

ISSN 0028-3894

egz 2

STOWARZYSZENIE NEUROPATOLOGÓW POLSKICH

PAR

NEUROPATOLOGIA POLSKA

177-

TOM XIX

1981

ZESZ.1

WARSZAWA

NEUROPATHOLOGIA POLSKA

K W A R T A L N I K

Tom XIX

STYCZEŃ-MARZEC

Nr 1

KOMITET REDAKCYJNY

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

PRZY WSPÓŁPRACY

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

REDAKCJA ŚCISŁA

Janusz Groniowski, Adam Kunicki, Mieczysław Wender, Irmina Zelman

REDAKCJA

Redaktor Naczelny: *Mirosław J. Mossakowski*

Sekretarz Redakcji: *Halina Weinrauder*

ADRES REDAKCJI

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

Wydawca

PAŃSTWOWY ZAKŁAD WYDAWNICTW LEKARSKICH

ANDRZEJ LOESCH

THE PITUICYTES IN THE NORMAL AND DEHYDRATED RATS:
AN ELECTRON-MICROSCOPE STUDY INCLUDING
ZIO-IMPREGNATION

Laboratory of the Ultrastructure of the Nervous System Medical Research Centre,
Polish Academy of Sciences
Head: Prof. J. W. Borowicz

The mammalian neurohypophysis is formed by unmyelinated neurosecretory axons, so-called pituicytes (Bucy, 1930) and rich network of the blood capillaries. It is generally accepted that the neurosecretory axon terminals in neurohypophysis are the site of storage and excretion to the blood of the hormones, vasopressin and oxytocin, originating in the hypothalamic supraoptic and paraventricular nuclei. Relatively less known is the functional role of pituicytes, and there are two main opinions concerning this problem. Some authors assume that they play the same role as glia cells (Kohn, 1910; Hild, 1954), that is supportive, and especially trophic function (Hartmann, 1958; Fujita, Hartmann, 1961). The others proposed that pituicytes have a special function related to different stages of neurosecretory activity of the hypothalamo-neurohypophyseal system (Bargmann, Scharrer, 1951; Kurosumi et al., 1964; Dellmann et al., 1974).

There are indications based on morphological characteristics of the pituicytes of the rat that these cells do not constitute a homogeneous population (Hartmann, 1958; Kurosumi et al., 1964). On the other hand, Krsulovic and Brückner (1969) have reported that only one type of pituicytes in three different morpho-functional stages, that is normal, hypertrophied or damaged, appears to be the basic cellular component of the rat neurohypophysis.

In this paper the results of light and electron microscopic studies on pituicytes in neurohypophysis of water deprived rats are reported.

MATERIAL AND METHODS

Observations on 40 Wistar female rats (3 months old) were confined to the pituicytes in neurohypophysis. Studies were carried out in 14 animals after 4 days and in 12 animals after 12 days of drinking water

deprivation and compared with 14 non-dehydrated animals. The neurohypophysis was fixed by immersion after decapitation of animals. The following fixation methods were used:

1) Conventional fixation; the pieces were placed in 2.5% glutaraldehyde (in 0.05 M Millonig's phosphate buffer at pH 7.4) for 2 h at 4°C, and they were subsequently postfixed in 1% osmium tetroxide (in 0.05 M Millonig's buffer at pH 7.4) for 1 h at 4°C. Ethanol was used for dehydration. The pieces were embedded in Epon 812.

2) Zinc-iodide-osmium tetroxide impregnation (ZIO); the pieces were placed in 4% paraformaldehyde (in 0.05 M Millonig's phosphate buffer at pH 7.4) for 20 min. The specimens were then rinsed in stock buffer and placed in 6.2% glutaraldehyde (in 0.1 M Millonig's buffer at pH 7.4) for 2 h. Double fixation was continued at 4°C. After fixation the specimens were washed three times for 5 min in Tris buffer solution described by Martin et al. (1969). The specimens were then incubated for 16 h at 4°C in ZIO mixture at pH 6.2. ZIO mixture containing zinc iodide, osmium tetroxide and Tris buffer solution was prepared according to Kawana et al. (1969). After incubation the specimens were rinsed in a twice-diluted Tris buffer and next they were dehydrated in ethanol and embedded in Epon 812. In both methods the ultrathin sections were stained with uranyl acetate and lead citrate (Reynolds, 1963) and subsequently examined in a JEM-7A electron microscope. Semithin sections after conventional fixation were stained with 1% toluidine blue in 1% borax solution and with basic fuchsin, and subsequently examined in the light microscope.

RESULTS

Light microscope

Under the light microscope, conventionally fixed neurohypophysis of control rats consisted of neurosecretory axons, pituicytes and blood capillaries (Fig. 1). In pituicytes apart from the nucleus lipid droplets, staining yellow in toluidine blue are easily noticeable. The lipid droplets vary with respect to number in different cells and occupy only a small cytoplasmic area.

After 4 days of dehydration neurohypophysis is characterized by the presence of hypertrophied pituicytes, which contain numerous lipid droplets (Fig. 2). In many cells these droplets are enlarged, forming large clusters around the nucleus or in the processes.

After 12 days of dehydration, some proportion of pituicytes remains hypertrophic and appears similar to those encountered after 4 days' dehydration but a few contain large lipid droplets (Fig. 3). At the same time, however, the lipid droplets often stain intensely green in toluidine blue.

Electron microscope

Control conditions. Pituicytes are oval in shape and their processes penetrate between the neurosecretory axons (Fig. 4). Nuclear chromatin concentrates near the nuclear membrane. The endoplasmic reticulum appears in the form of single narrow cisternae and contains few ribosomes. The Golgi complex consists of parallel narrow or widened cisternae with associated small vesicles. These vesicles display variable electron density, lipid droplets and microtubules can be observed.

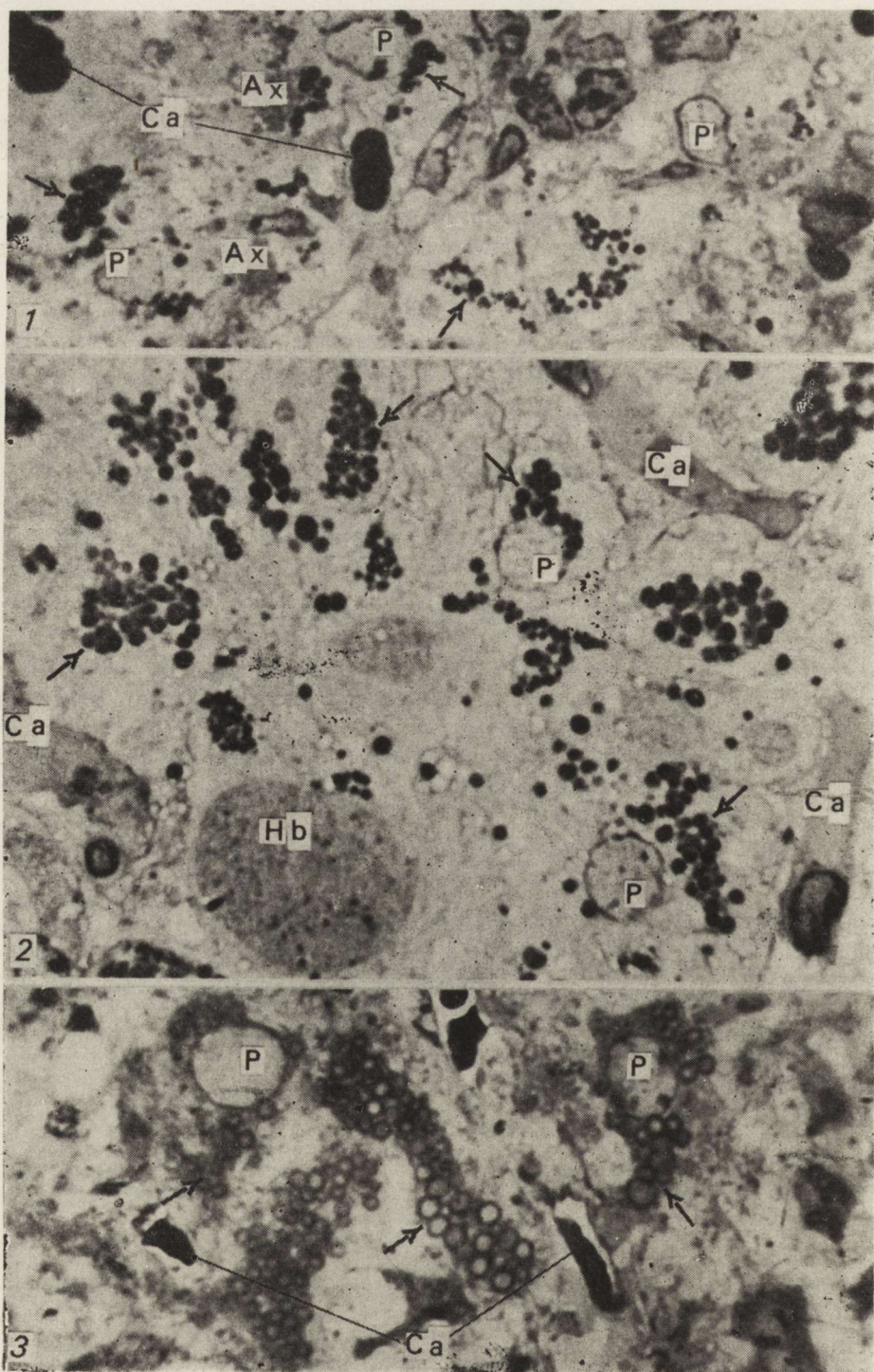
4 days of dehydration. Numerous lipid droplets which occurred in pituicytes (Fig. 5) are in some cells much larger than in normal conditions (Fig. 6). Well developed endoplasmic reticulum contains numerous polyribosomes and appears in the form of elongated or short and widened cisternae. Both the cisternae and ribosomes are commonly situated between the lipid droplets (Fig. 5). The Golgi complex is also well developed, particularly in its vesicular area (Fig. 6). Within this complex the vesicles vary in size and electron density. In some pituicytes, dense bodies contain several electron-lucent vacuoles (Fig. 7). Moreover, in a majority of cells the fibrils are scattered among other cytoplasmic elements (Fig. 8). These structures have alternatively been defined as fenestrated membranes-like formation (Groniowski, personal communication). After 4 days of dehydration, dense granules occur in pituicytes which are similar to neurosecretory granules present in neurosecretory axon terminals. These granules are found either in peripheral cytoplasm situated near the axon terminals (Fig. 9) or in a perinuclear cytoplasm area, where they are frequently attached to the lipid droplets (Fig. 6).

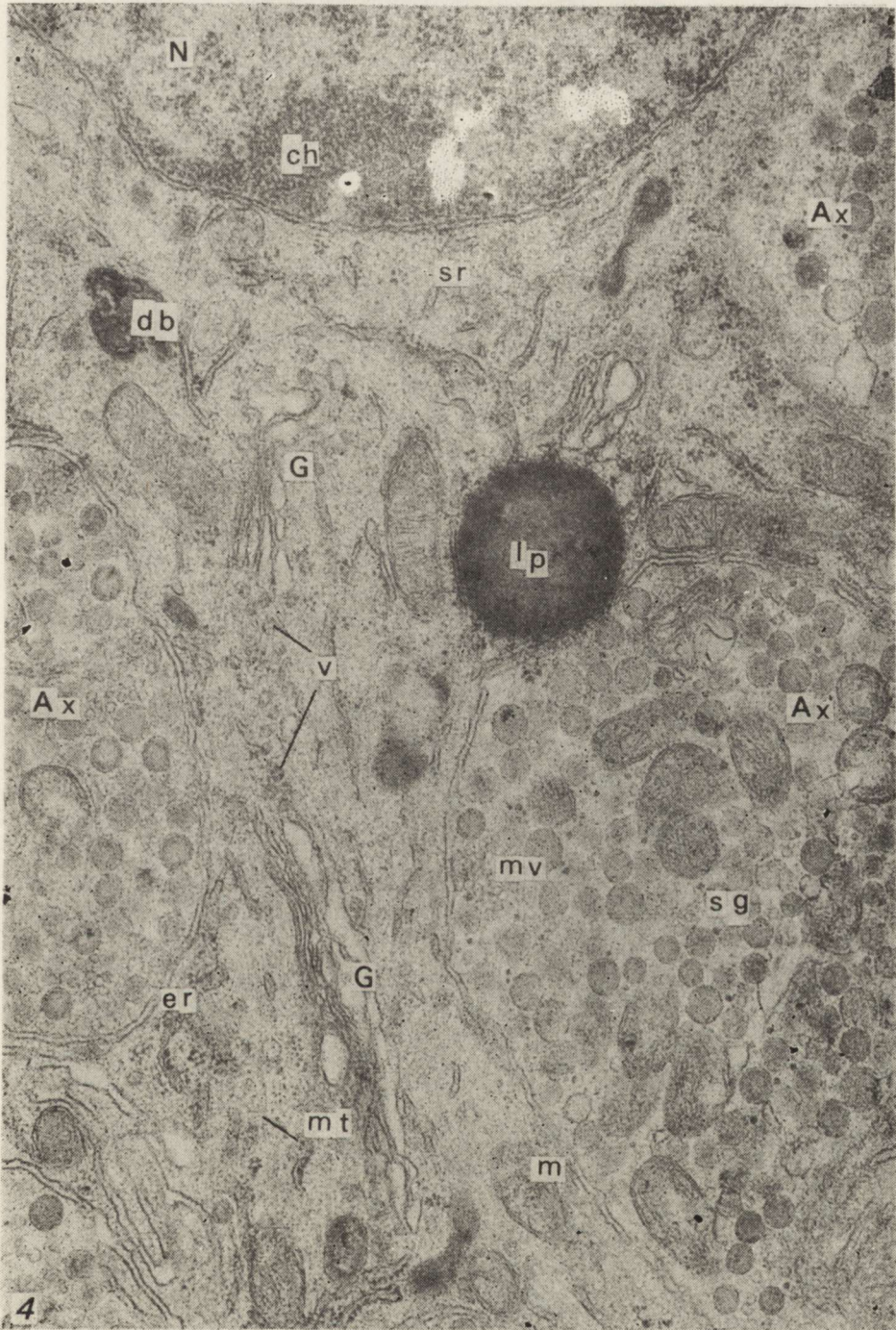
12 days of dehydration. Pituicytes are characterized by an extensively developed Golgi complex which occupies large cytoplasmic area (Fig. 10). Within this complex there are narrow or vacuolated cisternae and vast amount of vesicles. Like after 4 days, neurosecretory-like granules are present within a cytoplasm of pituicyte. At the same time neurosecretory granules can be observed extraaxonally, and some of them come into contact with pituicyte plasmalemma (Figs 10, 11).

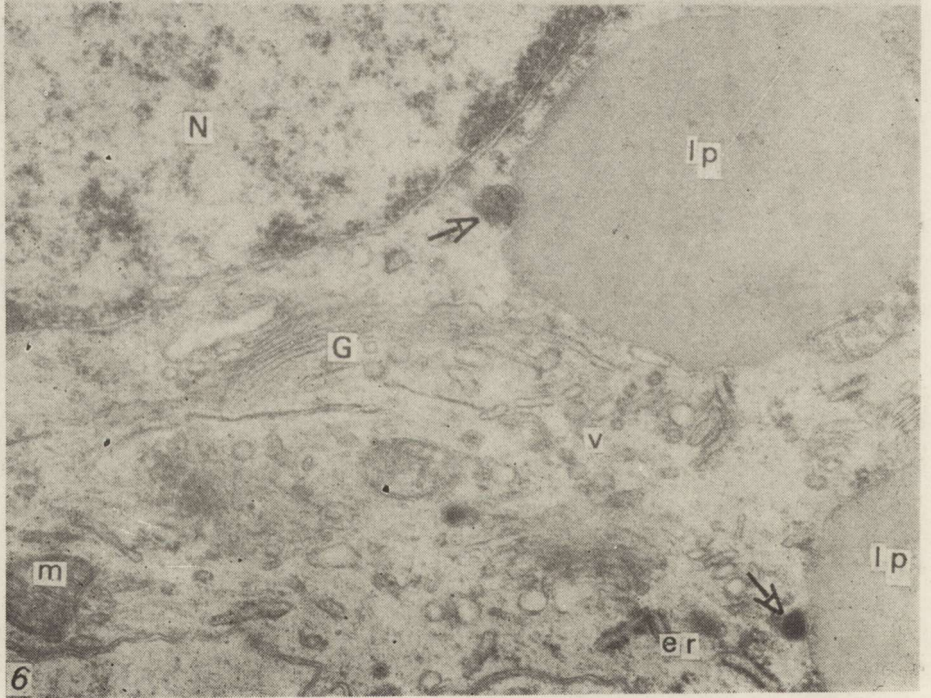
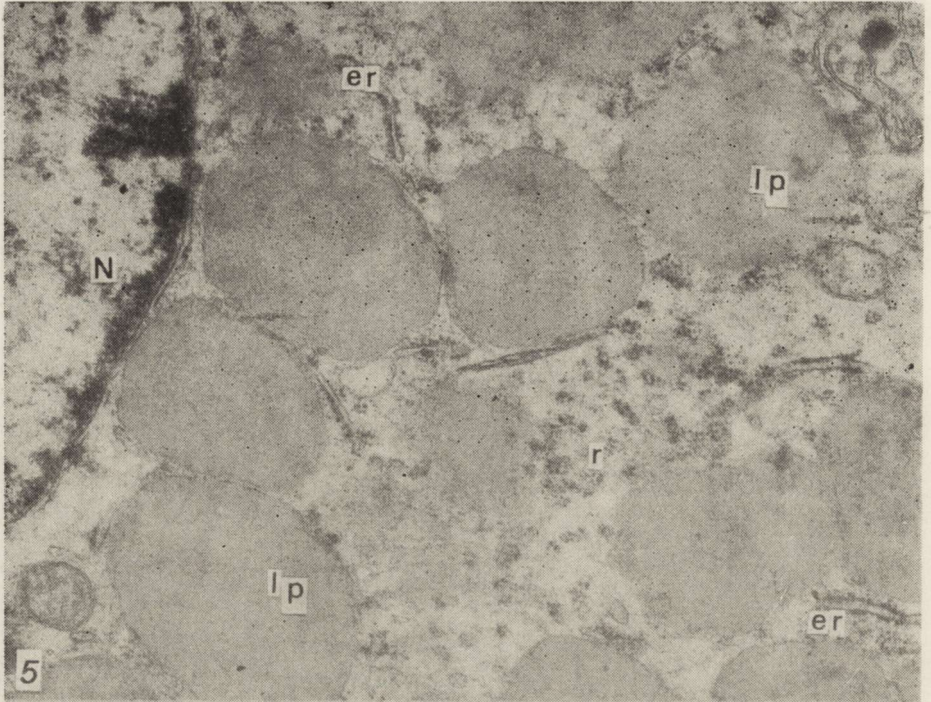
ZIO impregnation

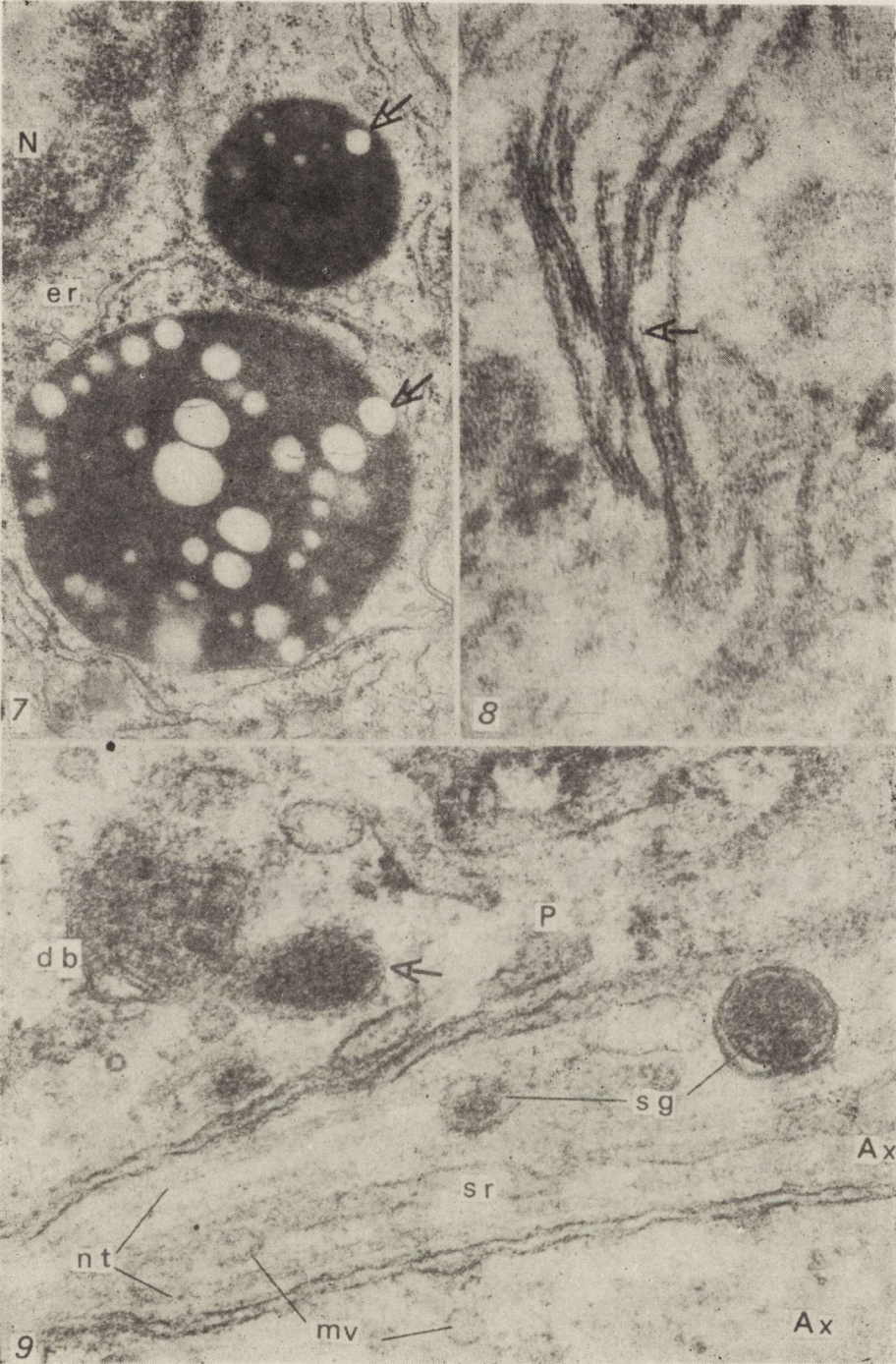
ZIO impregnation method revealed the reaction product in dense bodies and in some vesicles in pituicytes cytoplasm, both in the control conditions (Fig. 12) and after 4 days of dehydration (Fig. 13). After 12 days of dehydration the reaction product was identified also within the Golgi complex, endoplasmic reticulum, matrix of mitochondria and perinuclear cisternae (Figs 14, 15).

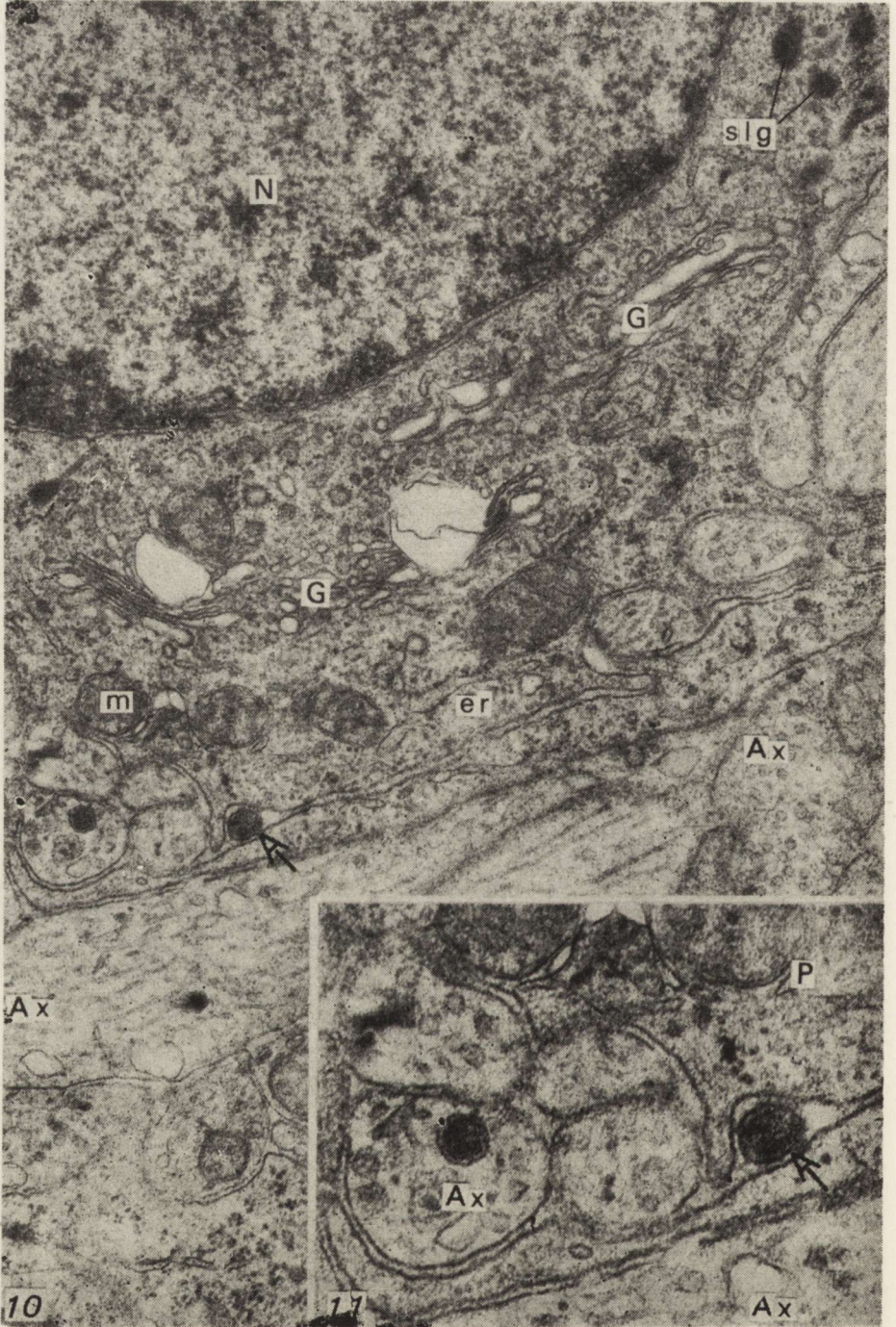
Moreover, in all three experimental groups ZIO-positive microvesicles have been observed in neurosecretory axons (Figs 12, 13).

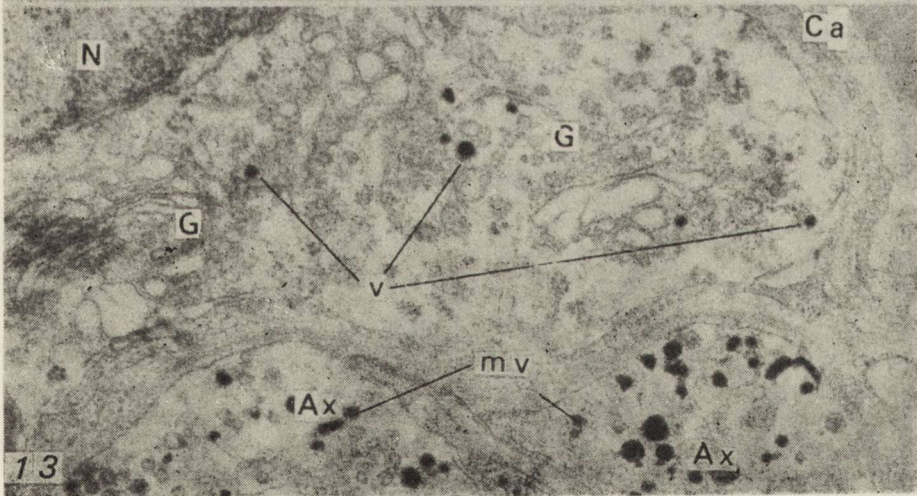
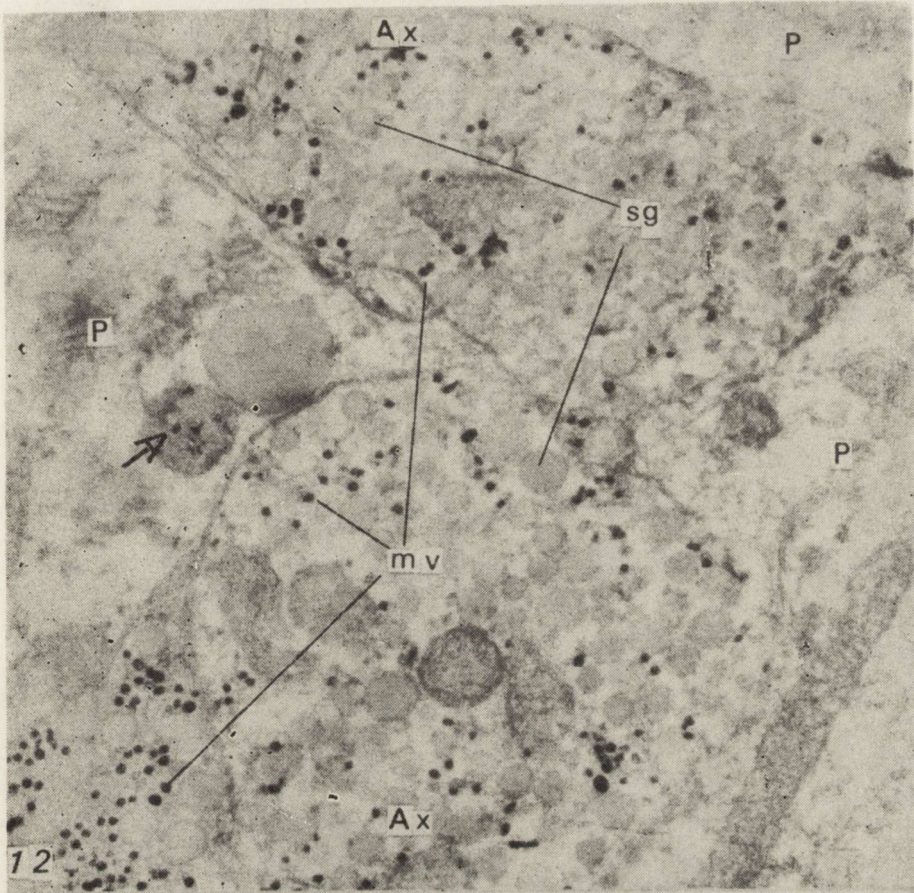


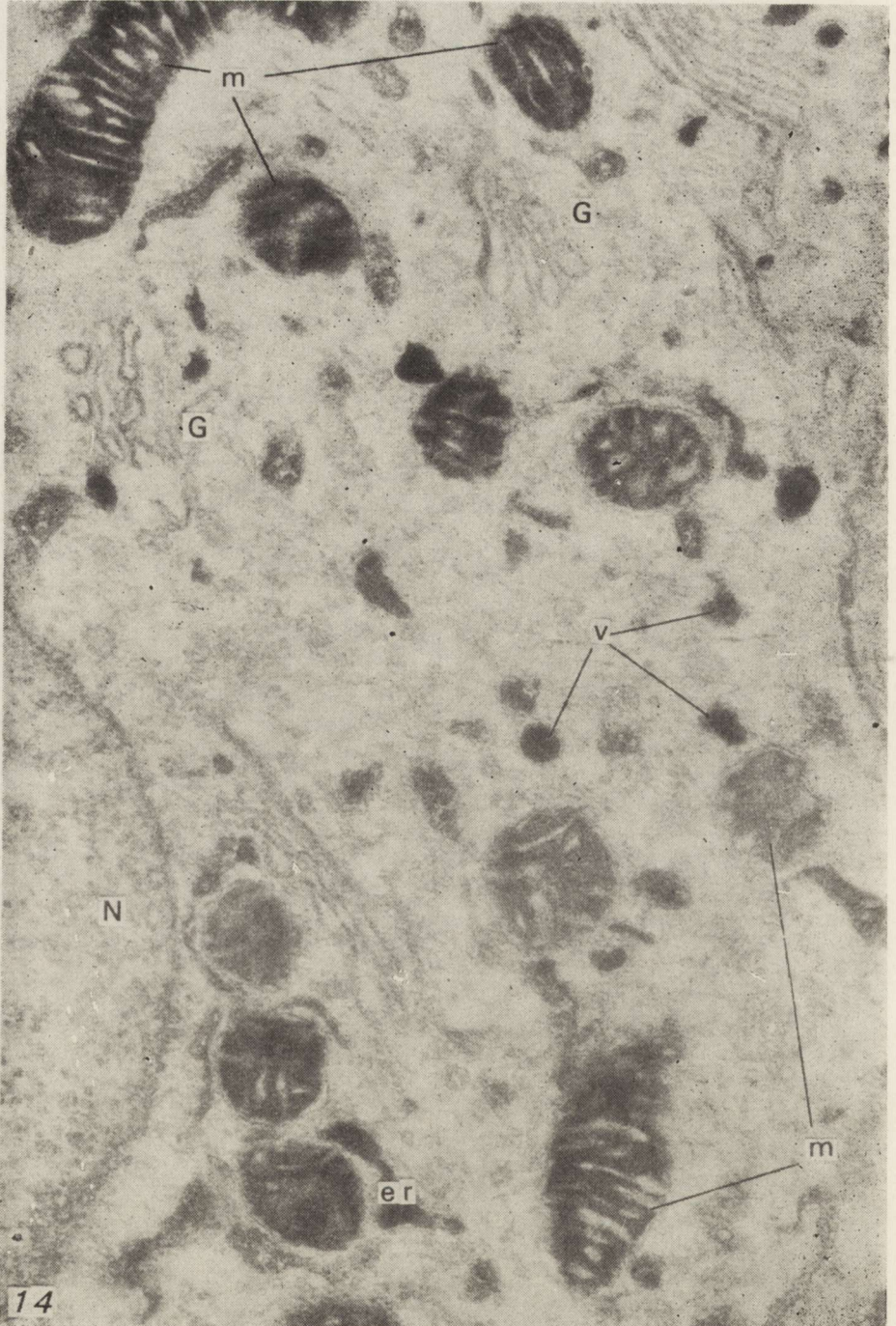


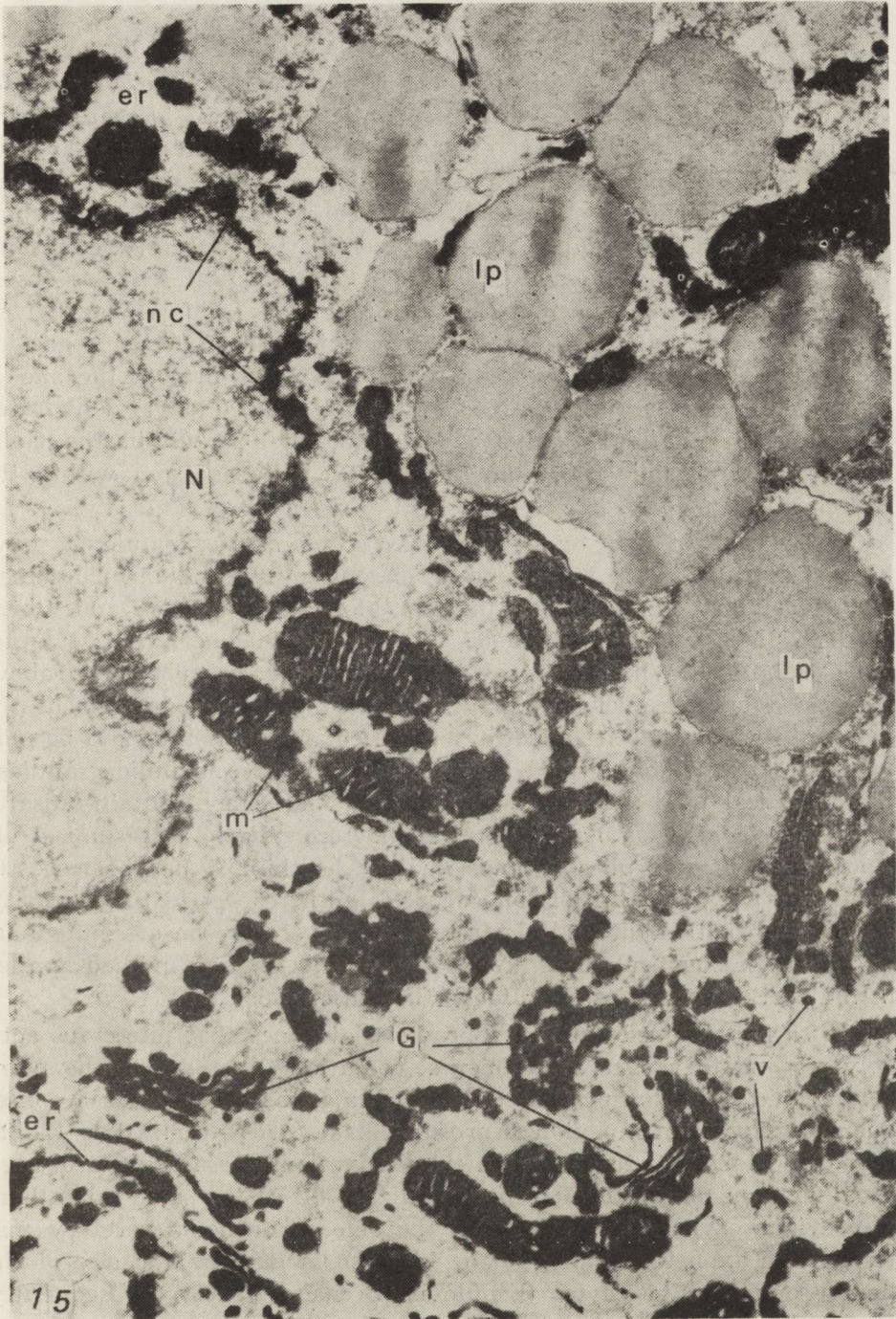












DISCUSSION

Appreciable morphological changes in pituicytes occurred as the result of 4 and 12 days' dehydration, manifested by an increase in the number of lipid droplets and enlargement of both the vesicular area of the Golgi complex and the rough endoplasmic reticulum. Moreover, in both experimental groups, granules were found in these cells which were morphologically similar to neurosecretory granules. At the same time, after 12 days of dehydration some morphological features observed in pituicytes indicate that they can play some role in phagocytosis or endocytosis of the neurosecretory material. The ZIO impregnation technique, allowed to localize the reaction product first at the site of some small vesicles and dense bodies (control and 4 days' dehydrated rats), and then, after 12 days of dehydration, also within the Golgi complex, endoplasmic reticulum, perinuclear cisternae and within the mitochondrial matrix.

On the basis of light or electron-microscopic studies, pituicytes have been shown to contain mitochondria, endoplasmic reticulum, ribosomes, Golgi complex, dense bodies, lipid droplets, microtubules and fibrils (Bodian, 1963; Pawlikowski, 1965; Krsulovic, Brückner, 1969; Krsulovic et al., 1970; Whitaker et al., 1970; Takei et al., 1980). The above mentioned cytoplasmic structures have also been encountered in the material investigated here. However, particular attention should be paid to the lipid droplets (defined by some authors as osmophilic granules). Histochemical evidence has been obtained that they contain unsaturated fatty acids (Raviola, Raviola, 1963). According to Kurosumi et al., (1964) they include phospholipids, mainly lecithin. It has been postulated that polymorphism of lipid droplets with respect to their density, revealed by both light and electron microscope, may be attributed not only to their chemical contents but also to the fixation method applied in the particular studies (Krsulovic, Brückner, 1969).

