty oraz makrofagi, których cytoplazma zawierała wielopostaciowe ciała gęste elektronowo. Mitochondria komórek nerwowych i ich wypustek były czasem obrzmiałe i miały elektronowo przezierną macierz. Spotykano również mitochondria mniejszych rozmiarów z macierzą gęstą elektronowo. Synapsy miały prawidłowy wygląd. W istocie białej stwierdzono poszerzenie przestrzeni pozakomórkowych. Obraz mieliny był zmienny — obok osłonek rdzennych o prawidłowej budowie, występowały osłonki z zaburzonym układem blaszek, czasem z poszerzoną przestrzenią między aksonem a osłonką mielinową.

Wśród komórek glejowych przeważały obrzmiałe astrocyty w większości z niezmienionymi organellami i licznymi fibrylami wnikającymi pęczkami do wypustek. Otoczka jądrowa astrocytów była czasem pofałdowana, miejscami obserwowano poszerzenie przestrzeni okołojądrowych (ryc. 2). W kilku astrocytach było widoczne wydostawanie się ziaren chromatyny do cytoplazmy przez duże otwory w otoczce jądrowej (ryc. 3). Ani w cytoplazmie, ani w karioplazmie komórek glejowych nie wykryto struktur o cechach myksowirusa, czy innych cząstek wiruso-podobnych.

W karioplazmie wielu astrocytów obserwowano „ciała jądrowe”. Najczęściej występowały one pojedynczo (ryc. 4), niekiedy było ich 2 lub 3 w jednym jądrze (ryc. 5). Twory te miały kształt okrągły, lub zbliżony do okrągłego i zawsze oddzielało je od sąsiadującej karioplazmy bezstrukturalne „halo”. Utworzony w ten sposób obraz był łatwo wykrywalny nawet w małych powiększeniach. „Ciała jądrowe” zbudowane były z materiału drobnowłókienkowego, ziarnistego (ryc. 6), czasem zaś zbliżonego wyglądem do tubularnego (ryc. 7). Niektóre z nich były otoczone pierścieniem utworzonym ze struktur drobnowłókienkowych z wnętrzem zawierającym ziarnisty materiał podzielony na kilka ugrupowań (ryc. 8). Najczęściej obserwowano twory zbudowane z materiału ziarnistego otoczonego pierścieniem drobnowłókienkowym, najrzadziej zaś z wnętrzem, w którym poza materiałem drobnowłókienkowym występowały pojedyncze struktury zbliżone wyglądem do tubuli. Poza astro-



*Tabela 1.* Dane z piśmiennictwa dotyczące występowania „ciał jądrowych” w podostrym stwardniającym zapaleniu mózgu z uwzględnieniem czasu trwania choroby

*Table 2.* Literature data concerning the presence of „nuclear bodies” in subacute sclerosing encephalitis considering duration of the disease

Źródło danych Publication	Ciała jądrowe Nuclear bodies	Czas trwania choroby Duration of illness	
Bouteille et al.; 1965	+	8 miesięcy months	
Ulrich, Kidd; 1966	+	15 miesięcy months	
Perier, Vanderhaeghen; 1967	+	5 miesięcy months	
Zu Rhein Chou 1968	+	3 tygodnie weeks	
Toga; 1969	przypadek 1 case 1	+	3 miesiące months
	przypadek 2 case 2	+	4 miesiące months
	przypadek 3 case 3	+	5 lat years
Jabbour et al.; 1969	przypadek 1 case 1	+	26 miesięcy months
	przypadek 2 case 2	+	19 miesięcy months
	przypadek 3 case 3	+	17 miesięcy months
Hadfield et al.; 1972.		+	9 miesięcy months
Zeman; 1968	przypadek 1 case 1	+	brak danych lacking data
	przypadek 2 case 2	+	„
	przypadek 3 case 3	+	„
Harndon, Rubinstein; 1968	przypadek 1 case 1	+	„
	przypadek 2 case 2	+	„
	przypadek 3 case 3	+	„
Oyanagi et al.; 1971	przypadek 1 case 1	+	„
	przypadek 2 case 2	+	„
	przypadek 3 case 3	+	„
Gonatas, Shy; 1965		—	15 miesięcy months
Tellez-Nagel, Harter; 1966		—	brak danych lacking data
Dubois-Dalcq et al.; 1974		—	10 lat years



cytami obecność „ciał jądrowych” stwierdzano w karioplazmie pojedynczych makrofagów, komórek plazmatycznych (ryc. 9) i śródbłónek naczyń.

#### OMÓWIENIE

Poza cechami ultrastrukturalnymi odpowiadającymi zmianom stwierdzonym w mikroskopie świetlnym, uderzające w badaniu mikroskopowo elektronowym było występowanie, głównie w astrocytach, licznych opisanych powyżej wtętołów jądrowych. Podobne twory jądrowe znane są z piśmiennictwa jako „virioocyty” (Litwins, Leibowitz 1951), „sphäridia” (Büttner, Horstmann 1967), „nucleoid bodies”, czy „nuclear-like bodies” (Zeman 1968) oraz „nuclear bodies” (Zu Rhein 1968).

Występowanie „ciał jądrowych” łączono dawniej z zakażeniem wirusowym (Zelickson 1961, 1962, David 1964 i inni). Przekształcanie się tych tworów w struktury o cechach myksowirusa w przypadkach podostrego stwardniającego zapalenia mózgu wykazali w badaniach mikroskopowo elektronowych Harndon i Rubinstein (1968) oraz Hadfield i wsp. (1972). W naszym materiale nie stwierdzono ciał wiruso-podobnych, ani nie ujawniono cech wspomnianych powyżej przeobrażeń.

Obecnie „ciała jądrowe” uznaje się za elementy nieswoiste, spostrzegane w różnych procesach patologicznych, czasem również w warunkach prawidłowych. Występują one głównie w karioplazmie komórek znajdujących się w stanie przerostu i rozplemu. Zbiorcze prace na temat „ciał jądrowych” opublikowali m. in. Bouteille i wsp. (1967), Büttner i Horstmann (1967) oraz Karasek i Dubinin (1969). W układzie nerwowym „ciała jądrowe” najczęściej występują w przerosłych astrocytach. Jakkolwiek zmiany w astrogleju towarzyszą wielu procesom patologicznym układu nerwowego, to jednak „ciała jądrowe” obserwuje się jedynie w nielicznych procesach chorobowych. Powstawaniu „ciał ją-

---

*Ryc. 1.* Komórka plazmatyczna wolno leżąca wśród wypustek neurocytów i astrocytów. Dobrze zachowane osłonki mielinowe. Pow. 12 000  $\times$ .

*Fig. 1.* Plasmocyte cell among neuronal and astrocytic processes. Well preserved myelin sheaths.  $\times 12\ 000$ .

*Ryc. 2.* Miejscowe poszerzenie przestrzeni okołojądrowej astrocytu. Pow. 31 000  $\times$ .

*Fig. 2.* Focal distension of perinuclear space.  $\times 31\ 000$ .

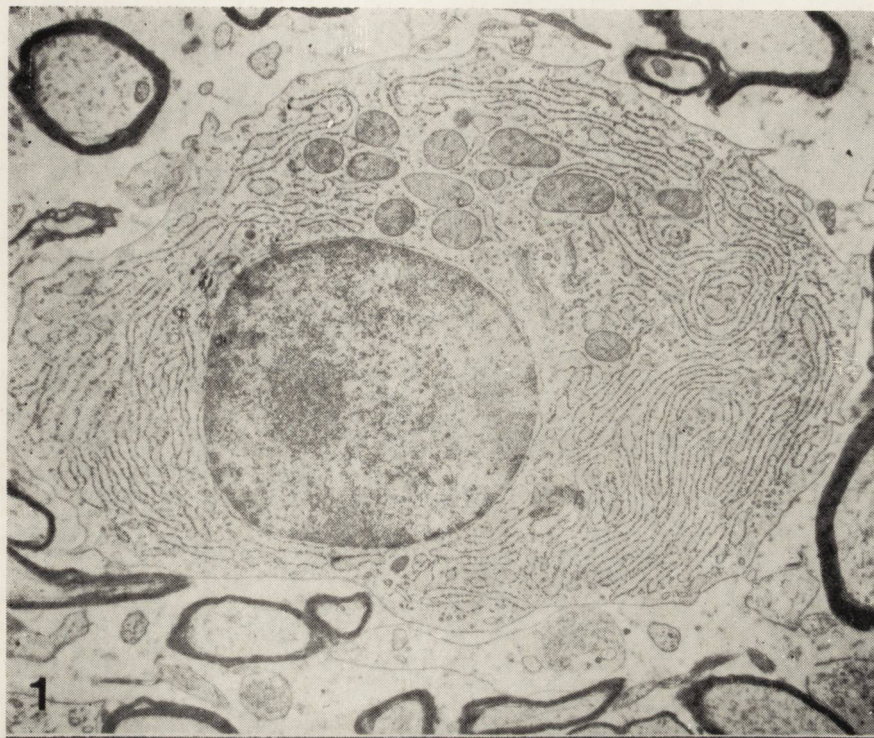
*Ryc. 3.* Przemieszczenie ziaren chromatyny przez pory otoczki jądrowej do cytoplazmy astrocytu. Pow. 30 000  $\times$ .

*Fig. 3.* Displacement of chromatin granules into the cytoplasm of astrocyte through the pores of nuclear envelope.  $\times 30\ 000$ .

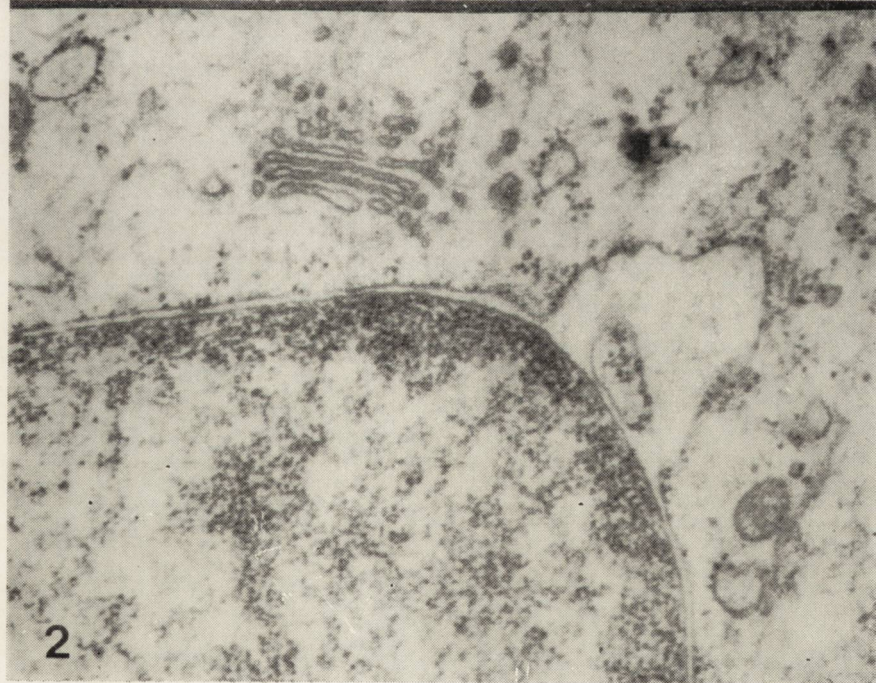
*Ryc. 4.* Pojedyncze, dużych rozmiarów ciało jądrowe astrocytu. Ziarniste wnętrze ciała jądrowego otacza pierścień drobnowłókienkowy i jasne „halo”. Pow. 10 000  $\times$ .

*Fig. 4.* Single large nuclear body of the astrocyte. Granular inner part surrounded by fibrillary ring and light „halo”.  $\times 10\ 000$ .



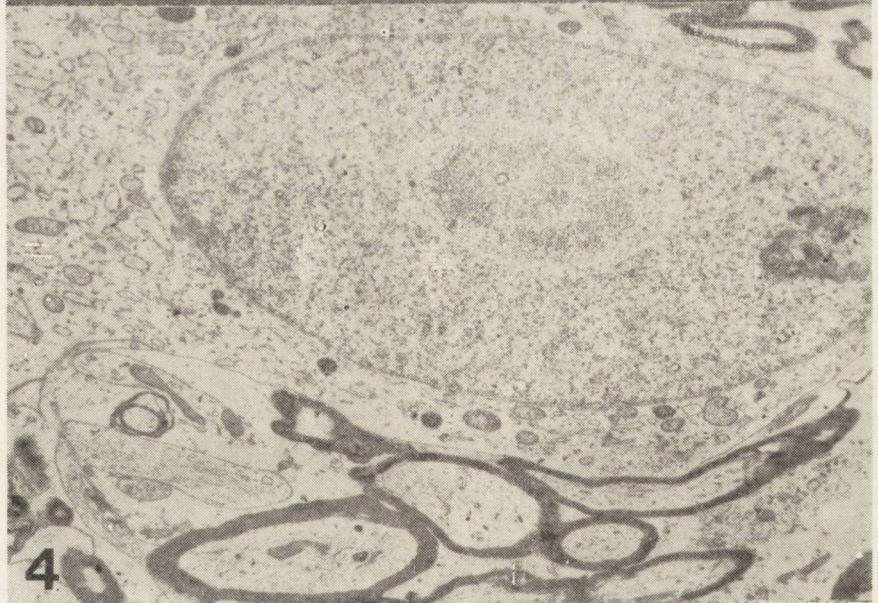
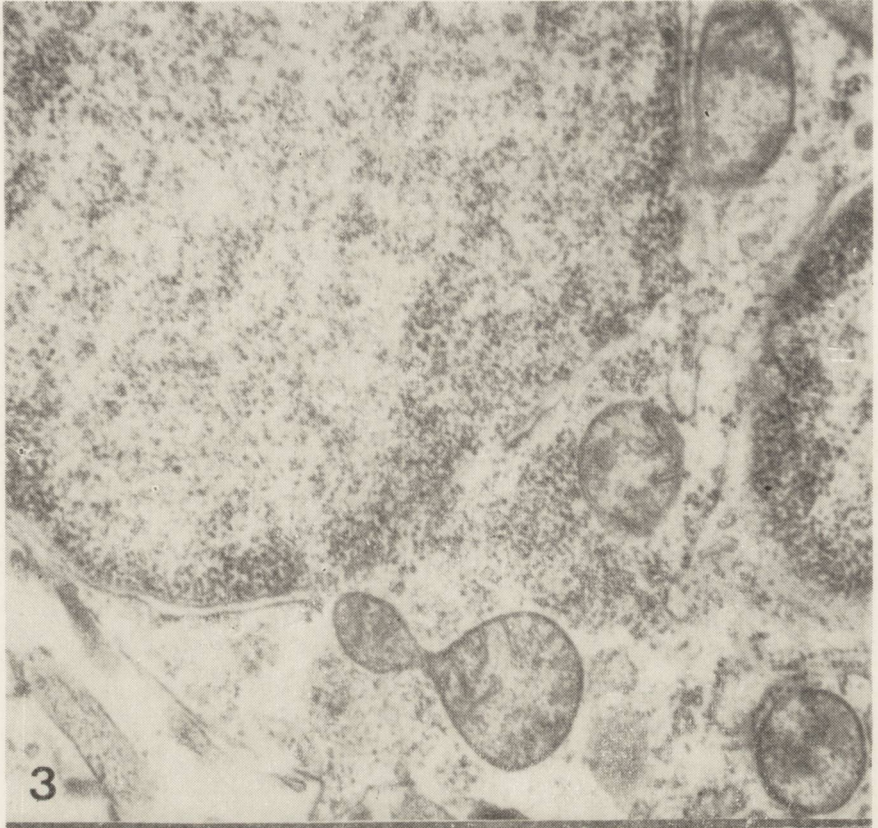