The so far obtained data have provided evidence that pituicytes actively respond to various experimental conditions. Increase in the number of lipid droplets in pituicytes of the rats was observed as a consequence of formalin injection (Kurosumi et al., 1964), castration (Zamb-rano, De Robertis, 1968) or water deprivation (Krsulovic, Brückner, 1969; Krsulovic et al., 1970; Loesch et al., 1978). At the same time, there was evident synchronism between the release of neurosecretory material from axon terminals and the increase in number and size of the lipid droplets in pituicytes (Krsulovic, Brückner, 1969). Subsequently, Krsulovic et al. (1970) obtained autoradiographic evidence of an inverse relationship between the quantity of neurosecretory material in the axon terminals and the number and size of these lipid droplets within the cytoplasm of pituicytes in the rats during severe dehydration. Ro-

driguez and La Pointe (1969) postulated the incorporation of neurophysine macromolecules by pituicytes and the transport function of these cells in a lizard. An active form of macromolecular transportation of neurosecretory material between the nerve endings and pituicytes by means of ultraphagocytosis or micropinocytosis was suggested by Krsulovic and Brückner (1969) and Krsulovic et al. (1970). According to these authors, enzymes present in the plasma membrane may promote the entry of neurosecretory material into the endoplasmic reticulum of pituicytes. In addition, the development of rough endoplasmic reticulum and increase in number of free ribosomes in pituicytes may indicate a greater need for hydrolytic enzymes produced by greater amount of neurosecretory material taken up by these cells. At the same time Raviola and Raviola (1963) postulated that the accumulation of lipids may result from the fact that proteinases, produced by these cells, seem to exceed lipolytic enzymes.

On the other hand it had earlier been indicated by Kurosumi et al. (1964) that, the chemical content of the lipid droplets within cytoplasm of pituicytes might be related to the degradation of the membranes of neurosecretory granules. According to Takei et al. (1980) this process might be associated with mobilization of certain cytoplasmic mechanism which would facilitate catabolism of this material. At the same time, these authors postulate that the presence of cytosegresomes in the so-called „granular pituicytes” may be the ultrastructural evidence of such a physiological function of pituicytes in the human neurohypophysis.

After transection of the neurosecretory tract in amphibians (Dellmann, Owsley, 1969; Sterba, Brückner, 1969), the pituicytes are capable of phagocytosis of the neurosecretory material. Neurosecretory-like granules in pituicytes were observed during acute short-term intracranial hypertension in the cats (Rap, Chwalbińska-Moneta, 1978), after oral administration of Ringer's solution following 7 days' dehydration of the rats (Loesch et al., 1978) and after colchicine injections (Loesch, unpublished observations). According to Takei et al. (1980) the role of pituicytes may be confined to phagocytosis of an „unused” or „excess” neurosecretory material, originating from the neurosecretory axon terminals. Consistently, Theodosis (1979) demonstrated active uptake of extracellular material by pituicytes through endocytosis, using horseradish peroxidase as a marker; the reaction product was sequestered mainly in dense bodies. Whitaker et al. (1970) demonstrated frequent occurrence of AcPase activity within the Golgi cisternae and associated small vesicles as well as within dense bodies in pituicytes of the rat's neurohypophysis. In addition, they often observed AcPase-positive dense bodies containing several lipid-like vacuoles; these vacuoles are similar in morphology and size to the lipid droplets in

these cells. It is possible that the lipid droplets of pituicytes represent non-digestible residues of lysosomal activity (Reinhardt, 1969; Whitaker et al., 1970).

The results of the present investigations have demonstrated frequent occurrence of the ZIO-positive stain in the mitochondrial matrix, Golgi complex, endoplasmic reticulum and perinuclear cisternae after severe, that is 12 days' dehydration; these findings are difficult to explain at present. They might be indicative of a significant participation of pituicytes in the metabolic processes in neurohypophysis, as specified above, especially in phagocytosis (or endocytosis). At the same time they are in agreement with the argument of Maillet (1963) or Osborne and Thornhill (1974) that the ZIO impregnation is, by no means, specific for one given cytoplasmic structure or for one given type of cells. In particular, Osborne and Thornhill (1974) postulated, that ZIO stain of mitochondria, Golgi complex, lysosomes, smooth endoplasmic reticulum, perinuclear cisternae and synaptic vesicles in the sensory epithelia of the frog's labyrinth in normal conditions, could depend upon a chemical reaction, requiring the presence of phosphate ions. The most recent investigations by Pellegrino De Iraldi and Cardoni (1979) on the ZIO reaction in the rat's pineal nerves suggest that the effect of this reaction is related to changes in accessibility of —SH groups. In the case of pituicytes there is a possibility that the ZIO-positive impregnation of the above mentioned cytoplasmic structures, occurring after 12 days of dehydration, is the result of some other physiological processes as well, related for instance to the mitotic proliferation of these cells (Sarrat, 1967). Krsulovic and Brückner (1969) found in rats a remarkable increase in the number of mitotic divisions from the third to the eighth day of dehydration; during this period proliferative and degenerative processes occurred. At the same time these authors observed that, after 8 days of dehydration, the pituicytes show an increase in degenerative processes, together with their decreased activity.

However, the present results have revealed that the decrease in the number of lipid droplets in some proportion of pituicytes after 12 days' dehydration is accompanied by their increased activity, manifested by the enlargement of the Golgi complex and of the rough endoplasmic reticulum.

In conclusion, it may be postulated that pituicytes actively respond to the conditions of experimental dehydration, which is indicated by a number of morphological changes observed in these cells using the conventional fixation as well as ZIO impregnation; these changes are closely related to the particular period of dehydration and provide evidence for the increased functional activity of pituicytes during the successive stages of the experiment. There is some evidence from the

present data that pituicytes are likely to take part in the regulatory processes related to neurosecretion, in the form of for instance phagocytosis (or endocytosis) of the neurosecretory material. These data are compatible with the hypothesis of Bergmann and Scharer (1951), according to which pituicytes play some role in regulation of the water balance which is essentially related to the effects of neurosecretory activity of the hypothalamo-neurohypophyseal system.

Acknowledgement. The author is grateful to dr Danuta Loesch for comments and help in preparing this manuscript.

A. Loesch

PITUICYTY U ZDROWYCH I ODWODNIONYCH SZCZURÓW:
BADANIA MIKROSKOPOWO-ELEKTRONOWE
Z UWZGLĘDNIENIEM IMPREGNACJI ZIO

Streszczenie

Pituicyty płata nerwowego przysadki szczurów badano w warunkach prawidłowych oraz po 4 i 12 dniach od chwili pozbawienia zwierząt wody do picia, z zastosowaniem utrwalania konwencjonalnego i techniki ZIO. Badania konwencjonalne wykazały po 4 i 12 dniach odwodnienia wyraźne zmiany morfologiczne w pituicytach w postaci zwiększenia liczby kropeł lipidów, rozbudowy kompleksu Golgiego oraz siateczki śródplazmatycznej ziarnistej. W obu tych grupach eksperymentalnych zaobserwowano w pituicytach ziarnistości przypominające budową morfologiczną ziarnistości neurosekrecyjne. Jednocześnie, po 12 dniach odwodnienia, pozaaksonalnie występowały ziarnistości neurosekrecyjne, które pozostawały w kontakcie z plazmalemą pituicytów; takie cechy morfologiczne mogą wskazywać, że pituicyty fagocytują materiał neurosekrecyjny. Zastosowana metoda impregnacji ZIO uwidoczniała precypitat reakcji jedynie w obrębie pojedynczych pęcherzyków i ciał gęstych w cytoplazmie pituicytów, w warunkach prawidłowych i po 4 dniach odwodnienia. Natomiast po 12 dniach odwodnienia produkt tej reakcji zidentyfikowano również w obrębie kompleksu Golgiego, siateczki śródplazmatycznej, mitochondriów oraz toczki jądrowej.

Zaobserwowane cechy morfologiczne wskazują na aktywną rolę pituicytów w stanie odwodnienia ustroju.

A. Леш

ПИТУИЦИТЫ У ЗДОРОВЫХ И ОБЕЗВОЖЕННЫХ КРЫС:
ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
С УЧЕТОМ ИМПРЕГНАЦИИ ЗИО

Резюме

Питуициты нервной доли гипофиза крыс исследовались в нормальных условиях и после 4, а также 12 дней от момента лишения животных воды для питья с применением конвенционального метода фиксирования материала и техники ЗИО. Конвенциональные исследования обнаружили после 4 и 12 дней обезвоживания отчетливые морфологические изменения в питуицитах в виде увели-

чения числа капель липидов, гиперплазии гольджиго комплекса и зернистого эндоплазматического ретикулум. В этих обеих опытных группах в питуицитах наблюдались зернистости морфологическим строением напоминающие нейросекреторные зернистости. Одновременно, после 12 дней обезвоживания экстрааксонально находили нейросекреторные зернистости, остающиеся в контакте с плазмалеммой питуицитов. Такие морфологические свойства могут указывать на то, что питуициты фагоцитируют нейросекреторный материал. Примененный метод импрегнации ЗИО позволил обнаружить преципитат реакции лишь в отдельных пузырьках и густых телах в цитоплазме питуицитов в нормальных условиях и после 4 дней обезвоживания. После же 12 дней обезвоживания продукт этой реакции обнаруживался также в гольджиевом комплексе, эндоплазматическом ретикулум, митохондриях и в ядерной оболочке.

Наблюдаемые морфологические свойства указывают на активную роль питуицитов в состоянии обезвоживания организма.

REFERENCES

1. Bargmann W., Scharrer E.: The site of origin of the hormones of the posterior pituitary. *Amer. Sci.* 1951, 39, 255—259.
2. Bodian D.: Cytological aspects of neurosecretion in opossum neurohypophysis. *Bull. Hopkins Hosp.* 1963, 113, 57—93.
3. Bucy P. C.: The pars nervosa of the bovine hypophysis. *J. comp. Neurol.* 1930, 50, 505—519.
4. Dellmann H. D., Owsley P. A.: Investigations in the hypothalamo-neurohypophysial neurosecretory system of the green frog (*Rana pipiens*) after transection of the proximal neurohypophysis. II. Light and electron microscopic findings in the disconnected neurohypophysis with special emphasis on the pituicytes. *Z. Zellforsch.* 1969, 94, 325—336.
5. Dellman H. D., Stoeckel M. E., Porter A., Stutinsky F.: Ultrastructure of the neurohypophysial glial cells following stalk transection in the rat. *Experientia* 1974, 30, 1220—1222.
6. Fujita H., Hartmann J. F.: Electron microscopy of neurohypophysis in normal, adrenaline-treated and pilocarpine-treated rabbits. *Z. Zellforsch.* 1961, 54, 734—736.
7. Hartmann J. F.: Electron microscopy of the neurohypophysis in normal and histamine-treated rats. *Z. Zellforsch.* 1958, 48, 291—308.
8. Hild W.: Das morphologische, kinetische und endokrinologische Verhalten von hypothalamischen und neurohypophysärem Gewebe in vitro. *Z. Zellforsch.* 1954, 40, 257—312.
9. Kawana E., Akert K., Sandri C.: Zinc iodide-osmium tetroxide impregnation of nerve terminals in the spinal cord. *Brain Res.* 1969, 16, 325—331.
10. Kohn A.: Über das Pigment der Neurohypophyse des Menschen. *Arch. mikr. Anat.* 1910, 75, 337—374.
11. Krsulovic J., Brückner G.: Morphological characteristics of pituicytes in different functional stages. Light- and electronmicroscopy of the neurohypophysis of the albino rat. *Z. Zellforsch.* 1969, 99, 210—220.
12. Krsulovic J., Ermisch A., Sterba G.: Electron microscopic and autoradiographic study on the neurosecretory system of albino rats with special consideration of the pituicyte problem. In: *Aspects of Neuroendocrinology*. Eds. W. Bargmann, B. Scharrer, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1970, 166—172.
13. Kurosumi K., Matsuzawa T., Kobayashi Y., Sato S.: On the relation between the release of neurosecretory substance and lipid granules of pituicytes in the

- rat neurohypophysis. Gunma Symposia on Endocrinology. Publ. Inst. Endocr. Gunma University, Maebashi 1964, 1, 87—118.
14. Loesch A., Danielewicz A., Borowicz J. W.: Obraz mikroskopowo-elektronowy układu neurosekrecyjnego w zaburzeniach osmotycznych u szczura. *Neuropat. Pol.* 1978, 16, 473—486.
 15. Maillet M.: Le reactif au tetraoxycyle de'osmium-iodure du zinc. *Z. Zellforsch.* 1963, 70, 397—425.
 16. Martin R., Barlow J., Miralto A.: Application of the zinc iodide-osmium tetroxide impregnation of synaptic vesicles in cephalopod nerves. *Brain Res.* 1969, 15, 1—16.
 17. Osborne M. P., Thornhill R. A.: The zinc-iodide-osmium reactive sites in the sensory epithelia of the frog labyrinth. *J. Neurocytol.* 1974, 3, 459—470.
 18. Pawlikowski M.: Ultrastruktura części nerwowej przysadki szczura białego ze szczególnym uwzględnieniem pituicytów. *Endokr. Pol.* 1965, 16, 371—385.
 19. Pellegrino De Iraldi A., Cardoni R.: ZIO staining in synaptic vesicles in the rat pineal nerves after inhibition of serotonin and noradrenaline synthesizing enzymes. *Cell Tiss. Res.* 1979, 200, 91—100.
 20. Rap Z. M., Chwalbińska-Moneta J.: Vasopressin concentration in the blood during acute short-term intracranial hypertension in cats. *Advances in Neurology*, Eds. J. Cervós-Navarro, E. Betz, G. Ebhardt, R. Ferszt, R. Wüllener, Raven Press, New York 1978, 20, 381—388.
 21. Raviola E., Raviola G.: Histochemistry of the rat neurohypophysial pituicyte lipid granules. Autooxidation of unsaturated fats during fixation. *J. Histochem. Cytochem.* 1963, 11, 176—187.
 22. Reinhardt H. F., Henning L. Ch., Rohr H. P.: Morphometrisch-ultrastrukturelle Untersuchungen am Hypophysenhinterlappen der Ratte nach Dehydration. *Z. Zellforsch.* 1969, 102, 182—192.
 23. Reynolds E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 1963, 17, 208—212.
 24. Rodriguez E. M., La Pointe J.: Histology and ultrastructure of the neural lobe of the lizard, *Klauberina riversiana*. *Z. Zellforsch.* 1969, 95, 37—57.
 25. Sarrat R.: Modificaciones de la pars intermedia y posterior de la hipofisis producidas por el hambre y la sed. *Ann. Anat.* 1967, 6, 59—98.
 26. Sterba G., Brückner G.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Reaktion der Pituizyten nach Hypophysenstieldurchtrennung bei *Rana esculenta*. *Z. Zellforsch.* 1969, 93, 74—83.
 27. Takei Y., Seyama S., Pearl G. S., Tindall G. T.: Ultrastructural study of the human neurohypophysis. II. Cellular elements of neural parenchyma, the pituicytes. *Cell Tiss. Res.* 1980, 205, 273—287.
 28. Theodosis D. T.: Endocytosis in glial cells (pituicytes) of the rat neurohypophysis demonstrated by incorporation of horseradish peroxidase. *Neuroscience* 1979, 4, 417—525.
 29. Whitaker S., La Bella F. S., Sanwal M.: Electron microscopic histochemistry of lysosomes in neurosecretory nerve endings and pituicytes of rat posterior pituitary. *Z. Zellforsch.* 1970, 111, 493—504.
 30. Zambrano D., De Robertis E.: Ultrastructural changes of the neurohypophysis of the rat after castration. *Z. Zellforsch.* 1968, 86, 14—25.

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

FIGURES

Fig. 1. Neurohypophysis in control rat, consisting of neurosecretory axons (Ax), pituicytes (P) and blood capillaries (Ca). In pituicytes small lipid droplets (arrows) occupy a small cytoplasmic area. Toluidine blue. $\times 3\ 000$.

Ryc. 1. Płat nerwowy przysadki kontrolnego szczura, widoczne są aksony neurosekrecyjne (Ax), pituicyty (P) i kapilary (Ca). W pituicytach małe krople lipidów (strzałki) zajmują niewielki obszar cytoplazmy. Błękit toluidyny. Pow. $3\ 000 \times$.

Fig. 2. Neurohypophysis in 4 day's dehydrated rat. Lipid droplets (arrows) fill a large cytoplasmic area of pituicytes (P); Ca — capillaries, Hb — Herring body. Toluidine blue. $\times 3\ 000$.

Ryc. 2. Płat nerwowy przysadki szczura po 4 dniach odwodnienia. Krople lipidów (strzałki) zajmują duży obszar cytoplazmy pituicytów (P); Ca — kapilary, Hb — ciało Herringa. Błękit toluidyny. Pow. $3\ 000 \times$.

Fig. 3. Neurohypophysis in 12 day's dehydrated rat. Large lipid droplets (arrows) within pituicytes (P); Ca — capillaries. Toluidine blue. $\times 3\ 000$.

Ryc. 3. Płat nerwowy przysadki szczura po 12 dniach odwodnienia. Duże krople lipidów (strzałki) w pituicytach (P); Ca — kapilary. Błękit toluidyny. Pow. $3\ 000 \times$.

Fig. 4. Fragment of pituicyte and its processes penetrating between the neurosecretory axons (Ax). Chromatin aggregates (ch) near the membrane in nucleus (N); Golgi complex (G), vesicles (v), smooth (sr) and rough (er) endoplasmic reticulum, mitochondria (m), dense bodies (db), microtubules (mt) and one lipid droplet (lp) in the cytoplasm; neurosecretory granules (sg) and microvesicles (mv) in the axons. Control conditions. $\times 30\ 000$.

Ryc. 4. Fragment pituicyta i jego wypustki penetrującej pomiędzy aksony neurosekrecyjne (Ax). W jądrze (N) skupienie chromatyny (ch); w cytoplazmie — kompleks Golgiego (G), pęcherzyki (v), siateczka śródplazmatyczna gładka (sr) i ziarnista (er), mitochondria (m), ciała gęste (db), mikrotubule (mt) i pojedyncza kropla lipidów (lp); ziarnistości neurosekrecyjne (sg) i mikropęcherzyki (mv) w aksonach. Warunki prawidłowe. Pow. $30\ 000 \times$.

Fig. 5. Numerous lipids droplets (lp) in pituicyte; N — nucleus, er — rough endoplasmic reticulum, r — ribosomes. 4 days of dehydration. $\times 30\ 000$.

Ryc. 5. Liczne krople lipidów (lp) w pituicycie; N — jądro, er — siateczka śródplazmatyczna ziarnista, r — rybosomy. 4 dni odwodnienia. Pow. $30\ 000 \times$.

Fig. 6. Fragment of pituicyte. Well developed Golgi complex (G) with associated vesicles (v); neurosecretory-like granules (arrows) situated close to large lipid droplets (lp); N — nucleus, er — rough endoplasmic reticulum, m — mitochondria. 4 days of dehydration. $\times 30\ 000$.

Ryc. 6. Fragment pituicyta. Dobrze rozwinięty kompleks Golgiego (G) z towarzyszącymi pęcherzykami (v); ziarnistości neurosekrecyjno-podobne (strzałki) umiejscowione w bezpośrednim sąsiedztwie dużych kropli lipidów (lp); N — jądro, er — siateczka śródplazmatyczna ziarnista, m — mitochondria. 4 dni odwodnienia. Pow. $30\ 000 \times$.

Fig. 7. Pituicyte with two dense bodies containing several electron-lucent vacuoles (arrows); N — nucleus, er — rough endoplasmic reticulum. 4 days of dehydration. $\times 30\ 000$.

Ryc. 7. Pituicyt z dwoma ciałami gęstymi, zawierającymi kilka elektronowo-jasnnych wakuol (strzałki); N — jądro, er — siateczka śródplazmatyczna ziarnista. 4 dni odwodnienia. Pow. $30\ 000 \times$.

Fig. 8. A group of fibrils (fenestrated membranes-like formation) indicated by an arrow in a cytoplasm of pituicyte. 4 days of dehydration. $\times 180\ 000$.

Ryc. 8. Skupienie włókienek przypominających błony okienkowate (strzałka) w cytoplazmie pituicyta. 4 dni odwodnienia. Pow. 180 000 ×.

Fig. 9. Fragments of two neurosecretory axons (Ax) and one pituicyte (P). In pituicyte — neurosecretory-like granule (arrow) and dense body (db); in axons — neurosecretory granules (sg), microvesicles (mv), neurotubules (nt) and smooth endoplasmic reticulum (sr). 4 days of dehydration. × 111 000.

Ryc. 9. Fragmenty dwóch aksonów neurosekrecyjnych (Ax) i pituicyta (P). W pituicycie — ziarnistość neurosekrecyjno-podobna (strzałka) i ciało gęste (db); w aksonach — ziarnistości neurosekrecyjne (sg), mikropęcherzyki (mv), neurotubule (nt) i siateczka śródplazmatyczna gładka (sr). 4 dni odwodnienia. Pow. 111 000 ×.

Fig. 10. In pituicyte extensively developed Golgi complex (G) with vesicular area; neurosecretory-like granules (slg) within its cytoplasm; extracellular presence of neurosecretory granule (arrow) in contact with the membrane of pituicyte; N — nucleus, er — rough endoplasmic reticulum, m — mitochondria, Ax — neurosecretory axons. 12 days of dehydration. × 30 000.

Ryc. 10. W pituicycie znacznie rozwinięty kompleks Golgiego (G); ziarnistości neurosekrecyjno-podobne (slg) w cytoplazmie; pozakomórkowa ziarnistość neurosekrecyjna (strzałka) w kontakcie z plazmalemą pituicyta; N — jądro, er — siateczka śródplazmatyczna ziarnista, m — mitochondria, Ax — aksony neurosekrecyjne. 12 dni odwodnienia. Pow. 30 000 ×.

Fig. 11. Enlargement from Fig. 10, showing fragment of pituicyte (P) and neurosecretory axons (Ax); extracellular presence of neurosecretory granule (arrow) in contact with the membrane of pituicyte. × 54 000.

Ryc. 11. Powiększenie z ryc. 10, przedstawia fragment pituicyta (P) i aksonów neurosekrecyjnych (Ax); pozakomórkowa ziarnistość neurosekrecyjna (strzałka) w kontakcie z plazmalemą pituicyta. Pow. 54 000 ×.

Fig. 12. Fragments of pituicytes (P) and neurosecretory axons (Ax). ZIO-positive elements within dense body (arrow) in pituicyte; neurosecretory granules (sg) and ZIO-positive microvesicles (mv) in axons. Control conditions. × 30 000.

Ryc. 12. Fragmenty pituicytów (P) i aksonów neurosekrecyjnych (Ax). ZIO-dodatnie elementy w obrębie ciała gęstego (strzałka) w pituicycie; ziarnistości neurosekrecyjne (sg) i ZIO-dodatnie mikropęcherzyki (mv) w aksonach. Warunki prawidłowe. Pow. 30 000 ×.

Fig. 13. ZIO-positive vesicles (v) near Golgi complex (G) within pituicyte; Ax — neurosecretory axons, mv — ZIO-positive microvesicles, Ca — capillary. 4 days of dehydration. × 30 000.

Ryc. 13. ZIO-dodatnie pęcherzyki (v) w pobliżu kompleksu Golgiego (G) w pituicycie; Ax — aksony neurosekrecyjne, mv — ZIO-dodatnie mikropęcherzyki, Ca — kapilara. 4 dni odwodnienia. Pow. 30 000 ×.

Fig. 14. Pituicyte containing ZIO-positive mitochondria (m), endoplasmic reticulum (er) and vesicles (v); G — Golgi complex, N — nucleus. 12 days of dehydration. × 54 000.

Ryc. 14. Pituicyt zawierający ZIO-dodatnie mitochondria (m), siateczkę śródplazmatyczną (er) i pęcherzyki (v); G — kompleks Golgiego, N — jądro. 12 dni odwodnienia. Pow. 54 000 ×.

Fig. 15. Pituicyte with cytoplasm containing ZIO-positive structures: Golgi complex (G), mitochondria (m), endoplasmic reticulum (er), vesicles (v) and perinuclear cisterna (nc); N — nucleus, lp — lipid droplets. 12 days of dehydration. × 30 000.

Ryc. 15. Pituicyt z cytoplazmą zawierającą ZIO-dodatnie struktury: kompleks Golgiego (G), mitochondria (m), siateczka śródplazmatyczna (er), pęcherzyki (v) i otoczka jądrowa (nc); N — jądro, lp — krople lipidów. 12 dni odwodnienia. Pow. 30 000 ×.

DZIAŁ KRONIKI I INFORMACJI

Prof. dr hab. med. Miroslaw J. Mossakowski, Dyrektor Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN został wybrany w dniu 8.I.1981 r. na Sekretarza Wydziału VI Nauk Medycznych PAN i uzyskał nominację Prezesa Rady Ministrów na to stanowisko.

* * *

W dniu 12 listopada 1980 r. Rada Państwa nadała tytuł profesora nadzwyczajnego doc. dr hab. med. Józefowi Kałuży, kierownikowi Pracowni Neuropatologii przy Klinice Neurologicznej AM w Krakowie.

* * *

Doroczne nagrody Stowarzyszenia Neuropatologów Polskich za rok 1980 otrzymali następujący koledzy:

— nagrodę pierwszą uzyskał kol. Wielisław Papierz z Zakładu Anatomii Patologicznej AM w Łodzi za całokształt badań w zakresie neuroonkologii;

— nagrodę drugą otrzymały kol. Eugenia Tarnowska-Dziduszko oraz kol. Danuta Ostrowska z Zakładu Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego w Warszawie za badania nad problematyką chorób naczyniopochodnych mózgu ze szczególnym uwzględnieniem pracy pt. „Odmiany rozwojowe koła tętniczego mózgu i ich związek z naczyniopochodnymi uszkodzeniami mózgu”, Neuropat. Pol. 1980, 3, 399—416;

— nagrodę trzecią (za najlepszą demonstrację neuropatologiczną) uzyskał kol. Ryszard Pluta za pracę pt. „Functional status of the sympathetic nervous system in complete experimental cerebral ischemia”, wykonaną wspólnie z kol. Andrzejem Kapuścińskim, przedstawioną na Sympozjum Stowarzyszenia Neuropatologów Polskich i Niemieckiego Towarzystwa Neuropatologii i Neuroanatomii w Krakowie, w dniu 20 września 1980 r.

* * *

Kol. Jan Albrecht z CMDiK PAN uzyskał stopień naukowy doktora habilitowanego na podstawie pracy pt. „Wpływ niedotlenienia i niedokrwienia na metabolizm RNA w mózgu”. Kolokwium habilitacyjne odbyło się dnia 8 lutego 1980 r., w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu.

Kol. Lech Iwanowski uzyskał stopień doktora habilitowanego po przedstawieniu rozprawy pt. „Rola zmian w naczyniach i w splocie naczyniówkowym w procesie starzenia się mózgu”. Kolokwium miało miejsce dnia 11 czerwca 1980 r. w Akademii Medycznej w Warszawie.

W roku 1980 następujący koledzy uzyskali stopień naukowy doktora nauk przyrodniczych, nadany im przez Radę Naukową Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN w Warszawie:

— Andrzej Loesch, na podstawie pracy pt. „Badanie mikroskopowo-elektrowe neurosekrecyjnego układu podwzgórzowo-przysadkowego szczura w stanie odwodnienia”. Obrona odbyła się dnia 18 lutego 1980 r. Promotorem był prof. dr med. Jerzy Borowicz.

— Stanisław Sliwka, na podstawie pracy pt. „Kliniczny system badania wybranych własności dynamicznych układu wewnątrzczaszkowego”. Obrona odbyła się dnia 7 października 1980 r. Promotorem był doc. dr hab. med. Jerzy Szewczykowski.

c.d. na str. 32

BARBARA GAJKOWSKA

BADANIA ULTRASTRUKTURALNE UKŁADU PODWZGÓRZOWO-PRZYSADKOWEGO MÓZGU SZCZURA W STRESIE HIPOTERMICZNYM

Pracownia Ultrastruktury Układu Nerwowego Centrum Medycyny Doświadczalnej
i Klinicznej PAN, Warszawa
Kierownik: prof. dr J. W. Borowicz

Podwzgórze odgrywa istotną rolę w mechanizmie kontrolującym procesy termoregulacji ustroju. Wiele wyników badań świadczy o tym, że duże znaczenie w tych procesach ma układ dokrewny. U zwierząt poddanych działaniu niskich temperatur wykazano zmienioną czynność przysadki w związku z uczynnieniem układu przysadkowo-nadnerczowego oraz przysadkowo-tarczycowego (Mueller i wsp. 1974; Chuang, Costa 1974; Al-Lami, Farman 1975). Natomiast w odniesieniu do reakcji neurosekrecyjnych jąder podwzgórza poglądy są kontrowersyjne. Badania Andjus i Morel (1952), Khalil (1954) oraz Guzek (1956) wykazały nieznaczne obniżenie neurowydzielniczej czynności komórek jąder podwzgórza u zwierząt silnie oziębianych. Na podstawie badań biochemicznych (Fregly, Tyler 1972; Nelson i wsp. 1974), można sądzić, że stres hipotermiczny wywołując diuretyczne odwodnienie organizmu, może powodować również aktywację neuronów jąder sekrecyjnych.

Celem pracy była morfologiczna ocena stanu czynnościowego neuronów sekrecyjnych podwzgórza szczura oraz włókien nerwowej części przysadki w ostrym stresie hipotermicznym.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie wykonano na 20 szczurach, samcach, szczepu Wistar z hodowli losowej, o wadze 200 g, w okresie zimowym (grudzień-styczeń). 15 szczurów pozostających w temp. pokojowej ($+20^{\circ}\text{C}$) zostało poddanych nagłemu oziębieniu (-18°C) przez okres 40 min. Po 40 min. wszystkie szczury dekapitowano równocześnie z 5 zwierzętami kontrolnymi. Do badań morfologicznych w mikroskopie elektronowym pobra-

no wycinki z jądra nadwzrokowego i przykomorowego oraz płata nerwowego przysadki. Materiał utrwalono w 4% glutaraldehydzie i w 2% OsO₄ w buforze kakodylowym o pH 7,4. Wycinki z mózgu odwadniano w alkoholach i tlenku propylenu i zatapiano w Eponie 812. Ultracienkie skrawki krojono na ultramikrotomie Reichert Om U2 i dobarwiano octanem uranylu i cytrynianem ołowiu. Zdjęcia wykonano w mikroskopie elektronowym JEM-7A.

WYNIKI

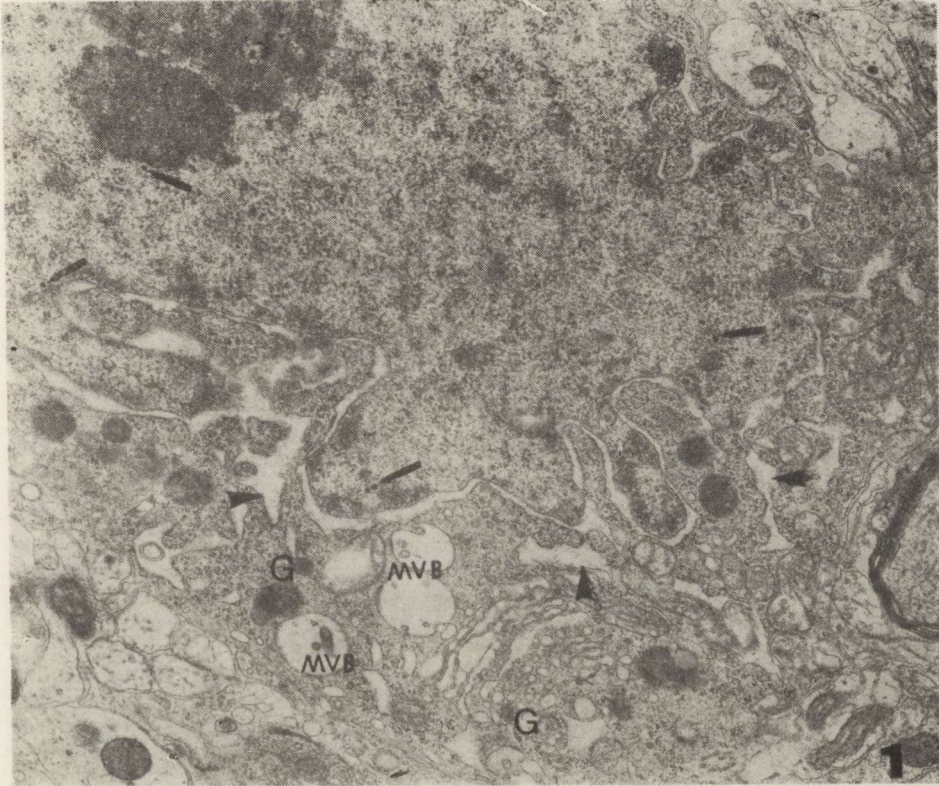
Jądro nadwzrokowe i jądro przykomorowe

Neurony jądra nadwzrokowego i przykomorowego szczurów kontrolnych nie różniły się od opisywanych już wielokrotnie. Obrazy morfologiczne neuronów jądra nadwzrokowego i przykomorowego wykazywały podobny charakter zmian powstałych pod wpływem stresu hipotermicznego. Wszystkie badane neurony posiadały olbrzymie jądro komórkowe o kształcie bardzo nieregularnym, z dużymi wgłobieniami i bogatą chromatyną tworzącą często skupienia tuż pod otoczką jądrową. Na terenie jądra znajdowało się zawsze elektronowo-gęste jąderko oraz duża ilość ziarnistości perichromatynowych. Zewnętrzna błona otoczki jądrowej często kontaktowała się bezpośrednio z błonami dobrze rozwiniętej siatki śródplazmatycznej szorstkiej (ryc. 1, 2). Wiele jej kanałów było znacznie poszerzonych w okolicach przyjądrowych lub w całej komórce. Poszerzone kanały zawierały zwykle niewielkie ilości kłaczkowatej substancji i pokryte były zawsze rybosomami. W cytoplazmie obecna była duża ilość rybosomów i polirybosomów. Aparat Golgiego był dobrze rozwinięty, a w jego okolicy obserwowano drobne, puste pęcherzyki, pojedyncze ziarnistości neurosekrecyjne i dużą ilość ciał wielopęcherzykowych i lizosomów oraz ciałek gęstych (ryc. 1, 2, 3). Cytoplazma wypełniona była dużą ilością mitochondriów, w niektórych widoczne było nieznaczne przejaśnienie macierzy i skrócone grzebienie mitochondrialne. W neuronach stwierdzano także obecność neurotubul, nie występujących zbyt licznie i zwykle krótkich, ułożonych po kilka (ryc. 3).

Płat nerwowy przysadki

We włóknach nerwowych stwierdzono zmienne ilości ziarnistości neurosekrecyjnych w zależności od ich topografii. Na poprzecznych przekrojach włókien aksonalnych, znajdujących się w pobliżu naczyń krwionośnych, obserwowano niewielkie ilości neurosekretu w porównaniu z włóknami bardziej oddalonymi od naczyń. Ziarnistości spotykane we włóknach, leżących w sąsiedztwie naczyń, były zwykle obłone i wypełnione materiałem o różnej gęstości elektronowej. Spoty-

kano również ziarnistości nieoblone o małej gęstości elektronicznej, lub tylko puste pęcherzyki. Wielkość tych elementów była zawsze jednakowa i wahała się w granicach od 180 nm do 200 nm. We włóknach widoczne były również liczne mikropęcherzyki i pojedyncze mitochondria (ryc. 4). Włókna nie sąsiadujące bezpośrednio z naczyniami krwionośnymi były szczelnie wypełnione ziarnistościami neurosekrecyjnymi, z których większość była otoczona wyraźną błoną i miała elektrowo-gęsty rdzeń. Wielkość ziarnistości nie przekraczała 200 nm. Między nimi spotykano pojedyncze mitochondria i struktury lizosomalne.



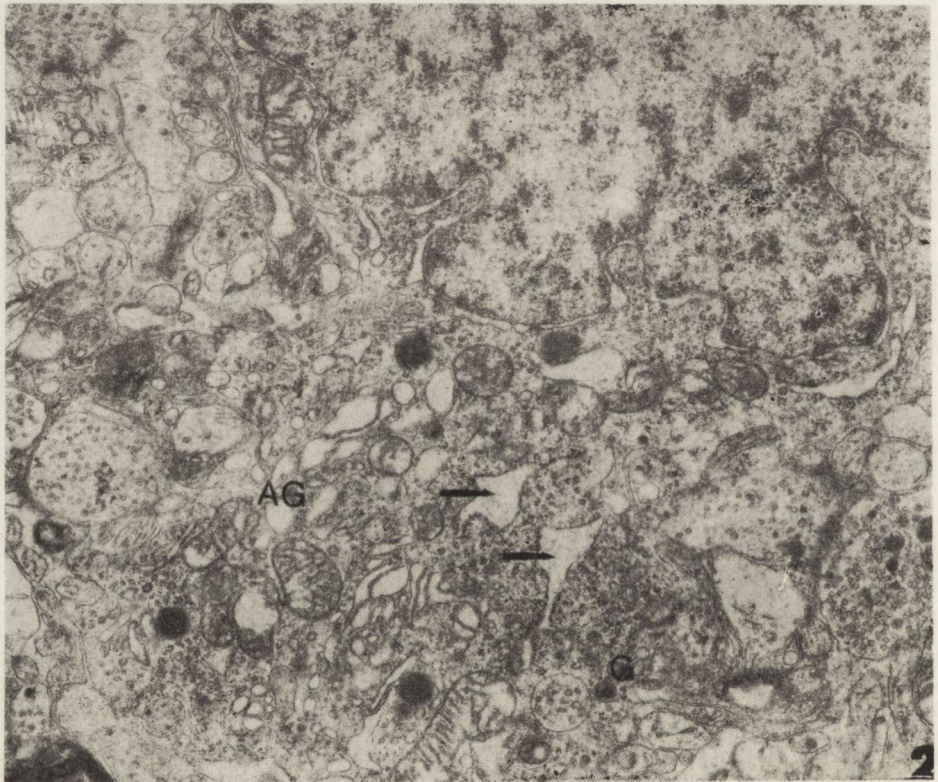
Ryc. 1. Jądro nadwzrokowe. Widoczny fragment jądra komórkowego z dużymi inwaginacjami, elektronowo-gęste jąderko i liczne ziarnistości perichromatynowe (strzałki). Zewnętrzna błona otoczki jądrowej pozostaje w kontakcie z kanałami siatki śródplazmatycznej szorstkiej. W cytoplazmie dobrze rozwinięty aparat Golgiego, liczne ciała wielopęcherzykowe (MVB), ciała gęste, lizosomy. Szorstka siatka śródplazmatyczna dobrze rozwinięta, niektóre jej kanały w okolicy przyjądrowej mocno poszerzone (główki strzałki). Pojedyncze ziarnistości neurosekrecyjne (G). Pow. 13 950 X.

Fig. 1. Supraoptic nucleus. Fragment of cell nucleus with deep invaginations of nuclear membrane, electron dense nucleolus and many perichromatin granules (arrows). Outer layer of the nuclear membrane is often in contact with the narrow channels of rough endoplasmic reticulum. In cytoplasm — well developed Golgi apparatus, numerous multivesicular body (MVB), dense bodies and lysosomes. Well developed rough endoplasmic reticulum with some channels markedly dilated (arrowheads). Small number of neurosecretory granules (G). X 13 950.

podobne, a mikropecherzyki były bardzo rzadkie (ryc. 4, 5, 6). W niektórych włóknach widoczna była olbrzymia ilość długich neurotubul (ryc. 6) oraz ciałek wielopecherzykowych.

OMÓWIENIE

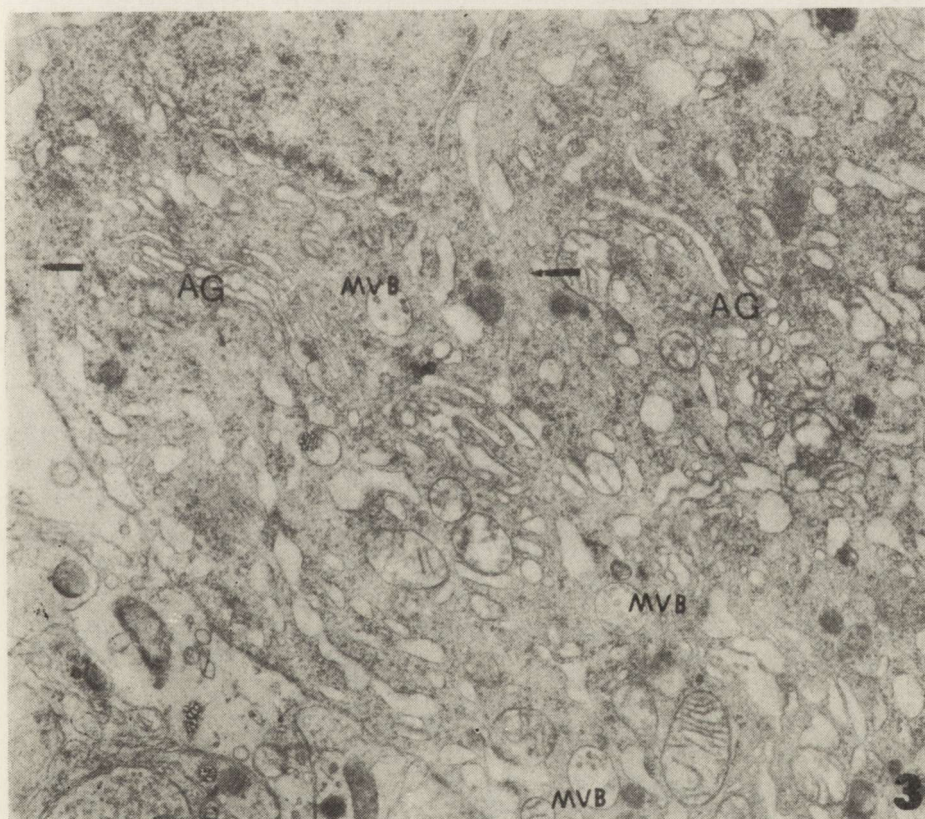
Na podstawie uzyskanych wyników można przypuszczać, że stres hipotermiczny powoduje aktywację neuronów jądra nadwzrokowego i przykomorowego. Zaczepowane zmiany w ultrastrukturalnej budowie szorstkiej siatki śródplazmatycznej, polegające na poszerzeniu kanałów interpretowane są jako wynik aktywnego stanu neuronu (Kalimo 1971; Gajkowska 1973). Ultrastruktura jądra komórkowego z olbrzymim jąderkiem, dużą ilością chromatyny i ziarnistości peri-



Ryc. 2. Jądro przykomorowe. Jądro komórkowe z głębokimi inwaginacjami. W cytoplazmie widoczne poszerzone kanały szorstkiej siatki śródplazmatycznej wypełnione substancją kłaczkowatą (strzałki), dobrze rozwinięty aparat Golgiego (AG), pojedyncze ziarnistości neurosekrecyjne (G), liczne ciała gęste, duża ilość rybosomów i polirybosomów. Pow. 13 950 X.

Fig. 2. Paraventricular nucleus. Cell nucleus with deep invaginations. In cytoplasm some channels of the rough endoplasmic reticulum dilated, containing of flake-like material (arrows). Well developed Golgi apparatus (AG), small number of neurosecretory granules (G), numerous dense bodies, ribosomes and polyribosomes. X 13 950.

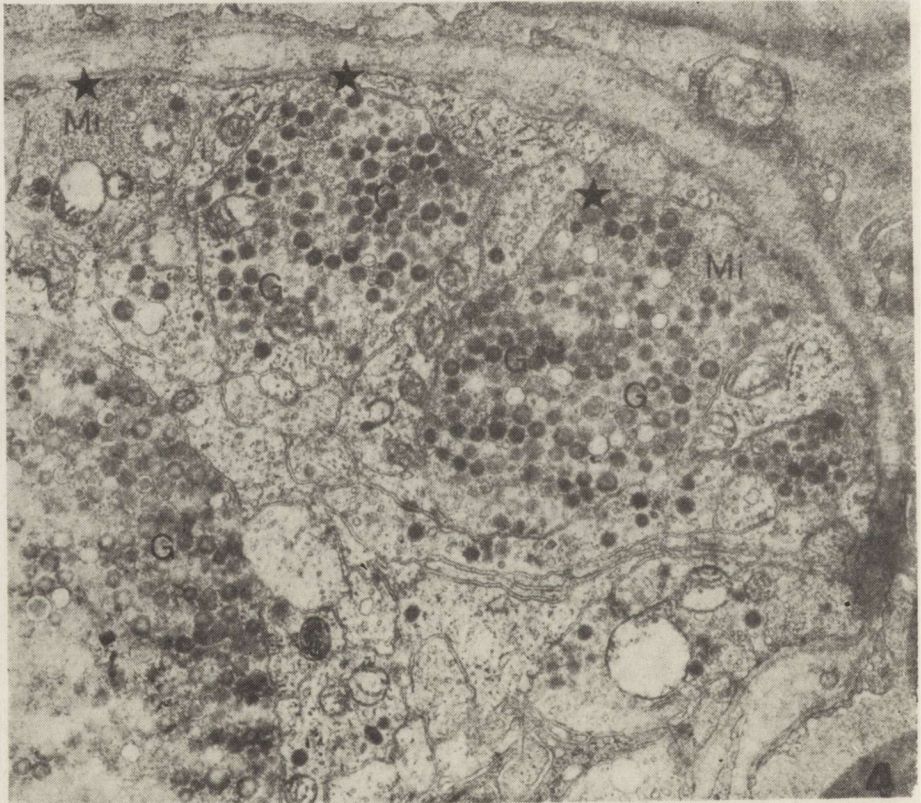
chromatynowych, świadczy również o jego aktywacji związanej z syntezą rybonukleoprotein (Moyné i wsp. 1977; Puvion i wsp. 1977; Gajkowska i wsp. 1979). Dobrze rozwinięty aparat Golgiego, duża ilość lizosomów oraz ciałek gęstych i wielopęcherzykowych, jest również interpretowana jako charakterystyczna cecha cyklicznej aktywności neuronu (Zambrano, Robertis 1966; Pilgrim 1969; Picard 1970). Mała ilość ziarnistości neurosekrecyjnych w perikarionie neuronów jądra nadwzrokowego i jądra przykomorowego oraz obecność neurotubul może wskazywać na szybki przepływ ziarnistości do nerwowego płata przyśadki. Istnieją bowiem dowody na to, że neurotubule biorą czynny udział w transporcie polipeptydów (Grainger, Sloper 1974; Schliwa, Euteneuer 1978). Obserwowane cechy morfologiczne neuronów obu badanych jąder pozwalają przypuszczać, że stres hipotermiczny wywołuje



Ryc. 3. Jądro przykomorowe. Wyraźnie widoczne poszerzone kanały szorstkiej siatki śródplazmatycznej, dobrze rozwinięty aparat Golgiego (AG), duża ilość ciałek gęstych i ciałek wielopęcherzykowych (MVB) oraz neurotubul (strzałki). Pow. 13 950 \times .

Fig. 3. Paraventricular nucleus. Many channels of rough endoplasmic reticulum dilated, well developed Golgi apparatus (AG), numerous dense bodies, multivesicular body (MVB) and neurotubules (arrows). \times 13 950.

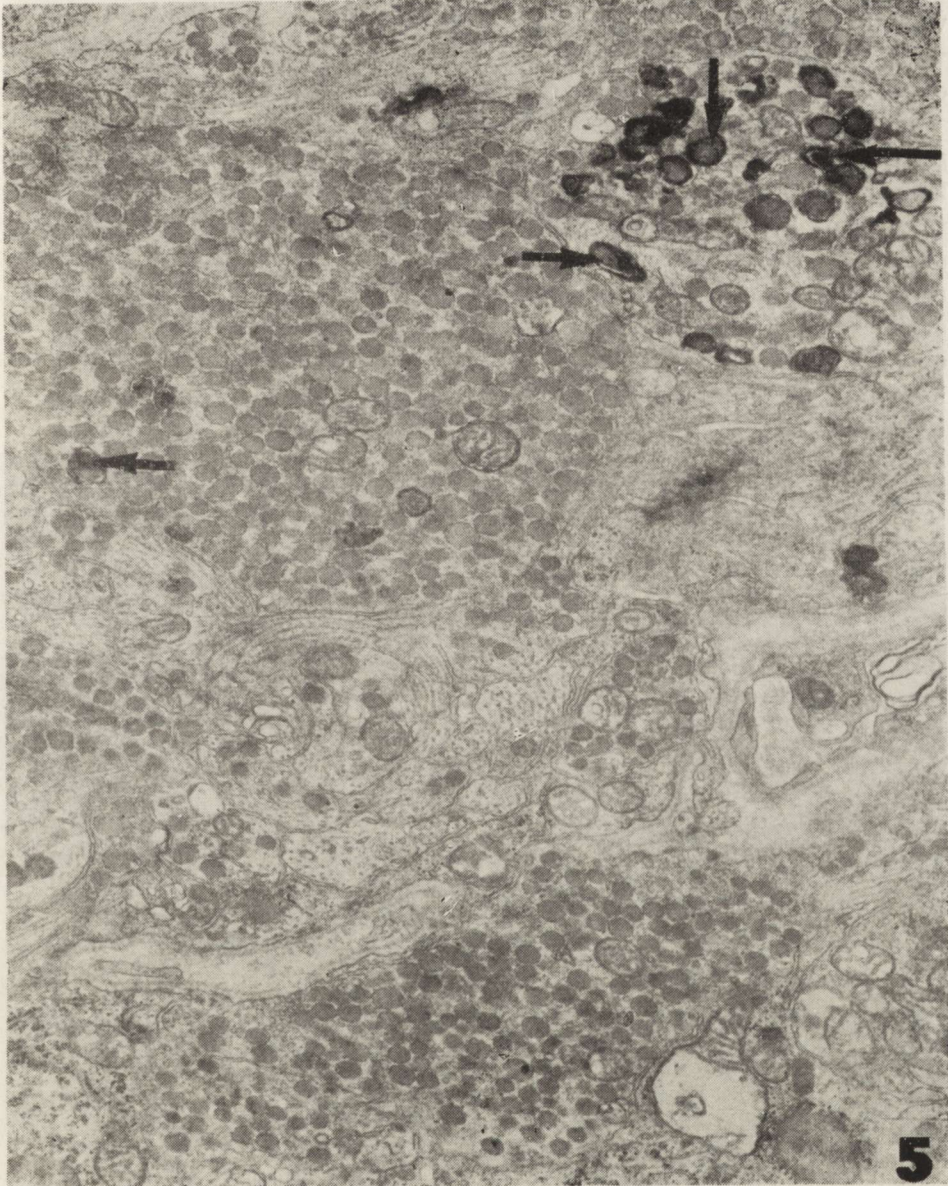
pewną synchronizację czynnościową neuronów. Neurony sekrecyjne jądra nadwzrokowego i przykomorowego w normalnych warunkach wykazują odmienne cechy morfologiczne. Badania mikroskopowo-elektronowe (Zambrano, Robertis 1966) i kariometryczne (Zambrano, Mor-doh 1966) wykazały, że różne typy komórek mogą reprezentować różne stadia cyklu sekrecyjnego. Wielu autorów opisuje jedynie dwa rodzaje neuronów: „jasne” i „ciemne”, interpretując neurony „jasne” jako czynne sekrecyjnie, zaś neurony „ciemne” jako rezultat procesu utrwalania (Enström 1967; Kjaerheim 1970; Kalimo 1971). Neurony spostrze-gane w naszym materiale posiadają wiele cech charakterystycznych dla neuronów „ciemnych”. Jednakże ze względu na inne cechy mor-fologiczne można sądzić, że są one w pewnej fazie cyklu sekrecyjnego, zwanej fazą syntezy białek. Yukitake i wsp. (1977) wyróżniają cztery



Ryc. 4. Płat nerwowy przysadki. We włóknach (gwiazdki) przylegających bezpośrednio do naczynia krwionośnego widoczna niewielka ilość ziarnistości neurosekrecyjnych (G) o różnej gęstości elektronowej, duża ilość mikropęcherzyków (Mi) i pojedyncze mitochondria. Pow. 13 950 X.

Fig. 4. Neurohypophysis. Numerous microvesicles (Mi), small number of neurosecretory granules (G) and single mitochondria in fibers (asterisks) adjacent to blood vessels. X 13 950.

fazy cyklu sekrecyjnego neuronów. Cechy morfologiczne fazy syntezy białek, opisywane przez tych autorów, odpowiadają cechom obserwowanym w naszym materiale.

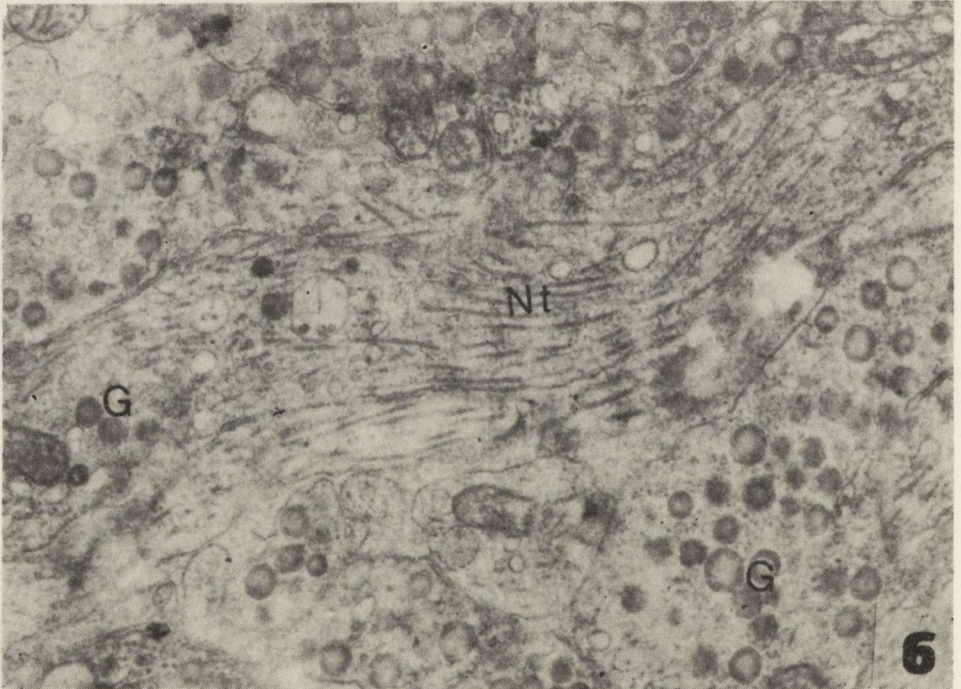


Ryc. 5. Płat nerwowy przysadki. W aksonach duża ilość ziarnistości neurosekrecyjnych, w niektórych dość licznie występują struktury lizosomopodobne (strzałki). Pow. 13 950 \times .

Fig. 5. Neurohypophysis. In the nerve fibers — many neurosecretory granules, in one of the nerve fibers numerous lysosome-like structures (arrows). $\times 13\,950$.

Badania biochemiczne wykazały, że stres hipotermiczny powoduje odwodnienie. Można przypuszczać, że w związku z dużym zapotrzebowaniem na wazopresynę neurony jądra nadwzrokowego i przykomorowego ulegają pewnej synchronizacji czynnościowej. Obserwowane cechy ultrastrukturalne neuronów obu badanych jąder wskazują na wzmożoną syntezę białek.

W zakończeniach włókien płata nerwowego przysadki obserwuje się dużą ilość ziarnistości neurosekrecyjnych w porównaniu z ilością neurosekretu w neuronach jądra nadwzrokowego i przykomorowego. Można przypuszczać, że jest to wynik szybkiego ich przepływu z perikarionów komórek do zakończeń nerwowych oraz, że produkcja ziarnistości neurosekrecyjnych jest niewystarczająca w stosunku do szybkości przepływu aksonalnego. Bardzo znaczna ilość długich, regularnie ułożonych neurotubul (wyznaczających niemal kierunek przepływu ziarnistości) potwierdza również to przypuszczenie. Nie bez znaczenia wydaje się ubytek ziarnistości neurosekrecyjnych i duża ilość mikropęcherzyków i pęcherzyków pustych w zakończeniach włókien przylegających do



Ryc. 6. Płat nerwowy przysadki. Przekroje podłużne i poprzeczne włókien aksonalnych wykazują duże ilości neurotubul (Nt), układających się zgodnie z przepływem ziarnistości neurosekrecyjnych, widoczne również pojedyncze ziarnistości neurosekrecyjne (G) i ciała wielopęcherzykowe (MVB). Pow. 13 950 \times .

Fig. 6. Neurohypophysis. Longitudinal and transverse sections of nerve fibers with great number of neurotubules (Nt), single multivesicular body (MVB) and neurosecretory granules (G). \times 13 950.

naczyń krwionośnych. Można to wiązać z szybkim przedostawaniem się neurosekreту do krwioobiegu. Obecność ciałek wielopęcherzykowych we włóknach płata nerwowego przysadki jest trudna do interpretacji, być może biorą one udział w trawieniu białek i są przekształcane w ciała gęste lub lizosomy. Również Boudier i Picard (1976) uważają, że elementy te uczestniczą w ten sposób w regulacji procesu neurosekrecji. Obecność tych struktur w zakończeniach włókien nerwowej części przysadki potwierdza tę teorię.

WNIOSKI

1. Stres hipotermiczny powoduje synchronizację czynnościową neuronów jądra nadwzrokowego i jądra przykomorowego.
2. Neurony jądra nadwzrokowego i przykomorowego wykazują cechy morfologiczne świadczące o wzmożonej syntezie białek.
3. Włókna nerwowej przysadki posiadają cechy ultrastrukturalne wskazujące na szybki przepływ i wydzielanie ziarnistości neurosekrecyjnych do krwioobiegu.

Б. Гайковска

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА КРЫСЫ В ГИПОТЕРМИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

Резюме

Исследовалась гипоталамо-гипофизарная система мозга крыс, подвергаемых воздействию низкой температуры (-18°C в течение 40 мин.). В большинстве наблюдаемых нейронов супраоптического и перивентрикулярного ядер обнаруживались морфологические свойства, свидетельствующие о повышенном синтезе белков.

Волокна нервной доли гипофиза характеризовались наличием морфологических показателей усиленной секреции секреторного вещества, следовательно — уменьшением количества нейросекреторных зернистостей большой электронооптической плотности и наличием большого количества пустых микропузырьков.

Эти морфологические наблюдения указывают на активацию гипоталамогипофизарной системы мозга крысы в условиях гипотермического стресса.

B. Gajkowska

ULTRASTRUCTURAL STUDY OF HYPOTHALAMO-NEUROHYPOPHYSEAL SYSTEM OF THE RAT AFTER HYPOTHERMAL SHOCK

Summary

Electron microscopic changes in the hypothalamo-neurohypophyseal system in the rat were studied after hypothermal shock (-18°C , 40 min). Great number of the neurosecretory cells in the supraoptic and paraventricular nuclei suggest increased protein synthesis. In the majority of the nerve fibers a decrease in the amount of neurosecretory substances was observed, manifested by a small number of elementary granules of high electron density, and by the appearance of

a great number of optically empty vesicles and microvesicles. These results strongly suggest that hypothalamo-neurohypophyseal system is much stimulated after hypothermal shock.

PIŚMIENNICTWO

1. Al-Lami F., Farman N.: Ultrastructural and histochemical study of the adrenal medulla in normal and cold-stressed syrian hamster. *Anat. Rec.* 1975, 181, 113—129.
2. Andjus R., Morel F.: L'excrétion hydro-minérale au cours de l'hypothermie étudiée chez le rat à l'aide du radiosodium Na^{24} . *C.R. Soc. Biol.* 1952, 146, 1477—1481.
3. Boudier J. A., Picard D.: Granulolysis in neurosecretory neurons of the rat supraoptico-posthypophyseal system. *Cell Tiss. Res.* 1976, 172, 39—58.
4. Chuang D., Costa F.: Biosynthesis of tyrosine hydroxylase in rat adrenal medulla after exposure to cold. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1974, 71, 4570—4574.
5. Enström S.: Nucleus supraopticus. *Acta path. microbiol. Scand.* 1967, Suppl. 186, 1—99.
6. Fregly M. J., Tyler P. E.: Renal response of cold-exposed rats to pitrescin and dehydration. *Am. J. Physiol.* 1972, 222, 1065—1070.
7. Gajkowska B., Luciani A., Borowicz J.: Reakcja układu podwzgórzowo-przysadkowego mózgu szczura na stres wywołany unieruchomieniem. *Neuropat. Pol.* 1979, 17, 421—441.
8. Grainger F., Sloper J. S.: Correlation between microtubular number and transport activity of hypothalamo-neurohypophyseal system secretory neurons. *Cell Tiss. Res.* 1974, 153, 101—113.
9. Guzek J. W.: Hipotermia doświadczalna a układ dokrewny. *Pol. Tyg. Lek.* 1956, 11, 1—20.
10. Kalimo H.: Ultrastructural studies on the hypothalamic neurosecretory neurons of the rat. *Z. Zellforsch.* 1971, 122, 283—300.
11. Khalil H. H.: Effect of hypothermia on the hypothalamic-pituitary response to stress. *Brit. Med. J.* 1954, 733, 4890—4893.
12. Kjaerheim A.: Light and dark cells. Fact or fiction? *Soc. Microsc. electron.* 1970, 1, 403—404.
13. Moyne G., Nash R. E., Puvion E.: Perichromatin granules in isolated rat hepatocytes treated with cortisol and cycloheximide. *Biol. Cell.* 1977, 30, 5—17.
14. Mueller G. P., Chen H. T., Dibbet J. A., Chen H. J., Meites J.: Effects of warm and cold temperatures on release of TSH, GH and prolactin in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1974, 147, 698—700.
15. Nelson E. L., Fregly M. J., Tyler P. E.: Effects of water temperature on post-cold-exposure drinking response of rat. *Am. J. Physiol.* 1974, 227, 977—980.
16. Picard D.: La synchronisation fonctionnelle des cellules neurosécrétrices du noyau supraoptique du rat déshydraté et réhydrate: étude ultrastructurale. *C.R. Acad. Sci.* 1970, 271-D, 847—850.
17. Pilgrim C.: Morphologische und funktionelle Untersuchungen zur Neurosekretbildung. *Enzymhistochemische, autoradiographische und elektronenmikroskopische Beobachtungen an Ratten unter osmotischer Belastung. Ergebn. Anat. Entwickl.-Gesch.* 1969, 41, 1—79.
18. Puvion E., Viron A., Bernhard W.: Unusual accumulation of ribonucleoprotein constituents in the nucleus of cultured rat liver cells after hypothermal shock. *Biol. Cell.* 1977, 29, 81—88.

19. Schliwa M., Euteneuer U.: A microtubule-independent component may be involved in granule transport in pigment cells. *Nature* 1978, 273, 556—558.
20. Zambrano D., Mordoh J.: Neurosecretory activity in supraoptic nucleus in normal rats. *Z. Zellforsch.* 1966, 73, 405—413.
21. Zambrano D., Robertis E.: The secretory cycle of supraoptic neurons in the rat. *Z. Zellforsch.* 1966, 73, 414—431.
22. Yukitake Y., Taniguchi Y., Kurosumi K.: Ultrastructural studies on the secretory cycle of the neurosecretory cells and the formation of Herring bodies in the paraventricular nucleus of the rat. *Cell Tiss. Res.* 1977, 177, 1—8.

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

* * *

W roku 1980 przedstawiono następujące doniesienia na comiesięcznych Stowarzyszenia Neuropatologów Polskich:

1) dnia 19 stycznia 1980 r.

— Lubomira Dydyk (Pracownia Neuropatologii Rozwojowej CMDiK PAN) „Poziom katecholamin w mózgu noworodka królika w warunkach normobarycznej hiperoksji w stanie wstrząsu krwotocznego”.

— Zuzanna Kraśnicka, Barbara Gajkowska (Zakład Neuropatologii CMDiK PAN i Pracownia Ultrastruktury Układu Nerwowego CMDiK PAN) „Wpływ metylnitrozomocznika (MNU) na organotypową hodowlę tkanki nerwowej”.

2) dnia 23 lutego 1980 r.

— Danuta Wierzbicka, Danuta Ostrowska, Bolesław Karwowski (Zakład Neuropatologii i Klinika Chorób Naczyniowych Ukl. Nerw., Instytutu Psychoneurologicznego) „Morfologia uogólnionej wtórnej kandidiazy”.

— Jerzy Łazarewicz (Zespół Neurochemii, CMDiK PAN) „Wywołana przez neurotransmitery mobilizacja wapnia w komórkach glejaka *in vitro*”.

3) dnia 29 marca 1980 r.

— Milena Laure-Kamionowska, Tadeusz Majdecki (Pracownia Neuropatologii Rozwojowej CMDiK PAN i Pracownia Neuropatologii przy Oddziale Neurologicznym CSK w Międzyzlesiu) „Zahamowanie rozwoju kory mózgu u dwóch noworodków w wyniku uszkodzenia śródciażowego”.

— Józef Kałuża (Pracownia Neuropatologii, Instytut Neurologii AM w Krakowie) „Dwa przypadki rzadkich schorzeń OUN: choroba Krabbe'go i histocytoza X”.

4) dnia 31 maja 1980 r.

— Roman Gadamski (Zespół Neuropatologii CMDiK PAN) „Unerwienie tętnic opony miękkiej królików poddanych ischemii po uprzedniej sympatektomii (doniesienie wstępne)”.

5) dnia 28 czerwca 1980 r.

— Anna Fidziańska, Janina Rafałowska (Klinika Neurologiczna AM) „Dwa typy motoneuronów rogu przedniego rdzenia kręgowego u człowieka w ontogenezie (Badania ultrastrukturalne)”.

— Jan Albrecht (Zespół Neuropatologii CMDiK PAN) „Wybrane zagadnienia z zakresu karcinogenezy chemicznej”.

6) dnia 11 października 1980 r.

— K. Zülch (Kolonia RFN) „WHO classification of the CNS tumors”.

7) dnia 15 grudnia 1980 r.

— Agnieszka Jędrzejewska (Zakład Diagnostyki Patomorfologicznej CMKP) „Obraz neuropatologiczny obwodowych odcinków układu wegetatywnego przewodu pokarmowego dzieci zmarłych z powodu neuroblastoma”.

— Agnieszka Jędrzejewska, Maria Ostenda (Zakład Diagnostyki Patomorfologicznej CMKP i Zespół Neuropatologii CMDiK PAN) „Wpływ katecholamin na obraz morfologiczny obwodowych odcinków układu wegetatywnego przewodu pokarmowego szczura”.

Jerzy Dymecki

ANNA TARASZEWSKA, IRMINA B. ZELMAN, JAN SAWICKI

CHARAKTERYSTYKA ZMIAN MORFOLOGICZNYCH WE WZGÓRZU KRÓLIKA PT

Ośrodek Doświadczalny Neurologii Porównawczej
Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN
Kierownik Ośrodka: doc. dr I. B. Zelman

Określenie uszkodzeń wzgórza u królika z dziedziczną drżączką porażną wiąże się tematycznie co najmniej z dwoma zagadnieniami: po pierwsze, badania te stanowią dalszy przyczynek do korelacji kliniczno-morfologicznych, mających na celu ustalenie anatomicznego podłoża drżeń u królika pt (Osetowska i wsp. 1977), po drugie, szczegółowa analiza zmian w poszczególnych jądrach wzgórza, w różnych okresach rozwoju procesu chorobowego, może mieć znaczenie dla interpretacji zmian morfologicznych, zwłaszcza oceny pierwotnych i wtórnych uszkodzeń neuronalnych.

Dodatkowo warto również zwrócić uwagę na znaczenie tych badań dla neuropatologii porównawczej. Szeroko przedstawiony przez Martina (1970) problem patologii wzgórza w spontanicznych chorobach zwyrodnieniowych u ludzi nie ma dotychczas żadnego odpowiednika w badaniach porównawczych. W przeciwieństwie do tego, liczne prace neuroanatomiczne i neurofizjologiczne były poświęcone badaniom struktury i funkcji wzgórza u różnych gatunków zwierząt, między innymi również i u królika. Ustalono wiele danych o czynności, roli i połączeniach różnych jąder wzgórza, jednakże istnieje wiele rozbieżności w klasyfikacji i nomenklaturze tych jąder, zarówno u człowieka, jak i u zwierząt, niezależnie nawet od przyjętych różnic gatunkowych. Opracowania neuroanatomiczne wzgórza u królika nie stanowią pod tym względem wyjątku (Rose 1935; Sawyer i wsp. 1954; Wahren 1957; Gerhard 1968).

W niniejszej pracy przyjęto podział i nomenklaturę jąder wzgórza wg atlasu Gerhard (1968), do którego jest również zbliżone opracowanie Sawyera i wsp. (1954), uwzględniające stosunki stereotaktyczne

wzgórza u królika. Najbardziej uproszczoną klasyfikację, najmniej przydatną przy obecnej znajomości wzgórza podaje Wahren (1957).

U królika określono połączenia niektórych jąder wzgórza, przede wszystkim *nucleus ventrobasis*, które stanowi główne jądro dla doprowadzających dróg czuciowych wchodzących przez wstęgę przyśrodkową (Rose, Mountcastle 1952; Yamada, Otani 1977). Jądro to tworzy główne odprowadzenia wzgórzowo-korowe do kory czuciowej. Ponadto zbadano połączenia grupy jąder przednich z korowymi ośrodkami węchomózgowia, głównie z korą limbiczną (Rose, Woolsey 1949; Fernandez 1969), oraz grupy jąder śródblaszkowych (*n. parafascicularis*, *n. paracentralis*, *n. centralis lateralis*) i jąder środkowych (*n. reuniens*, *n. rhomboideus*, *n. centralis medialis*, *n. medialis ventralis*), które zaliczane są do ośrodków wzgórzowych tworzącego siatkowatego i tworzą połączenia tzw. niespecyficzne do różnych okolic kory i do prążkownia (Stefens, Droogleever-Fortuyn 1953; Cowan, Powell 1955). Grupa jąder tylnych (*n. lateralis posterior* i *n. posterior thalami*) oraz jądro przyśrodkowo-grzbietowe (*n. mediodorsalis*) stanowią tzw. jądra kojarzeniowe, których włókna odprowadzające są kierowane prawdopodobnie do pól kojarzeniowych kory ciemieniowo-potylicznej i czołowo-oczodołowej (Sawyer i wsp. 1954), a doprowadzenia pochodzą głównie z innych jąder wzgórza, jednak połączenia tej grupy jąder nie są dokładnie poznane. Podobnie brak jest danych u królika o połączeniach jądra grzbietowego bocznego (*n. lateralis dorsalis*), które przez niektórych autorów jest zaliczane również do grupy jąder kojarzeniowych (Adrianov 1977).

Dla tematu niniejszej pracy szczególnie interesujące są te jądra wzgórza, które są włączone w tzw. „zamknięte” obwody ruchowe wg określenia Brodala (1963), wprowadzonego przez Osetowską i wsp. (1977) do tematu obecnego cyklu badań królika pt. Są to jądra brzuszne przednie i boczne (*n. ventralis anterior* i *n. ventralis lateralis thalami*), do których dochodzą drogi z gałki bladej oraz drogi mózdkowo-wzgórzowe, a ich połączenia odprowadzające są wysyłane do kory ruchowej i przedruchowej (Rose, Mountcastle 1952).

Z podjętych badań wyłączono ciała kolankowate boczne, związane z układem wzrokowym, który stanowi przedmiot odrębnego opracowania oraz ciała kolankowate przyśrodkowe.

MATERIAŁ I METODY

Badania wykonano na wybranym materiale 40 królików pt objawowych, który obejmował, w zależności od okresu klinicznego choroby, następujące grupy zwierząt: od 11 dnia do 4 tygodnia życia (9 przypadków), od 5 do 10 tygodnia życia (11 przypadków), od 3 do 5 miesięcy życia (10 przypadków) i od 8 miesięcy do 2 lat (10 przypadków).

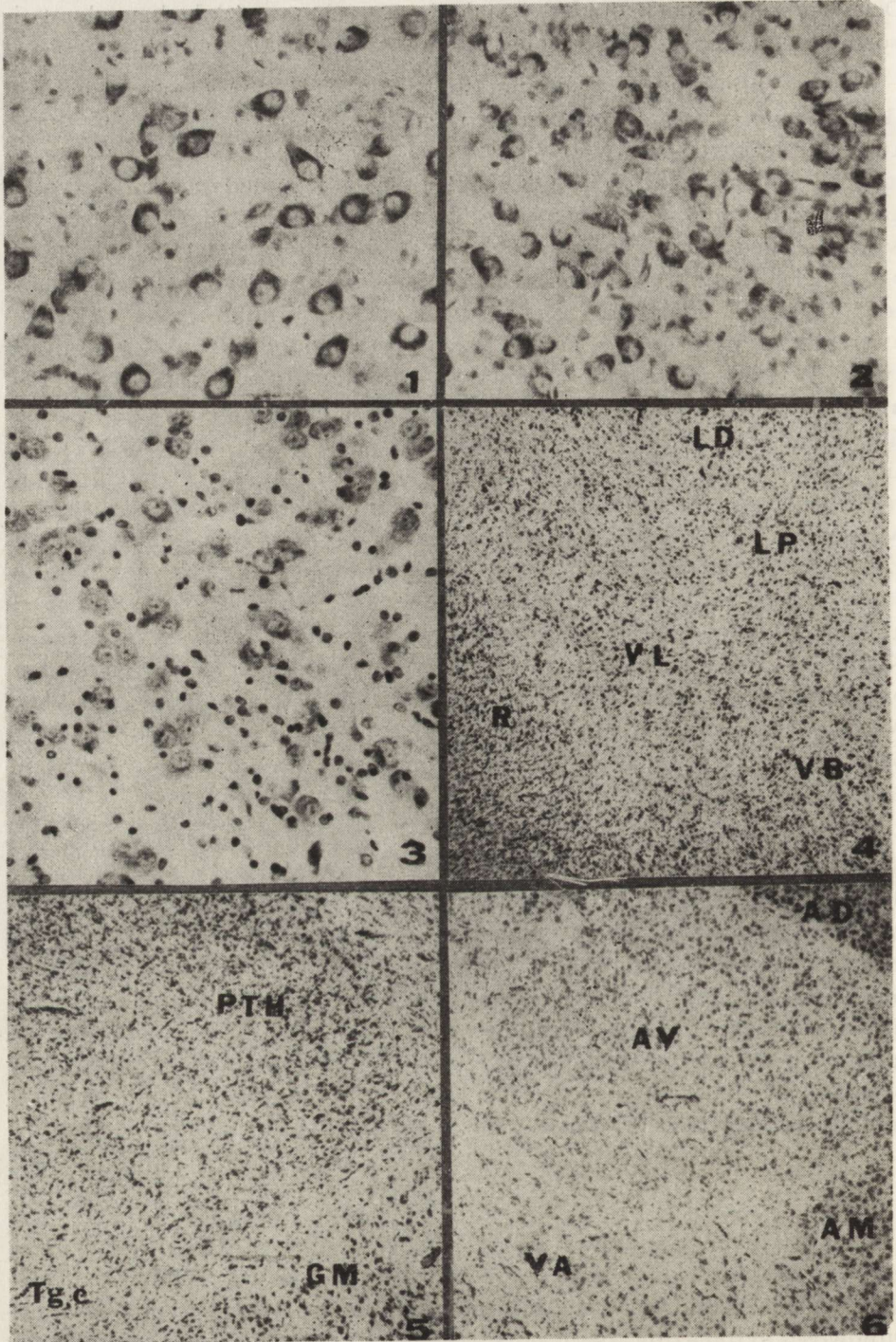
Dziewięć zdrowych królików w takich samych przedziałach wieku (odpowiednio 4, 2, 1, 2 zwierzęta) stanowiło materiał kontrolny.

Objawy kliniczne w badanym materiale królików pt przedstawiały się następująco: we wczesnym okresie choroby (do 4 tyg. życia) dominującym objawem były zrytmizowane drżenia całego ciała, występujące od 10—11 dnia życia. Około 20 dnia, a w pojedynczych przypadkach już od początku drżeń, uwidaczniały się przy ruchach czynnych wyraźne niedowłady kończyn tylnych i w mniejszym stopniu kończyn przednich. Narastające niedowłady, przechodzące w spastyczne porażenia kończyn charakteryzowały drugą grupę królików. W większości przypadków porażenia kończyn rozwijały się między 6 a 8 tygodniem życia. W tym okresie obserwowano zmniejszanie się nasilenia drżeń, nieraz do całkowitego ich zaniku przy rozwiniętych porażeniach. Króliki badane w wieku 3—5 miesięcy stanowiły grupę zwierząt w okresie poprawy klinicznej z wyjątkiem 2 przypadków z rozwiniętymi porażeniami spastycznymi. U królików tej grupy po typowym okresie wczesnym, od około 7—8 tygodnia życia niedowłady kończyn zmniejszały się. Również w tym czasie obserwowano zmniejszanie się natężenia drżeń, które u 4 królików całkowicie zanikły, a u pozostałych utrzymywały się w niewielkim stopniu jeszcze do momentu uspienia. Króliki w wieku od 8 miesięcy do 2 lat stanowiły grupę z przebiegiem przewlekłym po okresie poprawy klinicznej. U 2 królików utrzymywał się spastyczny niedowład kończyn przednich z utrwalonym, nieprawidłowym ich ustawieniem. Drżeń samoistnych nie stwierdzano w żadnym przypadku.

Króliki usypiano Eunarconem, w części przypadków wykonywano perfuzję formalinową. Z mózgow pobierano na poziomie wzgórza po 3 skrawki w płaszczyźnie czołowej (z części przedniej, środkowej i tylnej wzgórza), a u królików poniżej 1 mies. życia po 2 skrawki. Pobrany materiał przeprowadzano w sposób standardowy do parafiny, część bloczków krojono w seriach nieciągłych, w niektórych przypadkach natomiast wykorzystano niesymetryczny przekrój przez obie półkule, uzyskując dwa różne poziomy wzgórza na jednym skrawku. Preparaty oceniano w barwieniach fioletem krezyłu, hematoksyliną-eozyną, wg metody Heidenhaina, Holmesa oraz Kanzler-Arendta.