1

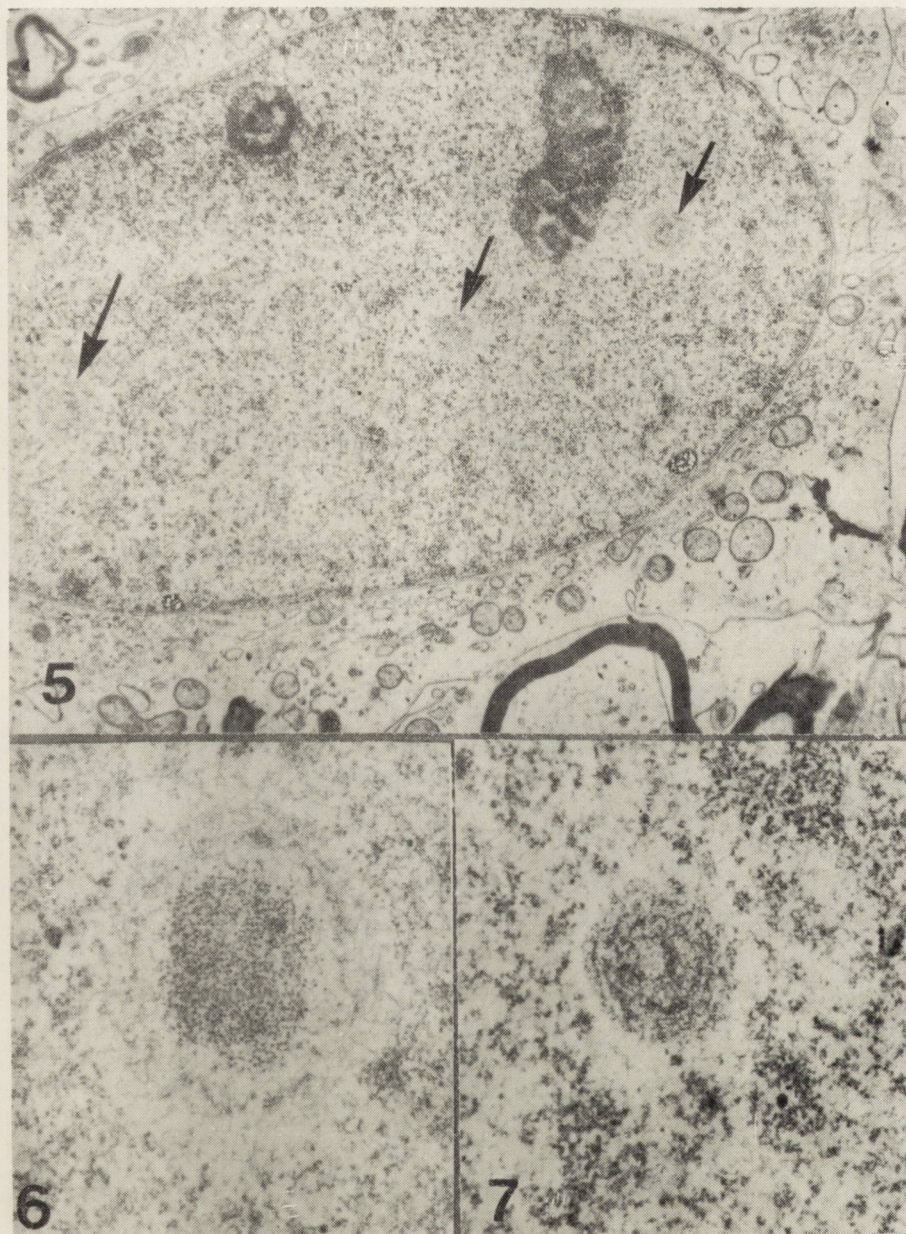


2

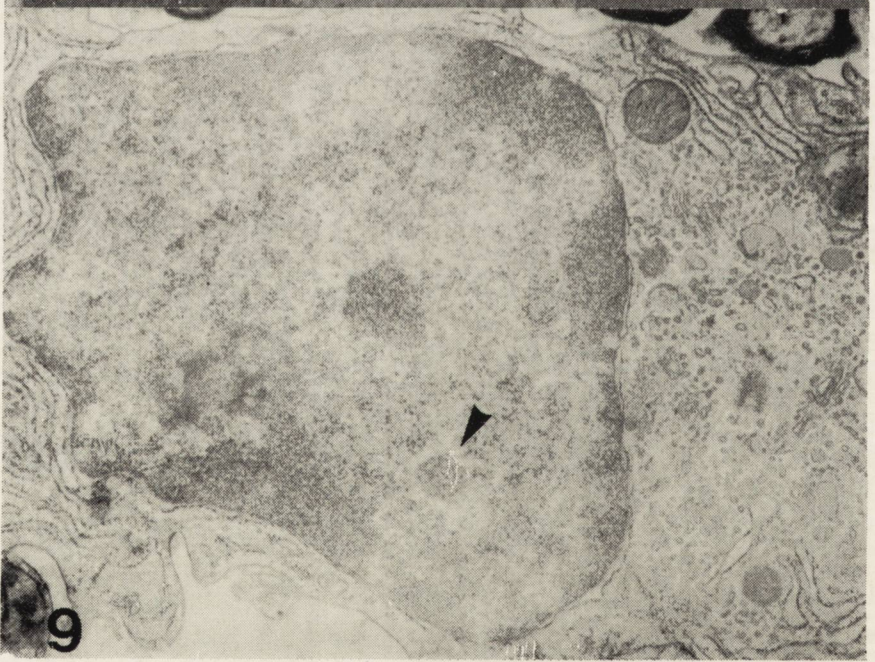
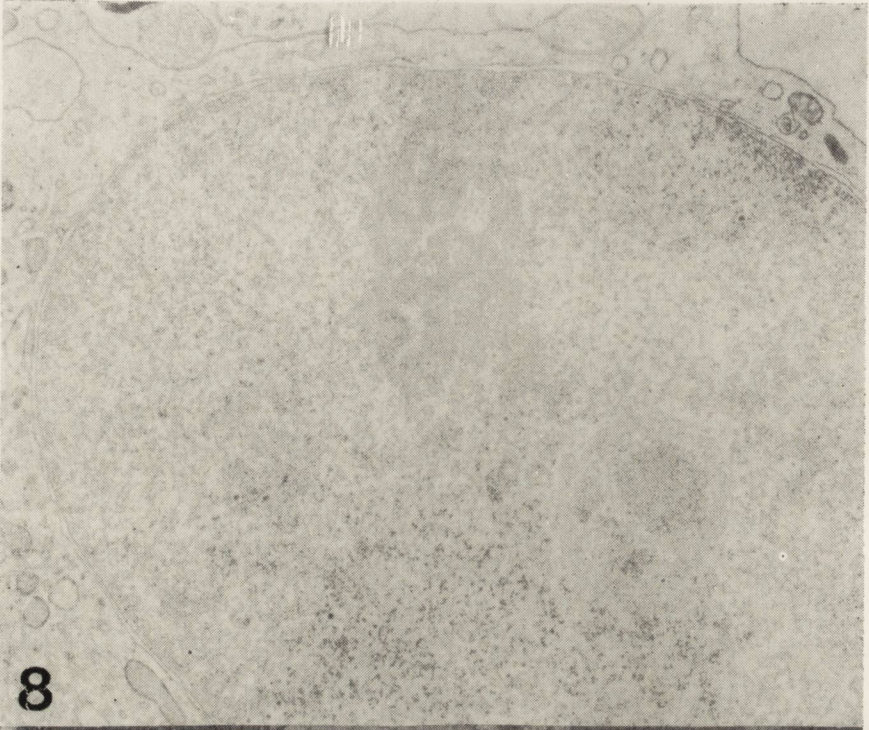














drowych” muszą więc towarzyszyć określone warunki związane z metabolizmem pobudzonej komórki.

„Ciała jądrowe” w naszym materiale występowały prawie wyłącznie w stosunkowo dużych astrocytach z jądrami o kształcie zbliżonym do okrągłego, najczęściej z równomiernie rozłożoną chromatyną i z przestrzieniami okołojądrowymi o prawidłowej szerokości. Nie obserwowano ich natomiast w astrocytach z pofałdowaną otoczką jądrową, z poszerzoną miejscami przestrzenią okołojądrową i w komórkach z wydostającą się chromatyną jądrową do cytoplazmy, a więc w komórkach z cechami uznawanymi za objaw zaburzenia wymiany między kario- i cytoplazmą (Groniowski, Djaczenko 1960, Cervós-Navarro 1962, Kroh i wsp. 1975). Zaburzenie wymiany między jądrem i cytoplazmą nie wydaje się zatem wpływać w opisanym przypadku na powstawanie „ciał jądrowych”.

Opisy przypadków podostrego stwardniającego zapalenia mózgu z ciałami wirusopodobnymi w cytoplazmie komórek ośrodkowego układu nerwowego i przypadków, w których nie udało się ich ujawnić wpłynęły na podjęcie prób ustalenia czasu występowania ciał wirusopodobnych (Harndon, Rubinstein 1968, Toga 1969). Badania te nie dostarczyły jednoznacznej odpowiedzi. Wysuwana koncepcja istnienia związków między wirusami i „ciałami jądrowymi” w podostrym stwardniającym zapaleniu mózgu skłania do przeprowadzenia podobnego porównania odnośnie występowania „ciał jądrowych”. W tym celu zestawiono poniżej dane uzyskane z piśmiennictwa dotyczące zależności między występowaniem „ciał jądrowych” i czasem trwania choroby w przypadkach podostrego stwardniającego zapalenia mózgu (tabela 1).

*Ryc. 5.* Trzy ciała jądrowe astrocytu (strzałki). Dwa jąderka przemieszczone ku obwodowi jądra. Pow. 13 000 X.

*Fig. 5.* Three nuclear bodies of the astrocyte (arrows). Two nucleoli displaced towards nucleus periphery. X 13 000.

*Ryc. 6.* Ciało jądrowe astrocytu zawierające ziarniste wnętrze, otaczający pierścień drobnowłókienkowy i jasne „halo”. Pow. 43 000 X.

*Fig. 6.* Astrocyte nuclear body made of granular material surrounded by fibrillary ring and light „halo”. X 43 000.

*Ryc. 7.* Ciało jądrowe astrocytu zbudowane z koncentrycznie ułożonych struktur drobnowłókienkowych; niektóre z nich mają cechy tubuli. Pow. 45 000 X.

*Fig. 7.* Astrocyte nuclear body made of concentrically arranged fibrillary structure displaying some tubular features. X 45 000.

*Ryc. 8.* Ciało jądrowe astrocytu otoczone pierścieniem drobnowłókienkowym, zawierające materiał drobnodziarnisty ułożony w trzech zgrupowaniach. Pow. 12 000 X.

*Fig. 8.* Astrocytic nuclear body surrounded by fibrillary substance and containing three groups of fine granular material. X 12 000.

*Ryc. 9.* Jądro komórki plazmatycznej zawierające pojedyncze ciało jądrowe (strzałka). Pow. 10 000 X.

*Fig. 9.* Single nuclear body (arrow) in the nucleus of plasmocyte cells. X 10 000.



Mała liczba zestawionych przypadków, w których nie stwierdzono obecności „ciał jądrowych” nie pozwala wnioskować co do istnienia zależności między ich nieobecnością, a czasem trwania choroby. Dane dotyczące przebiegu klinicznego w przypadkach, w których je ujawniono wskazywać mogą na fakt, że nie ma zależności między występowaniem „ciał jądrowych” i czasem trwania choroby (najkrótszy 3 tygodnie, najdłuższy 5 lat). Występowanie „ciał jądrowych” w przypadkach podostrego stwardniającego zapalenia mózgu wydaje się zatem niezależne od czasu trwania choroby.

Brak w naszym materiale cech wskazujących na przeobrażanie się „ciał jądrowych” w ciała wirusopodobne może potwierdzać pogląd, że są one zjawiskiem nieswoistym. Jak wykazano w opisanym przypadku i danych z piśmiennictwa, ciała jądrowe często występują w podostрым stwardniającym zapaleniu mózgu. Ponieważ są to twory nieswoiste nie mogą one stanowić podstawy rozpoznania omawianej jednostki chorobowej. Jednak przy istnieniu patomorfologicznych cech sugerujących rozpoznanie podostrego stwardniającego zapalenia mózgu, obecność ciał jądrowych w obrazie mikroskopowo elektronowym stanowić może istotny element potwierdzający rozpoznanie. Ma to szczególne znaczenie w przypadkach w których nie udaje się ujawnić ciał wirusopodobnych.

T. Майдеcki, Е. Кульчицки

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ПОДОСТРОМ ПЕРИАКСИАЛЬНОМ ЭНЦЕФАЛИТЕ

Резюме

Описана электронно-микроскопическая картина мозговой ткани, взятой прижизненно путем биопсии при подостром периаксиальном энцефалите.

В ткани мозга не было обнаружено вирусных частиц, в то же время было выявлено большое количество ядерных телец в глиальных клетках. Основываясь на собственных данных и на данных, известных из литературы, установлено, что несмотря на неспецифичность ядерных телец, появление их в подостром периаксиальном энцефалите может являться важным дифференцировочным элементом в диагностике сомнительных случаев этого заболевания.

T. Majdecki, J. Kulczycki

ELECTRON MICROSCOPIC STUDY OF THE SUBACUTE SCLEROSING ENCEPHALITIS

Summary

The electron microscope image of the brain tissue, collected supravitally by biopsy from the case of subacute sclerosing encephalitis was described. No virus particles were observed in the brain tissue, while numerous nuclear bodies were revealed in glial cells. Basing on our results and literature data, it was concluded



that despite the unspecificity of nuclear bodies, their occurrence in subacute sclerosing encephalitis may constitute a significant differential element in the diagnostically doubtful cases of this disease.

## PIŚMIENNICTWO

1. Bouteille M., Fontaine C., Vedrenne C., Delarue J.: Sur un cas d'encéphalite subaiguë à inclusions. Etude anatomo-clinique et ultrastructurale. *Revue Neurol.* 1965, 113, 454—458.
2. Bouteille M., Kalifat S., Delarue J.: Ultrastructural variations of nuclear bodies in human diseases. *J. Ultrastruct. Res.* 1967, 19, 474—486.
3. Büttner D., Horstmann E.: Haben die Sphäridien in den Zellkern kranker Gewebe eine pathognomonische Bedeutung? *Virchows Arch. path. Anat.* 1967, 343, 142—163.
4. Cervos-Navarro J.: Elektronenmikroskopische Befunde an normalen und pathologischen Nervenzellkernen. *Arch. Psych. Ztschr. ges. Neurol.* 1962, 203, 575—598.
5. David H.: Physiologische und pathologische Modifikationen der submikroskopischen Kernstruktur. I. Das Karyoplasma, Kerneinschlüsse. *Ztschr. mikroskopisch-anatomische Forsch.* 1964, 71, 412—456.
6. Dubois-Dalq M., Coblenz J., Pleet A.: Subacute sclerosing panencephalitis. Unusual nuclear inclusions and lengthy clinical course. *Arch. Neurol.* 1974, 31, 355—363.
7. Fryze C., Kulczycki J.: Klinische Verlauf und Therapie in einem Fall der bioptisch bestätigten subakuten sklerotisierenden Panencephalitis. *Neuropat. Pol.* 1974, 12, 143—146.
8. Gonatas N., Shy G.: Virus-like particles in subacute sclerosing encephalitis. *Nature* 1965, 208, 1338—1339.
9. Groniowski J., Djaczenko W.: Die Kernmembran des Transplantations-epithelioms-Guerin. *Proc. Eur. Reg. Conf. on Electron Microscopy. Delf 1960, Vol. II,* 895—899.
10. Hadfield M., David R., Rosenblum W.: Coiled nucleocapsid configuration in subacute sclerosing panencephalitis. *Acta Neuropath. (Berl.)* 1972, 21, 263—271.
11. Harnden R., Rubinstein J.: Light and electron microscopy observations on the development of viral particles in the inclusions of Dawson's encephalitis (subacute sclerosing panencephalitis). *Neurology* 1968, 18, 8—20.
12. Jabbour J., Garcia J., Lemmi H., Regland J., Duenas D., Sever J.: Subacute sclerosing panencephalitis. A multidisciplinary study of eight cases. *J. Am. Med. Assoc.* 1969, 207, 2248—2254.
13. Karasek J., Dubinin I.: Nuclear bodies in keratosis arsenialis. *Virchows Arch. Abt. B. Zellpath.* 1969, 2, 171—179.
14. Kroh H., Majdecki T., Groniowski J.: The fine structure of nuclei in experimental brain tumors. 1975, w druku.
15. Litwins J., Leibowitz S.: Abnormal lymphocytes („viricytes”) in virus disease other than infectious mononucleosis. *Acta Haematolog.* 1971, 5, 223—231.
16. Oyanagi S., Borke L., Katz M., Koprowski H.: Histopathology and electron microscopy of three cases of subacute sclerosing panencephalitis. *Acta neuropath. (Berl.)* 1971, 18, 53—73.



17. Perier O., Vanderhaeghen J.: Subacute sclerosing leucoencephalitis. Electron microscopic findings in two cases with inclusion bodies. *Acta neuropath. (Berl.)* 1967, 8, 362—380.
18. Tellez-Nagel L., Harter D.: Subacute sclerosing leucoencephalitis: Ultrastructure of intranuclear and intracytoplasmic inclusions. *Science* 1966, 154, 899—901.
19. Toga M.: Ultrastructural studies of four cases of subacute sclerosing leucoencephalitis. *Acta neuropath. (Berl.)* 1969, 14, 1—13.
20. Ulrich J., Kidd M.: Subacute inclusions body encephalitis. A histological and electron microscopical study. *Acta neuropath (Berl.)* 1966, 6, 359—370.
21. Zelickson A., Lynch F.: Electron microscopy of virus-like particles in a keratoacanthoma. *J. invest. Derm.* 1961, 37, 79—83.
22. Zelickson A.: Virus-like particles demonstrated in keratoacanthoma by electron microscopy. *Acta dermat-venereol.* 1962, 42, 23—26.
23. Zeman W.: Wypowiedź w dyskusji. *Neurology* 1968, 18, 159.
24. Zu Rhein G., Chou S.: Subacute 'sclerosing panencephalitis. Ultrastructural study of a brain biopsy. *Neurology* 1968, 18, 146—158.
25. Zu Rhein G.: Wypowiedź w dyskusji. *Neurology* 1968, 18, 19.

Adres autorów: Zespół Neuropatologii CMDiK, Dworkowa 3, 00-784 Warszawa.



EWA OSETOWSKA, FELIKS LUSZAWSKI

## X. ZMIANY STARCZE W MÓZGU KRÓLIKA ZDROWEGO I W MÓZGU KRÓLIKA „pt”

Ośrodek Doświadczalny Neurologii Porównawczej Centrum Medycyny  
Doświadczalnej i Klinicznej PAN w Mińsku Mazowieckim  
Kierownik Ośrodka: prof. dr med. E. Osetowska

Związki patogenetyczne i analogie pomiędzy dziedzicznymi chorobami zwyrodnieniowymi a procesem starzenia się układu nerwowego były postulowane od dawna przez neuropatologię klasyczną (Scholz, 1957; Olaszewski, 1968). Badania nad zakażeniami tzw. wirusami powolnymi, szczególnie zaś wyniki badań Zlotnika (1970) w dużej mierze potwierdziły możliwość pokrewnych patomechanizmów w obu grupach chorobowych. Zlotnik uzyskał obraz mózgu identyczny ze zmianami obserwowanymi w doświadczalnej scrapie u myszy starczych, całkowicie odizolowanych od możliwych kontaktów zakaźnych. Zjawisko to dotyczyło jednak tylko myszy starczych pochodzących z określonych szczepów wsobnych. Podobne zmiany mózgowe otrzymane w doświadczalnej scrapie i kuru oraz w chorobie Jakoba-Creutzfeldta (Hadlow, 1959; Gibbs i wsp. 1968) stanowią jedno z równie mocnych ogniw w łańcuchu spostrzeżeń korelujących patologię zwyrodnień dziedzicznych i zwyrodnień starczych mózgu.

Celem niniejszej pracy jest porównanie zmian starczych w mózgu królików zdrowych, pochodzących z poza stada pt, i w mózgu królików pt, które dożyły bądź to wieku starczego, bądź inwolucyjnego. Przeciętne przeżycie królika zdrowego przyjmuje się na lat 5 do 7-miu. Wiek inwolucyjny w odniesieniu do zdolności reprodukcyjnych, rozpoczyna się u królika powyżej dwóch lat życia (Herman, 1973).

### MATERIAŁ I METODY

Badania wykonano na 59 przypadkach podzielonych początkowo na 4 grupy.

\* Temat 09,4.1.3.4. Praca wykonana przy częściowej pomocy finansowej agr. 05-035-N, PL-480, U.S.A., N.H.I.