WYNIKI

U normalnych królików do 2 tyg. życia, strukturę komórkową wzgórza charakteryzowały wyraźne cechy niedojrzałości, a mianowicie duże zagęszczenie komórek, znaczna zasadochłonność i zaznaczona dwubiegunowość cytoplazmy neuronów (ryc. 1). Podobny obraz komórkowy wzgórza stwierdzano u królików badanych w pierwszych dniach drżeń, z tym że w niektórych neuronach widoczne było przejaśnienie cyto-



plazmy lub zacieranie się obrazu komórki (ryc. 2). Zmiany te występowały w sposób rozsiany, z nieco wyraźniejszą akcentacją w jądrach brzusznych. Mielinizacja włókien we wstędze przyśrodkowej i w *nucleus ventrobasis*, widoczna u królików zdrowych już w 11 dniu życia, była zupełnie nikła u królików objawowych. Od 3 tyg. życia obserwowano we wzgórzu królików objawowych zwiększoną glejozę komórkową oraz nasilenie się zmian w neuronach w postaci obrzmienia cytoplazmy, tigrolizy i pojawiania się liczniejszych bladych cieni komórkowych (ryc. 3). Zmiany miały nadal charakter rozsiany, a zaznaczające się już pewne różnice topograficzne uwidoczniły się wyraźniej dopiero w następnych grupach wieku.

U królików w 2 miesiącu życia występowała rozlana glejoza komórkowa, zacierająca cytoarchitektonikę jąder wzgórza, w największym nasileniu w jądrze siatkowatym (ryc. 4) i w jądrze tylnym. Zwiększona glejoza komórkowa utrzymywała się w tych jądrach również u królików 3—5-miesięcznych (ryc. 5 i 6). Począwszy od 2 mies. obserwowano, przy narastającej liczbie uszkodzonych neuronów w obrębie całego wzgórza, mniejsze nasilenie zmian w grupie przednich (ryc. 6)

Ryc. 1. Królik kontrolny 11-dniowy. Prawidłowy obraz komórek wzgórza. Fiolet krezyłu. Pow. 200 ×.

Fig. 1. Control rabbit 11-day old. Normal picture of thalamic cells. Cresyl violet. × 200.

Ryc. 2. Królik pt 11-dniowy. Jądro brzuszne podstawne. Widoczne neurony z lekką tigrolizą, o niewyraźnych granicach jądra i cytoplazmy. Fiolet krezyłu. Pow. 200 ×.

Fig. 2. Rabbit pt 11-day old. *N. ventrobasis thalami*. Dispersed neurons with slight tigrolysis and indistinct outlines of nuclei and cytoplasm. Cresyl violet. × 200.

Ryc. 3. Królik pt 3-tyg. Jądro brzuszne podstawne. Tigroliza i obrzmienie komórek nerwowych, pomnożenie komórek glejowych. Fiolet krezyłu. Pow. 200 ×.

Fig. 3. Rabbit pt 3-week old. *N. ventrobasis thalami*. Tigrolysis and swelling of neurons. Increased number of glial cells. Cresyl violet. × 200.

Ryc. 4. Królik pt 6-tyg. Rozlana glejoza komórkowa zacierająca obraz cytoarchitektoniczny jąder wzgórza. Nasilenie glejozy w *nucleus reticularis* (R). Fiolet krezyłu. Pow. 30 ×.

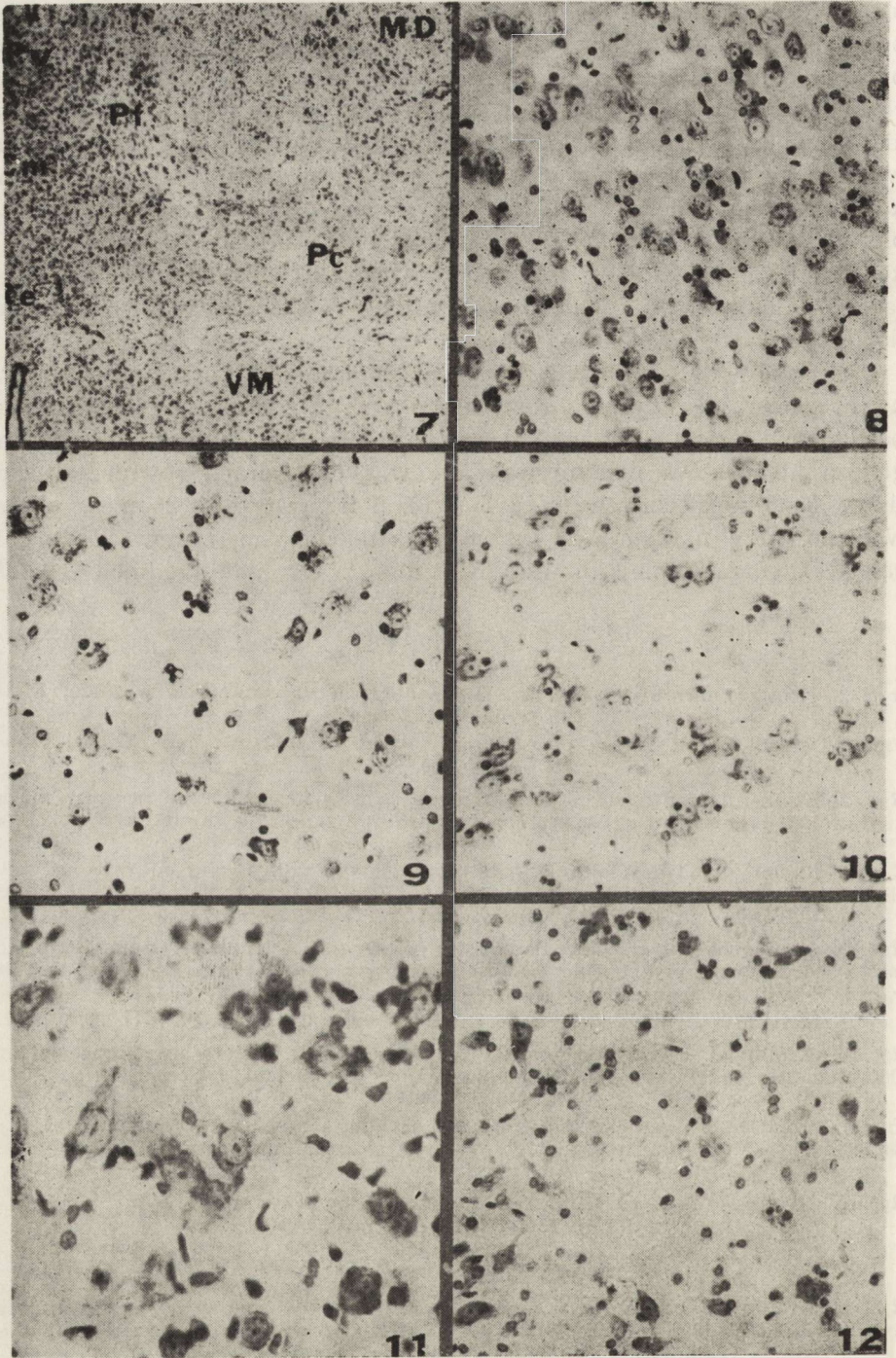
Fig. 4. Rabbit pt 6-week old. Diffuse cellular gliosis blurring architecture of thalamic nuclei. More marked gliosis involves reticular nucleus (R). Cresyl violet. × 30.

Ryc. 5. Królik pt 4-mies. Duża glejoza komórkowa w jądrze tylnym wzgórza (PTH). Fiolet krezyłu. Pow. 30 ×.

Fig. 5. Rabbit pt 4-month old. Marked cellular gliosis in *n. posterior thalami* (PTH). Cresyl violet. × 30.

Ryc. 6. Królik pt 4-mies. Zmniejszona barwliwość neuronów w jądrze brzuszno-przednim (VA) i w części brzusznej AV w porównaniu do pozostałych jąder — przednich (AM, AD, część grzbietowa AV). Fiolet krezyłu. Pow. 30 ×.

Fig. 6. Rabbit pt 4-month old. Decreased staining of neurons in *n. ventralis anterior thalami* (VA) and in ventral part of *n. anterior ventralis thalami* (AV) as compared with other anterior thalamic nuclei (AM, AD, dorsal part of AV). Cresyl violet. × 30.



i środkowych jąder (ryc. 7 i 8), z tym, że w *n. anterior ventralis* komórki nerwowe części grzbietowo-przyśrodkowej były bardziej oszczędzone od neuronów części brzuszno-bocznej tego jądra (ryc. 6). Największe zmiany neuronalne obserwowano w jądrze grzbietowym bocznym, w którym tylko nieliczne neurony zachowywały prawidłowy wygląd oraz w jądrze bocznym tylnym i w jądrze przyśrodkowym grzbietowym. Między 5 a 10 tyg. życia zmiany komórkowe charakteryzowały się występowaniem nasilonej, plamistej tigrólizy i obrzmieniem lub wakuolizacją cytoplazmy oraz obecnością licznych białych cieni komórkowych otoczonych glejem satelitarnym (ryc. 9). W jądrze grzbietowym bocznym tego typu zmiany często obserwowano również w przypadkach przewlekłych.

U królików z poprawą kliniczną i u królików z przewlekłym przebiegiem choroby w obrazie komórkowym wzgórza zaznaczały się opustoszenia neuronalne, a wśród zmian komórkowych dominowały postaci białych zanikowych neuronów ze wzmożoną satelitozą okołoneuronalną i obecnością glejowych trawniczków w neuropilu (ryc. 10). W ją-

Ryc. 7. Królik pt 2-mies. Dobrze zachowana struktura komórkowa grupy jąder środkowych (Cm, Re, Pv). Fiolet krezyłu. Pow. 30 X.

Fig. 7. Rabbit pt 2-month old. Well preserved cellular structure of medial thalamic nuclei (Cm, Re, Pv). Cresyl violet. X 30.

Ryc. 8. Królik pt 2-mies. Niewielkie zmiany w perikarionach neuronów jądra centralnego przyśrodkowego wzgórza. Fiolet krezyłu. Pow. 200 X.

Fig. 8. Rabbit pt 2-month old. Slight nerve cells changes in *n. centralis medialis thalami*. Cresyl violet. X 200.

Ryc. 9. Królik pt 9-tyg. Jądro boczne grzbietowe. Zaniki, tigróliza plamista i ciężkie uszkodzenie neuronów. Fiolet krezyłu. Pow. 200 X.

Fig. 9. Rabbit pt 9-week old. *N. lateralis dorsalis thalami*. Neuronal loss, patchy tigrolysis and severely damaged neurons. Cresyl violet. X 200.

Ryc. 10. Królik pt 2-mies. Jądro brzuszne boczne. Zaniki neuronów, nieregularne zagęszczenia komórek glejowych i wzmożona satelitoza glejowa okołoneuronalna. Fiolet krezyłu. Pow. 200 X.

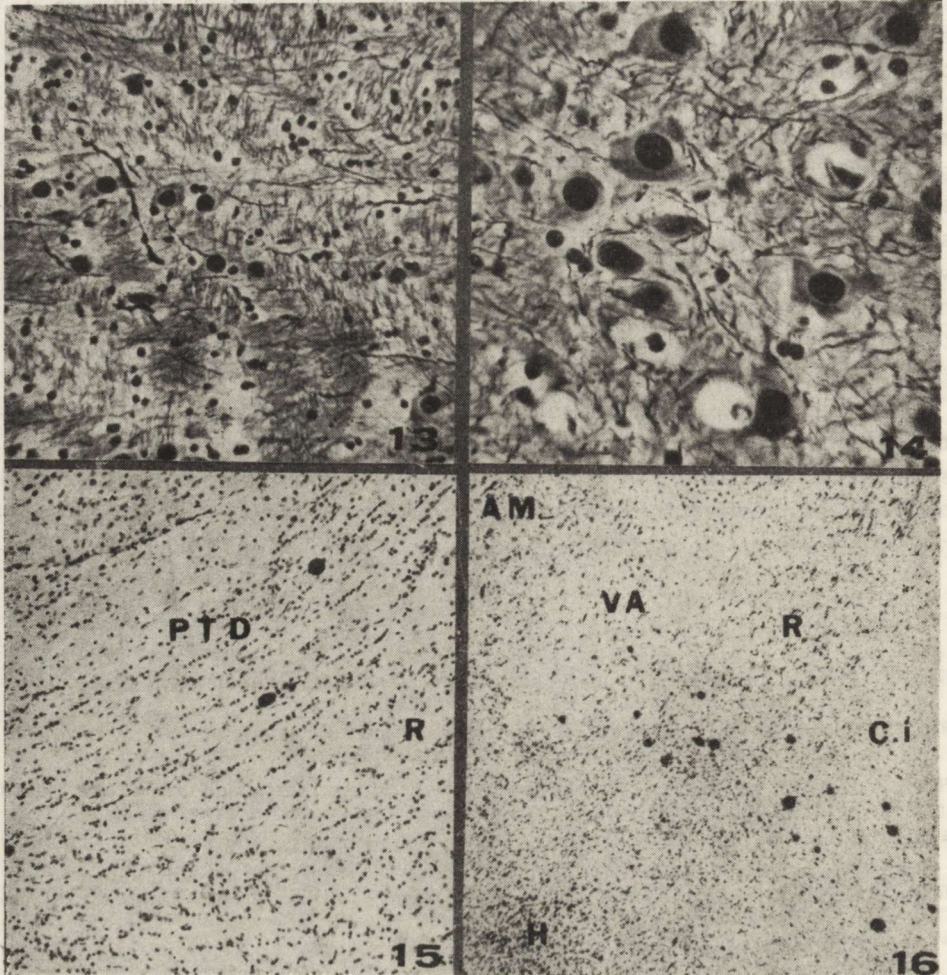
Fig. 10. Rabbit pt 2-month old. *N. ventralis lateralis thalami*. Neuronal loss, irregular accumulations of glial cells and increased perineuronal satellitosis. Cresyl violet. X 200.

Ryc. 11. Królik pt 10-tyg. Jądro tylne wzgórza. Neurony z tigrólizą (w środku pola) wykazują intensywniej wybarwiony przyjądrowy rąbek cytoplazmy, widoczne są ponadto komórki z nadbarwliwą cytoplazmą oraz cienie komórkowe ze wzmożoną satelitozą glejową. Fiolet krezyłu. Pow. 400 X.

Fig. 11. Rabbit pt 10-week old. *N. posterior thalami*. Nerve cells with tigrolysis (in the central of the Figure) exhibit more intensively stained perinuclear rim of cytoplasm. Neurons with hyperchromatic cytoplasm and shadows of nerve cells with increased glial satellitosis. Cresyl violet. X 400.

Ryc. 12. Królik pt 2-letni. Jądro tylne wzgórza. Obraz zmian przewlekłych z neuronami „sklerotycznymi”, opustoszenia i zanikające cienie komórek nerwowych, pomnożenie komórek glejowych. Fiolet krezyłu. Pow. 200 X.

Fig. 12. Rabbit pt 2-year old. *N. posterior thalami*. Chronic changes with the presence of sclerotic nerve cells, neuronal loss and increased number of glial cells. Cresyl violet. X 200.



Ryc. 13. Królik pt 3-mies. Błaszka rdzenia wzgórza grzbietowa i pogranicze jądra brzuszno boczno. Włókna nerwowe nieregularnie obrzmiałe i pogrubiłe z wyraźnymi cechami zwyrodnienia. Met. Holmesa. Pow. 200 \times .

Fig. 13. Rabbit pt 3-month old. *Lamina medullaris dorsalis thalami* and border zone of *n. ventralis lateralis*. Irregular swelling and thickening of nerve fibers with distinct degenerative features. Holmes meth. \times 200.

Ryc. 14. Królik pt 13-mies. Jądro brzuszno boczno. Zmiany zwyrodnieniowe włókien drobnych, zwłaszcza wokół neuronów zanikających. Met. Holmesa. Pow. 400 \times .

Fig. 14. Rabbit pt 13-month old. *N. ventralis lateralis thalami*. Degenerative changes of tiny nerve fibers, especially around severely damaged neurons. Holmes meth. \times 400.

Ryc. 15. Królik pt 7-tyg. Zwapnienia rozsiane wzdłuż włókien konaru górnego wzgórza (PTD). Fiolet krezyłu. Pow. 100 \times .

Fig. 15. Rabbit pt 7-week old. Dispersed calcifications along the *pedunculus thalami dorsalis* (PTD). Cresyl violet. \times 100.

drze brzuszным bocznym zmiany te pojawiały się dość wcześnie, w pojedynczych przypadkach już u królików 9-tygodniowych, a w jądrze brzuszno-podstawnym obserwowano większe nasilenie zmian w części boczo-dolnej. Uszkodzenia i zaniki neuronalne w obu tych jądrach były jednak na ogół umiarkowane i często spotykano neurony o prawidłowym wyglądem. Natomiast w jądrach bocznych nadal obserwowano liczne zmienione komórki nerwowe.

Nieco odmiennie przedstawiał się obraz zmian w jądrze tylnym wzgórza i w jądrze siatkowatym. W obu jądrach obserwowano zwiększoną glejotę komórkową przy umiarkowanych początkowo zmianach neuronalnych, zwłaszcza w jądrze siatkowatym. W jądrze tylnym wzgórza komórki z tigrolizą wykazywały często przyjądrowy rąbek zasadochłonnej cytoplazmy, a obok bladych cieni komórkowych widoczne były nadbarwliwe neurony, zwłaszcza u królików 3—5-miesięcznych (ryc. 11). Podobne zmiany spotykano we wcześniejszych okresach również w jądrach centralnych wzgórza (ryc. 8). W przypadkach z przewlekłym przebiegiem obserwowano w jądrze tylnym wzgórza i w jądrze siatkowatym zaniki neuronalne, większe niż w innych jądrach wzgórza oraz charakterystyczne dla obu tych struktur przewlekłe zmiany komórkowe w postaci obkurczonych, hiperchromatycznych neuronów, określaných jako tzw. neurony „sklerotyczne” (ryc. 12).

Zmiany zwyrodnieniowe we włóknach nerwowych były widoczne u królików 1—2-miesięcznych, przede wszystkim na przebiegu pęczków włókien w jądrach brzusznych, w blaszkach rdzennych i w jądrze siatkowatym (ryc. 13). U królików z dłuższym przeżyciem i w okresie przewlekłym obserwowano ponadto okołoneuronalne zmiany zwyrod-

Ryc. 16. Królik pt 10-mies. Zwapnienia w części brzusznej wzgórza tworzące pasmowaty układ przez część dolną c. interna do gałki bladej (poza ryciną). Fiolet krezyłu. Pow. 30 X.

Fig. 16. Rabbit pt 10-month old. Calcifications in ventral part of the thalamus forming a band-like structure passing through the inferior part of internal capsule to globus pallidus (outside the Figure). Cresyl violet. X 30.

Objaśnienie skrótów do rycin

AD — *N. anterior dorsalis thalami*
 AM — *N. anterior medialis thalami*
 AV — *N. anterior ventralis thalami*
 Ci — *Capsula interna*
 Cm — *N. centralis medialis thalami*
 GM — *Corpus geniculatum mediale*
 H — *Hypothalamus*
 LD — *N. lateralis dorsalis thalami*
 LP — *N. lateralis posterior thalami*
 MD — *N. medialis dorsalis thalami*
 PTH — *N. posterior thalami*
 PTD — *Pedunculus thalami dorsalis*
 Pc — *N. paracentralis*

Pf — *N. parafascicularis*
 Pv — *N. paraventricularis thalami*
 R — *Nucleus reticularis*
 Re — *N. reuniens*
 Tg.c — *N. reticularis tegmenti, pars centralis*
 VA — *N. ventralis anterior thalami*
 (*s. n. ventralis thalami pars anterior*)
 VL — *N. ventralis lateralis thalami*
 VB — *N. ventrobasalis (n. ventralis basalis thalami)*
 VM — *N. ventralis medialis thalami*

nieniowe końcowych odcinków włókien zwłaszcza przy zanikających neuronach (ryc. 14), natomiast w pęczkach włókien długich występowały wyraźne przerzedzenia.

Ponadto w badanym materiale stwierdzono w 11 przypadkach obecność zwapnień w różnych jądrach wzgórza, w tym u 5 królików z ciężkim przebiegiem klinicznym, u 2 królików z poprawą i u 4 królików z przebiegiem przewlekłym. W przypadkach z licznymi zwapnieniami obserwowano charakterystyczne rozmieszczenie złogów na środkowym poziomie wzgórza przed ciałami kolankowatymi. Zwapnienia rozprzestrzeniały się jak gdyby w 2 pasmach, a mianowicie w części grzbietowej *n. reticularis*, w *pedunculus thalami dorsalis* (ryc. 15) i czasem dodatkowo w *lamina medullaris thalami dorsalis*, oraz w części brzusznej, gdzie występowały na obszarze od gałki bladej przez pętlę soczewkową i dolną część torebki wewnętrznej, a w obrębie wzgórza — w części brzusznej jądra siatkowatego, w jądrze brzuszno bocznym i ku tyłowi we wstędze przyśrodkowej, w *n. ventrobasis* i *n. ventromedialis* oraz w *zona incerta* (ryc. 16). Taką lokalizację zwapnień stwierdzono we wszystkich przypadkach przewlekłych i w 2 przypadkach wczesnych (u królików 6 i 7 tyg.), natomiast w pozostałych przypadkach spotykano pojedyncze zwapnienia w jądrze siatkowatym i w jądrach bocznych lub brzusznych wzgórza.

OMÓWIENIE

Z przeprowadzonych badań wynika, że uszkodzenia komórkowe we wzgórzu królika pt pojawiają się w czasie klinicznie obserwowanych drżeń i nasilają się w okresie narastających niedowładów i porażań. Zmiany we wzgórzu występują więc nieco później niż w innych strukturach mózgu, takich jak jądra pnia mózgu, gałka blade czy prążkowie, w których stwierdzano je już w okresie przedobjawowym (Taraszewska, Osetowska 1975) lub w pierwszych dniach objawów klinicznych (Osetowska i wsp. 1975).

Zmiany obserwowane we wzgórzu we wczesnym okresie choroby polegają na występowaniu tigrólizy i obrzęku neuronów oraz rozlanego rozplemu gleju komórkowego. W zejściowych okresach ciężkich przebiegów klinicznych, a także u królików z poprawą kliniczną i przewlekłym przebiegiem choroby przeważają zmiany zanikowe (cienie komórkowe), z mniej lub bardziej zaznaczonymi opustoszeniami neuronów i okołoneuronalne odczyny gleju komórkowego. Równocześnie jednak obserwowane, mniejsze zmiany komórkowe w populacji zachowanych neuronów w przypadkach z poprawą sugerują, że tylko część uszkodzonych komórek nerwowych ulega zanikowi, część prawdopodobnie ulega odnowie i powraca do prawidłowego stanu. Do tych ostatnich przypuszczalnie należą neurony z umiarkowaną centralną tigrólizą, charakteryzujące się przyjądrowym skupieniem zasadochłonnej

cytoplazmy i prawidłowo zachowanym jądrem (w odróżnieniu od plamistej tigrolizy z rozplywającymi się zarysami komórki i jądra). Za uznaniem tych zmian za regeneracyjne przemawia fakt, że spotykano je częściej w strukturach jądrowych o mniejszym nasileniu uszkodzeń neuronalnych.

Ocena zmian w okresach wczesnym i przewlekłym choroby wskazuje, że rozwój uszkodzeń wzgórza postępuje nawet po wystąpieniu poprawy klinicznej. Najwyraźniej zaznacza się to w jądrze tylnym wzgórza i w jądrze siatkowatym, które charakteryzuje przedłużenie okresu zmian neuronalnych wczesnych z towarzyszącą rozlaną glejową komórkową, a w jądrze tylnym wzgórza również z obecnością zmian ocenianych jako regeneracyjne. Postępujący proces zwyrodnieniowy w postaci zaników neuronalnych uwidacznia się w tych jądrach niejako z opóźnieniem, co sugeruje też możliwość nakładania się wtórnych zmian komórkowych następowych (anterograde) lub wstecznych (retrograde). Obie wymienione struktury charakteryzują się bogatymi połączeniami, niestety mało poznanymi u królika. Jądro tylne jest wprawdzie traktowane jako odpowiednik poduszki wzgórza u wyższych zwierząt, ponieważ jednak *pulvinar* filogenetycznie rozwija się wraz z korą ciemieniowo-potyliczną, tym samym mogą istnieć duże różnice w połączeniach tego jądra u królika i u naczelných (Adrianov 1977).

Jądro siatkowate tworzy strukturę, przez którą przechodzi duża liczba włókien projekcyjnych z jąder wzgórza do kory i odwrotnie włókien korowo-wzgórzowych. W większości włókna te przez kolaterale tworzą połączenia z neuronami jądra siatkowatego (Carman i wsp. 1964). U szczurów wykazano wyraźną regionizację jądra siatkowatego, odpowiadającą zakończeniom włókien z poszczególnych jąder wzgórza i pól korowych (Jones 1975).

W naszym materiale zwraca uwagę względnie stała lokalizacja zwapnień w części grzbietowej drobnokomórkowej jądra siatkowatego, która wg Jonesa (1975) odpowiada projekcji jądra brzuszno-przedniego i jądra brzuszno-bocznego oraz jądra grzbietowego bocznego i jądra bocznego tylnego. Uwzględniając pasmowaty układ zwapnień w *nucleus reticularis* i w *pedunculus thalami dorsalis* nasuwa się oczywiste skojarzenie z przebiegiem jakiegoś układu włókien, w których proces zwyrodnieniowy może prowadzić, jak wynika z badań mikroskopowo-elektronowych (Taraszewska i wsp. 1976), do powstawania zwapnień.

Podobnie układowo występują zwapnienia w części brzusznej wzgórza i w gałce bladej, wykazując uderzającą zgodność topograficzną z układem odprowadzających włókien z gałki bladej. Główną drogą odprowadzającą gałki bladej jest pętla soczewkowa, skąd część włókien wchodzi do torebki wewnętrznej jako pęczek wzgórzowy i kończy się

w jądrze brzuszny przednim i w jądrze brzuszny bocznym wzgórze, a pozostała część biegnie do warstwy niepewnej, jądra podwzgórzowego i do nakrywki śródmózgowia (Johnson, Clemente 1959; Mehler 1971; Carpenter 1976). Można więc przyjąć, że tak w jądrze siatkowatym jak i w jądrach brzusznych wzgórze większość zwapnień odpowiada raczej zwyrodnieniom doprowadzających włókien niż samych neuronów wzgórze.

Z przeprowadzonych badań wynika również, że zmiany zwyrodnieniowe końcowych odcinków włókien we wzgórzu zaznaczają się wyraźniej w przypadkach przewlekłych niż w okresach wczesnych, stąd postępowy proces uszkodzeń komórkowych we wzgórzu może być w części uwarunkowany przez mechanizm transneuronalnych następowych zmian komórkowych. Jest to możliwe przede wszystkim w jądrach wzgórze połączonych z najbardziej uszkodzonymi strukturami mózgu u królika pt; np. w jądrze brzuszny bocznym, gdzie poza gałką bladą rzutują jądra mózdzku oraz istota czarna (Hendry i wsp. 1979). Wcześniej rozwijające się zaniki w jądrze brzuszny bocznym przy umiarkowanych zmianach „ostrych” jak i obraz komórkowy zmian, zwłaszcza odczynów glejowych, przemawiają dodatkowo za mechanizmem wtórnych uszkodzeń w tym jądrze. W *n. ventrobasalis* akcentacja zmian w części boczno-dolnej odpowiada projekcji komponenty rdzeniowej czucia dotyku, która u królików zajmuje niewielki obszar, ograniczony do tej części jądra, w przeciwieństwie do dominującego obszaru dla projekcji z jądra nerwu trójdzielnego (Rose, Mountcastle 1952).

W jądrze grzbietowym bocznym wzgórze wybiórcze nasilenie uszkodzeń neuronalnych ma natomiast przeważające cechy pierwotnego procesu z typowymi zmianami ostrymi w postaci tigrolizy obrzękowej. Połączenia tego jądra nie są u królika określone. U małą stwierdzono bezpośrednie doprowadzenia ze sklepienia do *n. lateralis dorsalis*, ale u niższych zwierząt pęczki włókien sklepienia kończą się w przednich jądrach wzgórze i w jądrach śródblaszkowych (Valenstein, Nauta 1959). Mniejsze nasilenie zmian w jądrach przednich niż w jądrze grzbietowym bocznym u królika pt wyklucza w zasadzie wpływ zwyrodnienia włókien doprowadzających na uszkodzenie tych jąder.

Na podstawie tego niepełnego przeglądu, można już stwierdzić, że obraz komórkowych uszkodzeń wzgórze u królika pt jest determinowany częściowo przez pierwotną predylekcję procesu patologicznego do niektórych jąder, częściowo natomiast przez nakładanie się wtórnych zmian, głównie następowych transneuronalnych, wykazując w ten sposób pewne podobieństwo do zwyrodnień wieloukładowych OUN. Martin (1970) postuluje podobny mechanizm uszkodzeń wzgórze dla szerokiej grupy układowych abiotrofii u ludzi. W badanym przez niego materiale zmiany zwyrodnieniowe we wzgórzu występowały naj-

częściej w *centrum medianum* (*n. centralis* s. *centromedianus*). U królika pt brak takiej predylekcji może wynikać, niezależnie od odrębności procesu w określonych zwyrodnieniach układowych u ludzi i w zespole pt, również z różnic gatunkowych. U królików podobnie jak u niższych gatunków zwierząt, *nucleus centromedianus* nie jest strukturą wyodrębnioną, lecz stanowi kompleks jądrowy razem z *nucleus parafascicularis* (Cowan, Powell 1955), natomiast jako wydzielone jądro (*centrum medianum*) pojawia się w rozwoju filogenetycznym dopiero u naczelnych.

Przedstawiony obraz uszkodzeń wzgórza nie ma u królika pt określonej symptomatologii klinicznej, chociaż nie jest wykluczone, że niektóre z objawów agresji, nadpobudliwości i zmian zachowania, częste u tych zwierząt, mogą stanowić objawy dysfunkcji wzgórzowej; sprawa ta nie została jednak wyjaśniona.

W badanym materiale zaznacza się natomiast odwrotna zależność między występowaniem drżeń a rozwojem uszkodzeń wzgórza. Drżenia pojawiają się w okresie, gdy zmiany we wzgórzu są jeszcze minimalne, natomiast w okresie nasilonych uszkodzeń wzgórza obserwuje się raczej zmniejszanie lub zanikanie drżeń.

Wśród wielu hipotez, usiłujących tłumaczyć mechanizm powstawania drżeń w parkinsonizmie (Kaada 1963), jest między innymi postulowany mechanizm wzgórzowo-korowy, oparty na stwierdzeniu rytmicznej i zsynchronizowanej aktywności elektrofizjologicznej w jądrze brzuszno-bocznym wzgórza i w korze ruchowej oraz przenoszeniu się (uogólnianiu) wyładowań powstających w układzie wzgórzowo-korowym na motoneuron obwodowy (Lamarre i wsp. 1975). Zniszczenie jednego z ogniw tego układu (jądra brzuszno-bocznego wzgórza lub kory ruchowej) powoduje zmniejszenie lub zniesienie drżeń, co wykorzystane zostało w neurochirurgicznym leczeniu objawów parkinsonizmu, zwłaszcza przez zastosowanie talamotomii brzuszno-bocznych. Stereotaktyczne zniszczenie części przyśrodkowej gałki bladej prowadzi również do zmniejszenia drżeń, co wskazuje na włączenie w mechanizm drżeń szerszych obwodów neuronalnych między *n. ventralis thalami*, *globus pallidus*, a pośrednio i *striatum* z jego połączeniami (Poirier i wsp. 1972). Skutki masywnych uszkodzeń spowodowanych przez operacje neurochirurgiczne u ludzi czy u zwierząt doświadczalnych są jednak nieporównywalne z rozsianymi uszkodzeniami wielu struktur w chorobach zwyrodnieniowych, charakteryzujących się zaburzeniami ruchowymi typu drżeń. Stąd też zmniejszanie się drżeń u królika pt w okresie narastających uszkodzeń wzgórza, w tym narastających również zaników w jądrze brzuszno-bocznym i zmian zwyrodnieniowych w drogach łączących to jądro, możemy traktować jedynie jako odległą analogię do efektów uszkodzenia tego jądra w neurochirurgicznym leczeniu drżeń parkinsonowskich. Należy podkreślić,

że uogólniony proces w mózgu królika pt nie oszczędza też innych struktur, które mogą być włączone w tremorogenny mechanizm wyzwalania lub uogólniania rytmicznej aktywności centralnej na motoneurony obwodowe.

A. Taraszewska, I. B. Zelman, J. Sawicki

ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТАЛАМУСЕ КРОЛИКА

Резюме

Исследования проводили на материале 40 кроликов pt с симптомами разного клинического периода болезни.

В ранний период после выступления тремора (11—20 день жизни) в таламусе наблюдали небольшую выраженность клеточных изменений. Подобным образом как в таламусе контрольных кроликов наблюдали кроме того еще наличие морфологических свойств незрелости нейронов. Типичные острые клеточные изменения в виде тигролиза и отека нейронов с сопутствующей диффузной пролиферацией глии обнаруживали у кроликов от около 3 недели жизни, а усиление этих изменений наступало на 2 месяц жизни. У кроликов, исследованных в период клинического улучшения между 3 а 5 месяцем жизни, а также в хроническом периоде свыше 8 месяцев в таламусе намечались нейрональные дегенеративные изменения. Топографические различия выраженности изменений в отдельных ядрах таламуса обсуждаются в связи с функциональным изменением и известными соединениями между некоторыми ядрами таламуса у кролика.

Анализ структуры и выраженности клеточных изменений в ранний и хронический периоды, а также дегенеративных изменений нервных волокон и „системной” топографии кальцификаций, обнаруженных в 11 случаях, указывает на то, что картина повреждений таламуса частично определяется первичным предопределением патологического процесса некоторых ядер таламуса, а частично — накладыванием вторичных дегенеративных изменений, главным образом — последующего транснейронального характера.

В клиническо-патоморфологической корреляции обращается внимание на обратную зависимость между наличием тремора а повреждением таламуса. Уменьшение тремора у кролика pt во время появления нейронной дегенерации в таламусе, в том числе и в латеральном вентральном ядре, представляет определенную аналогию до эффектов нейрохирургических повреждений латерального вентрального ядра в лечении паркинсоновского тремора у людей.

A. Taraszewska, I. B. Zelman, J. Sawicki

PATHOMORPHOLOGY OF THE THALAMUS IN pt RABBIT

Summary

Forty symptomatic pt rabbits were studied in various clinical stages of the disease. In early stage immediately after the appearance of tremor (11—20 days of life), the thalamus presented only slight neuronal abnormalities. In addition, similar to the healthy rabbits persistent immature neurons were observed. Typical acute neuronal changes such as tigrolysis and swelling, associated with dif-

fuse proliferation of glia were observed in pt rabbits since 3rd week of life; the most severe abnormalities occurring in the 2nd month of life. Thalamic abnormalities in the rabbits examined at the time of clinical improvement, between 3—5 month of life, and during chronic stage of the disease after the 8th month of life, consisted in dispersed neuronal loss. Topographic differences in the intensity of changes in particular thalamic nuclei were analyzed in relation to the functional significance and the type of known connections between particular thalamic nuclei in the rabbit.

The nature and intensity of the cellular changes in both early and chronic stages of the disease, distribution of nerve fibers degeneration as well as „systemic” topography of the calcifications, found in 11 cases, clearly indicate that morphology of the thalamic lesions is determined by two factors. The first one consists in the primary predilection of the pathological process to some thalamic nuclei, while the second one is expressed by overlapping secondary degenerative changes, mostly transneuronal in nature.

The clinico-pathological correlation points out at the inverse relationship between occurrence of tremor and thalamic damage. Diminution of tremor in pt rabbit during appearance of neuronal atrophy in thalamus, including ventral nuclear complex may represent some analogy with the effect of neurosurgical damage of ventro-lateral thalamic nuclei in the treatment of Parkinsonian tremor in humans.

PIŚMIENNICTWO

1. Adrianov O.: The problem of organization of thalamo-cortical connections. *J. Hirnforsch.* 1977, 18, 191—221.
2. Brodal A.: Some data and perspectives on the anatomy of the so-called „extrapyramidal system”. Report on 16th Congress of Scandinavian Neurologists. Munksgaard, Copenhagen 1963, 17—38.
3. Carman J. B., Cowan W. M., Powell T. P. S.: Cortical connexions of the thalamic reticular nucleus. *J. Anat. (London)* 1964, 98, 587—598.
4. Carpenter M. B.: Anatomy of the basal ganglia and related nuclei: a review. *Advances in Neurology*. Red. R. Eldridge, S. Fahn, Raven Press, New York 1976, 14, 7—48.
5. Cowan W. M., Powell T. P. S.: The projection of the midline and intralaminar nuclei of the thalamus of the rabbit. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 1955, 18, 266—279.
6. Fernandez V.: An autoradiographic study of the development of the anterior thalamic group and limbic cortex in the rabbit. *J. comp. Neurol.* 1969, 136, 423—451.
7. Gerhard L.: *Atlas des Mittel- und Zwischenhirns des Kaninchens*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1968.
8. Hendry S. H. C., Jones E. G., Graham J.: Thalamic relay nuclei for cerebellar and certain related fiber systems in the cat. *J. comp. Neurol.* 1979, 185, 679—714.
9. Johnson T. N., Clemente C. D.: An experimental study of the fiber connections between the putamen, globus pallidus, ventral thalamus and midbrain tegmentum in cat. *J. comp. Neurol.* 1959, 113, 83—101.
10. Jones E. G.: Some aspects of the organization of the thalamic reticular complex. *J. comp. Neurol.* 1975, 162, 285—308.
11. Kaada B. R.: The pathophysiology of Parkinsonian tremor, rigidity and hypokinesia. Report on 16th Congress of Scandinavian Neurologists. Munksgaard, Copenhagen 1963, 39—51.

12. Lamarre Y., Joffroy A. J., Dumont M., de Montigny C., Grou F., Lund J. P.: Central mechanisms of tremor in some feline and primate models. *J. Canad. Sci. Neurol.* 1975, 2, 227—233.
13. Martin J. J.: Contribution à l'étude de l'anatomie du thalamus et de sa pathologie au cours des maladies dégénératives dites abiotrophiques. *Acta neurol. belg.* 1970, 70, 5—211.
14. Mehler W. R.: Idea of a new anatomy of the thalamus. *J. Psychiat. Res.* 1971, 8, 203—217.
15. Osetowska E., Luszawski F., Taraszewska A.: II. Morfologia i klinika poronnych i ciężkich przebiegów choroby u królika pt. *Neuropat. Pol.* 1975, 13, 71—85.
16. Osetowska E., Luszawski F., Sawicki J.: Wpływ mutacji pt na różne ogniwa „zamkniętych” obwodów ruchowych. I. Patomorfologia neostriatum, paleostriatum i substantia nigra u królika pt. *Neuropat. Pol.* 1977, 15, 263—276.
17. Poirier L. J., Berdard P., Langelier P., Larochelle L., Parent A., Roberge A.: Les circuits neuronaux impliqués dans la physiopathologie des syndromes parkinsoniens. *Rev. Neurol.* 1972, 127, 37—50.
18. Rose M.: Das Zwischenhirn des Kaninchens. *Mém. Acad. Pol. Sci. Série B.* 1935, 1—108.
19. Rose J. E., Mountcastle V. B.: The thalamic tactile region in rabbit and cat. *J. comp. Neurol.* 1952, 97, 441—490.
20. Rose J. E., Woolsey C. N.: Structure and relations of limbic cortex and anterior thalamic nuclei in rabbit and cat. *J. comp. Neurol.* 1949, 89, 279—348.
21. Sawyer Ch. H., Everett J. W., Green J. D.: The rabbit diencephalon in stereotaxic coordinates. *J. comp. Neurol.* 1954, 101, 801—824.
22. Stefens R., Droogleever-Fortuyn J.: Contribution à l'étude de la structure et de quelques connexions des noyaux intermédiaires du thalamus chez le lapin. *Schweiz. Arch. Neurol. Psychiat.* 1953, 72, 299—318.
23. Taraszewska A., Osetowska E.: IV. Zmiany w mózgu królika pt w okresie przedobjawowym. *Neuropat. Pol.* 1975, 13, 283—290.
24. Taraszewska A., Osetowska E., Krücke W.: Elektronenmikroskopische Untersuchung der intrazerebralen Verkalkungen bei dem erblichen paralytischen Tremor der pt-Kaninchen. *Neuropat. Pol.* 1976, 14, 332—336.
25. Valenstein E. S., Nauta J. H.: A comparison of the distribution of the fornix system in the rat, guinea pig, cat and monkey. *J. comp. Neurol.* 1959, 113, 337—363.
26. Wahren W.: Das Zwischenhirn des Kaninchens. *J. Hirnforsch.* 1957, 3, 143—242.
27. Yamada J., Otani K.: Reclassification on the long ascending fibers from the spinal cord in the rabbit, rat and cat. *Okajimas Fol. anat. jap.* 1977, 54, 121—138.

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

STANISŁAW KRAJEWSKI

BADANIA IMMUNOMORFOLOGICZNE
OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO
W MOCZNICY U LUDZI

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

Etiopatogeneza uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego w przebiegu mocznicy, pomimo bogatego piśmiennictwa neuropatologicznego poświęconego temu zagadnieniu, pozostaje nadal nie wyjaśniona. Poza prawdopodobnym uszkadzającym działaniem tzw. toksyn mocznicowych, za które coraz powszechniej uważane są substancje średniocząsteczkowe od 350 do 2000 daltonów, będące zapewne aminokwasami i polipeptydami (Fürst i wsp. 1974; Lutz 1976) oraz niskocząsteczkowe pochodne metyloguanidyny, mioinozytolu i fenolu (Bergström, Fürst 1978), istnieje możliwość udziału mechanizmów immunopatologicznych w kształtowaniu zmian morfologicznych w ośrodkowym układzie nerwowym. Wiadomo, że do zespołu mocznicowego dochodzi najczęściej w następstwie uszkodzenia kłębków nerkowych poprzez deponowanie kompleksów immunologicznych (Brentjens i wsp. 1974; Velosa i wsp. 1976; van Es i wsp. 1977). Wydała się zatem celowa ocena możliwych powiązań ogólnego procesu immunopatologicznego stanowiącego przyczynę wystąpienia mocznicy, z rozwojem zmian morfologicznych w ośrodkowym układzie nerwowym, opisywanych jako encefalopatia mocznicowa. Prawdopodobieństwo takich powiązań zostało po raz pierwszy zasugerowane przez Osetowską i Mossakowskiego w roku 1963.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 25 mózgach chorych, zmarłych z powodu mocznicy. Mózgi pobierano w czasie rutynowo wykonywanych sekcji w 6—72 godz. po zgonie, w Zakładzie Anatomii Patologicznej AM w Warszawie. W grupie badanych przypadków było 13 kobiet w wieku od 17 do 87 lat i 12 mężczyzn w wieku od 14 do 76 lat. Przewlekłe

kłębuszkowe zapalenie nerek było przyczyną mocznicy w 9, zapalenie śródmiąższowe i odmiedniczkowe nerek w 4, a amyloidoza w 2 przypadkach. U 2 chorych zespół mocznicowy wystąpił w przebiegu układowej kolagenozy, u 2 dalszych stwierdzono uogólnione guzowate zapalenie tętnic. Trzy przypadki stanowili chorzy po udanej transplantacji nerek z kilkuletnim przeżyciem, u których przyczyną zgonu był późny odrzut przeszczepu. W pojedynczych przypadkach powodem mocznicy były zmiany torbielowate nerek, ostre zatrzymanie moczu oraz niewydolność krążenia i wątroby.

Objawy neurologiczne w postaci jedno- lub obustronnego porażenia połowiczego obecne były u 5 chorych, czemu w 4 przypadkach towarzyszyło krwawienie podpajęczynówkowe. W 5 przypadkach obserwowano zaburzenia psychiczne, które w 3 spośród nich były przyczyną hospitalizacji w szpitalu psychiatrycznym. Zapalenie opon i mózgu rozpoznano u 2 chorych. W 6 przypadkach stwierdzono objawy nadciśnienia tętniczego. Ponadto w obrazie klinicznym, u poszczególnych chorych, obserwowano wtórną nadczynność tarczycy, niedokrwistość ze skazą krwotoczną, owrzodzenia przewodu pokarmowego, zmiany troficzne skóry, zakażenia wirusowe, bakteryjne i grzybicze oraz wodobrzusze. Szesnastu chorych zmarło wśród objawów śpiączki mocznicowej, przy czym bezpośrednią przyczyną zgonów była ostra niewydolność krążenia i oddychania, przy współtowarzyszącym zapaleniu płuc (9 przypadków).

Zawartość mocznika w surowicy chorych w okresie preagonalnym mieściła się w przedziale 210—576 mg%, a kreatyniny 2,2—12,6 mg%. U wszystkich chorych stwierdzono obecność białka w moczu.

Badanie sekcyjne w większości przypadków potwierdziło rozpoznanie kliniczne procesu dotyczącego nerek. Zmiany patologiczne kłębków nerkowych stwierdzono ponadto u chorych, u których przyżyciowo rozpoznawano wyłącznie odmiedniczkowe i śródmiąższowe zapalenie nerek. U 2 chorych stwierdzono ponadto złogi amyloidu w nerkach i śledzionie. W jednym badaniu anatomopatologicznym stwierdzono raka oskrzeli, nierozpoznanego klinicznie. W większości przypadków, z wyjątkiem grupy najmłodszej, występowały objawy miażdżycy naczyń. Równie często stwierdzano zwyrodnienie wątroby oraz zapalenie płuc.

Pobrane w czasie sekcji mózgi utrwalano w 10% formalinie, a następnie sekcjonowano sposobem Spielmeyera. Do badań mikroskopowych pobierano wycinki z płatów czołowych i okolicy centralnej półkul mózgu, z jąder podstawy, mózdzku, śródmózgowia i opuszki. Parafinowe skrawki barwiono: hematoksyliną-eozyną oraz wg metody Nissla, Heidenhaina, van Gieson, Cajala oraz PAS i PAS-dimedon.

W 5 przypadkach pobrano z mózgu i nerek nieutrwalony materiał do badań immunomorfologicznych. Wycinki z ośrodkowego układu nerwo-

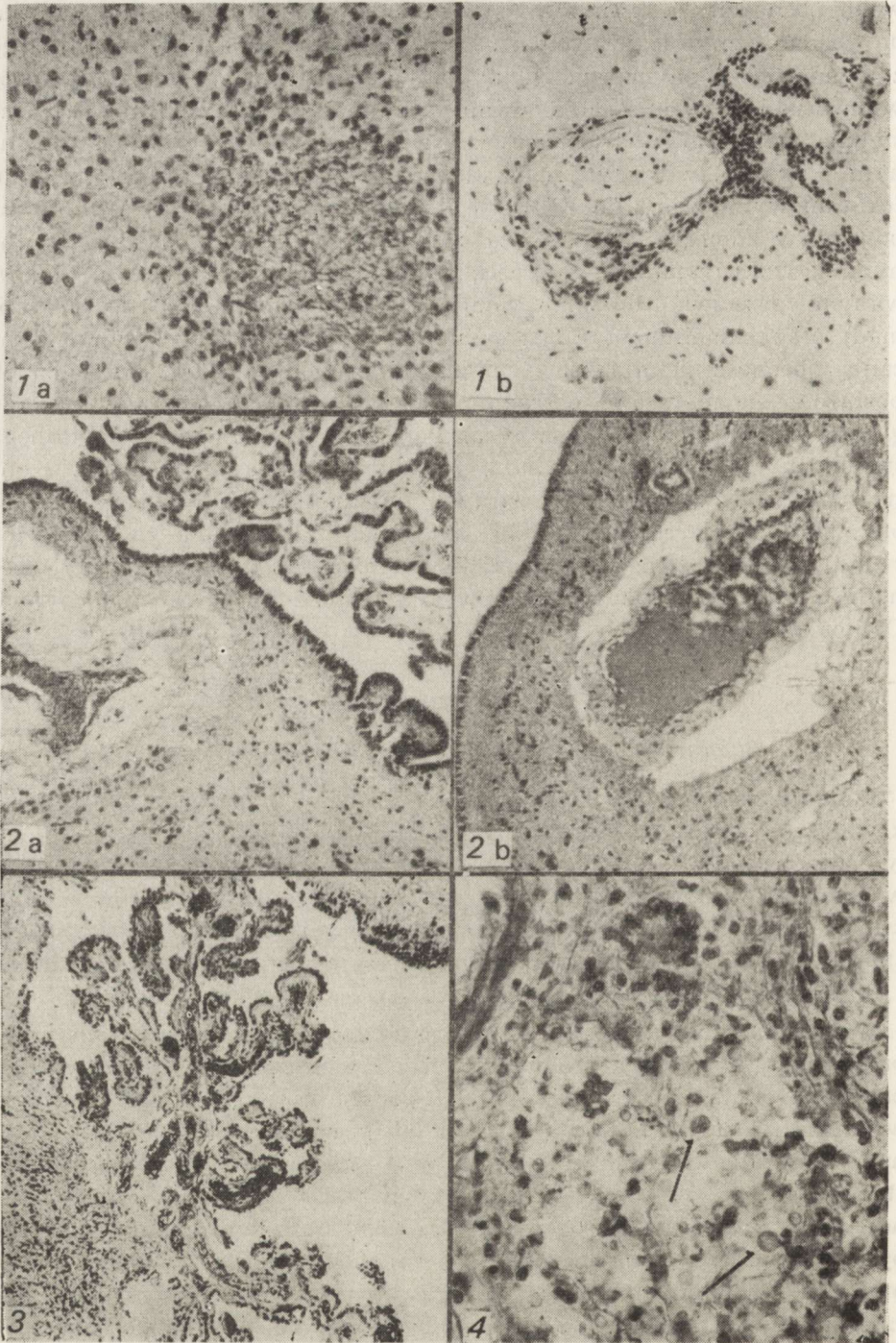
wego pochodziły z tych samych okolic, z których pobierano materiał do badań morfologicznych, a także ze spłotu naczyńnkowego z komór bocznych mózgu. Bloki tkankowe zamrażano w eterze naftowym oziębionym do -80°C w mieszaninie acetonu i suchego lodu, następnie skrawano w kriostacie na skrawki grubości $4\ \mu\text{m}$. Po godzinnym płukaniu w roztworze fizjologicznej soli, buforowanej buforem fosforanowym o pH 7,6 (PBS) i utrwaleniu acetonem, skrawki inkubowano w komorze wilgotnej ze zwierzęcymi globulinami skonjugowanymi z izotiocjanianem fluoresceiny (Clark, Shepard 1963), a skierowanymi przeciwko ludzkim immunoglobulinom IgA, IgG, IgM (Biomed) oraz składnikowi C3 dopełniacza i włóknikowi. W celu wykazania obecności kompleksów immunologicznych w tkankach ludzkich posłużono się metodami pośrednimi: 1- i 3-godzinną elucją w buforze glicyna-HCl o pH 2,2 oraz wiązaniem dopełniacza heterologicznego świnki morskiej (po uprzednim godzinnym płukaniu w PBS). Kontrolą tych doświadczeń były skrawki płukane przez 3 godziny w PBS oraz skrawki narządów królika zdrowego inkubowane z surowicą świnki morskiej, znakowanej FITC metodą dializy. Preparaty oceniano i wykonano dokumentację w mikroskopie fluorescencyjnym typu Orthoplan firmy Leitz.

WYNIKI

Badanie makroskopowe i mikroskopowe mózgów

Badanie makroskopowe mózgów wykazało w 8 przypadkach ogniska krwotoczne bądź ogniska martwicy, położone w okolicy centralnej, w jądrach podstawy, w mózdzku i w pniu mózgu. Najczęstszymi zjawiskiem był obrzęk mózgu z cechami wklonowania migdałków mózdzku (12 przypadków) oraz przekrwienie mózgu (8 przypadków). Pozostałe zmiany, typu zaniku mózgu, poszerzenia układu komorowego i miażdżycy naczyń, wykazywały zależność od wieku chorych.

W badaniu mikroskopowym zmianą dominującą we wszystkich przypadkach były cechy obrzęku mózgu. Stwierdzano je we wszystkich badanych okolicach ośrodkowego układu nerwowego. Ich nasilenie było wyraźnie zróżnicowane, poczynając od niewielkich zgąbczeń okołonaczyniowych występujących tylko w 3 przypadkach, poprzez rozlany stan gąbczasty, aż do wykształconej martwicy obrzękowej spostrzeganej w 6 przypadkach. Ogniska martwicy obrzękowej umiejscowione były zazwyczaj w ośrodku półkuli mózgu, w istocie białej mózdzku i w pniu mózgu. Tylko w 2 przypadkach towarzyszył im odczyn glejowy. Zwraçało uwagę stwierdzone we wszystkich przypadkach zgąbczenie i porozsuwanie włókien w okolicy okołokomorowej. Istota biała w miejscach nasilonego obrzęku wykazywała gorszą barwliwość mieliny, jej spłowienie, fragmentację poszczególnych osłonek,



Ryc. 1. Glomerulonephritis chronica. a) Granulomatyczny odczyn glejowy wokół zniszczonych naczyń istoty białej zakrętu przedśrodkowego. Widoczne liczne prze-rosłe komórki mikrogleju. H-E. Pow. 200 \times . b) Wzgórze. Intensywny naciek limfocytarno-plazmatyczny wokół zmienionych naczyń. H-E. Pow. 100 \times .

porozsuwanie i nierówny przebieg włókien. W 14 przypadkach, cechom obrzęku towarzyszył zastój w naczyniach krwionośnych i mikrokrwotoczki.

W 23 przypadkach stwierdzono rozlany rozplem i przerost komórek mikrogleju oraz zróżnicowane w nasileniu, okołonaczyniowe nacieki limfocytarne-plazmatyczno-komórkowe. Mikroglej w 12 przypadkach tworzył grudki położone przynaczyniowo, głównie w przykomorowych częściach jąder, podstawy i pnia mózgu oraz na pograniczu kory z istotą białą i w korze mózgu (ryc. 1a). Pojedyncze komórki pałeczkowate występowały często wspólnie z limfocytami w niewielkich naciekach okołonaczyniowych. W mózgach 5 chorych nacieki były masywne (ryc. 1b). W kilku przypadkach obserwowano zwiększoną ilość komórek oligodendrogleju nagromadzonych wzdłuż włókien istoty białej; w dwóch przypadkach tworzyły one wraz z komórkami mikrogleju obfity wał okołonaczyniowy. W 3 przypadkach obecne były komórki Alzheimera, typu II. W okolicach okołokomorowych często obserwowano rozplem gleju podwyściółkowego i mikrogleju oraz nacieki limfocytarne. W 12 przypadkach wyściółka tworzyła ziarnistości wpuklające się do światła komór. Naczynia warstwy podwyściółkowej były zatokowato rozdęte, z wybitnie poszerzoną przestrzenią okołonaczyniową, w której nagromadzone były limfocyty, leukocyty, mikroglej

Fig. 1. Glomerulonephritis chronica. a) Granulomatous glia reaction around vessels of white matter in the precentral gyrus. Destruction of the vessel wall. Numerous hypertrophic microglial cell. H-E. $\times 200$. b) Thalamus. Severe lymphocytic and plasmocytic infiltration around abnormal blood vessel. H-E. $\times 100$.

Ryc. 2. a) Pyelonephritis chronica. Okolica komory III. Zgąbczenie tkanki i poszerzenie przestrzeni okołonaczyniowej. Obok widoczne ziarnistości wyściółki. Zrąb splotu naczyniówkowego z cechami obrzęku i zwłóknienia. H-E. Pow. 100 \times . b) Glomerulonephritis chronica cum nephrosi. W świetle naczynia położonego w sąsiedztwie komory III widoczny formujący się zakrzep. Część ściany naczynia nacieczona. W otoczeniu naczynia rozluźnienie podłoża oraz namnożenie gleju podwyściółkowego. H-E. Pow. 100 \times .

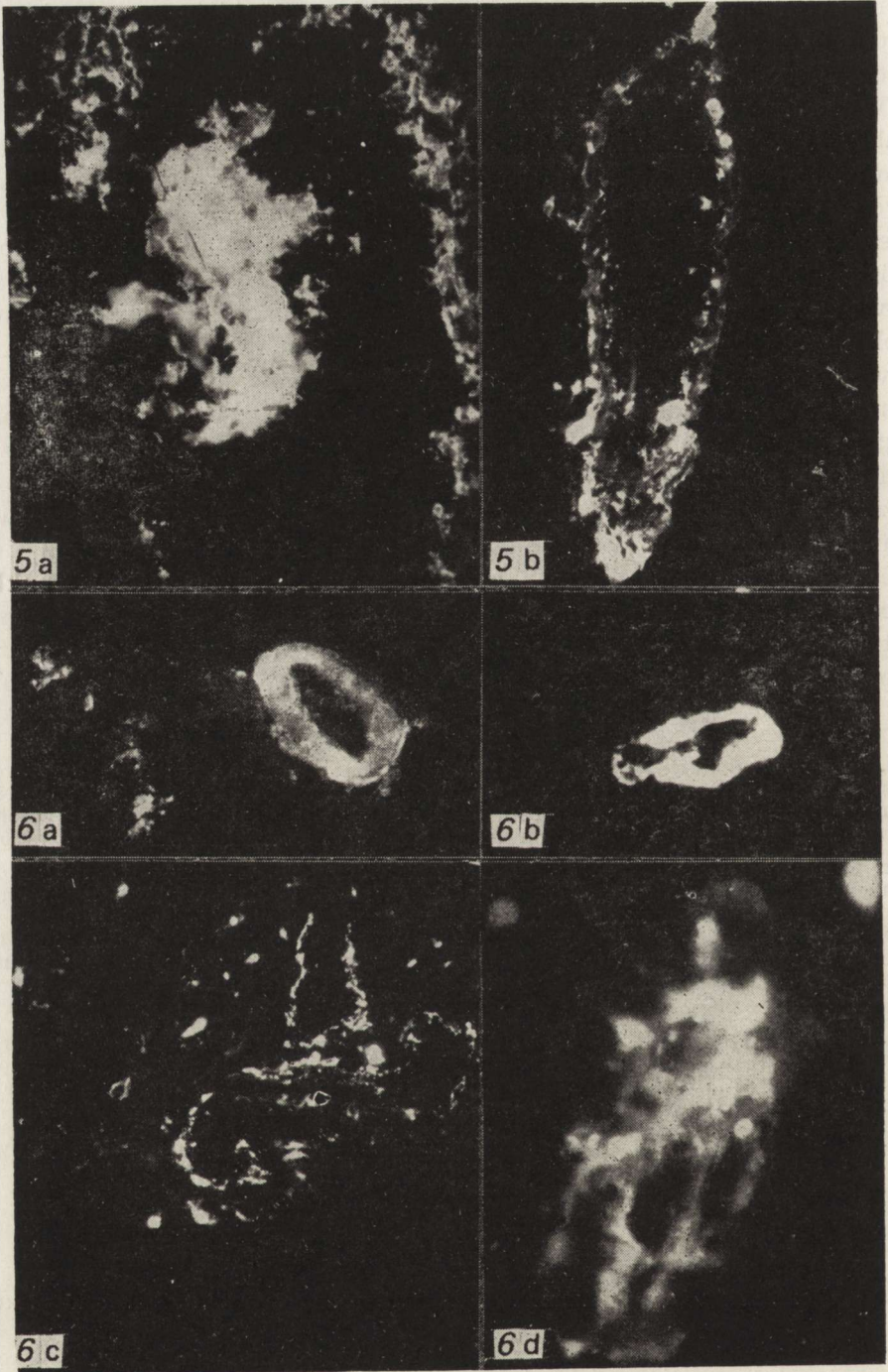
Fig. 2. a) Pyelonephritis chronica. Dilatation of perivascular space around abnormal vessel in the vicinity of the IIIrd ventricle. Ependymal granulations are also present. Stroma of the choroid plexus showing features of edema and fibrosis. H-E. $\times 100$. b) Glomerulonephritis chronica cum nephrosi. Thrombosis of the abnormal blood vessel in the vicinity of the IIIrd ventricle. Infiltration of the vessel wall. Rarefaction of the subependymal layer, proliferation of subependymal glia around blood vessel. H-E. $\times 100$.

Ryc. 3. Glomerulonephritis subacuta. Intensywny odczyn glejowy w sklepieniu komory IV, łączący się z naciekiem zapalnym w podstawie splotu naczyniówkowego. H-E. Pow. 60 \times .

Fig. 3. Glomerulonephritis subacuta. Intensive glial reaction in the roof of IVth ventricle extending into inflammatory infiltration in the radix of choroid plexus. H-E. $\times 60$.

*Ryc. 4. Przypadek po przeszczepie nerki. Masywny naciek limfocytarne-plazmatyczny z pojedynczymi komórkami olbrzymimi oraz torbielami *Cryptococcus neoformans* w oponach miękkich (strzałki). PAS. Pow. 200 \times .*

Fig. 4. Kidney transplantation. Massive lymphocytic and plasmocytic infiltration with some giant cells and numerous cryptococcal cysts in the leptomeninges (arrows). PAS. $\times 200$.



oraz lipofagi (ryc. 2a), a w 2 przypadkach liczne ciała amyloidowe. Ściany poszerzonych naczyń wykazywały zwłóknienie błony środkowej, rozplem śródbłonków, a często zmiany martwicze. U jednego chorego nacieki limfocytarne zlokalizowane były w błonie środkowej naczyń (ryc. 2b). W 2 przypadkach w sklepieniu komory IV stwierdzono żywy odczyn glejowy w postaci nagromadzenia mikrogleju, gleju tłuszczowego oraz makrofagów. Wykazywał on ciągłość z naciekiem zapalnym zlokalizowanym w podstawie spłotu naczyniówkowego (ryc. 3).

W formacjach szarych obserwowano duże ubytki komórek nerwowych. Ich topografia i rozkład sugerowały związek z układem naczyniowym. Zachowane neurony wykazywały cechy nieswoistego zwyrodnienia o typie schorzenia ciężkiego, niedokrwiennego, przewlekłego, a niekiedy również ostrego obrzęku. Prawie całkowity zanik komórek warstwy ziarnistej kory mózdzku stwierdzono w 2 przypadkach, w pozostałych występowało zmienne nasilenie przerzedzenie warstwy ziarnistej. Naczynia krwionośne wykazywały różnego typu nieprawidłowości strukturalne, wśród których przeważało zwłóknienie ścian, obrzmienie i rozplem śródbłonków, zwyrodnienie szkliste błony środkowej oraz typowe zmiany miażdżycowe. U osób z nadciśnieniem zaznaczony był rozrost błony mięśniowej tętnic. W 6 przypadkach stwierdzono obecność PAS-dodatnich substancji w ścianach naczyniowych oraz w komórkach nerwowych i astrogleju. Po trawieniu dime-donem dodatnia reakcja utrzymywała się jedynie w elementach komórkowych, zwłaszcza w astrogleju. Stan zatokowy wokół naczyń krwionośnych jąder podstawy stwierdzano w 7 przypadkach. Niekiedy

Ryc. 5. *Glomerulonephritis chronica diffusa*. a) Przepojenie immunoglobuliną G tkanki nerwowej w otoczeniu okołonaczyniowej jamy obrzękowej. Uszkodzona ściana naczynia również silnie przepojona IgG. Pow. 100 X. b) Gruboziarniste złogi IgG w ścianie naczynia żylnego w istocie białej. Pojedyncze drobne ziarna widoczne również w otaczającej tkance nerwowej. Pow. 100 X.

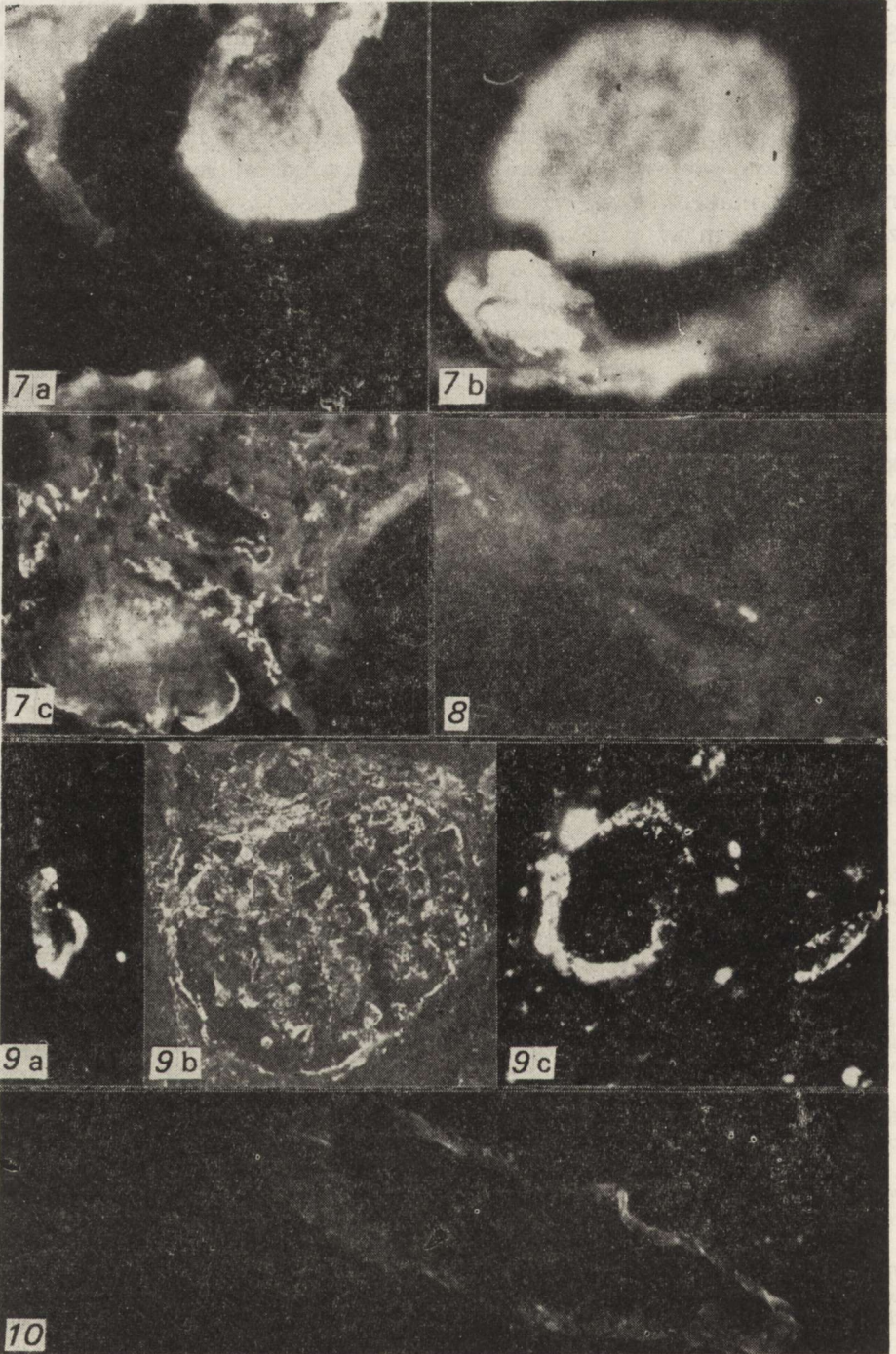
Fig. 5. *Glomerulonephritis chronica diffusa*. a) IgG imbibition of the nerve tissue in the surroundings of perivascular cavity. Damaged vessel wall shows also strong IgG reaction. X 100. b) Coarse granular deposits of IgG in the wall of a white matter vein. Some fine granular deposits are also visible in the surrounding nerve tissue. X 100.

Ryc. 6 a i b. *Glomerulonephritis chronica*. a) Ziarniste złogi składnika C3 dopełniacza w ścianie naczynia w jądrach podstawy. Pow. 200 X. b) Ziarniste złogi i przepojenie IgG ściany naczynia położonego w jądrach podstawy. Pow. 200 X.

Fig. 6 a and b. *Glomerulonephritis chronica*. a) Basal ganglia. Granular deposits of C3 component of complement in blood vessel wall. X 200. b) IgG granular deposits and diffuse imbibition of blood vessel wall in basal ganglia X 200.

Ryc. 6 c i d. *Glomerulonephritis subacuta*. c) Złogi składnika C3 dopełniacza w ścianach naczyń krwionośnych i zrębie spłotu naczyniówkowego. Pow. 100 X. d) Gruboziarniste złogi IgM w zrębie kosmka spłotu naczyniówkowego. Pojedyncze ziarna dodatniej fluorescencji w komórkach nabłonka spłotu. Pow. 400 X.

Fig. 6 c and d. *Glomerulonephritis subacuta*. c) Deposits of C3 component of complement in blood vessel walls and stroma of the choroid plexus. X 100. d) Coarse granular IgM deposits in stroma of choroid plexus. Some grains of positive fluorescence are present in plexus epithelium. X 400.



w tkance otaczającej jamy skupione były makrofagi, wypełnione brunatnym barwnikiem krwiopochodnym oraz tuczne astrocyty. Ogniska martwicy krwotocznej umiejscowione w okolicy centralnej, jądrach podstawy, pniu mózgu i w mózdzku stwierdzono w 6 przypadkach. W ośrodkowym układzie nerwowym chorego z porażeniem wszystkich kończyn, stwierdzono ogniska martwicy krwotocznej położone w rdzeniu przedłużonym i w odcinku szyjnym rdzenia kręgowego.

Zrąb spłotów naczyniówkowych charakteryzował się obrzękiem i zwłóknieniem. Nabłonek spłotów wykazywał ogniskowe ubytki komórek, zachowane komórki nabłonka wykazywały cechy zwyrodnienia ziarnisto-wodniczkowego. Naczynia krwionośne spłotu otoczone były w 12 przypadkach pojedynczymi komórkami nacieku (ryc. 3). W spłotach naczyniówkowych pochodzących od ludzi starszych spotykano liczne ciała piaszczakowate.

Opony miękkie w 14 przypadkach były pogrubiałe, wykazując zwiększoną ilość fibroblastów i histiocytołów. Często widoczne w nich były limfocyty, komórki plazmatyczne, makrofagi wypełnione barwnikiem krwiopochodnym oraz lipofagi, występujące luźno lub w skupieniach przynaczyniowych. Często stwierdzano drobne wynaczynienia podpaęczynówkowe.

Ryc. 7. Glomerulonephritis chronica diffusa. a) Spłot naczyniówkowy. Zwłókniały zrąb kosmka spłotu intensywnie przepojony IgG. Pow. 250 X. b) Intensywne przepojenie składnikiem C3 dopełniacza kulistego tworzącego strukturę położoną w zębieniu spłotu naczyniówkowego. Pow. 250 X. c) Linijne, drobno i gruboziarniste złoże włókniaka w ścianach naczyń krwionośnych oraz zwłókniałym zębieniu spłotu. Pow. 200 X.

Fig. 7. Glomerulonephritis chronica diffusa. a) Intensive IgG imbibition of fibrous stroma of the choroid plexus. X 250. b) Intensive imbibition with C3 component of complement of a round shaped structure localized in the stroma of choroid plexus. In the neighbourhood thrombus filling the lumen of the blood vessel is seen. X 250. c) Linear, fine and coarse granular deposits of fibrinogen in blood vessel walls and fibrous stroma of choroid plexus. X 200.

Ryc. 8. Glomerulonephritis chronica. Ziarniste złoże komponentu C3 dopełniacza w ścianach naczyń oponowych. Pow. 300 X.

Fig. 8. Glomerulonephritis chronica. Slight, granular deposits of C3 component of complement in the walls of meningeal blood vessels. X 300.

Ryc. 9 a i b. Glomerulonephritis chronica. a) Dodatni odczyn dopełniacza heterologicznego w ścianie naczynia kory mózgu. Pow. 200 X. b) Dodatni odczyn dopełniacza heterologicznego w kłębku oraz w tkance śródmiąższowej nerki. Pow. 200 X.

Fig. 9 a and b. Glomerulonephritis chronica. a) Positive reaction of heterologous complement in the wall of cortical blood vessel. X 200. b) Positive reaction for heterologous complement in kidney glomeruli and interstitial tissue. X 200.

Ryc. 9 c. Glomerulonephritis subacuta. Dodatni odczyn dopełniacza heterologicznego w splocie naczyniówkowym. Pow. 200 X.

Fig. 9 c. Glomerulonephritis subacuta. Positive reaction of heterologous complement in choroid plexus. X 200.

Ryc. 10. Glomerulonephritis chronica. Śladowa reakcja IgG w ścianie naczynia w jądrach podstawy po płukaniu buforem glicyna-HCl. Pow. 100 X.

Fig. 10. Glomerulonephritis chronica. Traces of IgG reaction in the vessel walls in basal ganglia after elution with glycine-HCl buffer. X 100.

Tabela 1. Charakterystyka przypadków
Table 1. Short characteristics of cases

Wiek, płeć, rozpoznanie kliniczne	Dane biochemiczne Biochemical data			Zmiany anatomo- patologiczne w ner- kach	Badanie makros- kopowe mózgu
Age, sex, clinical diag- nosis	Mocznik Urea	Kreaty- nina Creaty- nine	Białko- mocz Protei- nuria	Pathology of kid- neys	Brain macroscopic study
1. B.W. 44 lata, M. 44 years, M. <i>Hypertonia arteria- lis in decurso glo- merulonephritis chronica. Insuff. renum—uraemia.</i>	282	15,0	156	<i>Arteriosclerosis II. Glomerulone- phritis subacuta diffusa</i>	<i>Oedema cerebri. Fibrosis menin- gium gradu medio- cri</i>
2. A.Z. 71 lat Ż. 71 years, F. <i>Uraemia originis ignota in statu comatoso immisa</i>	380	4,6	270	<i>Coagulatio sangui- nis intravas. dis- persa renum. Glomerulonephritis chronica diff.</i>	<i>Atrophia cum hy- peraemia cerebri</i>
3. M.W. 85 lat, Ż. 85 years, F. <i>Arteriosclerosis universalis praecipue cerebri et renum.</i>	140	2,6	160	<i>Glomerulonephritis subacuta. Arteriosclerosis renum</i>	<i>Oedema cum hyper- aemia cerebri</i>
4. M.M. 65 lat, M. 65 years, M. <i>Syndroma nephro- ticum. Uraemia. Amyloidosis in anamnesi.</i>	274	4,4	250	<i>Amyloidosis renum, lienis et suprarena- lum</i>	<i>Oedema cum hyper- aemia cerebri</i>
5. A.W. 17 lat, Ż. 17 years, F. <i>Status post trans- plantationem renis. Insuff. renum. Urae- mia. Psychosis sub fine vitae. Ence- phalitis, tumor, cerebri susp.</i>	222	8,34	560	<i>Cystes multiplices renum propri par- vorum. Glomerulo- nephritis chronica et interstitialis re- nis post transplan- tationem.</i>	<i>Fibrosis et hyper- aemia leptomenin- gium. Atrophia corticis.</i>

+ liczba plusów oznacza obfitość złogów białkowych
plus number refers to the abundance of deposits

opracowanych immunofluorescencyjnie
in which immunomorphology was performed

Badanie immunomorfologiczne — Immunomorphology

Mózg — złogi w ścianach naczyń Brain — deposits in the blood vessel walls				Nerki — złogi w kłębkach Kidneys — deposits in glo- meruli				Splot naczyniówkowy Chloroid plexus			
IgG	IgM	C3	Fb	IgG	IgM	C3	Fb	IgG	IgM	C3	Fb
+++	+-	++	+++	+++	-+	++	++	+++	-	++	++
+++	-	+	+++	+++	-	+	+++	+++	-+	++	+
-+	+++	+	+	+	++	++	+	-+	++	+	+
++	+-	-	+	+++	-+	++	++	+++	-	++	++
+	-	-	+	++	-	+	+	+	-	-	+

- brak złogów
lack of deposits

Na szczególną uwagę zasługuje przypadek chorej A. W. po przeszczepieniu nerki (tabela 1), u której dominującą zmianą były masywne nacieki zapalne w oponach miękkich. Nacieki składały się głównie z limfocytów i komórek plazmatycznych; miejscami widoczne były skupiska makrofagów. Sporadycznie napotymano wielojądrzaste komórki olbrzymie. Naciekowi towarzyszył wyraźny przerost włóknistej tkanki łącznej. W barwieniu PAS, między elementami nacieku, stwierdzono mocno zabarwione okrągłe twory z charakterystyczną jasną otoczką, odpowiadające grzybom *Cryptococcus neoformans*. Pozwoliło to na rozpoznanie grzybiczego zapalenia mózgu i opon (ryc. 4).

Należy zwrócić uwagę na fakt, że wśród 25 przypadków tylko w 2 mózgach nie stwierdzano odczynów zapalnych, a jedynie cechy nasilonego obrzęku mózgu. Były to mózgi chorych z ostrym zatrzymaniem moczu oraz niewydolnością krążenia i wątroby.

Badanie immunomorfologiczne

W tabeli 1 przedstawiono podstawowe dane kliniczne i anatomopatologiczne dotyczące 5 przypadków, w których wykonano badania immunomorfologiczne.

W mózgach wszystkich chorych stwierdzono wykładniki przechodzenia białek osocza krwi poza łożysko naczyń. W przypadkach tych, w poszerzonych przestrzeniach okołonaczyniowych gromadziły się złożone globulin i włóknika (ryc. 5a). Imbibicję tkanki nerwowej immunoglobuliną G stwierdzono w 4 przypadkach, a immunoglobuliną M w 1 przypadku. Często przepojeniom tkankowym towarzyszyły ziarniste złożone globulin umiejscowione w ścianach naczyń krwionośnych (ryc. 5b). Tylko w jednym przypadku napotkano immunocyty, wykazujące obecność powierzchniowej fluorescencji IgG. Śródścienne złożone komponentu C3 dopełniacza, o lokalizacji podobnej do immunoglobulin, znaleziono w 3 przypadkach, przy czym występowały one również w naczyniach spłotu naczyńkowego (ryc. 6a, b, c, d). W kulistych tworach mogących odpowiadać ciałom piaszczakowatym lub zwłóknieniom zrębu spłotu obserwowano intensywne przepojenia globulinami mniej intensywne włóknikiem, a tylko sporadycznie dodatnią fluorescencję komponentu C3 dopełniacza (ryc. 7a, b, c). Opony często przepojone były immunoglobulinami. W 2 przypadkach w ścianach pojedynczych naczyń opon znajdowano ziarnistą fluorescencję, zarówno immunoglobulin, jak i składnika C3 dopełniacza (ryc. 8). Przeprowadzone równocześnie badanie nerek wykazało takie same złożone w kłębkach nerkowych (IgG i dopełniacz lub IgM i dopełniacz, tabela 1).