Grupa 1: 11 królików z poza stada pt w wieku od 2,5 do 8,5 lat (średnio przeżycie — 6 lat); w tym 5 samców, 6 samic;

Grupa 2: 12 samic nosicielek pt, w wieku od 3 do 7 lat (średnio przeżycie 5 lat);

Grupa 3: 12 przypadków królików ze stada pt z przebiegiem klinicznym poronnym lub bezobjawowym (z hipotetyczną supresją genetyczną w postaci cechy MM (Osetowska i wsp. 1975 A), przeżycie od 2,5 do 7 lat, średnio 5 lat. W tej grupie znajdowały się 3 samce i 9 samic;

Grupa 4: 24 przypadki królików pt z wyraźnym okresem objawowym ostrym i wtórną poprawą, umożliwiającą użycie zwierząt do reprodukcji (cecha supresyjna o charakterze heterozygotycznym Mm, z niepełną dominantą); przeżycie od 2,5 do 5 lat, średnio 4 lata; w grupie 11 samców, 13 samic.

Pierwsze przebadanie rutynowe materiału histologicznego wykazało, że grupy 1, 2 i 3 wykazują takie same zmiany mózgowo, odmienne od obrazów zaobserwowanych w grupie 4. Pozwoliło to na wtórny podział materiału tylko na dwie grupy:

I — 35 przypadków, reprezentujących patologię mózgową odpowiadającą wiekowi;

II — 24 przypadki z obrazem morfologicznym odrębnym, wykazującym uszkodzenia właściwe dla zespołu pt.

Klinicznie grupa I nie wykazywała przyżyciowo objawów neurologicznych. Króliki pt z supresją MM były przeważnie całkowicie bezobjawowe. W poszczególnych przypadkach obserwowano ślad drżeń zrytmizowanych w ciągu 1—2 dni w dwóch pierwszych tygodniach życia. Dalszy przebieg kliniczny bez objawów neurologicznych. Pod koniec życia w grupie I, w zależności od towarzyszących uszkodzeń narządów wewnętrznych, występowały czasami objawy niewydolności krążenia lub zaburzenia oddechu.

W grupie II u wszystkich zwierząt w wieku od 10 dni do 3—4 miesięcy stwierdzano klinicznie zrytmizowane drżenia głowy i ciała oraz niedowłady spastyczne kończyn. Króliki te stopniowo poprawiały się klinicznie, ale aż do zgonu występowały u nich okresowe nasilenia objawów ze wzmożonym drzeniem, napięciem mięśniowym i klonicznymi odruchami ścięgowymi. Niedowłady stacjonarne były stosunkowo niewielkie, uchwytne przy poruszaniu się zwierząt na większej przestrzeni (pozostawianie kończyn w tyle, lub tendencja do rozplywania się od siebie kończyn). Jak zaznaczono już wyżej, pomimo utrzymujących się objawów, zwierzęta te były wszystkie używane do reprodukcji. Obie grupy były hodowane w jednakowych warunkach pomieszczeniowych i otrzymywały jednakowe żywienie.



W obu grupach występowały z podobną częstotliwością choroby układu oddechowego i przewodu pokarmowego, pospolite w konwencjonalnych hodowlach króliczych. Był to głównie katar zakaźny królików z wtórnymi ogniskami zapalnymi w płucach i/lub zapalno-zwyrodnieniowymi zmianami w nerkach (Knorr, 1972; Kötsche, Gottschalk, 1972) oraz kokcydioza wątroby o stosunkowo niewielkim nasileniu. W tych ostatnich przypadkach miąższ wątrobowy nigdy nie był tak zniszczony, ażeby trzeba było brać pod uwagę w ocenie materiału mózgowego wtórną encefalopatię wątrobową (Mossakowski 1966).

Króliki były usypiane w okresie preagonalnym, lub w przypadkach znacznego nasilenia kataru, przez przedawkowanie dożylnie Eunarconu. We wszystkich przypadkach wykonywano sekcję makroskopową narządów. Z narządów zmienionych pobierano skrawki do kontroli histopatologicznej.

Badanie neuropatologiczne mózgu przeprowadzano w rutynowej technice parafinowej z użyciem barwien konwencjonalnych (H-E, van Gieson, fiolet krezyłu, Heindenhain, Holzer, impregnacja wg. Holmes'a). W części przypadków (najstarsze z każdej grupy) wykonano dodatkowo barwienia czerwieni Kongo, sudanem III (na materiale mrożonym) oraz barwienie PAS-dimedon na glikogen, jak również metodą Turnbulla na żłogi żelazowe.

## WYNIKI

### Grupa I.

Elementy tkanki nerwowej nie wykazują w tej grupie zmian charakterystycznych. Neurony kory i jąder podkorowych są ogólnie przerzedzone, z licznymi postaciami sklerotycznymi w korze, które u królika nie mają znaczenia patognomicznego. W przypadkach powyżej 5-ciu lat spotyka się dość często w protoplazmie neuronalnej ostro odgraniczone małe wakuole, niemal regularnie występują one w *nucleus cochlearis dorsalis* (ryc. 1) (wg. nomenklatury Berga, 1973). Nie spotkano nigdy zmian, które dałyby się zakwalifikować jednoznacznie jako zwyrodnienie włóknienkowe neuronalne lub plaka starcza. Ilość włókien nerwowych jest przerzedzona analogicznie do ilości neuronów, nie wykazują one jednak fragmentacji ani odkształceń (ryc. 2). W mózdzku obserwuje się wypadnięcia segmentarne komórek Purkinjego, ale komórki pozostałe mają dobrze zarysowaną strukturę protoplazmy i jądra, niekiedy tylko spostrzega się niecharakterystyczne obrazy umiarkowanej tigrolizy względnie ciemniejsze wybarwienie jąder. W warstwie ziarnistej przerzedzenia komórkowe grupują się wyraźnie okołonaczyniowo. W formacjach szarych śródmózgowia, mostu i opuszki liczne neurony bar-



wią się ciemno i mają błonę komórkową mocno obrysowaną. Przerzedzenia neuronalne i aksonalne są nasilone w sąsiedztwie naczyń krwionośnych, podobnie jak i gąbczaste przerzedzenia mieliny. Naczynia wszystkich kalibrów wykazują zatarcie budowy warstwowej, zaniki błony środkowej w tętnicach, wyraźny przerost włókien kolagenowych w barwieniu v. Gieson (ryc. 3), drobne przerosty włókien srebrochłonnych. W zrębie spłotu naczyniówkowego widoczny jest również przerost włókien srebrochłonnych (ryc. 4) i kolagenowych, obok zwyrodnień torbielowatych i zaniku nabłonka spłotu. Przerost włókien kolagenowych w oponach i wyraźne pogrubienie opon w porównaniu ze wstęgą kory i warstwą istoty białej spotyka się również regularnie powyżej 4-tego roku życia (ryc. 5). Glejoza włóknista, barwiąca się dodatnio w metodzie Holzera wykazuje nasilenie okołokomorowe, okołonaczyniowe i podoponowe (ryc. 6). Zanikowi elementów parenchymalnych odpowiada nasilenie wodogłowia wewnętrznego, występującego we wszystkich przypadkach z przeżyciem 4—5-cioletnim (ryc. 7). Nie stwierdzono w żadnym z przebadanych przypadków zwyrodnienia kongofilnego ścian naczyń, nie stwierdzono również odkładania się glikogenu śródkomórkowo lub pozakomórkowo. Natomiast już powyżej 3-go roku życia spotyka się w komórkach mikroglejowych warstwy drobinowej mózdzku i mózgu złogi substancji zawierających żelazo barwiące się dodatnio w metodzie Turnbulla (ilustrację barwną tego zjawiska przedstawiono w

Ryc. 1. Zmiany wakuolarne w neuronach *nucleus cochlearis dorsalis*. Grupa I. Przyp. z. 168/73. Parafina, fiolet krezyłu, 500 ×.

Fig. 1. Vacuoles in the neurons of the *nucleus cochlearis dorsalis*. Group I. Case z-168/73. Cresyl-violet, × 600.

Ryc. 2. Przerzedzenie neuronów w *nucleus ventralis basalis thalami*. Włókna nerwowe nieliczne, ale bez wyraźniejszych odkształceń. Grupa I, przyp. z. 132/70. impr. Holmes, 300 ×.

Fig. 2. Neuronal rarefaction in the *nucleus ventralis basalis thalami*. Nerve fibers rarefied but relatively preserved. Group I, case z-132/70, Holmes impregnation, × 300.

Ryc. 3. Przerost włókien kolagenowych w ścianach naczyń. Grupa I, przyp. 253/70, van Gieson, 150 ×.

Fig. 3. Proliferation of the collagen fibers in the vascular walls. Group I, case z-253/70, van Gieson, × 150.

Ryc. 4. Przerost włókien srebrochłonnych i zwyrodnienie torbielowate spłotu. Grupa I, przyp. z. 199/70, Holmes, 75 ×.

Fig. 4. Proliferation of the argentophilic fibers in the plexus chorioideus together with cystic degeneration. Group I, case z-199/70, Holmes, × 75.

Ryc. 5. Przerost włókien kolagenowych w oponach. Grupa I, przyp. z. 29/68, van Gieson, 150 ×.

Fig. 5. Meningeal fibrosis. Group I, case z-29/68, van Gieson, × 150.

Ryc. 6. Podoponowe nasilenie glejozy włóknistej. Grupa I, przyp. 132/70, Holzer, 150 ×.

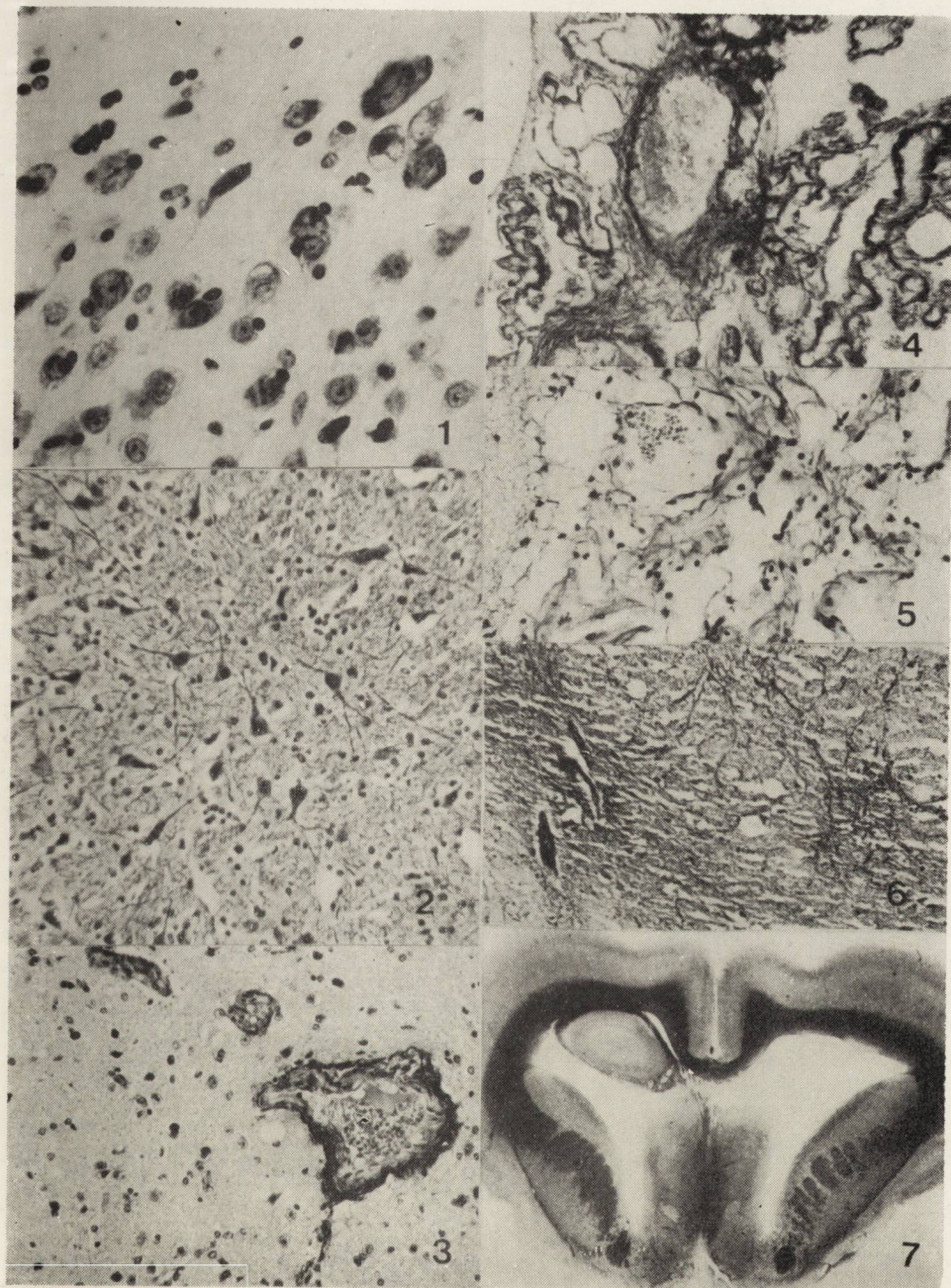
Fig. 6. Subpial glial fibrosis. Group I, case 132/70, Holzer, × 150.

Ryc. 7. Wodogłowcie wewnętrzne. Grupa I, przyp. z. 19/71. Heidenhain. wielk. nat.

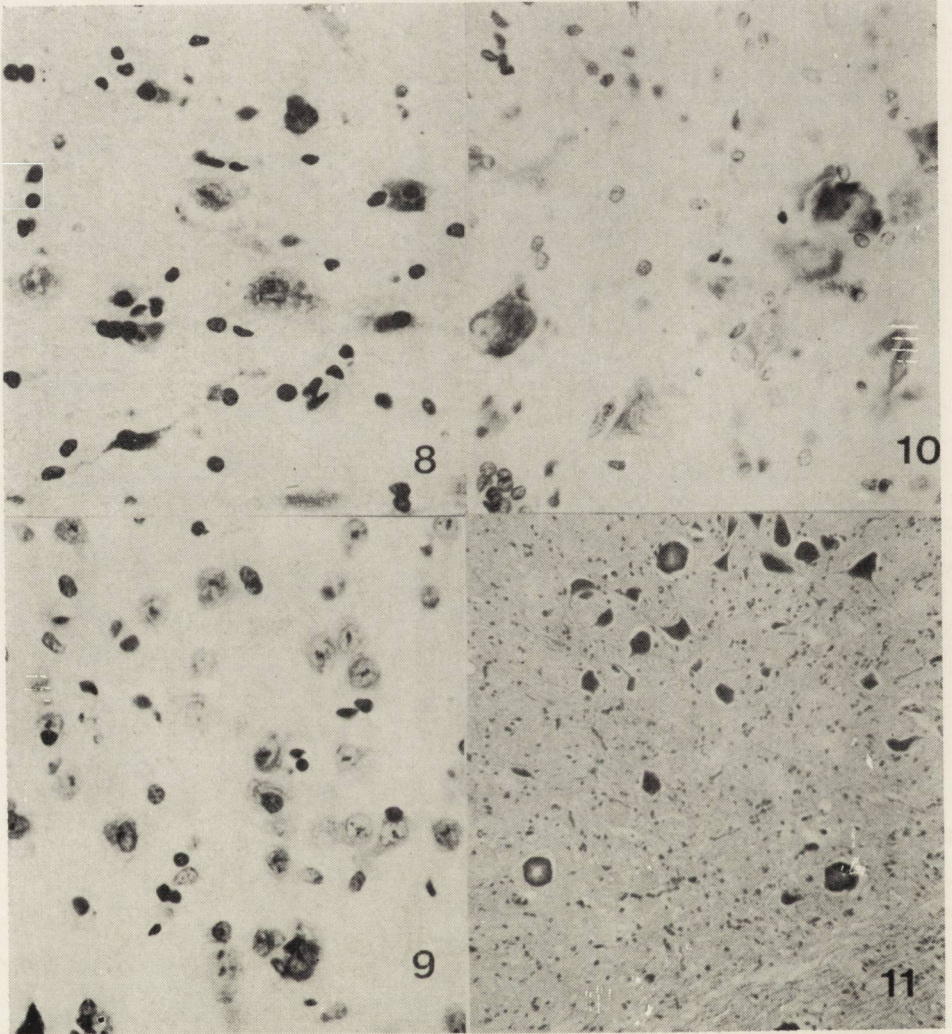
Fig. 7. *Hydrocephalus internus*. Group I, case z-19/71. Heidenhain, nat. size.

Ryc. 8. Zmiany ostre w neuronach *nucleus anterior ventralis thalami*. Grupa II, przyp. z. 190/73. Fiolet krezyłu, pow. 600 ×.











pracy Csetowska i wsp. 1975 B.). W istocie białej, w sąsiedztwie naczyń wykazujących w otoczeniu stan gąbczasty, ilość komórek glejowych jest optycznie wzmożona, stosunkowo często spotyka się nagie jądra typu Alzheimer II. Przestrzenie okołonaczyniowe są nieco poszerzone, w przeciwieństwie jednak do obrazów obserwowanych u starczych psów i starczych małp (Osetowska 1965, Kulczyckj 1972) nie spotkano nigdy odpowiedników morfologicznych stanu zatokowatego. Opisane zmiany nie wykazują nasilen lokalizacyjnych, poza wspomnianą wyżej predylekcją zwyrodnienia wakuolarnego do neuronów jądra słuchowego.

## Grupa II.

We wszystkich przypadkach tej grupy współistnieją takie same zmiany jak w grupie I-szej. Ujawniają się one jednak znacznie wcześniej, bo już w przypadkach z przeżyciem powyżej 2—3 lat. Równolegle wśród przeredzonych grup neuronalnych występują uszkodzenia charakterystyczne dla zespołu pt, nasilone najbardziej w dolnych warstwach kory, we wzgórzu (ryc. 8), w *corpus striatum* (ryc. 9) oraz w wielko-komórkowej grupie neuronalnej *pallidum* (ryc. 9). Zmienione neurony wykazują bądź to cechy obrzęku, bądź homogenego rozplywania się w podłożu oraz psędo-wakualizację: przeredzenia struktury bez ostrego odgraniczenia od otoczenia, tak charakterystycznego dla wakuolizacji neuronalnej w grupie I. Neurony w strukturach pnia, w mózdzku i rdzeniu mają częściej zmiany „przewlekłe” lub „sklerotyczne”. Natomiast w 53% przypadków tej grupy znaleziono typowe dla zespołu pt zwapnienia neuronalne. Niekiedy mają one charakter identyczny, jak w przypadkach z przebiegiem ostrym (ryc. 11), czasami zwapniała struktura ulega obkurczeniu z tendencją do fragmentacji na leżące obok siebie drobniejsze ziarna. W impregnacji srebrowej nie spotyka się jednak wzmożonej ilości poszerzeń aksonalnych, które Taraszewska i wsp. (1976) spostrzegali

---

*Fig. 8.* Acute changes among remaining neurons of the *nucleus anterior medialis thalami*. Group II, case z-190/73. Cresyl-violet,  $\times 600$ .