W przypadku chorego z uogólnioną amyloidozą, w kłębkach nerek i ścianach naczyń spłotu naczyńkowego występowały złożone wykazujące dodatnią reakcję w odczynach ujawniających IgG i komponent

C3 dopełniacza. W mózgowiu znaleziono złogi w ścianach naczyń krwionośnych tylko w reakcjach na immunoglobulinę G.

W celu upewnienia się co do charakteru złogów globulin, wykonano reakcję wiązania dopełniacza heterologicznego oraz płukania skrawków w buforze glicyna-HCl. Dodatnia reakcja dopełniacza heterologicznego, ujawniająca kompleksy immunologiczne, była obecna w przypadku skrawków tych mózgow i nerek, w których lokalizowano ziarniste złogi immunoglobulin i składnik C3 dopełniacza w ścianach naczyń krwionośnych (ryc. 9a, b, c). Płukanie skrawków w buforze glicyna-HCl powodowało znaczny spadek intensywności dodatnich odczynów ujawniających zarówno immunoglobuliny jak i komponent C3 dopełniacza (ryc. 10). Podobny efekt uzyskano również po płukaniu skrawków pochodzących od chorego z amyloidozą.

OMÓWIENIE

Analiza przyczyn niewydolności nerek i mocznicy w badanym materiale wskazuje, że u 22 chorych uszkodzenie nerek mogło mieć podłoże immunopatologiczne. Do grupy tej zaliczyć można przypadki z rozpoznaniem przewlekłego kłębuszkowego zapalenia nerek, zapalenia śródmiąższowego i odmiedniczkowego, amyloidozy z zespołem nerczy-cowym, układowych kolagenoz oraz chorych po przeszczepieniu nerek.

W badaniu mikroskopowym mózgow chorych stwierdzono występowanie zmian, opisywanych jako wykładniki encefalopatii mocznicowej, wśród których dominował obrzęk mózgu o różnym nasileniu, ogniska martwicy, mikrokrwotoczki oraz zanik i zwyrodnienie komórek nerwowych. Częstym zjawiskiem były również odczyny zapalne, przyjmujące postać nacieków okołonaczyniowych i grudek mikroglejowo-limfocytar-nych w mózgu, a także nacieków w spłotach naczyńiówkowych i oponach. Towarzystwiły im rozplam gleju podwyściółkowego, odczyn wytwórczy ze strony wyściółki oraz zwłóknienie opon. We wspomnianej grupie przypadków nie spotkano ani jednego, który nie wykazał choćby jednej z wymienionych cech reakcji zapalnej. Najczęściej, bo aż w 17 przypadkach obserwowano zespół objawów, składający się ze zmian w okolicach okołokomorowych, z towarzyszącymi odczynami zapalnymi w spłotach naczyńiówkowych i oponach. W utkaniu mózgu występowały ponadto uszkodzone naczynia, często otoczone pojedynczymi elementami nacieku zapalnego bądź nasilonym odczynem mikroglejowo-limfocytarnym. Te ostatnie były umiejscowione najczęściej w jądrach podstawy i w pniu mózgu, w pobliżu układu komorowego, bądź na pograniczu kory z istotą białą oraz w samej korze. Ten sam typ zmian wykazywał również przypadek z torbielowatością nerek, który należy wyłączyć z grupy o przypuszczalnym immunopatologicznym

nym podłożu patologii nerkowej. W przypadku tym, poza nieprawidłowościami o charakterze obrzęku, prowadzącego do martwicy typu Jacoba, demielinizacji i krwinkotoków, stwierdzono liczne grudki mikrogleju-limfocytarne, zwłóknienie spłotów naczyńiówkowych i opon oraz obecność nacieków zapalnych.

W badanym materiale częściej niż u Olsena (1961), obserwowano zmiany barwliwości i uszkodzenie mieliny w miejscach nacieków okołonaczyniowych lub obrzękowo zmienionych tkankach. Uwzględniając sugestię Olsena (1961), na temat związku zmian zapalnych w mózgu z towarzyszącymi przypadkowymi infekcjami w innych narządach, można przyjąć taką ewentualność jedynie u 9 spośród 23 chorych, którzy w okresie poprzedzającym zgon przechodzili zakażenie górnych dróg oddechowych lub zapalenie płuc. U pozostałych chorych proces zapalny dotyczył wyłącznie nerek.

W porównaniu z materiałem Olsena (1961) zwraca również uwagę rzadkie uszkodzenie warstwy ziarnistej kory mózdzku. Całkowitą jej martwicę opisaną przez Olsena (1961) aż w 60% przypadków, stwierdzono wyłącznie w jednym przypadku, podczas gdy w kilku pozostałych występowało jedynie jej nieznaczne przerzedzenie.

W grupie chorych z przypuszczalnym tłem immunopatologicznym zapalenia nerek, tylko w 3 przypadkach na 8 z wylewami podpajęczynówkowymi, stwierdzono nadciśnienie w okresie poprzedzającym wylew. Czas narastania i trwania mocznicy we wszystkich 23 przypadkach był długi, często od kilku miesięcy do kilku lat. Wyjątek stanowią 2 przypadki, w których zespół mocznicowy wystąpił nagle i trwał jedynie kilka dni. Dotyczyło to jednego chorego z ostrym zatrzymaniem moczu oraz chorej z niewydolnością krążenia i wątroby. Badanie neuropatologiczne w obu przypadkach wykazało jedynie objawy ostrego obrzęku mózgu, bez odczynu glejowego i reakcji zapalnych oraz zwyrodnienie komórek nerwowych, głównie typu ischemicznego. Obserwacje te pokrywają się z opisem przypadku o podobnym patomechanizmie mocznicy, przedstawionym przez Osetowską i Mossakowskiego (1963).

We wszystkich przypadkach stwierdzono zmiany struktury ścian naczyńiowych. Dotyczyło to także tych mózgow, w których nie stwierdzono wyłącznie w jednym przypadku, podczas gdy w kilku pozostałych zgodna jest z wynikami Hechsta (1932), który upatrywał przyczyn zmian w ścianach naczyńiowych w działaniu toksyn mocznicowych.

Badanie immunomorfologiczne mózgow, ograniczone ze względów technicznych jedynie do 5 przypadków, wykazało imbibicję tkanki nerwowej zarówno immunoglobulinami jak i włóknikiem. Umieszczenie zmian w otoczeniu naczyń krwionośnych przemawiać może za

przerwaniem bariery krew-mózg dla białek osocza krwi. Ziarniste złoże globulin i składnika C3 dopełniacza (3 chorych), występowały w tych przypadkach również w ścianach naczyń krwionośnych. Podobne złoże znajdowano w spłotach naczyńnkowych, w oponach oraz w nerwach. Dodatni odczyn wiązania dopełniacza heterologicznego oraz dysocjujące działanie buforu glicyna-HCl sugerują udział kompleksów immunologicznych w patologii zmian naczyniowych, zarówno mózgu, jak i nerek (Hamashima 1976; Zollinger, Mihatsch 1978). Należy podkreślić, że wykładniki obecności kompleksów immunologicznych w naczyniach krwionośnych układu nerwowego stwierdzano w mózgu chorych, u których zmiany w kłębkach nerkowych, o typie błoniasto-rozplemowym, miały charakter przewlekły. W jednym zaledwie przypadku, obfite uogólnione nacieki wokół zmienionych naczyń, zarówno w mózgu, jak i w nerkach, miały charakter zmian świeżych i krótkotrwałych. Dodatni odczyn immunohistochemiczny w ciałach piaszczakowatych oraz w zrębie spłotów naczyńnkowych może potwierdzać sugestię Lamperta i wsp. (1977) o związku przyczynowym obu typów nieprawidłowości z odkładaniem się kompleksów immunologicznych. Duża częstość krwotoków podpajęczynówkowych lub dokomorowych w grupie chorych z mocznicą, odnotowana w materiale własnym, przy znacznie rzadszym występowaniu cech nadciśnienia, może sugerować ich związek z immunopatologicznym uszkodzeniem naczyń krwionośnych mózgu. Podobną sugestię odnośnie patogenezy krwotoków mózgowych w mocznicy po paciorkowcowym zapaleniu kłębków nerkowych wysunęli De Beukelaer i Young (1978). Wydaje się, że część zmian neuropatologicznych, takich jak odczyny zapalne oraz zmiany w ścianach naczyń krwionośnych, zarówno mózgu, jak i spłotów naczyńnkowych, opisywanych w przypadkach mocznicy przez licznych autorów i stwierdzonych we własnym materiale, można wiązać z ogólnoustrojowym procesem immunopatologicznym. Brak danych serologicznych, jak również możliwości ustalenia pochodzenia antygeny w złożach w badanych przypadkach, nie pozwalała na ściślejsze wypowiedzenie się na temat etiopatogenezy zmian.

Chorzy z mocznicą są szczególnie narażeni na dodatkowe infekcje z powodu supresyjnego wpływu niewydolności nerek na stan układu immunologicznego oraz układu makrofagów (McIntosh i wsp. 1976). Leczenie chorych z mocznicą przeszczepami nerek, pogłębia to zagrożenie poprzez długotrwałe leczenie immunosupresyjne (Kuratowska 1978). Przypadek chorej A. W. ilustruje tę sytuację. Pacjentka, poddawana uprzednio wielokrotnym dializom, po przeszczepieniu nerki zmarła w wyniku rozwoju grzybiczego procesu zapalnego dotyczącego wybiórczo ośrodkowego układu nerwowego.

С. Краевски

ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ В УРЕМИИ У ЛЮДЕЙ

Резюме

Целью работы было установить причинную связь между морфологическими изменениями, наблюдаемыми в мозгах больных умерших из-за уремии различного этиопатогенеза, и патомеханизмом, приводящим к ней.

Обычные исследования в световом микроскопе проводились на 25, а в флуоресцентном микроскопе на 5 мозгах. При помощи непосредственного метода иммунофлуоресценции локализовали в ткани мозга и почек IgG, IgA, IgM, компонент С3 комплемента и фибрин. Кроме того проводились реакции обнаруживающие иммунологические комплексы в ткани: реакция гетерологического комплемента морской свинки и элюции срезов в буфере глицин-HCl с pH 2,2.

На основании анализа причины возникновения недостаточности почек и уремии в собранных случаях можно считать, что у 22 больных почвой заболевания были иммунопатологические изменения.

В мозгах всех больных преобладали отечные изменения разной степени. Среди случаев с предполагаемой иммунопатологической почвой уремии в мозгах наблюдался симптом воспалительных признаков, характеризующийся изменениями, находящимися прежде всего в перивентрикулярных районах с сопутствующими воспалительными реакциями в сосудистых сплетениях и оболочках.

Иммунорфологические исследования мозгов в 5 случаях обнаружили имбибицию глобулинами и фибрином нервной ткани вокруг кровеносных сосудов, а в 3 случаях — отложения глобулинов и компонента С3 комплемента в стенках кровеносных сосудов мозга, сосудистого сплетения и клубочков почек. Положительная реакция связывания гетерологического комплемента и диссоциирующее действие буфера глицин — HCl говорят за участием иммунологических комплексов в патогенезе сосудистых изменений мозга и почек в уремии.

S. Krajewski

IMMUNOMORPHOLOGIC STUDIES OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM IN HUMAN'S UREMIA

Summary

The studies aimed in establishing the dependence of the pathological changes observed in the brains of patients deceased in the uremic conditions on the pathogenesis of the basic renal pathology. The studies comprised both routine neuropathological examination and immunomorphological analysis. Routine light microscopy was performed on 25 brains of patients, who died due to uremia of different etiopathogenesis. In 5 of them, in which immunopathological process seemed to be the most likely cause of renal damage and insufficiency, immunofluorescent studies were done. Those included localization of IgA, IgG, IgM, C3 component of the complement and fibrinogen in the brain tissue as well as in the kidneys and other body organs. Method of direct immunofluorescence was used. In addition reactions revealing deposition of immune complexes in the **tissue were performed**. These were: reaction of heterologous complement fixation and elution of tissue slices with glycine-HCl buffer pH 2.2.

Analysis on clinical, laboratory and pathological data indicated that the

immunopathological process was in 22 cases the basic factor of renal damage leading in its final stage to renal insufficiency and uremia.

In brains of all cases edematous changes of different intensity and nonspecific neuronal degeneration predominated. The features of inflammatory process were present in the brains of those patients in which uremia was developed on the basis of presumable immunopathological renal damage. Inflammatory changes were noticed mostly in paraventricular regions of the brain and in choroid plexus and leptomeninges.

Immunomorphological studies in 5 cases revealed globulin and fibrinogen imbibition of the nerve tissue being mostly localized around blood vessels. In 3 cases, deposits of globulins and C3 component of complement were localized in blood vessel walls of the brain, choroid plexus, leptomeninges and renal glomeruli. Positive reaction of heterologous complement fixation and dissociation by glycine-HCl buffer strongly supports the possibility of the participation of immune complexes in pathogenesis of brain damage in at least some of uremia condition.

PIŚMIENNICTWO

1. Arieff A. J., Mussary S. G., Barrientos A., Kleeman C. R.: Brain water and electrolyte metabolism in uremia. Effect of slow and rapid hemodialysis. *Kidney Int.* 1973, 4, 177—187.
2. Bergström J., Fürst P.: Uremic toxins. *Kidney Int.* 1978, 13, suppl. 8, 9—12.
3. Brentjens J. R., O'Connell D. W., Pawlowski I. B., Andres G. A.: Extra-glomerular lesions associated with deposition of circulating antigen-antibody complexes in kidneys of rabbits with chronic serum sickness. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1974, 3, 112—126.
4. Cameron K. R., Birchall S. M., Moses M. A.: Isolation of foamy virus from patient with dialysis encephalopathy. *Lancet* 1978, 2, 796.
5. Clark H. F., Shepard C. C.: A dialysis technique for preparing fluorescent antibody. *Virology* 1963, 20, 642—644.
6. DeBeukelaer M. M., Young G. F.: Subarachnoid hemorrhage complicating acute poststreptococcal glomerulonephritis. *Arch. Neurol.* 1978, 35, 473—474.
7. Es, van L. A., Blok A. P. R., Schoenfeld L., Glasscock R. J.: Chronic nephritis induced by antibodies reacting with glomerular bound immune complexes. *Kidney Int.* 1977, 11, 106—115.
8. Fürst P., Bergström J., Asaba M., Gordon A., Zimmerman L.: Middle molecules in uremia. W: *Renal Insufficiency. Würzburg Symposium.* Red. A. Heidland, H. Hennemann, J. Kult. G. Thieme Publishers, Stuttgart 1974, 79—89.
9. Hamashima Y.: Renal disease. W: *Immunohistopathology.* Red. J. Shoin, Tokyo 1976, 126—176.
10. Hechst B.: Über Gehirnbefunden bei urämische Zuständen. *Zeitschr. Neurol.* 1932, 139, 544—588.
11. Kuratowska Z.: Podstawy immunologii klinicznej. IV. Immunosupresja i immunostymulacja. *Pol. Tyg. Lek.* 1978, 33, 1189—1193.
12. Lampert P., Garrett R., Lampert A.: Ferritin immune complex deposits in the choroid plexus. *Acta neuropath. (Berl.)* 1977, 38, 83—86.
13. Lutz W.: „Średnie cząsteczki” i proces zatrucia mocznicowego. *Pol. Tyg. Lek.* 1976, 31, 1173.
14. McIntosh J., Hensen P., Ziegler J., Penny R.: Defective immune and phagocytic function in uremia and renal transplantation. *Int. Arch. Allergy* 1976, 51, 544—559.

15. Nolph K. D., Husted F. C., Sharp G. C.: Antibodies to nuclear antigen in patients undergoing long term hemodialysis. *Amer. J. Med.* 1976, 60, 673—676.
16. Olsen S.: The brain in uremia. *Acta Psych. Neurol. Scand.* 1961, 36, suppl. 156.
17. Osetowska E., Mossakowski M. J.: Zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym w stanach mocznicowych. *Neuropat. Pol.* 1963, 1, 101—122.
19. Velosa J., Miller K., Michael A. F.: Immunopathology of the end staged kidney. Immunoglobulin and complement component deposition in nonimmune diseases. *Am. J. Pathol.* 1976, 84, 149—162.
20. Zollinger H. U., Mihatsch M. J.: Renal pathology in biopsy, light, electron and immunofluorescent microscopy and clinical aspects. (General aspects of glomerulonephritis). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1978, 171—187.

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

WOJCIECH HILGIER

ZAWARTOŚĆ GLUTAMINY
ORAZ AKTYWNOŚĆ AMINOTRANSFERAZY GLUTAMINOWEJ
W MÓZGU W DOŚWIADCZALNEJ ENCEFALOPATII WĄTROBOWEJ

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

Amoniak, stanowiący końcowy produkt metabolizmu aminokwasów, w warunkach prawidłowych ulega szybkiej detoksykacji w cyklu moczynowym zlokalizowanym w wątrobie. W przypadku uszkodzeń wątroby dochodzi do upośledzenia jej funkcji metabolicznej, którego wyrazem jest między innymi wzrost stężenia amoniaku we krwi. Przedostający się swobodnie z łożyska naczyniowego do mózgu amoniak ulega w nim dalszemu metabolizmowi.

Wobec nieobecności cyklu moczynowego w ośrodkowym układzie nerwowym metabolizm amoniaku zachodzi tu na drodze reduktywnej aminacji α -ketoglutaranu do glutaminianu i ATP-zależnej amidacji glutaminianu do glutaminy (Mc Ilwain, Bachelard 1971). Glutamina w reakcji katalizowanej przez aminotransferazę glutaminy może ulegać transaminacji z wytworzeniem α -ketoglutaraminianu, który według Vergary i wsp. (1974) jest związkiem silnie neurotoksycznym.

W cyklu badań nad patomechanizmem encefalopatii pochodzenia wątrobowego wydawało się przeto celowe prześledzenie tego właśnie etapu metabolizmu amoniaku w mózgu. W związku z tym przeprowadzono oznaczenia zawartości glutaminy oraz aktywności aminotransferazy glutaminowej. Przyjęcie tego kierunku badań uzasadnia fakt, że uprzednio na modelu chemicznego uszkodzenia wątroby wykazano wzrost, a później spadek zawartości glutaminianu przy stałym narastaniu aktywności glutaminazy (Hilgier, Mossakowski 1979). Poza modelem chemicznego uszkodzenia wątroby zastosowano również model zespolenia żyły wrotnej z żyłą główną dolną, w którym nie dochodzi do uszkodzenia struktury i upośledzenia funkcji wątroby, a jedynie do jej ominięcia.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 184 szczurach rasy Wistar, samicach. Zastosowano dwa układy doświadczalne: 1) model zespolenia żyły wrotnej z żyłą główną dolną (Lee, Fischer 1961); 2) model chemicznego uszkodzenia wątroby wywołanego podawaniem czterochlorku węgla (Georgijew i wsp. 1968).

Materiał do badań (półkule mózgu) pobierano w następujących czasach: w modelu 1 po 3, 5, 10, 14, 21 dniach od założenia zespolenia, a w modelu 2 po 2, 4 i 6 miesiącach od rozpoczęcia iniekcji czterochlorku węgla. Świeżą tkankę mózgu homogenizowano w oziębionym do temperatury ok. 0—4°C 0,15 M KCl (1 cz. tkanki + 4 cz. KCl), w homogenizatorze typu szkło-szkło. Homogenaty wirowano przez 40 min. przy 165000×g. Do oznaczeń używano uzyskane supernatanty.

Aktywność aminotransferazy glutaminy (aminotransferaza glutamina-ketokwas EC 2.6.1.15) oraz zawartość glutaminy oznaczano wg metody Kupchika i Knoxa (1970), opartej na pomiarze zmian absorpcji kompleksu fenylopirogrońian-enoloboran w zależności od zawartości glutaminy.

Oznaczanie zawartości glutaminy. Mieszaniny inkubacyjne o końcowej objętości 1 ml i końcowym stężeniu buforu boranowego 0,3 M, pH 8,5 zawierały: 0,05 ml homogenatu z nerki w 0,15 M KCl jako źródła enzymu, 0,2 μmole kwasu fenylopirogrońowego oraz 0,1 ml homogenatu mózgowego. Próby ślepe i kontrolne stanowiły mieszaniny nie zawierające homogenatu mózgowego lub w obecności L-glutaminy. Po 1-godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C do prób dodawano po 0,1 ml 60% kwasu metafosforowego, mieszano i odstawiano na 10 min., po czym ponownie mieszano w celu całkowitego odbiałczenia i odwirowywano przez 10 min. przy ok. 600 × g. Do 0,8 ml uzyskanego supernatantu dodawano po 0,4 ml buforu arsenowo-boranowego o pH 6,5 (3 M boran-2 M arsenian) i odstawiano na 30 min. w celu całkowitej tautomeryzacji. Po tym czasie odczytywano ekstynkację w spektrofotometrze „Spektromom 202” przy długości fali 300 nm w stosunku do wody. Zawartość glutaminy obliczano wg wzoru podanego przez autorów metody i wyrażano w μmolach glutaminy/g tkanki.

Oznaczanie aktywności aminotransferazy glutaminy. Mieszanina inkubacyjna w końcowej objętości 1 ml zawierała 0,4 ml 0,75 M buforu boranowego o pH 8,5, 0,3 ml 0,2 M L-glutaminy, 0,1 ml 0,004 M fenylopirogrońianu (sól jednosodowa) w octanie sodowym o pH 6,0, 0,1 ml wody destylowanej i 0,1 ml supernatantu. Próba ślepa nie zawierała L-glutaminy. Całość mieszano przez inwersję i następnie odczytywano spadek ekstynkacji w temperaturze 37°C przez około 20 min. w odstępach 2-minutowych na spektrofotometrze „Spektromom 202” przy długości fali 300 nm w stosunku do wody destylowanej. Aktywność enzy-

mu obliczano na podstawie różnic spadku ekstynkcji i wyrażano w jednostkach/g tkanki.

WYNIKI

Poziom glutaminy i aktywności aminotransferazy glutaminy w mózгах zwierząt kontrolnych i doświadczalnych przedstawiono w tabeli 1 i 2.

Tabela 1. Zawartość glutaminy oraz aktywność aminotransferazy glutaminy w mózgu szczura w następstwie zespolenia wrotno-układowego

Table 1. The glutamine content and glutamine aminotransferase activity in the rat brain following porto caval shunt

Czas trwania zespolenia (dni) Duration of shunt (days)	Aminotransferaza glutaminy Glutamine aminotransferase		Glutamina (mmole/kg tkanki) Glutamine (mmoles/kg tissue)		p
	kontrola control	badane (zmiana w %) experimental (change in %)	kontrola control	badane experimental	
3	0,02 jednostki/g tkanki* 0,02 units/g tissue	+100 (6)	6,06±0,23** (5)	6,97±0,85 (7)	< 0,05
5		+200 (7)	6,01±0,29 (5)	7,19±0,68 (7)	< 0,01
10		+250 (6)	6,15±0,65 (5)	8,84±0,72 (7)	< 0,01
14		+300 (6)	5,87±0,16 (5)	9,77±0,55 (5)	< 0,01
21		+50 (6)	5,76±0,34 (5)	15,13±0,94 (6)	< 0,01

* Wartość kontrolną stanowi średnia z 25 oznaczeń. Aktywności enzymu w grupach badanych ustalono na podstawie liczby pomiarów zaznaczonych w nawiasach. Wyników nie opracowywano statystycznie, bowiem z wyjątkiem grupy badanej 14-dniowej, odchylenia standardowe w poszczególnych grupach mieściły się w granicach błędu metody.

Control value was a mean of 25 determinations. The enzyme activity in the experimental groups was established on the basis of the number of experiments indicated in parentheses. The data were not elaborated statistically, since except the 14-day group, the standard deviations in all the groups were within the methodical error.

** Średnia arytmetyczna±SD
Arithmetic mean±SD

p — Prawdopodobieństwo
Probability

Z uzyskanych danych wynika, że w modelu zespolenia żylnego we wszystkich przedziałach czasowych, to jest po 3, 5, 10, 14 i 21 dniach od wykonania zabiegu chirurgicznego, dochodzi do stopniowego wzrostu zawartości glutaminy. Wzrost ten wynosi odpowiednio: 15, 20, 44, 66 i 163% i jest statystycznie znamienne. Podobną tendencję obserwuje się w modelu z chemicznym uszkodzeniem wątroby, gdzie po 2-miesięcznym okresie eksperymentu dochodzi do niewielkiego (ok. 13%),

Tabela 2. Zawartość glutaminy oraz aktywność aminotransferazy glutaminy w mózgu szczura w następstwie przewlekłego zatrucia CCl_4

Table 2. The glutamine content and glutamine aminotransferase activity in the rat brain following chronic intoxication with CCl_4

Czas zatruwania (miesiące)	Aminotransferaza glutaminy		Glutamina (mmole/kg tkanki)		P
	Glutamine	aminotransferase	Glutamine	(mmoles/kg tissue)	
Intoxication period (months)	kontrola control	badane (zmiana w %) experimental (change in %)	kontrola control	badane experimental	
2	0,02 jednostki/g tkanki* 0,02 units/g tissue	0 (8)	$5,18 \pm 0,26^{**}$ (6)	$5,83 \pm 0,59$ (8)	< 0,05
4		+133 (6)	$5,31 \pm 0,51$ (5)	$12,53 \pm 1,18$ (7)	< 0,01
6		0 (6)	$5,47 \pm 0,33$ (4)	$6,37 \pm 1,18$ (6)	> 0,05

* Wartość kontrolną stanowi średnia z 12 oznaczeń. Aktywności enzymu w grupach badanych ustalono na podstawie liczby pomiarów zaznaczonych w nawiasach. Wyników nie opracowywano statystycznie, bowiem z wyjątkiem grupy badanej 14-dniowej, odchylenia standardowe w poszczególnych grupach mieściły się w granicach błędu metody.

Control value was a mean of 15 determinations. The enzyme activity in the experimental groups was established on the basis of the number of experiments indicated in parentheses. The data were not elaborated statistically, since except the 14-day group, the standard deviations in all the groups were within the methodical error.

** Średnia arytmetyczna \pm SD
Arithmetic mean \pm SD

p — Prawdopodobieństwo
Probability

a po 4 miesiącach do wyraźnego (ok. 133%) wzrostu zawartości glutaminy. W grupie zwierząt z 6-miesięcznym okresem eksperymentu następuje ponowny spadek zawartości substratu do poziomu kontrolnego.

Zwraca uwagę bardzo niska aktywność aminotransferazy glutaminy w mózgu w warunkach kontrolnych, co jest zgodne z danymi przedstawionymi przez autorów metody. Ponieważ wartości pomiarów mieściły się w dolnym zakresie liniowości metody, uzyskanych wyników nie analizowano statystycznie. W żadnym przypadku różnice pomiędzy skrajnymi wynikami nie przekraczały 15%.

W modelu chemicznego uszkodzenia wątroby w pierwszym etapie trwania doświadczenia, to jest po 2 miesiącach, nie obserwuje się żadnych zmian w aktywności enzymu. Po 4 miesiącach dochodzi do około 150% wzrostu aktywności aminotransferazy glutaminy. Natomiast w grupie 6-miesięcznej następuje powrót aktywności enzymu do poziomu kontrolnego.

W modelu zespoleniowym w kolejnych etapach trwania doświadczenia dochodziło do wzrostu aktywności aminotransferazy glutaminy, wynoszącego odpowiednio 100% po 3, 200% po 5, 250% po 10 i 300% po 14 dniach od wykonania zabiegu chirurgicznego. W 21 dniu nastąpił spadek aktywności enzymu w stosunku do grupy 14-dniowej, do poziomu wyższego od wartości kontrolnej o ok. 50%.

OMÓWIENIE

Zwraca uwagę fakt, że we wstępnej fazie w obydwu modelach dochodzi do przyrostu zarówno aktywności enzymu jak i zawartości glutaminy, co wynika prawdopodobnie ze wzrostu poziomu amoniaku w mózgu. Można więc przypuszczać, że w zaistniałych warunkach dochodzi do znacznego przyrostu zawartości α -ketoglutaraminianu, bezpośredniego produktu reakcji transaminacji glutaminy. Jak wykazali Vergara i wsp. (1974), związek ten posiada wysokie własności neurotoksyczne, można więc się spodziewać, że w początkowej fazie uszkodzenia wątroby, czynnikiem odpowiedzialnym za objawy encefalopatii jest w większym stopniu amid kwasu α -ketoglutarrowego aniżeli amoniak. O podobnej tendencji można by wnioskować z badań Duffego i wsp. (1974), którzy wykazali proporcjonalną zależność między stężeniem amoniaku i glutaminy, a zawartością α -ketoglutaraminianu. Jednakże autorzy ci nie dokonali pomiarów aktywności aminotransferazy glutaminowej. Jak wynika z pracy Bradforda i Mc Ilwaina (1966), wysoki poziom glutaminy jest jedynie wyrazem dokonania się kolejnego etapu reakcji w cyklu detoksykacji amoniaku w mózgu.

W późnej fazie doświadczenia w obydwu przypadkach dochodzi do zahamowania aktywności aminotransferazy. Powrót aktywności tego enzymu do normy wydaje się być cechą wspólną, charakterystyczną dla późnych stadiów encefalopatii, bowiem Lockwood i Duffy (1976) obserwowali niezmienny poziom tego enzymu w 8 tygodni po dokonaniu zespolenia żylnego; autorzy ci jednak nie oznaczali transaminazy w czasach wcześniejszych.

Na tym etapie na szczególną uwagę zasługuje różne zachowanie się glutaminy w obu modelach. W modelu chemicznego uszkodzenia wątroby obserwuje się spadek zawartości aminokwasu do poziomu kontrolnego, podczas gdy w przypadku zespolenia żylnego następuje jego dalszy wzrost. Obniżenie zawartości glutaminy w modelu chemicznym można wiązać z obserwowanym w tych samych warunkach wzrostem aktywności glutaminazy (Hilgier, Mossakowski 1979). Reasumując, można stwierdzić, że w dwu różnych fazach encefalopatii toksycznej ujawnia się istotna rola dwu różnych enzymów w metabolizmie glutaminy: w fazie wczesnej — transaminazy, a w fazie późniejszej — glutaminazy. Zjawisko to może stanowić o dwóch obliczach neurotoksyczności, która początkowo wiązałaby się z nagromadzeniem α -ketoglutarami-

nianu, a następnie z uwalnianiem dodatkowych ilości amoniaku w wyniku reakcji glutaminazowej. Amoniak ten może dodatkowo obciążać cykl detoksykacji i w efekcie przyczyniać się między innymi do obserwowanego w tej fazie spadku poziomu α -ketoglutaranu (Hilgier 1980). Z kolei, stwierdzony stały wzrost poziomu glutaminy w modelu zespolenia żylnego sugerowałby brak zmian w aktywności glutaminazy, aczkolwiek hipoteza ta wymagać będzie potwierdzenia doświadczalnego. Należy się spodziewać, że bliższych szczegółów dotyczących toksycznego działania amoniaku oraz α -ketoglutaraminianu dostarczą bezpośrednie pomiary stężeń tych związków w różnych fazach encefalopatii wywołanej w obu modelach doświadczalnych. Na wyjaśnienie oczekuje również udział bezpośredniego, toksycznego działania czterochlorku węgla na mózg w obserwowanych zjawiskach.

В. Хильгер

СОДЕРЖАНИЕ ГЛУТАМИНА И АКТИВНОСТЬ ГЛУТАМИНТРАНСФЕРАЗЫ В МОЗГЕ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГЕПАТИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ

Резюме

Были проведены определения содержания глутамина и активности глутаминтрансферазы в мозгах крыс после химического повреждения печени четыреххлористым углем и после воротно-системного анастомоза. В модели химического повреждения печени спустя 2 и 4 месяцев имеет место увеличение содержания глутамина, а после 6 месяцев — снижение его содержания до контрольного уровня. На той же модели после 2 месяцев не наблюдается изменений в активности глутаминтрансферазы, после 4 месяцев активность повышается, а в 6-месячной группе активность энзима возвращается до контрольного уровня.

В модели анастомоза обнаруживается постоянное увеличение содержания глутамина во всех опытных группах. После 3, 5, 10 и 15 дней с момента хирургической операции наблюдается постоянное повышение активности глутаминтрансферазы. На 21 день активность энзима вновь приближается к контрольному уровню.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в ранних фазах гепатической энцефалопатии вероятно имеет место чрезмерное громаждение продукта энзиматической реакции — α -кетоглутамината, соединения с доказанным нейротоксическим действием.

W. Hilgier

GLUTAMINE CONTENT AND GLUTAMINE AMINOTRANSFERASE ACTIVITY IN THE BRAIN IN EXPERIMENTAL HEPATOENCEPHALOPATHY

Summary

Determinations of glutamine content and of glutamine aminotransferase activity in the brain of the rat following chemical damage to liver with carbon tetrachloride or porto-caval shunt have been performed. In the brain of rats with chemical damage to the liver, an increase of glutamine content, is observed after 2 and 4 months of the experiment, whereas in 6th months the amino acid

levels off to the control level. In the same model after 2 months, the glutamine aminotransferase activity does not change, after 4 months the enzyme activity increases distinctly, and in the 6th month the enzyme activity decreases again to the control level.

In the model with porto-caval shunt a gradual increase of glutamine content was found in all experimental groups accompanied by the increase of glutamine aminotransferase activity 3, 5, 10 and 14 days after surgery. On 21st day the enzyme activity return to the near control level.

The results indicate, that in the early stage of the development of hepato-encephalopathy occurs excessive accumulation of the enzymatic reaction product, α -ketoglutaramate, which is a compound known for its neurotoxic properties.

PIŚMIENNICTWO

1. Bradford H. F., Mc Ilwain H.: Ionic basis for the depolarization of cerebral tissues by excitatory acidic aminoacids. *J. Neurochem.* 1966, 13, 1163—1177.
2. Duffy T. E., Vergara F., Plum F.: α -Ketoglutaramate in hepatic encephalopathy. W: *Brain Dysfunction in Metabolic Disorders*. Red. F. Plum, Res. Publ. Assoc. Nerv. Ment. Dis., Raven Press, New York 1974.
3. Georgijew A., Kołczak M., Węgiel J.: Niektóre obserwacje dotyczące wpływu CCl_4 na wątrobę prawidłową i regenerującą. *Pat. Pol.* 1968, 19, 179—187.
4. Hilgier W., Mossakowski M. J.: Aktywność l-glutaminamidohydrolazy w mózgu szczurów w doświadczalnej encefalopatii wątrobowej. *Neuropat. Pol.* 1979, 17, 287—293.
5. Hilgier W.: Zawartość α -ketoglutaranu i glutaminianu w mózgu szczurów w doświadczalnej encefalopatii wątrobowej. *Neuropat. Pol.* 1980, 18, 121—126.
6. Kupchik H. Z., Knox W.: Assay of glutamine and its aminotransferase with the enol-borate of phenylpyruvate. *Arch. Biochem. Biophys.* 1970, 136, 178—186.
7. Lee S. H., Fisher B.: Portocaval shunt in the rat. *Surgery* 1961, 50, 668—672.
8. Lockwood A. H., Duffy T. E.: Glutamine transaminase and ω -amidase: species variations in brain activity and effect of portocaval shunting. *J. Neurochem.* 1977, 28, 673—675.
9. Mc Ilwain H., Bachelard H. S.: *Biochemistry and the nervous system*. Williams and Wilkins, Baltimore 1971.
10. Vergara F., Plum F., Duffy T. E.: α -ketoglutaramate: increased concentrations in the cerebrospinal fluid of patients in hepatic coma. *Science* 1974, 183, 81—83.

Adres autora: Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, ul. Dworkowa 3, 00-874 Warszawa.

SPRAWOZDANIE
Z WSPÓLNEGO SYMPOZJUM STOWARZYSZENIA
NEUROPATOLOGÓW POLSKICH I NIEMIECKIEGO
STOWARZYSZENIA NEUROPATOLOGII I NEUROANATOMII
(KRAKÓW, 17—20 WRZEŚNIA 1980)

Wynikiem kontaktów nawiązanych przez polskich neuropatologów na Zjeździe Niemieckiego Stowarzyszenia Neuropatologii i Neuroanatomii w Essen w roku 1979, było zorganizowanie w roku następnym wspólnego sympozjum w Krakowie. Główna tematyka posiedzenia obejmowała zwyrodnienie gąbczaste układu nerwowego (aspekty kliniczne i doświadczalne) oraz neuroanatomię i neuropatologię rozwoju i starzenia. W spotkaniu wzięła udział duża, bo licząca kilkadziesiąt osób, grupa neuropatologów niemieckich i austriackich, z przewodniczącym Stowarzyszenia prof. Haugiem z Lubeki, na czele.

Sympozjum zainaugurowała sesja preparatowa (slide session), na której przedstawiono kilka przypadków pod kątem korelacji kliniczno-morfologicznych, interesujących z punktu widzenia diagnostycznego i nozologicznego.

Pierwszy główny temat sympozjum (zwyrodnienie gąbczaste układu nerwowego), wzbudził szczególne zainteresowanie wśród neuropatologów niemieckich, którzy przedstawili doniesienia, dotyczące problemów klasyfikacji dziecięcych zwyrodnień gąbczastych (Peiffer — Tübingen) oraz szeregu aspektów morfologicznych chorób układu nerwowego człowieka, przebiegających ze zwyrodnieniem gąbczastym (Schlote i wsp. Tübingen; Budka — Wiedeń; Walter i wsp. — Graz i Louvain oraz Meier i wsp. — Berno). Jedyną pracą doświadczalną było doniesienie Anzila i wsp. (Hannover), na temat zwyrodnienia gąbczastego ośrodkowego układu nerwowego u mutantów szczurów Sprague-Dawley. Doniesienie o aspektach morfologicznych i histologicznych choroby Jacoba-Creutzfeldta przedstawili Kałuża i wsp. (Kraków). W materiałach sesji brakowało wyraźnie nawiązania do wirusologii zwyrodnienia gąbczastego jak i doniesień na temat przeszczepienia zespołu na zwierzęta doświadczalne.

Znacznie większa liczba doniesień, niż w pierwszym temacie, została przedstawiona na następnych sesjach naukowych, dotyczących ontogenezy układu nerwowego. Duże zainteresowanie wywołał referat Hauga (Lubeka), na temat procesu starzenia się kory mózgu człowieka. Zdaniem autora błędna interpretacja szeregu wyników zależała od nieuwzględnienia przyspieszenia rozwoju (akceleracji) młodych generacji. Interesujące było również doniesienie Thomasa z Frankfurtu o zmianach odczynów histochemicznych tkanki nerwowej, związanych z wiekiem, jak i opracowanie Grisolda i wsp. (Wiedeń) na temat korelacji kliniczno-morfologicznych u ludzi z otępieniem, a także praca Schrödera i Bohla (Mainz) o zmianach starczych w nerwach obwodowych.

Cały szereg prac dotyczyło problemów rozwoju układu nerwowego człowieka i zwierząt doświadczalnych. Wymienić można tu jedynie kilka reprezentatywnych doniesień tej grupy badań, przedstawionych na sympozjum. Są to doniesienia Dąbmskiej i Maślińskiej (Warszawa), o rozwoju połączeń neuronalnych w różnych regionach filogenetycznych kory mózgu królika, Kałuży (Kraków) o reakcji oksydoredukcyjnej z nitro BT jako znacznikiem rozwoju włókien mózgu kota, Cervos-Navarro i wsp. (Berlin) o składzie i niektórych własnościach

c.d. na str. 90

ZUZANNA KRAŚNICKA, BARBARA GAJKOWSKA

OBRAZ HISTOLOGICZNY I ULTRASTRUKTURALNY
ORGANOTYPOWEJ HODOWLI TKANKI NERWOWEJ
PO DZIAŁANIU METYLONITROZOMOCZNIKA

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

Poprzednie badania nad wpływem metylonitrozomocznika (MNU) na tkankę nerwową w hodowli pozaustrojowej, wykazały dwojaki charakter zmian, rozwijających się w poszczególnych elementach komórkowych hodowli (Kraśnicka, Gajkowska 1979). Neurony, a w mniejszym stopniu komórki glejowe, wykazywały zmiany zwyrodnieniowe, stanowiące wykładnik cytotoksycznego działania karcinogenu. W populacji glejowej, przede wszystkim wśród astrocytów, dominowały nieprawidłowości strukturalne, sugerujące możliwość transformacji blastomajycznej. Obserwacje powyższe oparto na doświadczeniach, w których MNU (w dawce 50 mg%) podawano w końcowej fazie wzrostu hodowli, a stwierdzone zmiany stanowiły bezpośrednie następstwo zastosowania karcinogenu. Wydawało się przeto celowe prześledzenie, czy stwierdzone nieprawidłowości mają charakter trwały, czy też cofają się po zaprzestaniu działania czynnika uszkadzającego. W tym celu przeprowadzono cykl doświadczeń, w których hodowle poddawano przejściowemu działaniu MNU. Postępowanie takie wydawało się tym bardziej uzasadnione, że zarówno efekt karcinogeny (Wechsler i wsp. 1969) jak i mielinoklastyczny (Kroh 1976; 1978) alkilowych pochodnych nitrozomocznika w warunkach *in situ* ujawnia się z latencją sięgającą kilkunastu, a nawet kilkudziesięciu tygodni.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 3-tygodniowych, organotypowych hodowlach mózdzku noworodków szczurzych (szczepu Wistar). Hodowle prowadzone były według standardowej metody, opisanej przez Kraśnicką i Mossakowskiego (1965). Doświadczenie obejmowało 4 grupy hodowli. W trzech spośród nich (grupa I—III) do środowiska odżyw-

czego podawano na okres 3 dni metylonitrozomocznik w dawce 50 mg%. Hodowle grupy I utrwalano i badano bezpośrednio po tym okresie działania karcinogenu. Hodowle grupy II i III przenoszono po wypłukaniu do standardowego środowiska odżywczego na okres 3 dni (grupa II) i 6 dni (grupa III). IV grupę, kontrolną, stanowiły hodowle prowadzone w tym samym czasie i w warunkach rutynowych.

Hodowle ze wszystkich grup badano w mikroskopie świetlnym i elektronowym. Obserwacje w mikroskopie świetlnym oparto na materiale utrwalonym i zabarwionym metodami histologicznymi według Nissla, Bodiana oraz Sudanem czarnym B. Na hodowlach nie utrwalonych wykonano odczyny histochemiczne ujawniające aktywność dehydrogenazy bursztynianowej, glutaminianowej i glukozy-6-fosforanowej według metod przedstawionych przez Kraśnicką i wsp. (1971). Materiał do badań mikroskopowo-elektronowych utrwalano w sposób typowy i zatapiało w Eponie 812. Ultracienkie skrawki kontrastowano octanem uranylu i cytrynianem ołowiu. Zdjęcia wykonano w mikroskopie elektronowym JEM 7 A.

WYNIKI

Badania w mikroskopie świetlnym

Grupa I. Hodowle 21-dniowe, obserwowano bezpośrednio po działaniu karcinogenu, wykazują znaczne i nasilone zmiany zwyrodnieniowe. W neuronach stwierdza się wyraźną tigrolizę, a cytoplazma komórek glejowych zawiera liczne wodniczki (ryc. 1). W preparatach impregnowanych metodą Bodiana zwraca uwagę osłabiona barwliwość wypustek komórkowych. Barwienie Sudanem czarnym B ujawnia obrzmienie osłonek mielinowych na zachowanych włóknach osiowych oraz nagromadzenie substancji sudanofilnych w drobnych komórkach glejowych, odpowiadających swym wyglądem oligodendrocytom. Odczyny histochemiczne wykazują osłabienie aktywności dehydrogenazy bursztynianowej, glutaminowej oraz glukozy-6-fosforanowej. Stałą i powtarzalną cechą, charakteryzującą tę grupę hodowli, jest znaczny pleomorfizm komórek glejowych oraz ich jąder. Znacznie częściej niż w hodowlach kontrolnych obserwuje się komórki glejowe, znajdujące się w różnych fazach podziału mitotycznego. W wielu hodowlach stwierdza się lite, zagęszczone pole wzrostu komórek, różniących się swoim wyglądem zarówno od typowych astro- jak i oligodendrocytów. Zawierają one przeważnie okrągławe jądra, większe od jąder oligodendrocytów, z wyraźnie zarysowaną błoną jądrową, jąderkiem i drobnoziarnistą chromatyną (ryc. 2).

Grupa II i III. Hodowle z 3-dniowym i 6-dniowym przeżyciem po zadziałaniu czynnika toksycznego wykazują dość istotne odrębności w stosunku do hodowli grupy I, nie różniąc się zasadniczo pomiędzy

sobą. We wszystkich hodowlach obu grup występuje obfity rozplem komórek glejowych oraz widoczne są komórki nerwowe, odpowiadające komórkom Purkiniego (ryc. 3), drobnym neuronom warstwy ziarnistej mózdzku oraz dużym neuronom głębokich jąder mózdzku. Zwraca uwagę fakt, że jedynie duże neurony wykazują cechy zaawansowanej tigrilazy centralnej, z przemieszczeniem ziarnistości Nissla do obwodowej części perikarionu, podczas gdy małe neurocyty ziarniste nie różnią się od neurocytów w hodowlach kontrolnych.

Znamienną cechą, występującą w znacznej części hodowli obu grup, jest obecność w strefie wzrostu dwóch, różniących się od siebie typów utkania komórkowego, utworzonego przez elementy glejowe pochodzenia neuroektodermalnego (ryc. 4). Pierwszy typ utkania charakteryzuje się rozproszonym luźnym wzrostem, z nierównomiernym rozrzutem komórek, wśród których wyróżnić można zarówno astrocyty jak i oligodendrocyty (ryc. 5). Astrocyty wykazują wyraźne nasilenie cech pleomorfizmu. Umiarkowanie obfita cytoplazma komórek glejowych często zawiera pojedyncze lub mnogie wodniczki. Drugi typ utkania charakteryzuje się znacznie większym zagęszczeniem wielobocznych i przylegających do siebie ściśle komórek. Wchodzące w jego skład komórki wyróżniają się obfitszą cytoplazmą, większym jądrem oraz brakiem widocznych w barwieniu przeglądowym wypustek. Niezadko występują tu rozetowate układy komórkowe (ryc. 6).

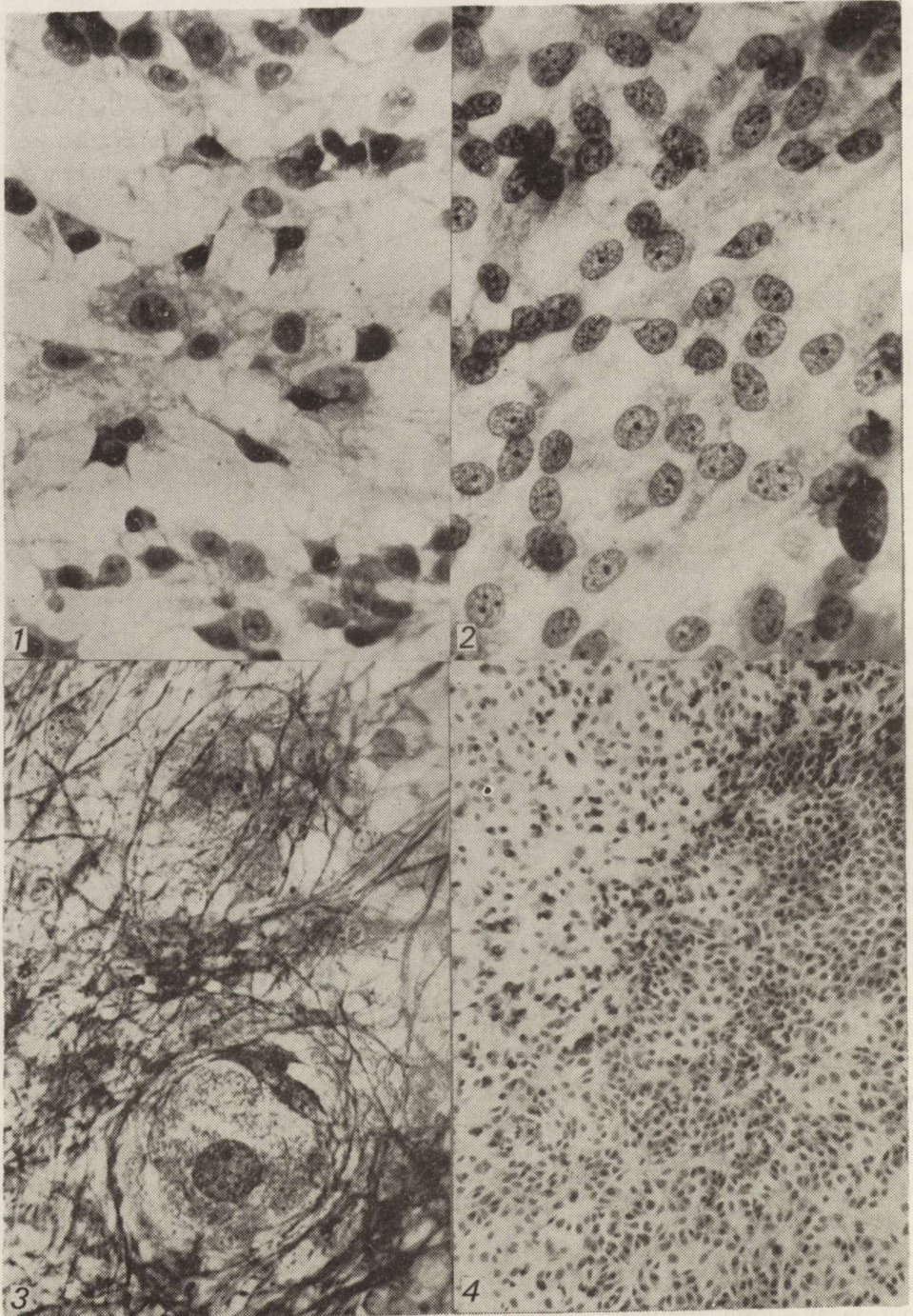
W obszarach obfitej proliferacji komórkowej, niezależnie od typu utkania, widoczne są bardzo liczne mitozy. Spostrzega się patologiczne postacie podziałów komórkowych takie jak mitozy trójbiegunowe, bądź też mitozy o nieprawidłowej liczbie chromosomów (ryc. 7a, b).

W preparatach barwionych Sudanem czarnym B widoczne jest nadmierne nagromadzenie ziarnistych substancji lipidowych w cytoplazmie oligodendrocytów oraz paciorkowate obrzmienie osłonek mieliny.

W badaniach histochemicznych hodowli II grupy występuje nieznaczne osłabienie odczynów ujawniających aktywność poszczególnych dehydrogenaz w komórkach glejowych, położonych na obwodzie strefy wzrostu. Nasilenie odczynów histoenzymatycznych w hodowlach grupy III nie wykazuje istotnych różnic w porównaniu z grupą kontrolną.

Badania mikroskopowo-elektronowe

Grupa I. Spostrzegane zmiany ultrastrukturalne dotyczą wszystkich elementów komórkowych hodowli. W neuronach stwierdza się dysproporcje w ilości gładkiej i szorstkiej siatki śródplazmatycznej. Siatka szorstka wykazuje fragmentację kanałów. Niektóre spośród nich są znacznie poszerzone i wypełnione drobnoziarnistą substancją o małej gęstości elektronowej oraz zawierają małą ilość rybosomów. Siatka



Ryc. 1. Grupa I. Widoczny polimorfizm komórek glejowych. W cytoplazmie komórkowej widoczne liczne wakuole. Nissl. Pow. 400 \times .

Fig. 1. Group I. Pleomorphic glial cells with numerous vacuoles in the cytoplasm. Nissl. $\times 400$.

gładka jest stosunkowo obfita, a aparat Golgiego dobrze rozwinięty. Część mitochondriów wykazuje wyraźne cechy obrzmienia. Aksony zawierają skąpe organelle subkomórkowe, niekiedy występują w nich skupienia glikogenu. Osłonki mielinowe nierzadko wykazują rozwarstwienia blaszek, zwłaszcza zewnętrznych.

Najwyraźniejsze zmiany obserwuje się w komórkach glejowych. Ich jądra są bogato-chromatynowe i wielokształtne, a w cytoplazmie występuje obfite nagromadzenie struktur włókienkowych, przede wszystkim gliofilamentów. Spotyka się także komórki o wydłużonym kształcie, posiadające owalne jądra z lekkimi wgłobieniami otoczki jądrowej. Jądra te zawierają duże skupiska heterochromatyny umiejscowionej tuż pod błoną jądrową. W cytoplazmie widoczne są struktury o budowie charakterystycznej dla rzęsek.

Grupa II i III. Obraz mikroskopowo-elektronowy elementów komórkowych hodowli przetrzymywanych przez okres 3 i 6 dni w prawidłowym środowisku odżywczym, po uprzednim poddaniu ich wpływowi czynnika karcinogenego, różni się istotnie od stwierdzonego bezpośrednio po jego działaniu.

Jądra komórek nerwowych charakteryzują się obecnością elektro-nowo-gęstych jąderek oraz niewielkich skupisk chromatyny położonych bezpośrednio pod otoczką jądrową. W obwodowych częściach jądra, w obszarze chromatyny jądrowej, spotyka się często ziarna perichromatynowe. W otoczce jądrowej widoczne są liczne pory (ryc. 8). W cytoplazmie dużych komórek nerwowych stwierdza się poszerzenie kanałów szorstkiej siatki śródplazmatycznej, które wypełnione są drobnoziarnistą substancją o małej gęstości elektronowo-optycznej (ryc. 9). Pozostałe cytoplazmatyczne struktury subkomórkowe nie wykazują żadnych nieprawidłowości. Zwracają uwagę liczne i dobrze zachowane mitochondria oraz neurotubule.

Małe neurony ziarniste nie wykazują nieprawidłowości w obrazie mikroskopowo-elektronowym cytoplazmy, jedynie w niektórych jądrach stwierdza się zmiany identyczne jak w dużych komórkach nerwowych.

Ryc. 2. Grupa I. Fragment hodowli z zagęszczeniem jednorodnych jąder. Nissl. Pow. 400 X.

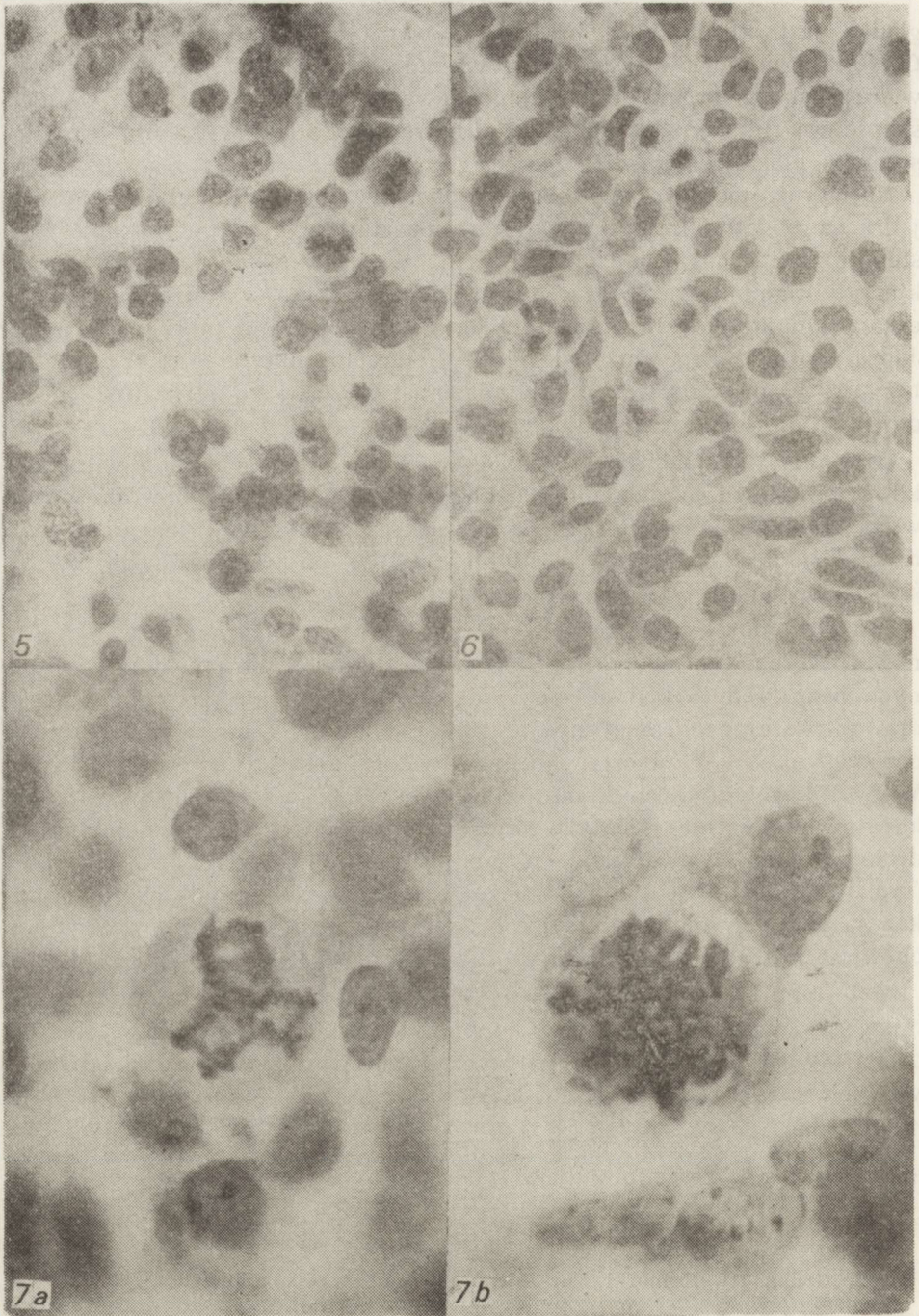
Fig. 2. Group I. Fragment of culture with dense arrangement of homogeneous glial nuclei. Nissl. X 400.

Ryc. 3. Grupa III. Komórki Purkinjego otoczone wypustkami glejowymi i nerwowymi. Bodian. Pow. 400 X.

Fig. 3. Group III. Purkinje cells surrounded by glial and neuronal processes. Bodian. X 400.

Ryc. 4. Grupa II. Obfita proliferacja neurogleju. Widoczna różnica pomiędzy dwoma typami utkania komórkowego. Nissl. Pow. 100 X.

Fig. 4. Group II. Proliferation of neuroglia with an obviously distinct two types of cell arrangement. Nissl. X 100.



Ryc. 5. Grupa II. Pole wzrostu zróżnicowanych komórek glejowych z licznymi mitozami. Nissl. Pow. 400 \times .

Fig. 5. Group II. An area of well differentiated glial cells with numerous mitoses. Nissl. \times 400.

Aksoplazma wypustek komórek nerwowych zawiera niewielką na ogół ilość, zmienionych niekiedy organelli. Osłonki mielinowe wykazują rozszczepianie blaszek, między którymi znajduje się kłaczkowata substancja o małej gęstości elektronowo-optycznej (ryc. 10).

W astrocytach zmiany dotyczą zarówno jądra, jak i cytoplazmy. W jądrze obserwuje się zwiększoną zawartość chromatyny, która tworzy duże skupiska położone bezpośrednio pod błoną jądrową (ryc. 11). Liczba ziaren perichromatynowych jest wprawdzie mniej liczna niż w neuronach, obfitsza jednakże niż w prawidłowym neurogleju *in vitro*. Pory jądrowe są również bardzo liczne. W cytoplazmie astrocytów zwraca uwagę bardzo duża zawartość gliofilamentów, układających się w grube pęczki, zarówno w perikarionie jak i w wypustkach (ryc. 11). Niektóre pęczki gliofilamentów wykazują regularne pofałdowania. Niektóre astrocyty zawierają ziarna glikogenowe położone w cytoplazmie perikarionów i wypustek.

Oligodendrocyty wykazują zmiany w strukturze jąder podobne jak w astrocytach. Jednakże dość często obserwuje się segregację jąder. W jądrach oligodendrocytów obecne są również ziarna perichromatynowe w ilościach na ogół większych niż w astrocytach, oraz bardzo liczne pory (ryc. 12). Cytoplazma oligodendrocytów zawiera obfite skupienia ciał tłuszczowych oraz małe ilości struktur włóknkowych.

W obydwu typach komórek glejowych spotyka się obrazy odpowiadające różnym stadiom podziału mitotycznego. W komórkach tych brak jest błony jądrowej, drobnoziarnista chromatyna tworzy skupienia odpowiadające chromosomom, a cytoplazmatyczne struktury subkomórkowe gromadzą się w obwodowych częściach komórki (ryc. 13).

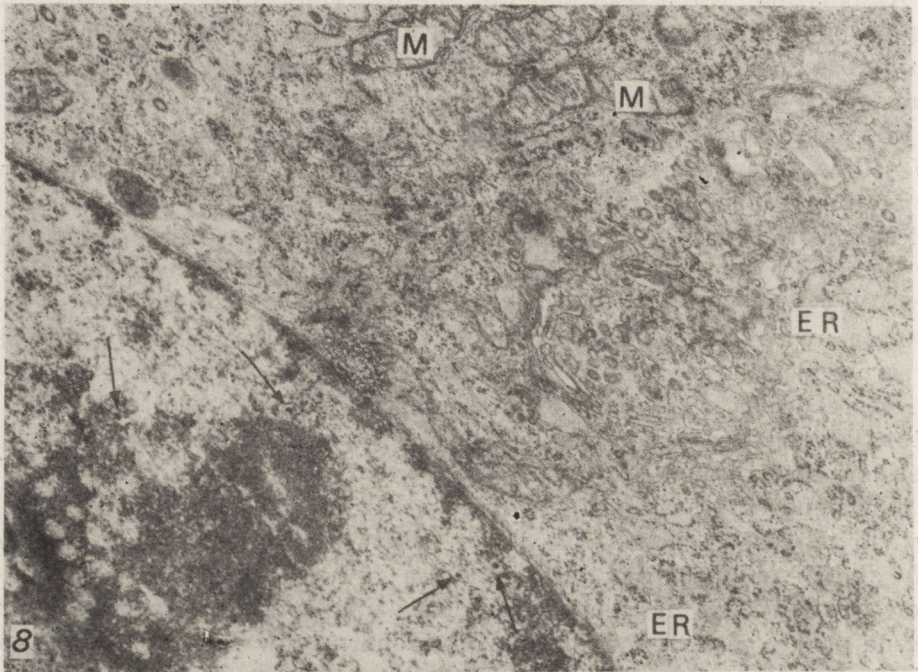
W hodowlach z obu grup spotyka się ponadto komórki wyposażone w rzęski. Ich jądra charakteryzują się obfitą zawartością ziarnistej heterochromatyny zlokalizowanej w pobliżu błony jądrowej oraz znaczną ilością ziaren perichromatynowych (ryc. 14). Na poprzecznych i podłużnych przekrojach rzęsek widoczne są niekiedy ciała podstawne i charakterystyczny układ mikrotubul. Zwykle w strukturze rzęski występuje dziewięć par mikrotubul ułożonych obwodowo i dwie mikrotubule centralne (ryc. 14). Mikroskopowo-elektronowy obraz tych komórek pozwala na ich rozpoznanie jako ependymocytów.

Ryc. 6. Grupa II. Pole wzrostu komórek wyściółki. Jądra komórkowe dość jednorodne. Nissl. Pow. 400 X.

Fig. 6. Group II. An area of ependymal cells growth. Homogeneous cell nuclei. Nissl. X 400.

Ryc. 7. Grupa II. a. Mitoza trójbiegunowa w stadium wczesnej anafazy. Nissl. Pow. 1000 X. b. Patologiczna mitoza z tetraploidną liczbą chromosomów w stadium metafazy. Nissl. Pow. 1000 X.

Fig. 7. Group II. a. Tripolar mitotic figure at the early anaphase stage. Nissl. X 1000. b. Pathological mitotic figure with tetraploid number of chromosomes at the metaphase stage. Nissl. X 1000.

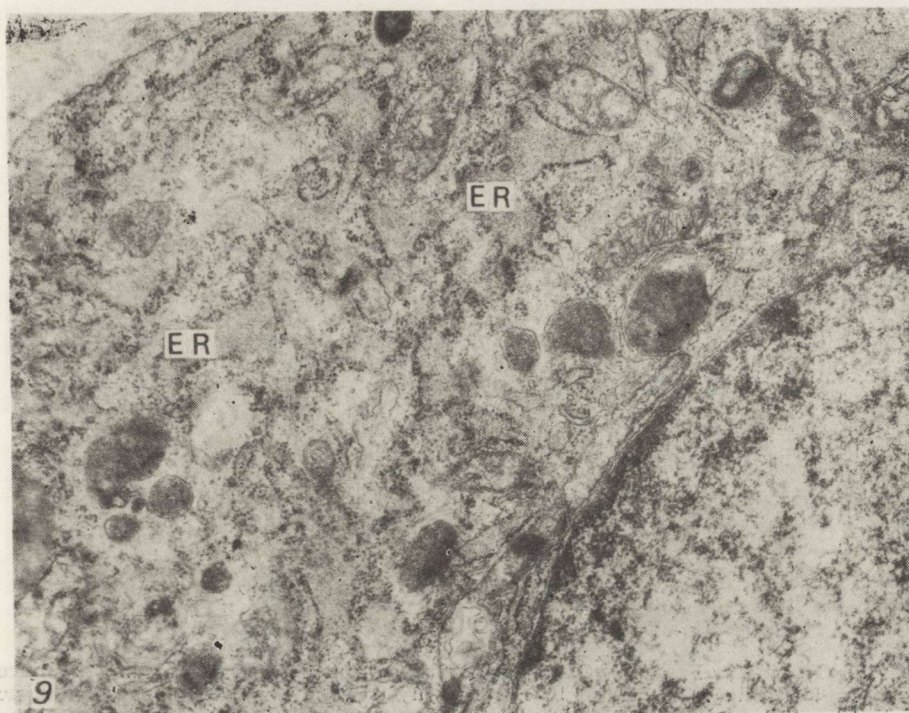


Ryc. 8. Grupa II. Fragment komórki nerwowej. W jądrze komórkowym widoczne elektronowo-gęste jąderko oraz skupienia chromatyny przy błonie jądrowej. Wyraźne pory jądrowe i ziarna perichromatynowe (strzałki). W cytoplazmie komórki poszerzenie kanałów szorstkiej siatki śródplazmatycznej (ER) i liczne mitochondria (M). Pow. 10 500 \times .

Fig. 8. Group II. Fragment of a nerve cell. Electron-dense nucleolus and peripheral condensation of the chromatin are seen in the cell nucleus. Distinct nuclear pores and perichromatin granules (arrows). In the cell cytoplasm the dilatation of rough endoplasmic reticulum channels and numerous mitochondria (M). $\times 10 500$.

OMÓWIENIE

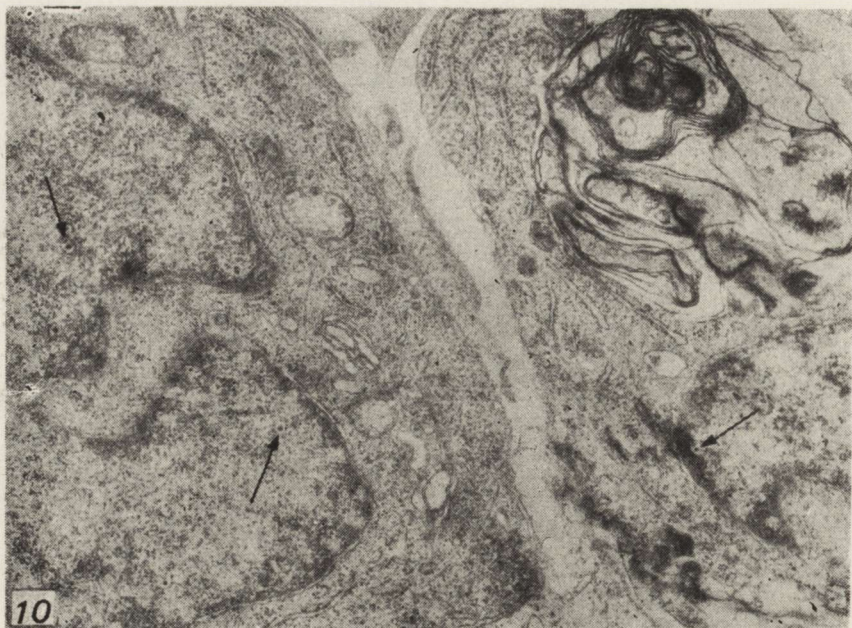
Przeprowadzone badania pozwalają na prześledzenie dynamiki przemian w strukturze organotypowej hodowli tkanki nerwowej, wywołanych przez podanie metylnitrozomocznika bezpośrednio do środowiska odżywczego. Zestawienie obrazów morfologicznych hodowli, bezpośrednio po zadziałaniu czynnika karcinogennego i po 3- i 6-dniowym przeżyciu w środowisku, nie zawierającym karcinogenu, pozwala na stwierdzenie cofania się wykładników cytotoksycznego działania związku na elementy komórkowe hodowli. Należy przy tym podkreślić, że efekt cytotoksyczny MNU w przypadku hodowli 3-tygodniowych, zastosowanych w obecnej pracy, jest znacznie słabiej wyrażony niż w hodowlach młodszych (Kraśnicka, Gajkowska 1979). Wyrazem zmniejszenia się zmian uznanych za wyraz toksycznego działania karcinogenu jest obraz histologiczny i ultrastrukturalny zachowanych w hodowli komórek nerwowych, zwłaszcza cofnięcie się cech obrzmienia mitochondriów i wysoka aktywność enzymów mitochondrialnych. Obraz mikroskopowo-



Ryc. 9. Grupa II. We fragmencie neuronu znacznie poszerzone kanały szorstkiej siatki śródplazmatycznej (ER), wypełnione drobnoziarnistą substancją o małej gęstości elektronowo-optycznej: Pow. 10 500 X.

Fig. 9. Group II. Fragment of a nerve cell. Extensive dilatation of rough endoplasmic reticulum channels (ER) filled with fine granular electron-light material. X 10 500.

-elektronowy neuronów sugerować może ich metaboliczną stymulację, której wyrazem ultrastrukturalnym jest pomnożenie szorstkiej siatki śródplazmatycznej, poszerzenie jej kanałów i wypełnienie ich drobnoziarnistą substancją oraz zwiększona ilość rybosomów. Obrazy te mogą przemawiać za wzmożoną syntezą białek. Obecność licznych ziaren perichromatynowych w jądrach neurocytów wskazywać może natomiast na wzmożoną aktywność jądra, dotyczącą syntezy rybonukleoprotein. Badania biochemiczne, autoradiograficzne i mikroskopowo-elektronowe sugerują, że ziarna perichromatynowe są morfologicznym wykładnikiem przekaźnikowego kwasu rybonukleinowego (m-RNA), przenoszonego z jądra do cytoplazmy (Monneron, Bernhard 1969; Vasquez-Nin, Bernhard 1971; Puvion i wsp. 1977; Gajkowska i wsp. 1977). Całokształt morfologicznego obrazu komórek nerwowych, które ujawniają największe nasilenie uszkodzeń bezpośrednio po zadziałaniu MNU wskazuje, że zmiany te mają charakter odwracalny, a przeniesienie hodowli do warunków prawidłowych wyzwala procesy metabolicznej aktywacji.

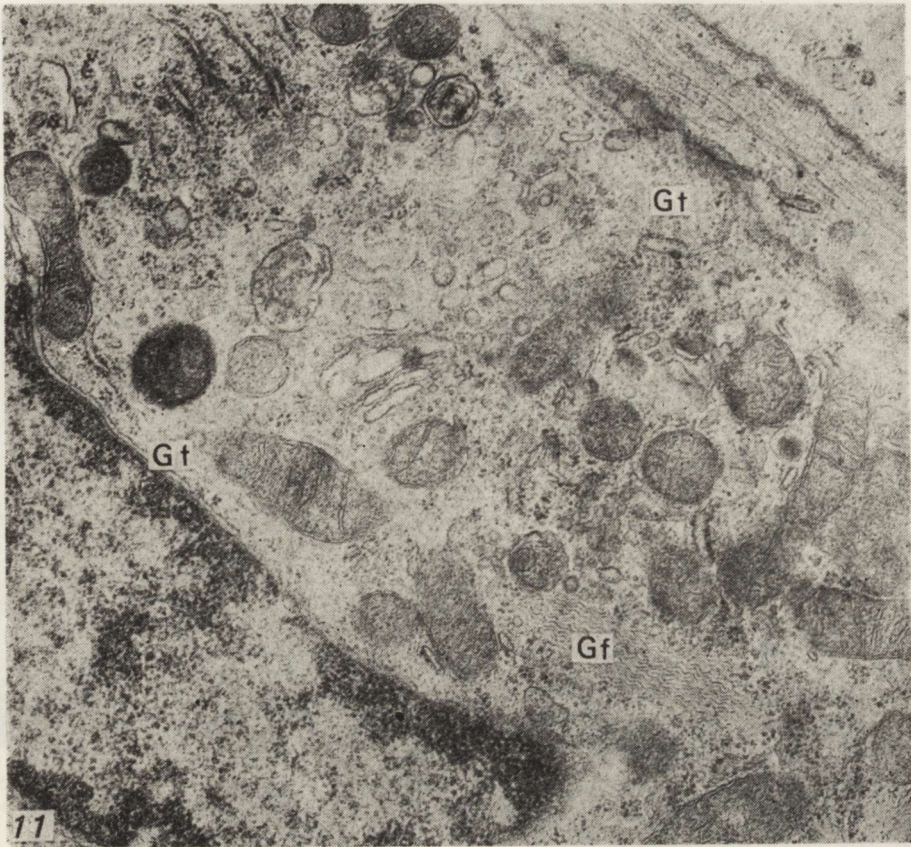


Ryc. 10. Grupa II. Fragmenty dwóch komórek ziarnistych, z jądrami o nieregularnym kształcie z dużą ilością chromatyny oraz z ziarnami perichromatynowymi (strzałki). Pęczek włókien aksonalnych z destrukcją aksoplazmy. Rozwarstwienie blaszek osłonki mielinowej. Pow. 9 500 \times .

Fig. 10. Group II. Fragments of two granular neurons with irregular nuclei, rich in chromatin and perichromatin granules (arrows). A bundle of axons with disintegrated axoplasm. Splitting of myelin lamellae. \times 9500.

Występujące po bezpośrednim działaniu karcinogenu morfologiczne nieprawidłowości w obrazie komórek glejowych ulegają pogłębieniu przy przeniesieniu do środowiska bez MNU i ich utrzymaniu przez okres 3—6 dni. Dotyczy to przede wszystkim takich cech jak wzmożona proliferacja komórkowa, zmiana typu wzrostu, wielopostaciowość zarówno komórek jak i jąder, znaczne zwiększenie zawartości chromatyny w jądrach, nagromadzenie elementów włókiennkowych w cytoplazmie (przede wszystkim astrocytów) oraz obecność licznych mitoz, w tym często patologicznych. Zmiany tego typu występują we wszystkich typach neurogleju, nie wyłączając ependymocytów. Należy podkreślić obecność prawidłowo ukształtowanych rzęsek w polach ławicowego rozplemu komórek wyściółki.

Na odrębną uwagę zasługuje mikroskopowo-elektronowy obraz zmian w jądrach komórek neurogleju. Są one zasadniczo wspólne dla astrocytów, oligodendrocytów i ependymocytów. Bezpośrednio po działaniu MNU wyrażają się znaczną nieregularnością kształtów jąder oraz obfitym nagromadzeniem heterochromatyny w postaci jej dużych skupień przy błonie jądrowej. Zmiany te są bardziej zaznaczone w astrocytach, prawdopodobnie ze względu na odmienny rozkład chromatyny w ich

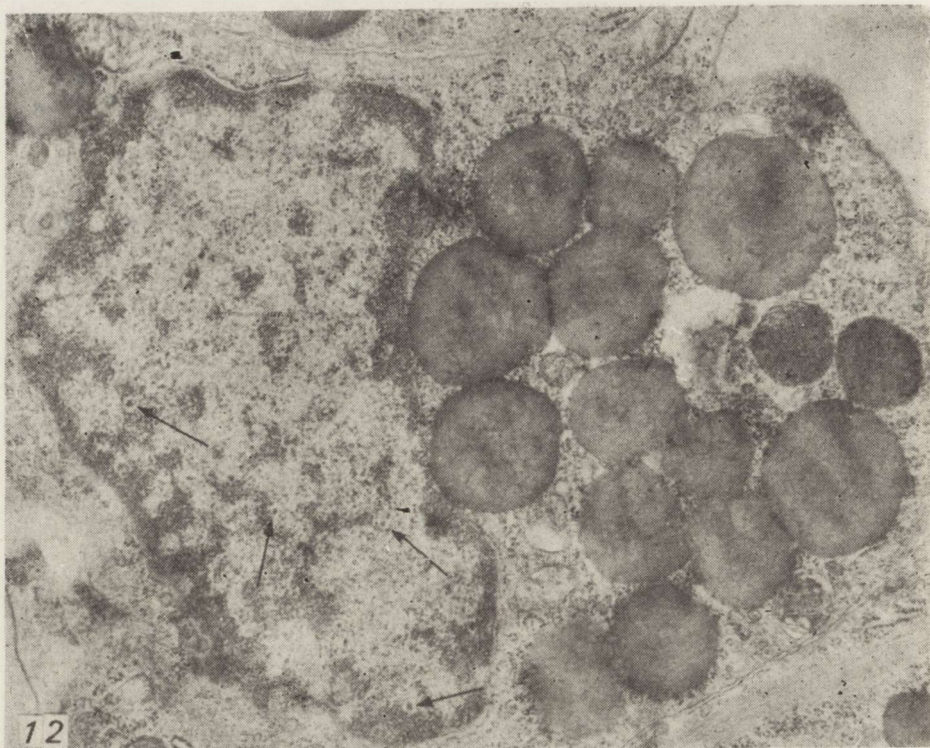


Ryc. 11. Grupa II. Fragment astrocyta z jądrem ze zwiększoną ilością chromatyну tworzącą duże skupienia przy błonie jądrowej. W cytoplazmie widoczny pęczek pofalowanych gliofibrilli (Gf) oraz nieregularnie rozmieszczone gliotubule (Gt). W sąsiednich wypustkach astrocytarnych nagromadzenie gliofibrilli. Pow. 21 000 \times .