*Ryc. 9.* Zmiany ostre w neuronach *nucleus caudatus*. Group II, przyp. z. 93/73. Fiolet krezyłu,  $600 \times$ .

*Fig. 9.* Acute changes in the neurons of the *nucleus caudatus*. Group II, case z-93/73, Cresyl-violet,  $\times 600$ .

*Ryc. 10.* Rozplywanie się homogenne komórek w grupie wielkokomórkowej *pallidum*. Grupa II, przyp. z. 31/71, fiolet krezyłu,  $600 \times$ .

*Fig. 10.* Homogenic destruction of the great pallidal neurons. Group II, case z-31/71. Cresyl-violet,  $\times 600$ .

*Ryc. 11.* Zmiany przewlekłe i sklerotyczne w neuronach jądra ruchowego nerwu trójdzielnego. Zwapnienia neuronalne w tymże jądrze oraz w istocie siateczkowatej. H.-E.  $300 \times$ . Grupa II, z. 48/71.

*Fig. 11.* Chronic changes and calcified neurons in the *nucleus motorius trigemini* and in the *substantia reticularis pontis*. Group II, case z-48/71, H.-E.  $\times 300$ .



niekiedy w przypadkach ostrych. Dystrofii aksonalnej nie obserwowano również wśród komórek włókien *nucleus gracilis*, spostrzeganej u człowieka i innych gatunków zwierząt w przypadkach starczych (Brannon i wsp. 1967). Nie znaleziono także i w tej grupie zwyrodnień włókienkowych ani plak starczych. Demielinizacja i glejoza włóknista, obok pewnych nasileń okołonaczyniowych, zachowują swój podstawowy charakter zwyrodnień układowych w długich drogach mózgowo-pniowo-mózdkowych i rdzeniowych (Osetowska i wsp., 1975 C).

Zmiany histochemiczne są takie same jak w grupie I, z wyjątkiem barwień pozytywnych na związki wapnia (metoda von Kossa i Alizaryna S).

#### OMÓWIENIE

Porównanie dwóch przebadanych grup nie wykazuje pokrewieństwa morfologicznego zmian charakterystycznych dla zespołu pt i zmian starczych. Wskazuje co najwyżej na synergiczne działanie obu procesów w przyspieszeniu zmian charakterystycznych dla mózgu starczego. Stwierdzenie to nie jest zaprzeczeniem poglądów klasycznych, wskazuje tylko na zasadnicze różnice w porównywanym materiale. Zainteresowanie klasyków skupiało się w istocie na przypadkach z objawami przyżyciowymi, łączonymi z podeszłym wiekiem, a rozpoznawanymi zazwyczaj jako otępienie starcze lub arteriosklerotyczne. Przypadki te miały z reguły w badaniach neuropatologicznych zmiany neuronalne lub neuroaksonalne analogiczne do obrazów przypisywanym encefalopatiom wieku przedstarczego. Zespoły starcze otępieniowe pozwalają na wykazanie anamnestyczne uwarunkowań rodzinnych, co nasila dodatkowo ich podobieństwo do zwyrodnień dziedzicznych OUN.

W naszym materiale grupa I reprezentuje w zasadzie starość względnie inwolucję fizjologiczną. Oczywiście w rozważaniach porównawczych należy uwzględnić stopień rozwoju mózgowego królika, wykluczający ocenę „normy psychicznej” pacjenta. W zakresie zwykłych czynności życiowych dyktowanych instynktem samozachowawczym i instynktem gatunku można odnotować tylko stopniowe zanikanie tego ostatniego. Materiał grupy I byłby zatem porównywalny tylko z unikalną serią Gellerstedta (1933), dotyczącą zmian mózgowych starczych fizjologicznych t.j. takich, które wynikają z przebiegu życia wraz z wpływem chorób przypadkowych, ale którym nie towarzyszą objawy kliniczne ani neurologiczne ani psychiczne. Toteż Gellerstedt znajdował „specyficzne zmiany starcze” jak zwyrodnienie włókienkowe lub plaki tylko w przypadkach sporadycznych. Zmiany mózgowe znalezione w naszej grupie pierwszej odpowiadają tym niespecyficznym zmianom wyróżnionym w opi-



sach Seitelbergera (1957), Jacoba (1965), Hasslera (1965), ażeby nie wracać już do źródeł bardziej odległych w czasie. Natomiast, w przeciwieństwie do badań Horanyi'ego (1957), który ocenia spłot naczyński mózgu, jako „narząd” wyjątkowo odporny na proces starzenia się, znaleźliśmy w materiale grupy I bardzo zaawansowane uszkodzenia spłotu. Być może jest to właściwość gatunkowa królika, związana z bardzo intensywną funkcją spłotu u królików młodych kilkomiesięcznych, u których nabłonek spłotu odgrywa zasadniczą rolę w przemianie lipidowej (Marinetti i wsp. 1971, Oehmiden 1973). Brak w grupie I zwyrodnień włóknkowych i plak starczych budzi zastanowienie w porównaniu z materiałem doświadczalnym: Shelansky i Wiśniewski (1969), Terry i Wiśniewski (1972), Wiśniewski i Terry (1970, 1973) otrzymywali regularnie oba typy zwyrodnień u królików otrzymujących sole aluminium oraz vinkristinę i jej pochodne.

Nasze negatywne spostrzeżenia (poza serią opracowaną obecnie potwierdzają się one także w badaniach rutynowych stada pt) świadczyłyby o odrębnym patomechanizmie i odrębnym znaczeniu zwyrodnień neuroaksonalnych obserwowanych w ostrych zatruciach środkami chemicznymi. Intoksykacje tego typu nie mogą być zatem traktowane jako proste przyspieszenie starzenia się elementów nerwowych, analogicznych do zmian spostrzeganych u ludzi młodych w przewlekłych chorobach układu nerwowego, jak idiocja amaurotyczna (Seitelberger, Nagy, 1957), parkinsonizm po zapaleniu mózgu (Hallervorden, 1935), podostre zapalenie mózgu (Gutewa, Osetowska 1961), które to zmiany tak właśnie interpretuje Lewicka-Wysocka (1969). Zapewne podobnie należy się zapatrywać na negatywne rezultaty barwienia na obecność glikogenu, pomimo niewątpliwych uszkodzeń i ubytków neuronalnych w otoczeniu naczyń. W obrazach morfologicznych ostrego niedotlenienia doświadczalnego u królika Szumańska i Gadamski (1974) oraz Gadamski i Eustachiewicz (1974) stwierdzali zawsze obecność ziarnistości glikogenu poza- i śródkomórkowo. Nie może tu wchodzić w rachubę błąd techniczny w naszych badaniach, ponieważ glikogen był przedmiotem naszego specjalnego zainteresowania ze względu na jego znaczenie w patologii neurologicznego królika amerykańskiego (O'Leary i wsp. 1972). Sprawdzaliśmy więc jego występowanie w licznych przypadkach rutynowych, niezależnie od niniejszych badań, otrzymując zawsze wyniki negatywne. Trzeba zatem przyjąć *ex iuvantibus* istnienie zasadniczej różnicy pomiędzy niedokrwieniem (niedotlenieniem) ostrym wywołowanym w warunkach doświadczalnych, a niedokrwieniem (niedotlenieniem) narastającym przewlekle w następstwie zwyrodnienia ścian naczyń i współistniejących *ad casum* procesach zapalnych w drogach oddechowych królika, dożywającego późnego wieku w warunkach natu-



ralnych. Nie stwierdzono także odkładania się przynaczeniowo substancji kongofilnych, co, podobnie jak niewystępowanie stanu zatokowego, różni starczego królika od innych zwierząt laboratoryjnych o wyższym poziomie ewolucyjnym (Schwartz, 1967). Warto tu jednak może przypomnieć, że angiopatia kongofilna, podobnie jak zwyrodnienie włóknkowe neuronów i plaki starcze należą głównie do kręgu patologii starości (Gerhard i wsp. 1972).

Nie znaleziono również wyraźniejszych różnic pomiędzy mózgiami starzejących się samic a mózgiami samców w tych samych grupach wieku. Być może jakimś wskaźnikiem różnicującym mogłoby być zachowanie się chromatyny płciowej u starych samic, u których, według spostrzeżeń Wiśniewskiej-Roszkowskiej (1970) na materiale ludzkim, ma ona ulegać zanikowi. Badania tego jednak nie przeprowadzano tak ze względu na zupełnie odrębną metodykę jak i marginesowe znaczenie w ocenie całości obrazu mózgowego.

Krótsze przeciętnie o jeden rok przeżycie w grupie samic nosicielek i królików pt z cechą MM jest wynikiem wtórnych powikłań chorobowych: głównie kataru zakaźnego królika. Zaobserwowanie wpływu z nosa (okres zakaźny) było bezwzględną wskazówką do uspienia zwierzęcia bez względu na jego przeznaczenie doświadczalne. Natomiast większość królików starczych z poza stada pt została przeniesiona z Łomny do Ośrodka w Mińsku-Maz. już w wieku podeszłym i po przechorowaniu okresu ostrego kataru.

Powikłania mózgowe kataru obserwowano tylko w jednym przypadku grupy drugiej (z-48/68) w postaci zapalenia mózgu przechodzącego *per continuitatem* na pień mózgu i mózdzek z ucha środkowego (przyżyciowo królik miał skręt głowy charakterystyczny dla spraw zapalnych ucha). Jest to minimalny odsetek w stosunku do obserwacji Cravero i wsp. (1974). Tym samym nie mieliśmy możliwości właściwej oceny czy ten typ zmian przyspiesza proces starzenia się mózgu (Peters, Struck, 1959).

Natomiast, jak już wspomniano powyżej, wyraźnie zaznacza się wpływ procesu pt na wcześniejsze występowanie niespecyficznych zmian starczych. Jest to zresztą zupełnie logiczne sumowanie się procesów doprowadzających do ubytków parenchymy mózgowej. Na ilościowe znaczenie rozpadu komórek nerwowych i szlaków zmielinizowanych u królika pt wskazują wyraźnie badania nad lipidami mózgu u królika pt przeprowadzone przez Czartoryską i wsp. (1975). Charakterystycznym zjawiskiem w grupie II-ej jest utrzymywanie się zmian ostrych w ocalałych grupach neuronalnych, jak również występowanie zwapnień cechujących przede wszystkim ostry okres choroby. Obraz neuropatologiczny pozo-



staje tu w ścisłym związku z zaostrzeniami klinicznymi. Nawroty kliniczne i ostry charakter zmian mózgowych przekreślają możliwość użycia królika pt jako naturalnego modelu do badań nad wyleczonym zespołem drżeń parkinsono-podobnych, co obiecywano sobie przy pierwotnym programowaniu weryfikacji w mikroskopie elektronowym.

Przedstawione powyżej wyniki i ich interpretację można streścić w następujących punktach:

1. Mózg starego królika wykazuje zaniki elementów nerwowych na korzyść elementów glejowych i zrębu łącznotkankowego.

2. Nosicielki pt i króliki pt bezobjawowe z supresją genetyczną MM wykazują takie same zmiany jak króliki starcze z poza stada pt.

3. Króliki pt objawowe (z niepełną supresją Mm) mają takie same zmiany starcze mózgu jak króliki zdrowe. Zmiany te jednak występują o rok, dwa lata wcześniej. Równocześnie, zgodnie z obrazem klinicznym, w grupach zachowanych neuronów obserwuje się zmiany neuronalne i zwąpnienia charakterystyczne dla okresu ostrego zespołu pt.

4. Tym samym króliki pt objawowe nie nadają się do badań w ME nad obrazem mózgu po wyleczonym parkinsonizmie.

5. Ani w grupie starczej bezobjawowej ani w grupie objawowej nie stwierdzono występowania zwyrodnień neuronalnych włókienkowych, plak starczych i odkładania się glikogenu, obserwowanych w warunkach ostrego doświadczenia.

6. Pomędzy morfologią procesu pt i procesu starzenia się mózgu królika neurologicznie bezobjawowego nie stwierdza się podobieństw. Natomiast proces pt wykazuje działanie synergiczne w stosunku do zmian starczych mózgu.

E. Осстовска, Ф. Лушавски

#### X. СТАРЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МОЗГЕ ЗДОРОВОГО КРОЛИКА И В МОЗГЕ КРОЛИКА „pt”

##### Резюме

Исследования были проведены на 59 кроликах в старческом и инволюционном возрасте. В I группе (35 случаев без неврологических симптомов, продолжительность жизни от 3,5 до 8,5 лет) было обнаружено разлитое и околососудистое исчезновение нейронов, гипертрофия сосудистого сплетения и мозговых оболочек, склеротические изменения стенок сосудов, усиленный клеточный и фибриллярный глиоз. Соответственно этим изменениям выступала внутренняя гидроцефалия. II группу — 24 кролика — составляли кролики „pt” с клиническими симптомами, с вторичным клиническим улучшением (супрессивная черта Mm с неполным доминированием), с продолжительностью жизни от 2,5 до 5 лет. Во второй группе были найдены в мозге такие же изменения, как в I группе, выступающие в среднем на 2 года раньше. Кроме того часть сохранившихся нейронов коры, таламуса и базальных ганглиев проявляла острые изме-



нения, характерные для ранних периодов синдрома „pt”, а также характерные кальциевые отложения. Эти изменения соответствовали усилению паркинсоноподобного тремора, наблюдаемого у этих кроликов до самой смерти. Проведенные исследования показали, что: 1) процесс „pt” морфологически не похож на процесс старения мозга, но влияет на этот процесс синергически; 2) кролик с клиническими симптомами „pt” не может служить моделью изменений после излеченного паркинсонизма, так как клинические симптомы периодически обостряются до самой смерти; 3) ни в одном из случаев I и II групп не было найдено эквивалента фибриллярной дегенерации нейронов или старческих пластинок. Это может свидетельствовать об особом патомеханизме таких же изменений, получаемых вследствие острых экспериментальных интоксикаций.

E. Osetowska, F. Luszawski

#### X. SENILE CHANGES IN THE BRAIN OF HEALTHY AND „pt” RABBITS

##### Summary

The studies were performed on 59 brains of senile rabbits. In group I (35 cases without neurological symptoms, survival from 3.5 to 8.5 years) the observations of the brain revealed a diffuse and perivascular atrophy of neurons, a hypertrophy of the connective tissue stroma of the plexus and meninges, sclerotic changes of vascular walls and increased cellular and fibrous gliosis. Respectively to these changes, appeared the internal hydrocephalus (Fig. 1—7). Group II (24 cases) consisted of pt symptomatic rabbits with a secondary clinical improvement (heterozygotic Mm quality with incomplete dominant), survival from 2.5 to 5 years. In group II similar changes were found as in group I appearing, however, 2 years earlier, in average. Besides, among the sparsened neurons of the cortex, thalamus and basal ganglia the cellular groups showed acute changes, specific for the early period of the pt syndrome, and characteristic neuronal calcifications (Figs. 8—11). These changes corresponded to the recurrent exacerbations of the Parkinson-like tremor, observed in these rabbits until death. The performed studies demonstrated the following: 1. the pt process differs morphologically from the process of brain ageing, but has a synergistic effect on this latter; 2. a symptomatic pt rabbit cannot be used as a model of changes after recovered parkinsonismus, since the clinical symptoms show periodical exacerbations until death; 3. in any case from group I and II neither equivalents of fibrillary neuronal degeneration nor senile plaques were found. This would indicate a different pathomechanism of such changes obtained in the result of acute experimental intoxications.

##### PIŚMIENNICTWO

1. Berg E.: A neuroanatomical study of the brain stem auditory system of rabbit. *Acta Morphol. Neerl-Scand.* 1973, 11, 31—48.
2. Brannon W., McCormick W., Lampert P.: Axonal Dystrophy in the Gracile Nucleus of Man. *Acta Neuropathol.* 1967, 9, 1—6.
3. Cravero G. C., Valenza F., Pellegrino C., Vigliani E.: Sulla neuropatologia spontanea del coniglio. *Nouva Veterinaria* 1974, 50, 1—12 (Estratto).
4. Czartoryska B., Wald I., Taraszewska A.: VIII. Lipidy mózgu królika pt. *Neuropat. Pol.* 1976, 14, 265—272.



5. Gadamski R., Eustachiewicz R.: Histochemical changes in medulla oblongata in rabbit caused by circulatory hypoxia (ischemia). *Neuropat. Pol.* 1974, 12, 603—615.
6. Gellerstedt N.: Zur Kenntniss der Hirnveränderungen bei der normalen Altersinvolution. *Upsala Läk. Fören. Förh.* 1933, 38, 193—408.
7. Gerhard L., Berenger M., Homayun S.: Angiopathie bei Alzheimerscher Krankheit. *Z. Neurol.* 1972, 201, 43—61.
8. Gibbs C. J., Gajdusek D. C., Asher D. M., Alpers M. P., Beck E., Daniel P., Matthews W. B.: Creutzfeldt-Jakob disease: transmission to the chimpanzee. *Science* 1968, 161, 388—389.
9. Gutewa J., Osetowska E.: A chronic form of subacute sclerizing encephalitis. In: *Encephalitides*, Elsevier, Amsterdam 1961, 386—404.
10. Hadlow W. J.: Scrapie and Kuru. *Lancet* 1959, II, 289—290.
11. Hallervorden J.: Anatomische Untersuchungen zur Pathogenese des post-encephalitischen Parkinsonismus. *Ztschr. Nervenheilk.* 1935, 136, 68—77.
12. Hassler O.: Vascular Changes in senile brains. *Acta neuropath.* 1965, 5, 40—53.
13. Herman W.: *Hodowla królików*. P.W.R.L., Warszawa 1973.
14. Horanyi B.: Beiträge zur Plexussklerose im Senium. *Acta morphol. Hung.* 1957, 7, 437—447.
15. Hoff H., Seitelberger F.: Die Altersveränderungen des menschlichen Gehirn. *Ztschr. Alterforsch.* 1957, 10, 307—318.
16. Jacob H.: Zerebraler Abbau im Alter. *Geriatric. III. Symposium in Freiburg*. Thieme Verlag, Stuttgart, 1966, 133—146.
17. Knorr F.: *Kaninchenkrankheiten*. VEB, Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin 1972.
18. Kötsche W., Gottschalk C.: *Krankheiten der Kaninchen und Hasen*. VEB, Fischer Verlag, Jena, 1972.
19. Kulczycki J.: Correlation of vascular changes and morphology of lacunae in the so-called lacunar cerebral state. *Societas Scientiarum Stetinensis, Warszawa—Poznań*, 1972, 18, 1—48.
20. Lewicka-Wysocka H.: Dysocjacja topograficzna i ilościowa zmian miażdżycowych i zmian starczych mózgu. *Neuropat. Pol.* 1969, 7, 1—26.
21. Marinetti G. V., Weindl A., Kelly A.: Lipid metabolism in the rabbit choroid plexus. *J. Neurochem.* 1971, 18, 2003—2005.
22. Mossakowski M. J.: Patomorfologia i histochemia spontanicznych i doświadczalnych encefalopatii pochodzenia wątrobowego. *Neuropat. Pol.* 1966, 4, 231—304.
23. Oehmichen M.: Histochemische Untersuchungen zum Fettgehalt und Fettstoffwechsel des Plexus chorioideus des Kaninchens. *Z. Zellforsch.* 1973, 142, 387—397.
24. O'Leary J. L., Fox R. R., Smith J. M., Inukai J.: Ultrastructural alterations in vestibular and cerebellar nuclei of the ataxic rabbit. *J. Comp. Neur.* 1972, 145, 307—352.
25. Olszewski J.: Introduction to degenerative disease. In: *Minckler's Pathology of the Nervous System*. McGraw-Hill, New York, 1968, Vol. I., 1109—1113.
26. Osetowska E.: Étude anatomopathologique sur le cerveau de chiens sénile. *Proc. Vth Intern. Congr. Neuropath. Excerpta Med. Found. Amsterdam*, 1965, 497—502.



27. Osetowska E., Luszawski F., Taraszewska A.: Badania doświadczalne nad chorobą dziedziczną ośrodkowego układu nerwowego na modelu królika pt. V. Obraz kliniczny w pokoleniach I—X. *Neurol. Neurochir. Pol.* 1975 (A), 9, 569—578.
28. Osetowska E., Taraszewska A., Luszawski F.: VI. Występowanie zwapnień neuronalnych u królika pt w zależności od wieku i przebiegu klinicznego (1975 B), *Neuropat. Pol.* 1976, 14, 87—95.
29. Osetowska E., Luszawski F., Taraszewska A.: II. Morfologia i klinika poronnych i ciężkich przebiegów choroby u królika pt. *Neuropat. Pol.* 1975, 13, 71—85.
30. Peters G., Struck G.: Pathomorphologische Befunde bei chronisch verlaufenen hirnorganischen Prozessen. *Fortsch. Neurol. Psych.* 1959, 27, 549—555.
31. Scholz W.: Für die allgemeine Histopathologie degenerativer Prozesse bedeutensame morphologische, histochemische und strukturphysiologische Daten. In: *Henke-Lubarsch-Handbuch spez. path. Anatomie*, Springer, Berlin 1957, Vol. 13, I A, 42—225.
32. Schwartz Ph.: Neue Beiträge zur Pathologie des Alterns. *Psych. Neurol. (Basel)*, 1967, 154, 337—365.
33. Seitelberger F., Nagy K.: Zur Histopathologie und Klinik des Spätform von amaurotischer Idiotie. *Zeitsch. Nervenheilk.* 1958, 177, 577—596.
34. Shelansky M. L., Wiśniewski H.: Neurofibrillary Degeneration induced by Vincristine therapy. *Arch. Neurol.* 1969, 20, 199—206.
35. Szumańska G., Gadamski R.: Histochemical changes in rabbit brain following circulatory hypoxia. *Neuropat. Pol.* 1974, 12, 593—601.
36. Taraszewska A., Osetowska E., Krücke W.: IX. Elektronenmikroskopische Untersuchungen der intracerebralen Verkalkungen bei dem erblichen paralytischen Tremor der pt-Kaninchen. *Neuropat. Pol.* 1976, w druku.
37. Terry R. D., Wiśniewski H. M.: Ultrastructure of senile dementia and of experimental Analogs. *Aging and the Brain*. Plenum Publishing Corporation, New York, 1972, vol. 3, 89—116.
38. Wiśniewska-Roszkowska K.: Wpływ starzenia się na obraz chromatyny plicowej. *Folia Medica Lodziensia* 1970, 4, 63—101.
39. Wiśniewski H., Terry R. D.: An experimental approach to the morphogenesis of neurofibrillary degeneration and the argyrophilic plaque. *Ciba Found. Symposium on Alzheimer Disease and Related conditions*. Churchill, London, 1970, 223—248.
40. Wiśniewski H. M., Terry D. R.: Reexamination of the Pathogenesis of the senile Plaque. *Progress in Neuropathology*. 1973, V. 2, 1—26.
41. Zlotnik I.: The pathogenesis of Srapie. VI Intern. Congres' de Neuropathologie, Paris, Masson et Cie. 1970, 901—915.

Adres autorów: Ośrodek Doświadczalny Neurologii Porównawczej Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, ul. Warszawska 126, 05-300 Mińsk Mazowiecki.



BARBARA CZARTORYSKA\*, IGNACY WALD\*,  
ANNA TARASZEWSKA

BADANIA DOŚWIADCZALNE NAD CHOROBA DZIEDZICZNĄ OUN  
NA MODELU KRÓLIKA „pt”

VIII. LIPIDY MÓZGU KRÓLIKA „pt”\*\*

Ośrodek Doświadczalny Neurologii Porównawczej Centrum Medycyny  
Doświadczalnej i Klinicznej PAN, Mińsk Mazowiecki  
Kierownik Ośrodka: prof. dr med. E. Osetowska  
Zakład Genetyki Instytutu Psychoneurologicznego, Warszawa  
Kierownik: doc. dr med. I. Wald

W dotychczasowych badaniach morfologicznych mózgu królika „pt” niektóre obrazy mogły nasuwać podejrzenie spichrzania, chociaż zmiany o typie „rozdęcia” neuronów były odmienne od typowych komórek balonowatych występujących w neurolipidozach (Osetowska 1967, Osetowska i wsp. 1973). W każdym bądź razie analiza składu lipidów mózgowych stanowi niezbędny etap w poznaniu zmian biochemicznych w tym schorzeniu. To właśnie było celem niniejszej pracy.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 8 zdrowych samcach, 6 nosicielkach, 9 chorych samcach i 1 chorej samicy. Liczba zwierząt wykorzystanych do niektórych badań była mniejsza, co zaznaczono w tabelach. Wszystkie króliki pochodziły ze stada pt. Granice wieku 6—12 tygodni. Zwierzęta zabijano przez dożylnie przedawkowanie Eunarconu (Ridel Dhoen, AG Seelze Hannover).

Po natychmiastowym wyjęciu mózgu oddzielano korę, istotę białą podkorową i podstawną (nerwy i drogi wzrokowe) oraz zwoje podstawy wraz ze wzgórzem z jednej półkuli. Drugą półkulę i pień mózgu wraz

\* Autorzy z Zakładu Genetyki Instytutu Psychoneurologicznego.

\*\* Problem węzłowy 09.4.1.3.4. Praca wykonana w oparciu o pomoc finansową Grant PL 480, USA, NIH, agreement 05-035-1.



z mózdzkiem pozostawiano do kontroli neuropatologicznej. Tkanę przechowywano 3—60 dni w temperaturze  $-15^{\circ}\text{C}$ .

Lipidy ekstrahowano metodą Folcha zmodyfikowaną wg Radina (1969). W dolnej fazie układu Folcha oznaczano następujące składniki: fosfor lipidowy metodą Fiskego i Subba-Rowa, zmodyfikowaną wg Dittmara i Wellsa (1969); cholesterol opisaną przez Błaszczyszyna (1970) modyfikacją metody Liebermanna Burcharda oraz heksozy lipidowe metodą orcynową (Svennerholm 1956).

W fazie górnej oznaczano kwas sialowy metodą rezorcynową (Svennerholm 1959, 1963). Zawartość białka w tkance oznaczano metodą Lowry'ego (1951), po uprzednim wytrąceniu go z homogenatu kwasem trójchlorooctowym w końcowym stężeniu 20% i rozpuszczeniu osadu w 1 N NaOH na gorąco. Umownym standardem była albumina.

Chromatografię cienkowarstwową lipidów wykonywano na płytkach z żelazem krzemionkowym G (Merck) w układzie chloroform:metanol:woda 65 : 25 : 4 (obj./obj.) dla lipidów obojętnych i chloroform:metanol:2,5 N  $\text{NH}_3$  aq. 60 : 35 : 8 (obj./obj.) dla gangliozydów.

Plamy lipidów wywoływano parami jodu lub przez spryskanie 20%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  w metanolu i ogrzanie w  $140^{\circ}$  (Czartoryska, Kościelak 1971) albo wybiórczo na heksozy — przez spryskanie 2% orcyną w 2 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  w etanolu (Czartoryska, Kościelak 1971) a na kwas sialowy przez spryskanie odczynnikami rezorcynowym (Svennerholm 1957) i ogrzanie w  $120^{\circ}\text{C}$ . Odsetkowy rozkład fosfolipidów obliczano z oznaczeń fosforu bezpośrednio w żelu zeszkobanym z odpowiednich obszarów chromatogramów cienkowarstwowych. Stosunek cerebrozydów do sulfatydów badano po usunięciu z ekstraktu fosfolipidów na kolumnach z florisilu (Svennerholm 1964, Dittmar i Wells 1969), rozdzielając oba związki przy pomocy chromatografii cienkowarstwowej, elując je z odpowiednich obszarów chromatogramów i oznaczając w eluatach ilość heksoz metodą Svennerholma (1956). Odsetkowy rozkład gangliozydów oznaczano metodą Suzuki (1964).

#### WYNIKI

Białko. Zawartość białka w tkance w poszczególnych grupach przedstawia tabela 1. Nie stwierdzono istotnych różnic w zawartości białka między poszczególnymi grupami królików.

Lipidy niepolarne. Wyniki przedstawiono w tabeli 2. Zawiera ona średnie i odchylenia standardowe w grupie zdrowych samców, nosicielek i chorych królików. Ze względu na to, że w żadnym zestawieniu nie stwierdzono istotnych różnic między grupą zdrowych samców a grupą nosicielek, podana w tab. 2 analiza statystyczna różnic między gru-



pami dotyczy porównania chorych zwierząt z grupą zdrowych (zdrowe samce i nosicielki). Tabela 2 wskazuje, że w grupie chorych we wszystkich badanych strukturach ulega istotnemu obniżeniu całkowita zawartość głównych lipidów niepolarnych.

Tabela 1. Zawartość białka w tkance mózgowej królika (mg/g świeżej tkanki)  
Wartości średnie, odchylenia standardowe i analiza statystyczna

Material	Średnia zawartość białka	Analiza różnie między średnimi		
		z nosicielkami	z chorymi	
Zdrowe samce	zwoje	102,2 ± 8,25 (n=5)	t=0,072; df=7	t=1,895; df=9
	podkorowe <sup>1)</sup>		p<0,99	p<0,10
	i. biała	86,6 ± 13,39 (n=5)	t=0,268; df=6	t=0,110; df=9
			p<0,80	p<0,99
	kora	84,2 ± 5,76 (n=5)	t=0,678; df=9	t=1,946; df=10
			p<0,60	p<0,10
Nosicielki	zwoje	102,6 ± 5,93 (n=4)		t=1,804; df=8
	podkorowe			p<0,20
	i. biała	89,0 ± 1,58 (n=3)		t=0,600; df=8
				p<0,60
	kora	88,7 ± 12,32 (n=6)		t=0,774; df=11
				p<0,50
Chore	zwoje	92,5 ± 8,77 (n=6)		
	podkorowe			
	i. biała	85,8 ± 9,09 (n=6)		
	kora	93,6 ± 8,63 (n=7)		

1) Zwoje podkorowe obejmują zwoje podstawy wraz ze wzgórzem

W zakresie fosfolipidów istotne obniżenie występuje w istocie białej i wzgórzu oraz jądrach podstawy zwierząt chorych. Nie ma natomiast istotnych różnic w zawartości fosfolipidów w korze mózgowej pomiędzy grupą chorych i zdrowych królików. Nie stwierdzono również istotnych różnic w proporcji fosfolipidów do lipidów całkowitych w żadnej z badanych struktur. Rozkład fosfolipidów w istocie białej badano chromatograficznie u 6 zwierząt (3 zdrowych i 3 chorych). W materiale tym uzyskano (pierwsza liczba dotyczy zdrowych, druga chorych zwierząt) odpowiednio: lizolecytyny z seryną 3,5% i 6%, sfingomieliiny 14% i 14%, leucyny 37% i 37%, fosfatydyloetanolaminy 43% i 44,5%. Rozkłady te nie różnią się istotnie, co wskazuje na równomierny ubytek poszczególnych fosfolipidów.

W tabeli 2 podano również dane dotyczące cholesterolu. W grupie chorych zwierząt stwierdza się istotne obniżenie zawartości cholesterolu we wszystkich badanych strukturach. W istocie białej występuje również tendencja do względnego spadku zawartości cholesterolu ( $p<0,1$ ). Nie



Tabela 2. Zawartość głównych lipidów niepolarnych w tkance mózgowej królika

Materiał		Fosfolipidy		Cholesterol		Cerebrozydy + sulfatydy		Suma lipidów
		µmole/mg tkanki	µmole/100µmoli lipidów	µmole/mg tkanki	µmole/100µmoli lipidów	µmole/mg tkanki	µmole/100µmoli lipidów	µmole/mg tkanki
Zdrowe samce	zwoje podko- rowe	65,3 ± 7,01 (n=6)	45,2 ± 6,72 (n=4)	47,5 ± 8,34 (n=5)	33,9 ± 4,20 (n=4)	28,7 ± 5,44 (n=4)	20,9 ± 2,89 (n=4)	137,5 ± 18,75 (n=4)
	i. biała	107,2 ± 10,52 (n=9)	42,8 ± 2,44 (n=6)	99,8 ± 8,54 (n=8)	39,9 ± 3,60 (n=6)	44,6 ± 10,26 (n=6)	17,2 ± 2,82 (n=6)	256,8 ± 22,12 (n=6)
	kora	52,4 ± 6,19 (n=7)	54,7 ± 2,91 (n=6)	30,04 ± 4,98 (n=8)	31,6 ± 3,40 (n=6)	13,1 ± 4,43 (n=7)	13,7 ± 4,00 (n=6)	97,0 ± 11,62 (n=6)
Nosicielki	zwoje podko- rowe	72,6 ± 4,18 (n=3)	48,50 ± 12,02 (n=3)	55,3 ± 12,02 (n=3)	36,4 ± 3,18 (n=3)	22,9 ± 6,00 (n=3)	15,0 ± 1,97 (n=3)	150,8 ± 20,57 (n=3)
	i. biała	109,4 ± 11,7 (n=4)	39,45 ± 0,50 (n=2)	112,8 ± 16,40 (n=2)	40,3 ± 6,10 (n=2)	55,4 ± 11,00 (n=2)	20,2 ± 6,8 (n=2)	277,9 ± 39,60 (n=2)
	kora	53,5 ± 8,53 (n=6)	53,0 ± 3,58 (n=4)	32,0 ± 7,78 (n=6)	31,9 ± 4,58 (n=4)	15,7 ± 1,62 (n=4)	14,5 ± 1,99 (n=4)	109,5 ± 8,23 (n=4)
Chore	zwoje podko- rowe	59,0 ± 3,93 (n=5)	51,5 ± 3,52 (n=4)	37,5 ± 4,70 (n=6)	34,2 ± 1,91 (± 4)	17,0 ± 3,47 (n=5)	14,4 ± 2,4 (n=4)	114,4 ± 4,43 (n=4)
	i. biała	74,8 ± 7,17 (n=6)	44,6 ± 2,90 (n=5)	65,2 ± 12,18 (n=5)	36,1 ± 3,67 (n=5)	33,6 ± 10,64 (n=5)	19,3 ± 4,52 (n=5)	172,1 ± 24,68 (n=5)
	kora	48,7 ± 5,39 (n=9)	56,2 ± 3,29 (n=9)	24,8 ± 5,94 (n=9)	28,5 ± 4,42 (n=9)	13,1 ± 4,23 (n=9)	15,3 ± 5,22 (n=9)	86,7 ± 9,20 (n=9)
Porównanie statystyczne między	zwoje podko- rowe	t = 2,544; df = 12 p < 0,05	t = 1,980; df = 9 p < 0,10	t = 2,661; df = 12 p < 0,05	t = 0,100; df = 9 p < 0,99	t = 2,813; df = 10 p < 0,02	t = 1,653; df = 9 p < 0,20	t = 2,670; df = 9 p < 0,05
średnimi grupy	i. biała	t = 6,717; df = 17 p < 0,001	t = 1,557; df = 11 p < 0,20	t = 5,217; df = 13 p < 0,001***	t = 1,908; df = 11 p < 0,10	t = 2,095; df = 11 p < 0,10	t = 0,489; df = 9 p < 0,70	t = 5,562; df = 9 p < 0,001
zdrowych i chorych	kora	t = 1,433; df = 19 p < 0,20	t = 1,287; df = 17 p < 0,30	t = 2,330; df = 21 p < 0,05	t = 1,710; df = 17 p < 0,20	t = 0,535; df = 18 p < 0,70	t = 0,613; df = 17 p < 0,60	t = 3,008; df = 17 p < 0,01



stwierdzono natomiast obecności estrów cholesterolu w obrębie tej struktury.

Tabela 2 zawiera także porównanie glikolipidów niepolarnych w badanych okolicach. Wyraźne obniżenie glikolipidów niepolarnych występuje we wzgórzu i jądrach podstawy ( $p < 0,2$ ), tendencja do obniżenia zaznacza się również w istocie białej chorych zwierząt ( $p < 0,1$ ). Nie stwierdzono istotnych różnic w stosunku cerebrozydy:sulfatydy. Wynosi on w obu grupach około 4,5.

Tabela 3. Zawartość kwasu sialowego gangliozydów w mózgu królika  
Wartości średnie, odchylenie standardowe i ocena statystyczna

Material		Kwas sialowy	
		$\mu\text{mole/mg tkanki}$	$\mu\text{mole}/100 \mu\text{moli lipidów}$
Zdrowe samce	zwoje	$3,65 \pm 0,820$ (n=6)	$2,4 \pm 0,80$ (n=4)
	podkorowe		
	i. biała	$1,89 \pm 0,533$ (n=8)	$0,75 \pm 0,023$ (n=6)
	kora	$3,62 \pm 0,613$ (n=8)	$3,8 \pm 0,56$ (n=6)
Nosicielki	zwoje	$3,08 \pm 1,116$ (n=4)	$1,7 \pm 0,64$ (n=3)
	podkorowe		
	i. biała	$2,14 \pm 0,623$ (n=5)	$0,7 \pm 0,02$ (n=2)
	kora	$3,47 \pm 1,690$ (n=5)	$3,9 \pm 1,51$ (n=6)
Chore	zwoje	$2,24 \pm 0,355$ (n=7)	$1,9 \pm 0,33$ (n=4)
	podkorowe		
	i. biała	$1,93 \pm 0,585$ (n=8)	$1,0 \pm 0,92$ (n=5)
	kora	$3,56 \pm 1,081$ (n=13)	$3,8 \pm 0,88$ (n=6)
Porównanie statystyczne między średnimi grupy zdrowych i chorych	wzgórze	t=2,567; df=15 p<0,05	t=0,462; df=9 p<0,70
	i. biała	t=0,846; df=19 p<0,50	t=1,014; df=11 p<0,40
		t=1,720; df=18 p<0,20	t=2,034; df=14 p<0,10

Tabela 3 przedstawia wyniki oznaczeń kwasu sialowego, traktowane jako podstawa obliczenia zawartości gangliozydów. Wyniki wskazują na obniżenie zawartości gangliozydów we wzgórzu i jądrach podstawy, w innych strukturach istotnych zmian nie stwierdzono. Nie wykazano również odchyżeń w proporcji gangliozydów do całkowitych lipidów.

Rozkład gangliozydów w korze mózgowej przedstawia tabela 4. Nie wykazuje ona różnic między badanymi grupami zwierząt.

#### OMÓWIENIE

Wykonane badania wskazują na obniżenie w mózгах chorych królików zawartości lipidów niepolarnych, fosfolipidów, cholesterolu oraz



Tabela 4. Rozkład odsetkowy gangliozydów istoty szarej kory mózgu królika

G <sub>0</sub>	G <sub>1</sub> (G <sub>T</sub> )	G <sub>2</sub> (G <sub>D16</sub> )	G <sub>3</sub> (G <sub>D1a</sub> )	G <sub>4</sub> (G <sub>M1</sub> )	G <sub>5</sub> (G <sub>M2</sub> +G <sub>M3</sub> )
n=6 (0—4)	20(19—23)	14(13—16)	51(48—57)	11(9—13)	(0—2)
n=5 (1—4)	22(20—25)	15(13—17)	53(51—56)	8(6—10)	(0—1)

W tabeli podano średni odsetek kwasu siałowego gangliozydów przypadający na daną frakcję. Nomenklatura gangliozydów wg Koreya i Gonatasa (1963) oraz Svennerholma (1963). Liczby w nawiasach oznaczają zakres wartości.

glikolipidów. Obniżenie fosfolipidów i cholesterolu jest najwyraźniejsze w istocie białej. W jądrach podstawy i wzgórzu stwierdzono również obniżenie zawartości gangliozydów. Nie stwierdzono natomiast spichrzenia żadnej z badanych substancji.

Obserwowane zmiany mogą odpowiadać wzorcowi zaburzeń neurochemicznych, spotykanemu w chorobach zwyrodnieniowych przebiegających z rozlaną lub układową demielinizacją. Względne obniżenie cholesterolu w istocie białej, wyraźniejsze aniżeli obniżenie fosfolipidów jest charakterystyczne dla procesów demielinizacyjnych określanych przez neuropatologów tkankowych jako „ortochromatyczne” (w odróżnieniu od leukodystrofii metachromatycznej czy choroby Krabbego). Otrzymany wynik może zatem być interpretowany jako zgodny z obserwowaną w obrazie morfologicznym demielinizacją wtórną, zstępującą, długich dróg podkorowych. Być może także obniżenie innych związków lipidowych związane jest z masowym rozpadem neuronów, występującym u królików z ciężkim przebiegiem choroby w okresie ostrym. Rozpad jest największy w zwojach podkorowych i wzgórzu. Wiek przebadanych królików i zespół objawów klinicznych odpowiadały największemu nasileniu choroby, co zresztą potwierdza wykonana w tych samych przypadkach weryfikacja neuropatologiczna drugiej półkuli mózgu.

W podsumowaniu można stwierdzić, że uzyskane wyniki przemawiają przeciwko spichrzeniowemu charakterowi zaburzeń u królika „pt” Wyniki poprzedniej pracy przemawiały przeciwko ewentualnym odpowiednikom choroby Wilsona, zespołu Lescha-Nyhana i abetalipoproteinemii (Wald i wsp. 1976).

Kolejną analogią z klinika człowieka są zaburzenia o typie parkinsonizmu (Fahn i wsp. 1971). Uszkodzenie struktur anatomicznych o wysokim poziomie dopaminy oraz zbieżności w czasie między wystąpieniem objawów klinicznych u królika „pt” i dynamiką szybkości obrotów dopaminy u królika zdrowego (Tennyson i wsp. 1972) może wskazywać kierunek dalszych badań biochemicznych w tej chorobie.



В. Чаргорыска, И. Вальд, А. Тарашевска

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НАСЛЕДСТВЕННОЙ БОЛЕЗНИ  
ЦНС НА МОДЕЛИ КРОЛИКА „pt”

VIII. Липиды мозга кролика „pt”

Резюме

Целью работы был анализ состава липидов мозга кролика „pt”. Исследовалось содержание фосфолипидов, холестерина, неполярных гликолипидов и ганглиозидов, а также содержание белка в коре, белом веществе и базальных ганглиях вместе с таламусом 10 больных кроликов, 6 носителей гемизигот и 8 здоровых кроликов.

Между исследуемыми группами животных в содержании белка не было обнаружено существенных различий, в то время как в группе больных животных было обнаружено значительное снижение общего содержания неполярных липидов во всех исследуемых структурах. Содержание фосфолипидов уменьшалось в таламусе и базальных ядрах, а также белом веществе, в коре же не изменялось. Распределение фосфолипидов белого вещества оставалось без изменений. Количество холестерина было понижено во всех структурах. Содержание неполярных гликолипидов было достоверно снижено в таламусе и базальных ядрах. В этих же структурах было обнаружено также снижение количества ганглиозидов. Отношение цереброзиды/сульфатида в белом веществе и процентное распределение ганглиозидов коры здоровых и больных кроликов существенно не отличалось. Наблюдаемые изменения не указывают на нарушения липоидозного типа, но соответствуют образцу нейрохимических нарушений, наблюдаемых при дегенеративных болезнях, протекающих с демиелинизацией.

B. Czartoryska, I. Wald, A. Taraszewska

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE CNS HEREDITARY DISEASE  
ON THE „pt” RABBIT MODEL

VIII. Lipids of the „pt” rabbit brain

Summary

The aim of the work was the analysis of the lipid composition of the „pt” rabbit brain. The content of phospholipids, cholesterol, nonpolar glycolipids and gangliosides, as well as the content of protein was determined in the cerebral cortex, white matter and the basal ganglia with the thalamus of 10 ill rabbits, 6 carriers (hemizygotes) and 8 healthy rabbits.

No essential differences in the protein content were observed between the investigated animal groups, while in the group of ill animals appeared a significant decrease of the total content of nonpolar lipids in all studied structures. The content of phospholipids was decreased in the thalamus, the basal ganglia and in the white matter, but insignificantly in the cortex. The distribution of phospholipids in the white matter remained unchanged. The amount of cholesterol was decreased in all regions. The content of nonpolar glycolipids was decreased significantly in the thalamus and the basal ganglia. In the same structures a decrease of the amount



of gangliosides was observed. The ratio cerebroside/sulphatides in the white matter, as well as the per cent distribution of cortex gangliosides from healthy and ill rabbits showed no essential differences. The observed changes do not indicate any thesaurosis disturbances, but correspond rather to the pattern of neurochemical alterations, appearing in degenerative diseases with demyelination.

## PIŚMIENNICTWO

1. Błaszczyszyn M.: „Badania nad izolowaniem leukocytów, granulocytów oraz nad oznaczeniem cholesterolu całkowitego w poszczególnych rodzajach leukocytów i surowicy krwi”, *Problemy Lekarskie* 1970, 9, 219—252.
2. Czartoryska B., J. Kościelak: Synteza 2,3,0-dwualkilo-2,3-dwuhydroksyglykozydów. *Roczniki Chemii* 1971, 45, 987—993.
3. Dittmer J. C., M. A. Wells: Quantitative and Qualitative Analysis of Lipids and Lipid Compounds. W *Methods of Enzymology*, Red., Colowick S. P., Kaplan N. O., ed. Lowenstein J. M., N.Y. 1969, t. 14, 482—530.
4. Fahn S., L. R. Libsch, R. W. Cutler: Monoamines in the Human Neostriatum. Topographic Distribution in Normals and in Parkinson's Disease and Their Role in Akinesia, Rigidity, Chorea, and Tremor. *J. Neurol. Sci.* 1971, 14, 427—455.
5. Korey S. R., J. Gonatas: Separation of human brain gangliosides *Life Sci.* 1963, 2, 296—302.
6. Lowry O. H., N. J. Rosenbrough, A. L. Farr, R. J. Randal: Protein Measurement with the Folin-Phenol. Reagent, *J. Biol. Chem.* 1951, 193, 265.
7. Osetowska E.: Nouvelle maladie héréditaire du lapin de laboratoire. *Acta Neuropathol.* 1967, 8, 331—344.
8. Osetowska E., W. Krücke, B. Wuttke: Zerebrale Verkalkungen bei Kaninchen „pt” mit erblicher Erkrankung des ZNS. Aktuelle Probleme der Neuropathologie. Ed. K. Jellinger. *Facultas-Verlag. Wien* 1973, 125—129.
9. Radin N. S.: Preparation of lipid Extracts. W: *Method in Enzymology*, Red. Colowick S. P., N. O. Kaplan, Ed. Lowenstein J. M., NY 1969, 14, 245—254.
10. Suzuki K.: A Simple and Accurate Micromethod for Quantitative Determination of Gangliosides Pattern, *Life Sci.* 1964, 3, 1227—33.
11. Svennerholm L.: The Quantitative Estimation of Cerebroside in Nervous tissue. *J. Neurochem.* 1956, 1, 42—53.
12. Svennerholm L.: Chromatographic Separation of Brain Gangliosides *J. Neurochem.* 1963, 10, 613—623.
13. Svennerholm L.: The Distribution of Lipids in the Human Nervous System. *J. Neurochem.* 1964, 11, 839—863.
14. Tennyson V M., R. E. Barret, G. Cohen, L. Côté, R. Heikkila, C. Mytilineou: The Developing Neostriatum of the Rabbit: Correlation of Fluorescence Histochemistry, Electron Microscopy, Endogenous Dopamine Levels and (<sup>3</sup>H) Dopamine Uptake. *Brain Res.*, 1972, 46, 251—285.
15. Wald I., H. Wehr, E. Harmak, K. Albert, J. Sawicki: Badania doświadczalne nad chorobą dziedziczną OUN na modelu królika „pt”. VII. Niektóre wskaźniki biochemiczne w surowicy krwi królika „pt”, *Neuropat. Pol.* 1976, 14, 97—103.

Adres dr B. Czartoryskiej: Zakład Genetyki Instytutu Psychoneurologicznego, Al. Sobieskiego 1/9, 02-957 Warszawa.



HALINA KROH, ZDZISŁAW MATYSIAK, JAN ALBRECHT

ACTIVITY OF TRANSFER RNA METHYLASES IN THE MICE BRAIN  
AFTER METHYLCHOLANTRENE IMPLANTATION  
AND IN EXPERIMENTAL TUMOURS

Department of Neuropathology, Experimental and Clinical Medical Research Centre,  
Polish Academy of Sciences  
Head: Prof. dr med. hab. M. J. Mossakowski

Aberrant methylation of transfer RNA (t-RNA) manifested by an increase of methylation of some purine and pyrimidine bases was observed in various spontaneous neoplasms of the brain (Viale et al. 1967), other organs (Berquist, Matthews 1962) and in tumours experimentally induced with carcinogens (Craddock 1969). Immediately after the application of methylnitrosourea which preferentially acts on the nervous system of the rat, an enhanced methylation of certain RNA and DNA bases isolated from brain tissue was detected (Kleihues, Magee 1973).

These observations prompted the authors to examine the activity of t-RNA methylases in the brain tissue of mice at various periods after methylcholantrene implantation and in the neoplasms induced by this procedure.

The aim of the study was to establish whether, and to what extent, the topically acting carcinogen influences the activity of t-RNA methylases in the brain tissue, and whether the activity of this enzyme in the neoplastic tissue differs from that in the brain.

MATERIAL AND METHODS

For the experiment non-inbred C3H mice were used, the brains of which were implanted in 8th week of life with a methylcholantrene pellet. The experimental and control mice of corresponding age were decapitated between 163rd and 623rd day after implantation. Samples were also taken from 7 brain tumours in the animals between the



229th and 600th day after implantation and from the brains of control animals. A total of 24 experimental mice and 24 controls were examined. Immediately after decapitation and removal of the methylcholantrene pellet the brains of 1—3 animals or the neoplastic tissue (after having excised a specimen for histological examination) were homogenized in a Teflon glass homogenizer at 0°C in 3 ml of medium. The medium contained 0.3 M sucrose and 1 mM glutathione in 0.01 M Tris buffer pH 8.0. The homogenate was centrifuged in a Vac 601 Janetzky ultracentrifuge for 1 hour at 105.000 g and 4°C. The supernatant was preserved for further examination, the sediment was discarded. Protein from the supernatant was determined by the method of Lowry et al. (1951).

Determination of transfer RNA methylase activity. The incubation mixture contained in a final volume 0.3 ml: 8 nmoles of S-adenosyl-L-methionine-<sup>14</sup>C (Amersham, England), specific activity 50 mCi/mM, 25  $\mu$ mole of Tris-HCl pH 9.0 buffer, 0.3  $\mu$ mole glutathione, various amounts of supernatant after centrifugation at 105.000 g, 100  $\mu$ g of „stripped” transfer RNA from *Escherichia coli* K 12 (General Biochemicals, Chagrin Falls, Ohio). The control sample contained endogenous transfer RNA but did not contain methyl-deficient *E. coli* t-RNA. The mixture was incubated in a water bath at 37°C for 45 min. The reaction was stopped by addition of 1 ml 100 per cent ethyl alcohol. After incubation the mixture was stored for 1 hour at -30°C and then centrifugated at 7000 g for 20 min at 4°C. The ethanol was decanted. After addition of 1 ml of 1 M NaCl the sediment was incubated for 45 min in a water bath at 40°C, with thorough mixing. After incubation the solution was centrifuged at 12000 rpm for 20 min. The supernatant in the amount of 0.9 ml was mixed with 3 ml of cold 10 per cent TCA. After a 20 min storage in ice, the content of each test tube was filtered on Millipore filters (pore size 0.45  $\mu$ ) and the filters were washed with 30 ml of cold 5 per cent TCA. The filters were dried and their radioactivity was measured in a scintillation vial in 10 ml of scintillation fluid. These measurements were performed in a Nuclear Chicago Isocap 300 scintillation counter.

The experimental and control material were processed simultaneously.

## RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 presents the results of investigation of the transfer RNA methylase activity in the brains of control and experimental mice, with implanted methylcholantrene pellet between the 163rd and 623rd day of experiment. In 8 of 9 parallelly conducted experiments, an enhanced



activity of the enzyme towards the exogenic substrate, that is methyl-deficient transfer RNA from *Escherichia coli* K 12 was found in the brain tissue of the experimental animals. The degree of methylation did not show any correlation with the time of exposure of the brain tissue to the action of methylcholantrene.

Table 1. Activity of t-RNA methylases in mice preneoplastic brains expressed as per cent of control values \*

Tabela 1. Aktywność metylaz t-RNA w mózgu myszy w okresie przednowotworowym wyrażona w % wartości kontrolnych \*

Day of experiment Dzień doświadczenia	Enzyme activity in % Aktywność enzymu w %
163	106
182	122
198	122
243	121
263	133
409	132
546	98
573	105
623	118

\* The control values ranged from ca 800—6000/counts/min/mg protein depending on the batch used.

Wartości kontrolne wahały się między 800—6000 impulsów/min/mg białka zależnie od użytej partii substratu.

Table 2 shows the activity of t-RNA methylases in brain tumours induced with methylcholantrene and the same activity in the brains of control mice. As regards the sarcomas of a few types studied, in 5 of 6 cases methylase activity towards exogenous transfer RNA greatly exce-

Table 2. Activity of t-RNA methylases in brain tumours expressed as per cent of control values \*

Tabela 2. Aktywność metylaz t-RNA w nowotworach mózgu wyrażona w % wartości kontrolnych \*

Type of neoplasm Rodzaj nowotworu	Enzyme activity in % Aktywność enzymu w %
Fibrosarcoma	195
Fibrosarcoma	284
Fibrosarcoma	280
Sarcoma polymorph.	304
Sarcoma polymorph.	305
Sarcoma	74
Ependymoma polymorph.	106

\* For details see legend to Table 1.

Objaśnienie w tabeli 1.



eded the value obtained in the control brains. Methylase activity in the ependymoma did not differ from the control data.

Viale et al (1967) referred the degree of base methylation to the degree of malignancy of the neoplasm. The present data indicate only a higher methylase activity in sarcomas than in the single studied case of ependymoma for which no comparative data are published.

The enhancement of the activity of t-RNA methylases in tumours confirms the observations of other investigators on human neoplasms (Viale et al. 1970, Viale 1971) and on spontaneous tumours in humans and animals (Tsutsui et al. 1966, Turkington, Riddle 1970, Riddick, Gallo 1970), on those induced by viruses (Mittelman et al. 1967, Hacker, Mandel 1969, Mandel et al. 1971), on viruses transformed cultures (Klagsbrun 1974), and tumours induced by chemical carcinogens (Hancock 1967, Stewart, Corrance 1969, Waalkes et al. 1971, Dell'Orco et al. 1971, Pegg, Hawks 1971).

It appears that the introduction of a carcinogen which may be a donor of methyl groups for the tissue does not suffice for enhancement the methylase activity. Pegg and Hawks (1971) found that methylase activity in mice without noticeable intestinal tumours after dimethylhydrazine application did not differ from that in the control group, although the tumours induced with this carcinogen exhibited a 3—4 fold increase of enzyme activity.

In the present investigations the increase in methylase activity in the period of suspected neoplasm latency, in which beside a discrete morphological and histoenzymatic reaction (Kroh 1969) giving no indication as to the direction in which the process will develop, might prove that this enhancement is a phenomenon accompanying the neoplastic process or interacting in it.

H. Kroh, Z. Matysiak, J. Albrecht

AKTYWNOŚĆ METYLAZ t-RNA W MÓZGU MYSZY  
PO IMPLANTACJI METYLOCHOLANTRENU I W GUZACH DOŚWIADCZALNYCH

Streszczenie

Celem badań było oznaczenie aktywności metylaz mózgu w okresie utajenia nowotworowego i w nowotworach po implantacji metylocholantrenu. Aktywność enzymu badano przy pomocy techniki izotopowej. Oznaczano metylację niezmetylowanego t-RNA z *Escherichia coli* przez metylazy używając S-adenozyl-L-metioninę-<sup>14</sup>C. Stwierdzono słaby wzrost aktywności metylaz w okresie utajenia nowotworowego i 2—3 krotny wzrost aktywności enzymu w większości badanych nowotworów w porównaniu z tkanką mózgu zwierząt kontrolnych.



А. Крох, З. Матысяк, Я. Альбрехт

АКТИВНОСТЬ МЕТИЛАЗ Т-РНК В МОЗГЕ МЫШЕЙ ПОСЛЕ ИМПЛАНТАЦИИ  
МЕТИЛХОЛАНТРЕНА И ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОПУХОЛЯХ

Резюме

Целью исследований было определение активности метилаз мозга в скрытый период новообразований и при опухолях полученных в результате имплантации метилхолантрена. Активность фермента исследовали с помощью изотопной техники. Определяли метилирование метилазой неметилированной Т-РНК из *E. coli* используя S-аденозин-L-метионина-<sup>14</sup>C. Было обнаружено небольшое увеличение активности метилаз в скрытый период новообразований и 2-3 кратное увеличение активности фермента по сравнению с мозговой тканью контрольных животных в большинстве исследованных опухолей.

REFERENCES

1. Berquist P., Matthews R.: Occurrence and distribution of methylated purines in the ribonucleic acids of subcellular fraction. *Biochem. J.* 1962, 85, 305—313
2. Craddock V.: Methylation of transfer RNA and of ribosomal RNA in rat liver in the intact animal and the effect of carcinogens. *Biochim. Biophys. Acta* 1969, 195, 351—359
3. Dell'Orco R., Blair D., Morgan J.: Comparative transfer RNA methylase capacity in mouse ascites tumors and their derived tumorigenic and nontumorigenic cell cultures. *Cancer Res.* 1971, 31, 561—565
4. Hacker B., Mandel L.: Altered t-RNA methylase patterns induced by an avian oncogenic virus. *Biochim. Biophys. Acta* 1969, 190, 38—51
5. Hancock R.: Utilization of L-methionine and s-adenosyl-L-methionine for methylation of soluble RNA by mouse liver and hepatoma extracts. *Cancer Res.* 1967, 27, 646—653
6. Klagsbrun M.: The contrast between the methylation of transfer ribonucleic acid *in vivo* and *in vitro* by normal and SV 40 transformed 3T3 cells. *J. Biol. Chem.* 1972, 247, 7443—7451
7. Kleihues P., Magee P.: Alkylation of rat brain nucleic acids by n-methyl-n-nitrosourea and methyl methanesulfonate. *J. Neurochem.* 1973, 20, 595—606
8. Kroh H.: Preneoplastic changes in the central nervous system of mice induced by methylcholantrene. *Neuropat. Pol.* 1969, 7, 55—72
9. Lowry O., Rosenbrough N., Farr A., Randall R.: Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biochem. Chem.* 1951, 193, 265—270
10. Mandel L., Hacker B., Maag T.: Altered transfer RNA methylase patterns in Marek's disease tumors. *Cancer Res.* 1971, 31, 613—616
11. Mittelman A., Hall R., Yohn D., Grace J.: The *in vitro* soluble RNA methylase activity of SV 40 induced hamster tumors. *Cancer Res.* 1967, 27, 1409—1414
12. Pegg E., Hawks A.: Increased transfer ribonucleic acid methylase activity in tumors induced in the mouse colon by the administration of 1,2-dimethylhydrazine. *Biochem. J.* 1971, 122, 121—123
13. Riddick D., Gallo R.: Correlation of transfer RNA methylase activity with growth and differentiation in normal and neoplastic tissue. *Cancer Res.* 1970, 30, 2484—2492



14. Stewart M., Corrance M.: The methylation of transfer RNA *in vitro* by extracts of normal and malignant tissue. *Cancer Res.* 1969, 29, 1642—1646
15. Tsutsui E., Srinivasan P., Borek E.: T-RNA methylases in tumors of animal and human origin. *Proc. Natl. Ac. Sci. U.S.* 1969, 46, 1003—1009
16. Turkington R., Riddle M.: Transfer-RNA-methylating enzymes in mammary carcinoma cells. *Cancer Res.* 1970, 30, 650—657
17. Viale G., Fondelli Restelli A., Viale E.: Basi metilate nei t-RNA dei tumori cerebrali. *Tumori* 1967, 53, 533—539
18. Viale G., Kroh H., Grosso G., Genta V.: Metilazione aspecifica dei t-RNA in tumori cerebrali. *Acta Neurol. (Bari)* 1970, 25, 182—183
19. Viale G.: Transfer RNA and transfer RNA methylase in human brain tumors. *Cancer Res.* 1971, 31, 605—608
20. Waalkes T., Adamson R., O'Gara R., Gallo R.: Transfer RNA methylase activity in normal monkey liver and in carcinogen-induced hepatoma. *Cancer Res.* 1971, 31, 1069—1073

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



JOLANTA BOROWSKA-LEHMAN, KATARZYNA SZEŁOŻYŃSKA

CZERNIAK ZŁOŚLIWY I ROZLANA CZERNIAKOWATOŚĆ  
OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO  
WSPÓLISTNIEJĄCA ZE ZNAMIONAMI BARWNIKOWYMI SKÓRY  
U NIEMOWLĘCIA

Zakład Anatomii Patologicznej Instytutu Patologii AMG  
Kierownik Zakładu: doc. dr med. E. Boj  
Klinika Neurologii Rozwojowej Instytutu Chorób Układu Nerwowego  
i Narządów Zmysłów AMG  
Kierownik Kliniki: prof. dr med. Z. Majewska

Rozlana czerniakowatość opon i pierwotny czerniak ośrodkowego układu nerwowego jest sprawą bardzo rzadko spotykaną. Do 1972 roku Bergdahl i wsp. zebrali ponad 100 dobrze udokumentowanych przypadków. Rozlanej czerniakowatości opon towarzyszą w około 43% przypadków rozległe znamiona skórne, głównie u dzieci i wówczas określa się je układową melanozą skórno-oponową (*melanosis neuro-cutanea*). Hoffman i Freeman (1967) podają, że wśród 21 przypadków opublikowanych do 1967 roku 13 dotyczyło dzieci poniżej 2 roku życia, 4 należały do grupy wieku pomiędzy 3 a 15 rokiem życia i 4 powyżej 15 roku życia. W polskim piśmiennictwie opublikowano 3 przypadki odpowiadające *melanosis neuro-cutanea* u dzieci (Groniowski 1953, Hański 1954, Zengteler, Ożegowski 1963) nie znalazłyśmy natomiast opisu tej zmiany skojarzonej z pierwotnym złośliwym czerniakiem mózgu.

OPIS PRZYPADKU

Chłopiec 10 miesięczny (J.R. nr H.Ch. 1016/73) został przyjęty do Kliniki Neurologii Rozwojowej z podejrzeniem zapalenia mózgu, względnie guza tylnej jamy czaszkowej. Przed dwoma tygodniami dziecko straciło łaknienie, stało się nieruchliwe, senne, okresowo wymiotowało po posiłkach. Objawy te szybko narastały i 2 razy w odstępie tygodnia wystąpiły uogólnione drgawki. Po ostatnich zauważono wykrzywienie twa-



rzy i przymusowe ustawienie głowy. Dziecko straciło poprzednio należyte umiejętności statyczne i najchętniej przebywało w pozycji leżącej.

W dniu przyjęcia do Kliniki stan ogólny dziecka był ciężki, chłopiec przytomny, ale apatyczny, senny. Nie dociągał gałek ocznych do kątów zewnętrznych, ruchu gałek ocznych do góry nie wykonywał, przy spojrzeniu w lewo objawiał oczopląs poziomy, wystąpił obwodowy niedowład prawego nerwu VII. Język nieznacznie zbaczał w lewo. Kończyny dolne w ułożeniu żabim, ruchy czynne kończyn obustronnie skąpe, napięcie mięśniowe znacznie obniżone, odruchy fizjologiczne bardzo słabe, symetryczne. Zaznaczone objawy oponowe. Płyn mózgowo-rdzeniowy wodoczysty, białko 0,5 mg%, pleocytoza 6. Od urodzenia na skórze pośladków, tułowia, ramion i przedramion oraz na obu stopach obserwowano bardzo liczne, nieowłosione, nieregularne znamiona barwnikowe o średnicy od 1 do 5 cm. Dziecko zginęło w 3 dniu pobytu w Klinice wśród narastającej śpiączki, objawów oponowych i zaburzeń połykania.

Na życzenie Kliniki wykonano jedynie sekcję mózgu (S-258). Makroskopowo z odchyień od stanu prawidłowego stwierdzono: Prawa półkula mózdzku większa niż lewa. Migdałki mózdzku oddzielone głębokim wrębem od pozostałych części. W części podstawnej mostu, głównie po stronie prawej pęczki podłużne i włókna poprzeczne sinoczarniawe (ryc. 1). Kora mózdzku w obu półkulach ogniskowo ciemno-wiśniowo-czarna. Jądro zębate o bardzo wyraźnych zarysach, intensywnie czarne. W prawej półkuli mózdzku umiejscowiony korowo-podkorowo guz o wymiarach  $2,5 \times 2,0 \times 2,0$  cm wiśniowo-czarny, ogniskowo białawy, spoisty (ryc. 2).

Do badania mikroskopowego (nr 2687) pobrano wycinki z miejsc makroskopowo zmienionych, rutynowo pobieranych do badań neuropatologicznych oraz dodatkowo wycinek ze znamienia skórniego pięty. Materiał utrwalono w 10% formalinie. Skrawki barwiono hematoksyliną-eozy-

*Ryc. 1.* Przekrój w płaszczyźnie czołowej przez most oraz płat skroniowy. Widoczne ogniska przebarwienia.

*Fig. 1.* Frontal section on the level of pons and temporal lobe. Pigmented areas are seen.

*Ryc. 2.* Przekrój mózdzku. Widoczne przebarwienia w obrębie opon, kory, jąder zębatych oraz guza mózdzku (strzałka).

*Fig. 2.* Cerebellar sections. Pigmentation of meninges, cerebellar cortex, dentate nuclei and cerebellar tumor (arrow).

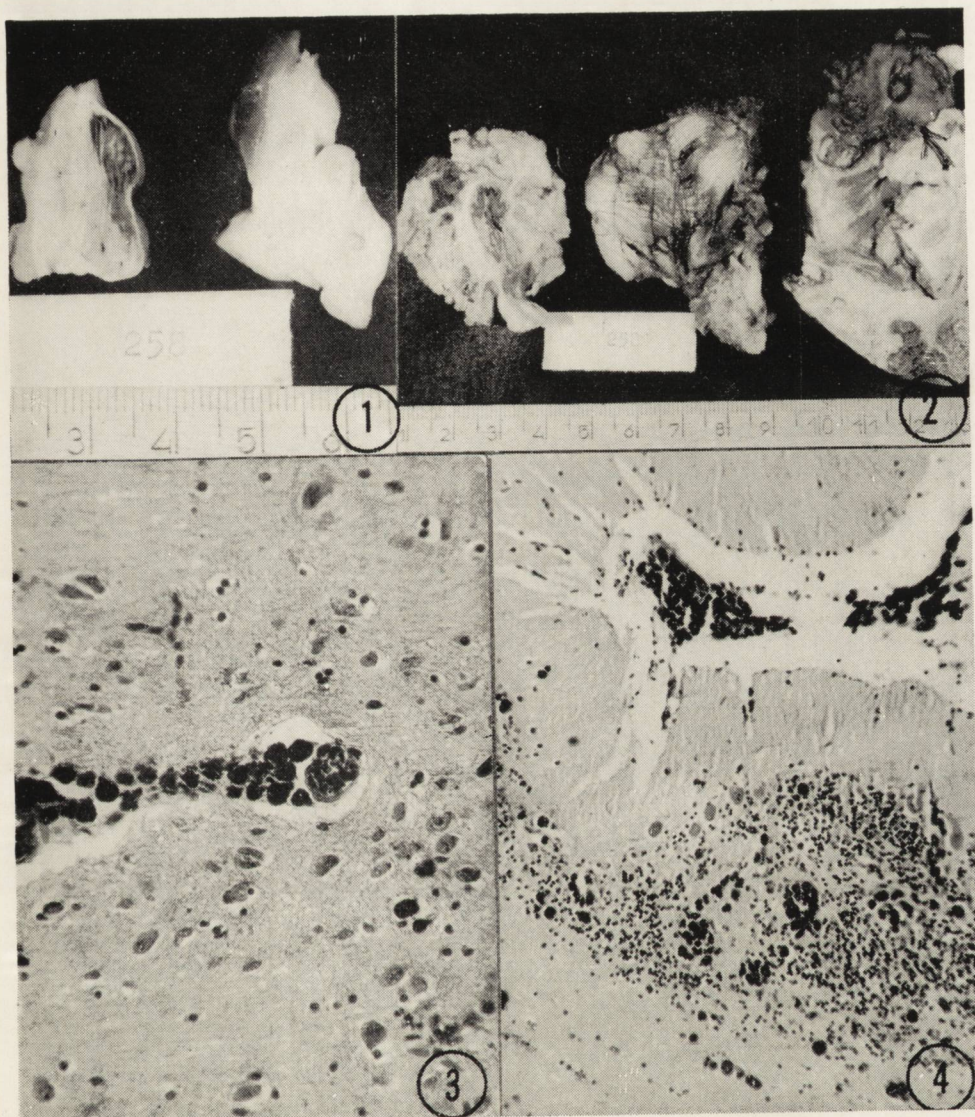
*Ryc. 3.* Kora płata skroniowego. Komórki zawierające melaninę obok neuronów i naczyń włosowatych. H.-E. Pow. 280 X.

*Fig. 3.* Temporal cortex. Melanin containing cells among neurons and capillaries. H.-E. X 280.

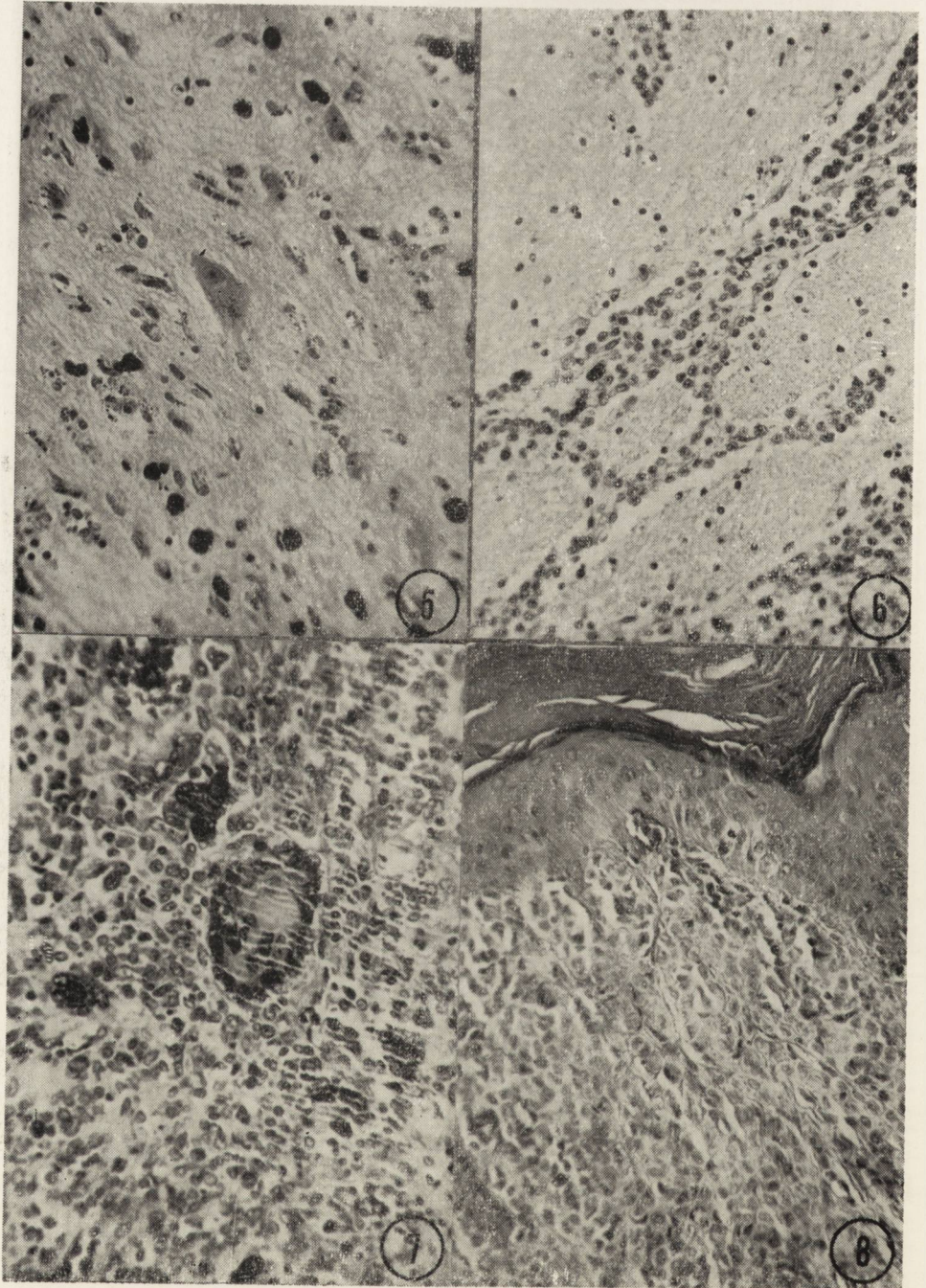
*Ryc. 4.* Kora mózdzku. Komórki wypełnione melaniną w oponach, korze i podkorowej istocie białej. H.-E. Pow. 140 X.

*Fig. 4.* Cerebellar cortex. Cells filled with melanin in meninges, cerebellar cortex and subcortical white matter. H.-E. X 140.











ną, oraz metodami Massona, Kossy, Perlisa i Masson-Fontany. W wycinkach z mózgu stwierdzono liczne, duże komórki, owalne lub okrągłe zawierające grudkowy lub gruboziarnisty barwnik, który wypełniał prawie całkowicie cytoplazmę komórki i często przesłaniał jądro. Komórki te leżały bezładnie lub w grupach w obrębie opon miękkich, w sąsiedztwie neuronów kory lub komórek glejowych, tworząc niekiedy kilkuwarstwowe mufy wokół włókniczek (ryc. 3). Obserwowano je we wszystkich płatach mózgu, z największym nasileniem w obrębie płata skroniowego. Przede wszystkim jednak zmiany dotyczyły okolic makroskopowo zmienionych, kory mózdzku, warstwy gleju podwysiółkowego komór i podścieliska spłotu naczyńiówki. Bardzo duże zagęszczenie komórek zawierających brunatny barwnik ujawniono w ciele migdałowatym, w moście pomiędzy pęczkami podłużnymi, szczególnie zaś w jądrach zębatych mózdzku, gdzie towarzyszyły one neuronom.

Odrębnym typem zmian było nagromadzenie delikatnego, drobnopłytkowego, czarniawo-brunatnego barwnika w cytoplazmie neurocytów ciała migdałowatego, tworzącego siatkowatego mostu oraz jądra zębatego mózdzku (ryc. 5).

Ponadto obserwowano duże wieloboczne lub owalne bezbarwnikowe komórki o skąpej cytoplazmie i dużym, pęcherzykowatym jądrze z wyraźnym jąderkiem. Rozsuwały one kilkuszeregowymi ławicami pęczki podłużne i włókna poprzeczne części podstawnej mostu, w kierunku dokomorowym mieszając się stopniowo z komórkami zawierającymi barwnik (ryc. 6).

Zupełnie odmienny charakter miało utkanie guza mózdzku. Był on obficie komórkowy, zbudowany w dużej mierze z atypowych, potwornych wielojądrowych komórek olbrzymich, z opisanych poprzednio, dużych bezbarwnikowych komórek, które niekiedy przybierały wrzeciono-

---

*Ryc. 5.* Jądro zębate mózdzku. W cytoplazmie neurocytów drobnopłytkowe złoże melaniny. H.-E. 320 ×.

*Fig. 5.* Dentate nucleus. In nerve cells cytoplasm dusty melanin pigment. H.-E. × 320.

*Ryc. 6.* Część podstawna mostu. Bezbarwnikowe komórki o charakterze komórek znamieniowych. H.-E. Pow. 240 ×.

*Fig. 6.* Basal part of pons. Nonpigmented nevi-like cells. H.-E. × 240.

*Ryc. 7.* Preparat z guza mózdzku. Obficie komórkowe utkanie utworzone z komórek atypowych i olbrzymich wielojądrowych. H.-E. Pow. 320 ×.

*Fig. 7.* Section from cerebellar tumor. Densely packed atypic and giant multinuclear cells. H.-E. × 320.

*Ryc. 8.* Wycinek ze znamienia skórniego. Bezbarwnikowe komórki znamieniowe penetrujące z naskórka do skóry właściwej. H.-E. Pow. 320 ×.

*Fig. 8.* Section from nevus cutaneus. Non-pigmented nevi cells penetrating dermis from epidermal layer. H.-E. × 320.



wate, wydłużone kształty, z cechami atypii, z dość licznymi nieprawidłowymi figurami podziału (ryc. 7). W obrębie guza stwierdzono nieliczne komórki o nieregularnych kształtach, o cytoplazmie przysypanej delikatnym, brunatno-czarniawym barwnikiem. Guz był dobrze unaczyniony i zawierał bogatą sieć włókien srebrochłonnych. Znaczne jego obszary objęte były martwicą skrzepową i świeżymi wylewami krwawymi. Istota biała w otoczeniu guza była obrzękła. W obrębie opon miękkich mostu oraz płata skroniowego obserwowano nieliczne komórki nowotworowe.

Znamię skóry miało charakter skórno-naskórkowego o skąpej zawartości barwnika (ryc. 8). Rozpoznano: *Melanoma malignum cerebelli. Melanosis cerebri ac neuronaevus compositus cutis (melanosis neuro-cutanea)*.

#### OMÓWIENIE

Pod pojęciem rozlanej czerniakowatości opon rozumie się stan, w którym w oponach miękkich i w mózgowiu znajdują się liczne komórki zawierające melanicę. Jest to schorzenie wrodzone i dziedziczne, o podłożu dysontogenetycznym z pogranicza rozrostów nienowotworowych i nowotworowych.

Histogeneza komórek zawierających melanicę jest różna, toteż dla jasności obrazu podajemy przyjęte obecnie poglądy dotyczące charakteru i pochodzenia tych komórek. Rozróżnia się dwa typy komórek zawierających melanicę: 1) pierwotne, melanocyty (uprzednio zwane melanoblastami) wywodzące się z ektodermy z listewki nerwowej, tzw. komórki barwnikotwórcze, pigmentocyty zdolne do produkowania drobnopylkowego, czarniawo-brunatnego barwnika, dające dodatni odczyn DOPA oraz 2) wtórne, melanofory, melanofagi, chromatofory, chromatofagi, pochodzenia mezodermalnego, które są zwykłymi fagocytami, komórkami żernymi pochłaniającymi i przenoszącymi melanicę w postaci różnej wielkości i kształtu ziaren, tzw. komórki barwnikonośne nie dające dodatniego odczynu DOPA.

Mimo tak oczywistego podziału na dwa rodzaje komórek zawierających melanicę, pewne rozpoznanie możliwe jest tylko w materiale nieutrwalonym, stąd też wynikają różnice nomenklaturowe, nie zawsze zgodne z wyżej przytoczonymi zasadami różnicowania. Fizjologicznie komórki zawierające melanicę pojawiają się w oponach miękkich brzusznej powierzchni pnia mózgu już w życiu płodowym (Hoffman 1967). Niektórzy autorzy nazywają je melanoblastami (Bloom 1967) lub melanocytami (Ackerman i wsp. 1971), inni określają je jako melanofory (Duncan 1968), jeszcze inni nie wglębiając się w funkcję tych komórek określają je po prostu komórkami barwnikowymi. W związku z tym roz-



maite są również nazwy stosowane dla określenia rozlanej czerniakowości opon: *melanosis*, *melanomatosis*, *melanoblastosis*, *melanocytosis leptomeningium* (Reed i wsp. 1965, Slaughter i wsp. 1969, Budka i wsp. 1973).

Można sądzić, że uwolniony z rozpadających się melanocytów barwnik wychwytyują melanofagi i w oponach spostrzega się zarówno pierwotne jak i wtórne komórki barwnikowe. Przez analogię do komórek obserwowanych w znamionach barwnikowych brzeżnych skóry można przyjąć, że melanocyty „wkrapłają” się z opon do kory mózgu i mózdzku, do istoty białej jąder podkorowych oraz podwysciółkowo. Poza barwnikiem spostrzeganym fizjologicznie w oponach, melaninę obserwuje się w neuronach substancji czarnej, płamce błękitnej i jądrze nerwu X już około 4 roku życia. Ciekawym i prawie odosobnionym spostrzeżeniem było wykrycie przez nas melaniny, oprócz obserwowanej już w komórkach nerwowych ciała migdałowatego i jądra zębatego (Slaughter i wsp. 1969), również w neurocytach tworzących siatkowatego mostu przy równoczesnym braku tego barwnika w istocie czarnej.

W opisywanym przez nas przypadku można wyróżnić oba typy komórek barwnikowych: komórki mające morfologiczne cechy chromatoforów i melanocytów oraz komórki bezbarwnikowe, przypominające komórki znamieniowe w znamionach skórnych ponadto w obrębie guza skupienia komórek o pełnym obrazie morfologicznym czerniaka złośliwego, którego obecność i szybki wzrost rzutowały na ciężki i szybki przebieg kliniczny choroby. Wydaje się, że zespół zmian morfologicznych w mózgowiu upoważnia do wysunięcia wniosku o pierwotnym charakterze guza mózdzku.

И. Боровска-Лехман, К. Шеложыньска

МЕЛАНОКАРЦИНОМА И ДИФФУЗНЫЙ МЕЛАНОМАТОЗ ЦЕНТРАЛЬНОЙ  
НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ, ВЫСТУПАЮЩИЕ У НОВОРОЖДЕННОГО  
ОДНОВРЕМЕННО С РОДИМЫМИ ПЯТНАМИ

Резюме

В работе речь идет о 10 месячном мальчике, у которого наряду с меланокарциномой мозжечка и диффузного меланоматоза центральной нервной системы выступали также пигментные родимые пятна.

Авторы описали клетки, содержащие меланин, морфологические показатели меланоматоза и меланокарциномы, а также обнаружили наличие меланина, наряду с описываемыми в литературе нейронами миндалевидного и зубчатого ядер, также в нейронах ретикулярной формации моста.



J. Borowska-Lehman, K. Szelożyńska

MALIGNANT MELANOMA AND DIFFUSE MELANOMATOSIS  
OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM ASSOCIATED  
WITH NEVI PIGMENTOSI CUTIS IN AN INFANT

Summary

The case concerns 10 months old boy in whom malignant melanoma of cerebellum and diffuse melanomatosis of the central nervous system was associated with multiple pigmentosi nevi of the skin.

The authors described melanin containing cells, morphological characteristics of the tumor and melanomatosis. Apart from the presence of melanin in neurons of dentate nuclei and amygdaloid body (already presented in the literature), the authors found melanin containing neurons in reticular formation of pons.

PIŚMIENICTWO

1. Ackerman J., Nowicki Z., Sarnecka-Keller M.: *Cytologia i histologia*. PZWL, Warszawa, 1971.
2. Bloom W., Don W. Fawcett: *Histologia*. PZWL, Warszawa, 1967.
3. Bergdahl L., Lilienuist B., Thulim C. A., Tovi D.: Primary malignant melanoma of the central nervous system. *Acta Neurochir.* 1972, 26, 139—149.
4. Budka H., Pantucek F.: Primäre diffuse Melanoblastosen der Meningen und neurokutane Melanosen. *Neurochir.* 1973, 16, 90—98.
5. Duncan D., Hild W.: *W: Pathology of the nervous system*. Ed. J. Minckler. The Blakiston Division. Mc Graw Book Company. New York 1968.
6. Groniowski J.: Układowe zmiany barwnikowe. *Patol. Pol.* 1953, 3, 73—85.
7. Hański W.: Zmiany barwikowe w ośrodkowym układzie nerwowym. *Folia Morphol.* 1954, 5, 39—51.
8. Hoffman H. J., Freeman A.: Primary malignant leptomenigeal melanoma in association with giant hair nevi. *J. Neurosurg.* 1967, 26, 62—71.
9. Reed W. B., Becker S. W. Sr., Becker S. W. Jr., Nickel W. R.: Giant pigmented nevi, melanoma and leptomenigeal melanocytosis. *Arch. Dermat.* 1965, 91, 100—107.
10. Slaughter J. C., Hardman J. H., Kempe L. G., Earle K. M.: Neurocutaneous melanosis and leptomenigeal melanomatosis in children. *Arch. Path.* 1969, 88, 298—304.
11. Zengteler G., Ozegowski P.: Zmiany czerniakowate w mózgu. *Neuropat. Pol.* 1963, 2, 225—231.

Adres autorek: Zakład Anatomii Patologicznej Instytutu Patologii Akademii Medycznej, ul. Dębinki 7, 90-211 Gdańsk.



## T R E Ś Ć

H. Jędrzejowska, W. Wach: Zmiany morfologiczne w nerwie łydkowym w niektórych chorobach ośrodkowego układu nerwowego . . . . .	149
J. Quandt, H. Sommer: Badania morfologiczne nad patogenezą mózgową postaci endangiitis obliterans . . . . .	165
L. Dydyk, M. Dąbmska, T. Szreter: Wpływ hyperoksji na dojrzewający mózg królika. I. Zmiany wczesne . . . . .	177
M. Sikorska: Aktywność cykazy adenylowej w mózgu szczura w warunkach niedotlenienia . . . . .	185
G. Szumańska, M. Ostenda, M. J. Mossakowski: Aktywność nukleozydo-dwu- i trój-fosfataz w mózgu szczura w ostrym zatruciu tlenkiem węgla . . . . .	197
J. W. Borowicz, B. Gajkowska: Badania mikroskopowo-elektronowe jądra nadwzrokowego i przykomorowego podwzgórza mózgu szczura w ostrym zatruciu morfiną . . . . .	209
M. Wender, H. Filipek-Wender, J. Stanisławska: Estry cholesterolu i niezestryfikowane kwasy tłuszczowe mózgu szczura w obrzęku wywołanym trójetylkiem cyny . . . . .	217
A. Wilmowska-Pietruszyńska: Wpływ doświadczalnej posocznicy gronkowcowej na ośrodkowy układ nerwowy królika w wybranych okresach rozwoju . . . . .	231
T. Majdecki, J. Kulczycki: Badanie mikroskopowo-elektronowe przypadku podostrego stwardniającego zapalenia mózgu . . . . .	245
E. Osetowska, F. Luszawski: X. Zmiany starcze w mózgu królika zdrowego i w mózgu królika „pt” . . . . .	253
B. Czartoryska, I. Wald, A. Taraszewska: Badania doświadczalne nad chorobą dziedziczną OUN na modelu królika „pt”. VIII. Lipidy mózgu królika „pt” . . . . .	265
H. Kroh, Z. Matysiak, J. Albrecht: Aktywność metylaz t-RNA w mózgu myszy po implantacji metylocholanrenu i w guzach doświadczalnych . . . . .	273
J. Borowska-Lehman, K. Szelożyńska: Czerniak złośliwy i rozlana czerniakowatość ośrodkowego układu nerwowego współistniejąca ze znamionami barwnikowymi skóry u niemowlęcia . . . . .	279
Dział Kroniki i Informacji . . . . .	183
Komunikaty . . . . .	230



## СОДЕРЖАНИЕ

Х. Енджеёвска, В. Вах: Морфологические изменения <i>n. suralis</i> при некоторых заболеваниях центральной нервной системы . . . . .	149
И. Кьандт, Г. Соммер: Морфологические исследования патогенеза мозговой формы <i>endangiitis obliterans</i> . . . . .	165
Л. Дыдык, М. Домбска, Т. Шретер: Влияние гипероксии на созревающий мозг кролика. I. Ранние изменения . . . . .	177
М. Сикорска: Активность аденилатциклазы в мозге крыс в условиях гипоксии . . . . .	185
Г. Шуманьска, М. Остенда, М. Я. Моссаковски: Активность нуклеозид-дифосфатаз в мозге крыс при остром отравлении окисью углерода . . . . .	197
Е. В. Борович, Б. Гайковска: Электронно-микроскопические исследования супраоптического и паравентрикулярного ядер гипоталамуса крыс при остром отравлении морфием . . . . .	209
М. Вендер, Х. Филипек-Вендер, Я. Станиславска: Эфиры холестерина и незастерифицированные жирные кислоты мозга крыс при отеке, вызванном трехокисью олова (ТЭТ) . . . . .	217
А. Вильмовска-Петрушиньска: Влияние экспериментального стафилококкового сепсиса на центральную нервную систему кролика в определенные периоды развития . . . . .	231
Т. Майдецки, Е. Кульчицки: Электронно-микроскопические исследования при подостром периаксиальном энцефалите . . . . .	245
Е. Осетовска, Ф. Лушавски: Х. Старческие изменения в мозге здорового кролика и в мозге кролика „pt” . . . . .	253
В. Чарторьска, И. Вальд, А. Тарашевска: Экспериментальное исследование наследственной болезни ЦНС на модели кролика „pt”. III. Липиды мозга кролика „pt” . . . . .	265
Х. Крох, З. Матысяк, Я. Альбрехт: Активность метилаз т-РНК в мозге мышцей после имплантации метилхолантрена и при экспериментальных опухолях . . . . .	273
И. Боровски-Лехман, К. Шеложынська: Меланокарцинома и диффузный меланоматоз центральной нервной системы, выступающие у новорожденного одновременно с родимыми пятнами . . . . .	279
Отдел хроники и информации . . . . .	183
Сообщения . . . . .	230



## CONTENTS

H. Jędrzejowska, W. Wach: Morphological changes in the sural nerve in some diseases of the central nervous system . . . . .	149
J. Quandt, H. Sommer: Morphologische Studie zur Pathogenese der zerebralen Endangiitis obliterans . . . . .	165
L. Dydyk, M. Dąbmska, T. Szreter: Effect of hyperoxia on the developing rabbit brain. I. Early changes . . . . .	177
M. Sikorska: Activity of adenylate cyclase in rat brain under conditions of hypoxia . . . . .	185
G. Szumańska, M. Ostenda, M. J. Mossakowski: Activity of nucleoside phosphatases in rat brain following carbon monoxide intoxication . . . . .	197
J. W. Borowicz, B. Gajkowska: Electron microscopic studies on the supraoptic and paraventricular nuclei of rat in acute morphine poisoning . . . . .	209
M. Wender, H. Filipek-Wender, J. Stanisławska: Cholesteryl esters and non-esterified fatty acids of rat brain in triethyl tin induced edema . . . . .	217
A. Wilmowska-Pietruszyńska: Effect of experimental staphylococemia on rabbit central nervous system in selected periods of development . . . . .	231
T. Majdecki, J. Kulczycki: Electron microscopic study of the subacute sclerosing encephalitis . . . . .	245
E. Osetowska, F. Luszawski: X. Senile changes in the brain of healthy and „pt” rabbits . . . . .	253
B. Czartoryska, I. Wald, A. Taraszewska: Experimental studies on the CNS hereditary disease on the „pt” rabbit model. VIII. Lipids of the „pt” rabbit brain . . . . .	265
H. Kroh, Z. Matysiak, J. Albrecht: Activity of transfer RNA methylases in the mice brain after methylcholantrene implantation and in experimental tumours . . . . .	273
J. Borowska-Lehman, K. Szelożyńska: Malignant melanoma and diffuse melanomatosis of the central nervous system associated with nevi pigmentosi cutis in an infant . . . . .	279
Chronicles and informations . . . . .	183
Kommunikations . . . . .	230



WARUNKI PRENUMERATY

Cena prenumeraty krajowej:	
rocznie	— zł 100.—
półrocznie	— zł 50.—

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

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

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

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

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

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

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

Indeks 36668