Fig. 11. Group II. Fragment of astrocyte with nucleus containing increased amount of chromatin accumulated in the vicinity of the nuclear membrane. In the cytoplasm a bundle of folded gliofibrils (Gf) and irregularly distributed microtubules (Gt). Accumulation of gliofibrils in the astrocytic processes. $\times 21\ 000$.

jądrach, w prawidłowej hodowli tkankowej (Kraśnicka i wsp. 1972). Po przeniesieniu hodowli do prawidłowego środowiska odżywczego następują dalsze przeobrażenia jąder komórkowych. W dużych skupieniach chromatyну pojawiają się obfite ziarna perichromatynowe, a w błonie jądrowej liczne pory. Zjawisko to, zapewne i w przypadku komórek neurogleju, należy interpretować jako wykładnik pobudzenia syntezy rybonukleoprotein. Być może proces ten ma związek ze zwiększoną produkcją śródplazmatycznych elementów włókiennkowych, szczególnie intensywną w przypadku astrocytów.

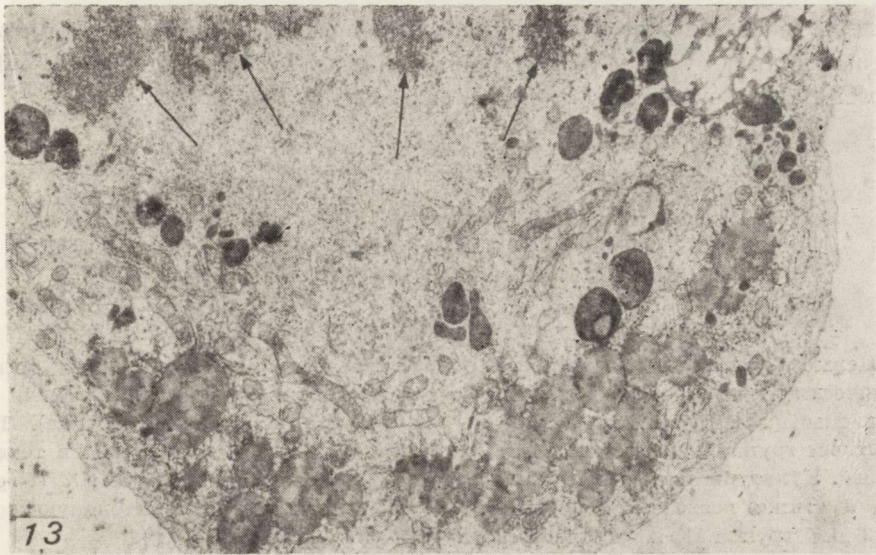
Wyłączenie działania czynnika toksycznego, w przypadku komórek glejowych, podobnie jak i nerwowych, prowadzi do zmniejszenia na-



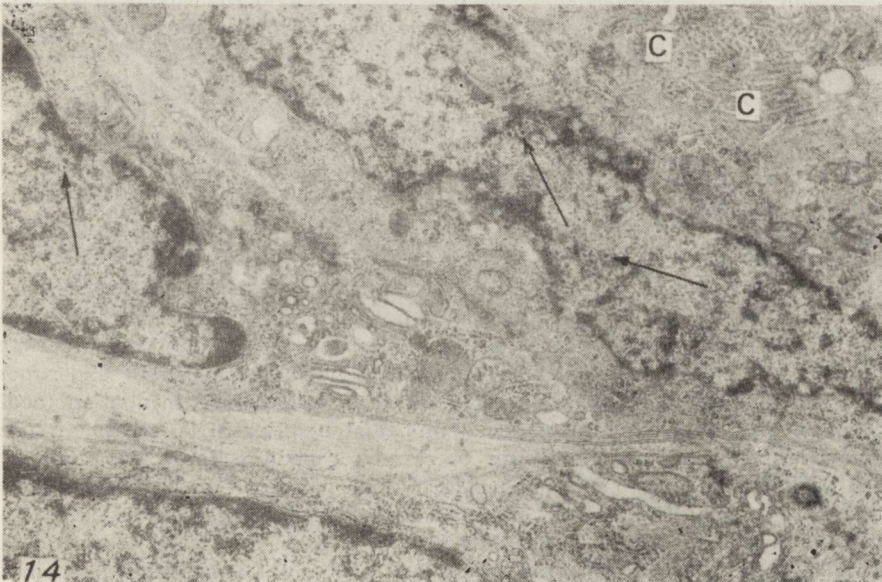
Ryc. 12. Grupa II. W cytoplazmie oligodendrocyta duża ilość kul tłuszczowych. W bogato-chromatynowym jądrze liczne ziarna perichromatynowe (strzałki) i pory jądrowe. Pow. 9 500 \times .

Fig. 12. Group II. Numerous lipid bodies in the oligodendrocyte cytoplasm. A great number of perichromatin granules in karyoplasm (arrows) and abundant pores in the nuclear membrane. \times 9 500.

silenia zmian uznanych za wykładnik cytotoksycznego wpływu MNU. Cofają się przede wszystkim cechy obrzmienia cytoplazmy i mitochondriów w astrocytach. Mniej wyraźna poprawa występuje w oligodendrocytach, w cytoplazmie których utrzymuje się nagromadzenie substancji lipidowych. Z ich zwyrodnieniem zapewne należy wiązać utrzymujące się w hodowlach po wyłączeniu działania karcinogenu, uszkodzenie osłonek mielinowych. W oparciu o obecne spostrzeżenia, ze względu na ograniczony czas obserwacji nie można ocenić, czy proces ma charakter postępujący. Na szczególną wrażliwość oligodendrocytów wskazywać może jeszcze jedno zjawisko zaobserwowane w naszym materiale, a mianowicie segregacja składników jąderka, występująca w znacznym odsetku tych komórek. Jest ona przez większość autorów interpretowana jako wykładnik zahamowania syntezy kwasów nukleinowych, zarówno DNA jak i RNA (Simard, Bernhard 1966; Simard 1970; Puvion i wsp. 1976; Merski i wsp. 1979). Jest to zjawisko tym bardziej uderzające, że obrazy morfologiczne uzyskane przez nas su-



Ryc. 13. Grupa II. Komórka glejowa w stadium podziału mitotycznego. W cytoplazmie widoczne skupiska chromatyny tworzące chromosomy (strzałki). W obwodowych częściach komórki skupione organelle i kule tłuszczowe. Pow. 6 000 \times .
 Fig. 13. Group II. Glial cell at stage of mitotic division. In the cytoplasm the agglomeration of chromatin into chromosomes (arrows). Organelles and lipid bodies shifted towards cell periphery. \times 6 000.



Ryc. 14. Grupa III. Fragmenty dwóch komórek wyściółki. Jądra o nieregularnym kształcie, z dużą ilością chromatyny skupionej przy błonie jądrowej. Wyraźne liczne pory jądrowe. W nukleoplazmie obecne ziarna perichromatynowe (strzałki). W cytoplazmie jednej z komórek widoczny pęczek poprzecznych przeciętych rzęsek (C). Pow. 10 000 \times .

Fig. 14. Group III. Fragment of two ependymal cells. Irregularly shaped cell nuclei with a great amount of chromatin accumulated at the nuclear membrane. Distinct, numerous nuclear pores. Perichromatin granules in the nucleoplasm. In cytoplasm of one cell a bundle of transverse cut cilia (C). \times 10 000.

gerują, że karcinogen w warunkach *in vitro*, po cofnięciu się objawów jego działania cytotoksycznego pobudza procesy metaboliczne w większości elementów komórkowych tkanki nerwowej.

З. Красьницка, Б. Гайковска

ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ И УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ КАРТИНА
ОРГАНОТИПИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ НЕРВНОЙ ТКАНИ ПОСЛЕ
ВОЗДЕЙСТВИЯ МЕТИЛНИТРОЗОМОЧЕВИНЫ

Резюме

Целью работы было исследование переходящего влияния МНМ на органотипические культуры мозжечка крысиных новорожденных. Опыты были поставлены на 4 группах культур (в том числе 1 контрольная группа). Трём опытным группам вводили в питательную среду МНМ в дозе 50 мг⁰/о в течение 3 дней. Культуры исследовали непосредственно после воздействия МНМ (I группа), а также после перемещения культур в нормальную питательную среду на 3 дня (группа II) и на 6 дней (III группа).

Сравнение морфологических картин культуры I группы с культурами II и III групп обнаруживает меньшую выраженность цитотоксических изменений после перемещения культур в среду лишенную МНМ. Касается это прежде всего нейронов и в определенной степени некоторых органелли астроцитов. Обнаруживающиеся же морфологические изменения непосредственно после воздействия МНМ и указывающие на бластоматическую трансформацию глиальных клеток, удерживаются, и даже усиливаются после перемещения культуры в правильные условия.

Z. Kraśnicka, B. Gajkowska

HISTOLOGICAL AND ULTRASTRUCTURAL PICTURE
OF ORGANOTYPIC TISSUE CULTURE OF THE CNS FOLLOWING
EXPOSITION TO MNU ACTION

Summary

The aim of the study was to evaluate the influence of transitory exposure of organotypic tissue cultures of newborn rat cerebella to MNU. The experiments were done on 4 groups of cultures (including control group). In 3 experimental groups MNU in a dose of 50 mg⁰/о was added to the culture incubation medium for 3 days. The cultures were observed immediately after MNU treatment (group I) and after the transfer of cultures to standard medium for 3 days (group II) and 6 days (group III). The comparison of morphological picture of cultures of groups I, II and III showed less pronounced cytotoxic changes in cultures transferred to the medium depleted of MNU. This concerned mostly neurons and to lesser degree astrocytes. On the other hand, changes suggesting blastomatous transformation of glial cells, being present already after direct action of MNU, were enhanced after survival in media devoided carcinogen.

PISMIENNICTWO

1. Gajkowska B., Puvion E., Bernhard W.: Unusual perinucleolar accumulation of ribonucleoprotein granules induced by camptothecin in isolated liver cells. J. Ultrastruct. 1977, 60, 335—347.

2. Kraśnicka Z., Mossakowski M. J.: Zagadnienie zmienności morfologicznej tkanki glejowej hodowanej in vitro. *Neuropat. Pol.* 1965, 3, 397—408.
3. Kraśnicka Z., Mossakowski M. J., Renkawek K.: Morphologie et histochimie de neurons de ganglions spinaux cultivés in vitro dans les conditions d'anoxie. *Neuropat. Pol.* 1971, 9, 93—101.
4. Kraśnicka Z., Borowicz J. W., Gajkowska B.: Ultrastruktura komórki glejowej w hodowli tkankowej in vitro. *Neuropat. Pol.* 1972, 10, 401—412.
5. Kraśnicka Z., Gajkowska B.: Wpływ metylnitrozomocznika (MNU) na organotypową hodowlę tkanki nerwowej. (Badania w mikroskopie świetlnym i elektronowym). *Neuropat. Pol.* 1979, 17, 557—570.
6. Kroh H.: Demyelination in the mouse brain after transplacental administration of N-ethyl-N-nitrosourea (ENU). *Neuropat. Pol.* 1976, 14, 115—119.
7. Kroh M.: Multiple demyelinating foci induced with ethylnitrosourea (ENU) in mouse brain. W: Proc. Intern. Neuropath. Symp. „Brain Tumors and Chemical Injuries to the Central Nervous System”. Warszawa 1976, Red. M. J. Mossakowski, PZWŁ, Warszawa 1978, 30—36.
8. Merski J. A., Daskal Y., Crooke S. T., Busch H.: Acute ultrastructural effects of the antitumor antibiotic carminomycin on nucleoli of rat tissues. *Cancer Res.* 1979, 39, 1239—1244.
9. Monneron A., Bernhard W.: Fine structural organization of the interphase nucleus in some mammalian cells. *J. Ultrastruct. Res.* 1969, 27, 266—268.
10. Puvion E., Moyne G., Bernhard W.: Action of 3'deoxyadenosine (Cordycepin) on the nuclear ribonucleoproteins of isolated liver cells. *J. Microsc. Biol. Cell.* 1976, 25, 17—32.
11. Puvion E., Viron A., Bernhard W.: Unusual accumulation of ribonucleoprotein constituents in the nucleus of cultured rat liver cells after hypothermal shock. *Biol. Cell.* 1977, 29, 81—88.
12. Simard R.: The nucleus action of chemical and physical agents. *Intern. Rev. Cytol.* 1970, 28, 169—205.
13. Simard R., Bernhard W.: Le phénomène de la ségrégation nucléolaire: spécificité d'action de certains antimétabolites. *Intern. J. Cancer.* 1966, 1, 463—479.
14. Wechsler W., Kleihues P., Matsumoto S., Zülch K. J., Ivankovic S., Preussman R., Druckrey H.: Pathology of experimental neurogenic tumors chemically induced during prenatal and postnatal life. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1969, 159, 360—408.
15. Vasquez-Nin G., Bernhard W.: Comparative ultrastructural study of perichromatin and balbiani ring granules. *J. Ultrastruct. Res.* 1971, 36, 842—860.

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

chromatyny neuronalnej i glejowej u szczurów w różnym wieku, Woźniaka (Poznań) o mielinizacji w obwodowym układzie nerwowym człowieka, Ostendy i Jędrzejewskiej (Warszawa) na temat badań ultrastrukturalnych autonomicznego układu jelita szczura w toku rozwoju, Węclewskiej-Kruczyńskiej i Woźniaka (Poznań) o obrazie rdzenia kręgowego podczas rozwoju płodowego, Fidiańskiej (Warszawa) o badaniach ultrastrukturalnych płodowej płytki końcowej, Fidiańskiej i Rafałowskiej (Warszawa) o ultrastrukturalnej charakterystyce dwóch typów motoneuronów w ontogenezie człowieka oraz Wendera i wsp. (Poznań) o związku mielina — akson w rozwijającym się nerwie wzrokowym.

Niezależnie od wymienionych wyżej dwóch głównych zagadnień sympozjum, wiele referatów dotyczyło tematów wolnych. Pierwsza grupa doniesień dotyczyła toksycznego wpływu alkoholu na układ nerwowy. Volk i wsp. (Heidelberg), przedstawili działanie tego związku na różnicowanie neuronów, Dymecki i wsp. (Warszawa), wpływ zatrucia alkoholem na zakończenia aksonalne w mózgu szczurów, a Kissling i Kleihues (Freiburg) wpływ przewlekłego zatrucia etanolem na rozpad białka. Zmiany morfologiczne i histochemiczne wywołane zatruciem związkami cynku były przedmiotem prac referowanych przez Kozika i wsp. (Poznań).

W kilku pracach omówiono problemy zapaleń w układzie nerwowym. Wymienić tu należy doniesienie Wechslera (Kolonia), o znaczeniu antygenów zgodności tkankowej w immunogenezie EAE i EAN oraz Biczysko i wsp. (Poznań), o obrazie ultrastrukturalnym opryszczkowego zapalenia mózgu. Szereg prac dotyczyło problemów neuroonkologii. Na uwagę zasługują doniesienia Hermana i Papierza (Łódź), o obrazie morfologicznym rozlanej glejakowości mózgu oraz Mennela i Miesa (Kolonia), o wynikach chemioterapii cytostatykami i sterydami w przypadkach doświadczalnych, przeszczepialnych guzów mózgu. Kilka interesujących prac, przedstawionych na sympozjum, dotyczyło chorób naczyniowych mózgu. Są to doniesienia Szumańskiej (Warszawa), o zmianach enzymatycznych ściany naczyniowej w warunkach niedotlenienia i niedokrwienia, Pluty i Kapuścińskiego (Warszawa), o stanie czynnościowym współczulnego układu nerwowego w całkowitym doświadczalnym niedokrwieniu, Zalewskiej i wsp. (Warszawa), o wpływie niedokrwienia i niedotlenienia na glikolipidy mózgu, Smiałka (Warszawa), o metabolicznych aspektach niedokrwienia mózgu u chomika mongolskiego oraz Strosznajder (Warszawa), o wpływie niedokrwienia i niedotlenienia na reakcje deacetylacja-reacetylacja fosfoglicerydów błony synapto-somalnej.

W czasie obrad zakomunikowano, że nowym przewodniczącym Niemieckiego Stowarzyszenia Neuropatologii i Neuroanatomii został wybrany prof. Kleihues z Freiburga, gdzie odbędzie się następne sympozjum tego Stowarzyszenia.

Warto podkreślić piękną oprawę Sympozjum, która pozwoliła gościom niemieckim zapoznać się z wieloma aspektami polskiej kultury. Było to dużą zasługą organizatorów konferencji, zwłaszcza przewodniczącego komitetu organizacyjnego doc. J. Kałuży, któremu wszyscy uczestnicy zgotowali na zakończenie obrad serdeczną owację.

Mieczysław Wender

MIECZYŚLAW WENDER, ANDRZEJ ŻÓRAWSKI,
ZOFIA ADAMCZEWSKA-GONCERZEWICZ, OLGA MULAREK

WPLYW ZATRUCIA ETYLONITROZOMOCZNIKIEM NA OBRAZ KWASÓW TŁUSZCZOWYCH LIPIDÓW MIELINY *)

Instytut Chorób Układu Nerwowego i Narządów Zmysłów Akademii Medycznej,
Poznań

Dyrektor: prof. dr M. Wender

Alkilowe pochodne nitrozomocznika, szczególnie metylo- (MNU) i etylonitrozomocznik (ENU), wywierają zarówno bezpośredni jak i oddalony wpływ na rozwijający się układ nerwowy (Bosch 1977). Wyraża się to w letalnych zmianach komórek macierzy, zahamowaniu i opóźnieniu podziałów komórkowych oraz w nieprawidłowym obrazie figur mitotycznych, a także w częstym rozwoju guzów wewnątrz- i zewnątrzneuronalnych.

Kroh (1973, 1978) wykazała, że pod wpływem ENU dochodzi do segmentarnego uszkodzenia mieliny oraz do późnej ogniskowej demielinizacji. Pojawienie się demielinizacji u zwierząt, wykazujących współistnienie skąpodrzewiaków albo mieszanych guzów glejowych może przemawiać na rzecz tezy, że zmiany mielinowe są powiązane z toksycznym uszkodzeniem oligodendrogleju przez etylonitrozomocznik. Podobne dane zawarte są w pracy Lantosa (1971), który opisał letalne i subletalne uszkodzenia oligodendrogleju u dojrzałych szczurów po działaniu dużych dawek ENU.

Na długo przed wystąpieniem zmian morfologicznych mieliny, pojawiają się u myszy zatrutych transłożyskowo etylonitrozomocznikiem, istotne odchylenia w składnikach lipidowych błon mieliny (Wender i wsp. 1978b). Wyniki te wskazują, że ENU, oprócz działania karcinogennego, zaburza również metabolizm lipidów rozwijającego się OUN, co prowadzi do wytworzenia się w przebiegu mielinizacji chemicznie nieprawidłowej osłonki mielinowej. Kontynuując te badania pragniemy przekonać się, czy i w jakim stopniu odchyleniom w zawartości lipidów mieliny odpowiadają zmiany w składzie kwasów tłuszczowych

*) Badania zostały wykonane w ramach problemu węzłowego 10.4.2.02.3.3. koordynowanego przez Polską Akademię Nauk.

tych frakcji lipidowych. Wydawało się to istotne w świetle badań O'Briena (1965) świadczących o tym, że łańcuchy kwasów tłuszczowych mieliny odgrywają dużą rolę w zapewnieniu stabilności połączeń lipidowo-lipidowych tej struktury błoniastej, poprzez oddziaływanie na siebie grup metylenowych. Ewentualnie stwierdzone odchylenia w zakresie składu kwasów tłuszczowych lipidów mieliny mogłyby stanowić istotny czynnik w patomechanizmie rozpadu mieliny w toksycznych mielinopatiach.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na myszach rasy Porton, obu płci. Ciężarnym myszom wstrzykiwano dożylnie, w 15 dniu ciąży, pojedynczą dawkę ENU w ilości 80 mg/kg ciężaru ciała. Noworodki zabijano przez dekapitację w 30, 40 i 70 dniu życia pozapłodowego, to jest w okresie rozwoju, w którym następuje i zostaje zakończony podstawowy proces mielinizacji.

Fracje mielinowe izolowano z mózgów zwierząt za pomocą różnicowego wirowania w nieciągłym gradiencie sacharozy (0,32 i 0,85 M, pH 7,0), przy użyciu rotora horyzontalnego (Norton, Poduslo 1973). Izolowaną mielinę przemywano trzykrotnie wodą destylowaną, stosując po każdym przemyciu wirowanie przez 20 min. przy $75.000 \times g$. Końcowy osad suszono w próżni do stałej wagi. Czystość tak otrzymanej frakcji mielinowej sprawdzano w mikroskopie elektronowym. Fracje mielinowe normalnych zwierząt w tym samym wieku służyły jako materiał kontrolny.

Całkowite lipidy frakcji mielinowej ekstrahowano przy użyciu metody opisanej przez Folch-Pi i wsp. (1957), a następnie ekstrakt lipidów rozdzielano przy użyciu metod chromatografii kolumnowej i cienkowarstwowej w sposób opisany poprzednio (Wender i wsp. 1978a).

Kwasy tłuszczowe lipidów mieliny poddawano metanolizie przy użyciu bezwodnego metanolu zakwaszonego 4% HCl. Powstałe estry metylowe kwasów tłuszczowych ekstrahowano heksanem, a następnie rozpuszczalnik wyparowywano do sucha w atmosferze argonu, według techniki opisanej przez Kishimoto i Radina (1965). Tak otrzymane estry metylowe kwasów tłuszczowych rozdzielano przy użyciu chromatografii cieczowo-gazowej, stosując chromatograf Pye 104, wyposażony w detektor jonizująco-płomieniowy. Kolumny wypełniano 15% bursztynianem glikolu dwuetylowego (DEGS), zaadsorbowanym na gaz-chrom C o 100/120 mesh. Temperatura kolumny 220°C, temperatura detektora 280°C. Jako gaz nośny używano argon. Przepływ gazu 30 ml/min.

Kwasy tłuszczowe identyfikowano przez porównanie odpowiednich szczytów chromatogramów doświadczalnych z otrzymanymi ze stan-

dardowej mieszaniny estrów kwasów tłuszczowych (Applied Sciences Laboratories). Chromatogramy oceniano ilościowo drogą oznaczania pól szczytów wyliczonych z czasu retencji i wysokości szczytu. Wyniki wyrażono we względnym odsetku poszczególnych kwasów tłuszczowych w odniesieniu do ich całości.

WYNIKI

Wyniki badań chemicznych są przedstawione na tabelach 1—4. Analiza obrazu kwasów tłuszczowych poszczególnych frakcji lipidów mieliny wykazuje istotne różnice pomiędzy mieliną normalną, a otrzymaną od myszy zatrutych transłożyskowo etylnitrozomocznikiem.

Fosfatydylocholina, której zawartość jest podwyższona u zwierząt zatrutych ENU, wykazała zmiany dotyczące kwasów tłuszczowych występujących w największych ilościach w tej frakcji lipidowej (tabela 1). Stwierdzono wyraźny spadek odsetka kwasu olejowego (C 18 : 1), istotny w grupach zwierząt 30- i 70-dniowych. U myszy 30-dniowych wystąpił również bardzo wyraźny wzrost zawartości kwasu wielonienasyconego — C 20 : 5 oraz odsetka ogólnej zawartości kwasów nienasyconych. U zwierząt 70-dniowych spostrzeżono również wzrost odsetka kwasu palmitynowego (C 16 : 0).

Znaczne zmiany w obrazie kwasów tłuszczowych wykazała lizofosfatydylocholina mieliny, której zawartość znacznie wzrasta we wczesnym okresie rozwoju po zatruciu ENU. Jest interesujące, że pomimo dużych zmian w zawartości kilku kwasów tłuszczowych, tak nasyconych jak i nienasyconych, ogólna zawartość odsetkowa kwasów nasyconych i nienasyconych nie wykazała przesunięć. We wszystkich grupach doświadczalnych stwierdzono znaczne obniżenie zawartości kwasu olejowego (C 18 : 1) oraz wielokrotny wzrost odsetka kwasu wielonienasyconego (C 20 : 5), a także nieznaczny spadek odsetka kwasu mirystynowego (C 14 : 0).

Również obraz kwasów tłuszczowych plazmalogenu, którego zawartość jest znacznie obniżona w mielinie mózgu zwierząt zatrutych transłożyskowo ENU, wykazał szereg istotnych odchyień. We frakcji tej stwierdzono w grupach zwierząt 40- i 70-dniowych przesunięcie ogólnej zawartości odsetkowej kwasów tłuszczowych nasyconych i nienasyconych, w kierunku znacznego zwiększenia zawartości tych ostatnich. Jest to wynikiem wielokrotnego wzrostu odsetka kwasu nerwonowego (C 24 : 1) i kwasu C 20 : 5 przy równoczesnym spadku zawartości kwasu lignocerynowego (C 24 : 0). Pomimo wymienionego wzrostu ogólnego odsetka kwasów tłuszczowych nienasyconych, zawartość kwasu olejowego (C 18 : 1) była we wszystkich grupach doświadczalnych obniżona.

Tabela 1. Skład procentowy kwasów tłuszczowych fosfatydylocholiny mózgowej mieliny w transłożyskowym zatruciu ENU
Table 1. Percent composition of fatty acids in phosphatidyl choline of brain myelin in transplacental ENU intoxication

Kwasy tłuszczowe Fatty acids (FA)	Wiek myszy Age of mice					
	30 dni	30 days	40 dni	40 days	70 dni	70 days
	Norma Normal	Doświadczalne Experimental	Norma Normal	Doświadczalne Experimental	Norma Normal	Doświadczalne Experimental
14 : 0	0,4±0,26	0,3±0,06	0,7±0,03	0,2±0,03	1,1±0,16	0,3±0,03
14 : 1	0	0,1±0,03	0,1±0,07	0	0,1±0,06	0,1±0,03
15 : 0	0,2±0,15	0,4±0,05	0,4±0,06	0,2±0,03	0,3±0,04	0,3±0,04
16 : 0	28,3±1,62	32,0±3,39	34,8±1,71	30,2±3,31	26,8±1,21	37,2±1,85
16 : 1	0,8±0,17	0,7±0,16	0,2±0,03	0,5±0,08	1,0±0,06	0,4±0,04
17 : 0	0,3±0,07	0,3±0,09	0,9±0,07	0,1±0,08	0,3±0,05	0,4±0,08
18 : 0	19,1±0,84	21,4±1,42	23,6±1,19	26,4±2,18	23,0±0,44	22,5±0,40
18 : 1	22,2±2,55	13,6±0,82	23,5±2,04	20,5±2,13	30,3±0,99	15,8±1,87
18 : 2	0,5±0,10	0,2±0,06	0,6±0,12	0,4±0,05	0,7±0,05	0,3±0,03
18 : 3	0,6±0,13	1,1±0,27	0,5±0,07	0,3±0,05	0,4±0,06	0,4±0,03
20 : 0	0	0,4±0,11	0	0,1±0,10	0	0,1±0,03
20 : 1	1,0±0,13	1,5±0,18	1,8±0,18	1,1±0,11	0,8±0,10	0,8±0,07
Niezydentyfikowany Unidentified	1,5±0,28	0,4±0,12	0,2±0,08	1,8±0,41	2,3±0,09	1,4±0,20
20 : 2	10,8±2,32	9,4±1,61	10,8±1,48	8,2±0,51	6,4±0,59	9,0±0,77

20 : 3	1,6±0,38	1,7±0,34	1,0±0,22	1,5±0,11	2,4±0,46	1,0±0,16
20 : 4	4,2±1,41	2,2±0,65	0,8±0,12	1,3±0,13	1,3±0,39	1,2±0,15
20 : 5	0,5±0,11	6,4±1,72	2,6±0,66	1,3±0,32	0,5±0,07	2,6±0,46
Niezidentyfikowany Unidentified	0,7±0,14	1,6±0,41	1,0±0,93	0,6±0,09	0	0,4±0,15
Niezidentyfikowany Unidentified	0	3,4±0,94	0	1,0±0,21	0	1,2±0,22
Niezidentyfikowany Unidentified	0	0	0	0	0	0
24 : 0	1,0±0,21	1,5±0,06	2,0±0,83	1,0±0,10	0,4±0,37	1,2±0,37
24 : 1	3,0±0,66	0,8±0,53	0,8±0,28	3,2±1,19	1,2±0,39	3,2±0,41
Niezidentyfikowany Unidentified	2,2±0,75	0	2,9±1,54	0	0,5±0,31	0
Niezidentyfikowany Unidentified	0,9±0,15	0	0,7±0,89	0	0	0
Ogólny % nasyconych Total saturated FA	49,3±2,11	56,3±2,81	62,4±3,19	58,2±2,98	51,9±3,62	62,0±4,02
Ogólny % nienasyconych Total unsaturated FA	34,6±1,73	18,9±1,79	12,0±2,06	30,2±3,86	38,9±2,17	26,0±1,97
Ogólny % niezidentyfikowanych Total unidentified FA	16,1±1,96	24,8±1,36	25,6±2,03	11,5±1,14	9,2±1,26	12,0±0,96

Średnia ± średni błąd średniej,
The values are given as mean ± S.E.

Liczba doświadczeń w każdej grupie: 6
Number of experiments in each group: 6

Istotne różnice podkreślono
Significant differences underlined

Tabela 2. Skład procentowy kwasów tłuszczowych lizofosfatydylocholiny mózgowej mieliny w transłożyskowym zatruciu ENU
Table 2. Percent composition of fatty acids in lysophosphatidyl choline of brain myelin in transplacental ENU intoxication

Kwasy tłuszczowe Fatty acids (FA)	Wiek myszy Age of mice					
	30 dni	30 days	40 dni	40 days	70 dni	70 days
	Norma Normal	Doświadczalne Experimental	Norma Normal	Doświadczalne Experimental	Norma Normal	Doświadczalne Experimental
14 : 0	3,6±0,37	0,5±0,14	3,4±0,58	1,0±0,24	2,7±0,29	0,9±0,23
14 : 1	0,4±0,07	0,1±0,04	0,4±0,09	0,3±0,08	0	0,3±0,04
15 : 0	1,0±0,23	0,6±0,13	0,9±0,11	0,9±0,09	0,9±0,11	0,9±0,11
16 : 0	22,3±1,84	20,3±2,12	16,7±1,86	15,0±1,06	26,7±2,46	22,8±1,89
16 : 1	2,9±0,51	1,3±0,17	1,3±0,31	2,3±0,27	3,4±0,94	1,3±0,05
17 : 0	2,1±0,59	0,2±0,03	1,1±1,66	0,7±0,18	1,8±0,06	0,8±0,12
18 : 0	16,8±1,47	19,3±0,29	18,8±1,37	14,9±0,69	19,5±1,22	20,9±1,11
18 : 1	16,8±1,62	6,4±1,92	20,1±3,46	9,8±1,03	13,7±0,77	4,9±0,51
18 : 2	1,2±0,21	0,4±0,08	1,0±0,22	0,8±0,17	1,6±0,14	0,6±0,06
18 : 3	2,5±0,20	3,2±0,38	1,3±1,62	1,8±0,24	2,7±0,42	2,1±0,29
20 : 0	0	0,6±0,13	0	1,3±0,36	0	0,5±0,09
20 : 1	1,4±0,29	1,1±0,11	1,4±0,28	1,5±0,26	1,3±0,14	1,3±0,23
Niezidentyfikowany Unidentified	1,3±0,09	0,9±0,29	1,2±0,29	0,8±0,29	1,2±0,15	0,4±0,14
Niezidentyfikowany Unidentified	0,4±0,27	0	0	0	0,3±0,12	0

20 : 2	1,1 ± 0,30	1,2 ± 0,16	<u>0,4 ± 0,13</u>	<u>2,0 ± 0,28</u>	0,6 ± 0,16	1,0 ± 0,09
Niezidentyfikowany Unidentified	0,4 ± 0,38	0	0,2 ± 0,15	0	0	0
20 : 3	7,7 ± 0,97	5,6 ± 1,08	4,9 ± 1,26	7,8 ± 1,30	6,7 ± 1,07	3,3 ± 0,78
20 : 4	2,5 ± 0,74	2,8 ± 0,34	<u>7,0 ± 1,00</u>	<u>3,8 ± 0,27</u>	3,9 ± 1,01	<u>3,1 ± 0,38</u>
20 : 5	1,5 ± 0,38	21,4 ± 2,84	<u>1,8 ± 0,36</u>	<u>20,9 ± 1,58</u>	1,6 ± 0,36	18,2 ± 1,28
Niezidentyfikowany Unidentified	1,3 ± 0,33	0	1,2 ± 0,30	0,8 ± 0,34	1,2 ± 0,28	1,4 ± 0,53
Niezidentyfikowany Unidentified	0,2 ± 0,24	1,6 ± 0,25	<u>0,3 ± 0,27</u>	<u>2,9 ± 0,16</u>	0	1,2 ± 0,46
24 : 0	1,4 ± 0,64	2,1 ± 0,26	1,4 ± 0,75	2,5 ± 0,25	1,0 ± 0,19	2,3 ± 0,29
24 : 1	4,0 ± 1,37	1,1 ± 0,33	11,4 ± 2,29	4,8 ± 0,25	3,4 ± 0,54	4,2 ± 1,34
Niezidentyfikowany Unidentified	1,6 ± 1,45	0	0,9 ± 0,39	0	0	0
<hr/>						
Ogólny % nasyconych Total saturated FA	47,2 ± 2,81	43,6 ± 2,01	42,3 ± 2,07	36,3 ± 2,16	52,6 ± 4,17	49,1 ± 2,33
Ogólny % nienasyconych Total unsaturated FA	42,0 ± 2,36	44,6 ± 1,78	51,0 ± 2,49	55,8 ± 3,02	38,9 ± 2,13	40,3 ± 3,18
Ogólny % niezidentyfiko- wanych Total unidentified FA	10,8 ± 1,17	11,8 ± 0,87	6,7 ± 1,20	7,9 ± 0,97	8,5 ± 0,78	10,6 ± 1,04

Średnia ± średni błąd średniej
The values are given as mean ± S.E.

Liczba doświadczeń w każdej grupie: 6
Number of experiments in each group: 6

Istotne różnice podkreślono
Significant differences underlined

Tabela 3. Skład procentowy kwasów tłuszczowych plazmalogenu mózgowej mieliny w transłożyskowym zatruciu ENU

Table 3. Percent composition of fatty acids in plasmalogen of brain myelin in transplacental ENU intoxication

Kwasy tłuszczowe Fatty acids (FA)	Wiek myszy Age of mice					
	30 dni	30 days	40 dni	40 days	70 dni	70 days
	Norma Normal	Doświadczalne Experimental	Norma Normal	Doświadczalne Experimental	Norma Normal	Doświadczalne Experimental
14 : 0	1,2±0,46	1,2±0,33	1,9±0,38	0,2±0,05	1,2±0,16	0,6±0,04
14 : 1	0,4±0,24	0,1±0,06	0,2±0,04	0,1±0,00	0,1±0,04	0,2±0,03
15 : 0	0,5±0,21	0,7±0,07	0,7±0,12	0,3±0,05	0,5±0,11	0,4±0,02
16 : 0	10,5±2,45	13,4±1,36	13,9±1,47	6,2±0,44	9,4±0,82	7,2±0,47
16 : 1	2,4±0,98	1,4±0,28	1,3±0,17	0,5±0,09	0,9±0,10	0,5±0,05
17 : 0	0,6±0,21	0,6±0,14	0,6±0,10	0,3±0,06	0,6±0,09	0,3±0,03
18 : 0	6,8±0,97	9,6±0,92	12,0±0,67	14,8±0,71	7,5±0,82	7,7±1,00
18 : 1	25,7±1,31	5,9±2,01	10,6±3,17	3,7±0,68	11,4±1,63	3,0±0,41
18 : 2	0,8±0,11	0,5±0,16	0,6±0,09	0,2±0,05	1,0±0,35	0,3±0,04
18 : 3	1,4±0,39	2,1±0,28	1,7±1,16	0,8±0,10	1,4±0,22	0,8±0,08
20 : 0	0	0,6±0,09	0	0,2±0,04	0	0,1±0,03
20 : 1	4,1±0,73	6,6±1,03	6,3±1,01	3,3±0,26	2,4±0,38	4,5±0,26
Niezidentyfikowany Unidentified	10,7±2,22	1,7±0,77	0,6±0,09	0	2,4±1,65	0
Niezidentyfikowany Unidentified	0	0	0	0	0	0
20 : 2	0,4±0,06	0,6±0,12	0,6±0,09	0,8±0,11	0,8±0,33	0,8±0,10
Niezidentyfikowany Unidentified	0	0	0	0	0	0
Niezidentyfikowany Unidentified	10,8±1,17	18,5±1,01	17,5±3,04	8,9±0,24	28,6±1,02	5,5±0,48

20 : 3	4,8±0,93	5,2±1,00	2,3±0,57	4,7±1,18	4,2±0,77	2,9±0,34
20 : 4	1,0±0,26	2,7±0,42	2,3±1,13	1,3±0,25	1,2±0,18	2,2±1,11
20 : 5	2,3±0,26	5,9±1,47	1,4±0,26	7,3±0,91	0,9±0,31	7,4±0,56
Niezidentyfikowany Unidentified	0	2,8±1,16	0	1,9±0,62	0	1,6±0,21
Niezidentyfikowany Unidentified	3,6±0,38	5,2±0,89	10,8±1,29	2,7±0,29	14,7±1,47	2,6±0,14
Niezidentyfikowany Unidentified	0	6,2±0,91	0	6,1±0,89	0	5,8±0,39
24 : 0	6,2±1,76	4,2±0,61	6,6±1,22	0,2±0,22	6,2±2,77	0,5±0,28
24 : 1	1,3±0,32	4,3±0,92	0,9±0,46	34,4±2,51	1,0±0,10	45,1±1,78
Niezidentyfikowany Unidentified	2,2±0,68	0	7,2±0,89	1,1±0,59	3,6±0,90	0
Niezidentyfikowany Unidentified	2,3±1,74	0	0	0	0	0
Ogólny % nasyconych Total saturated FA	25,8±2,56	30,3±1,79	35,7±2,85	22,2±1,20	25,4±1,16	16,8±0,94
Ogólny % nienasyconych Total unsaturated FA	44,6±3,11	35,3±2,06	28,2±2,23	57,1±3,65	25,3±2,02	67,7±3,17
Ogólny % niezidentyfiko- wanych Total unidentified FA	29,6±2,26	34,4±1,94	36,1±2,16	20,7±2,83	49,3±8,21	15,5±2,03

Średnia ± średni błąd średniej

The values are given as mean ± S.E.

Liczba doświadczeń w każdej grupie: 6

Number of experiments in each group: 6

Istotne różnice podkreślono

Significant differences underlined

Tabela 4. Skład procentowy kwasów tłuszczowych estrów cholesterolu mózgowej mieliny w transłożyskowym zatruciu ENU

Table 4. Percent composition of fatty acids in cholesterol esters of brain myelin in transplacental ENU intoxication

Kwasy tłuszczowe Fatty acids (FA)	Wiek myszy Age of mice					
	30 dni	30 days	40 dni	40 days	70 dni	70 days
	Norma Normal	Doświadczalne Experimental	Norma Normal	Doświadczalne Experimental	Norma Normal	Doświadczalne Experimental
14 : 0	3,4±0,62	1,5±0,79	3,2±0,29	2,0±0,79	4,4±0,50	3,7±1,61
14 : 1	0,1±0,04	0,2±0,07	0,2±0,04	0,3±0,00	0,3±0,13	0,6±0,27
15 : 0	1,9±0,22	1,0±0,24	1,5±0,09	1,7±0,32	1,8±0,09	1,8±0,30
16 : 0	26,5±2,91	20,9±1,94	25,3±3,46	21,2±2,09	29,5±3,37	24,5±0,25
16 : 1	5,3±0,38	5,6±0,59	3,8±0,31	6,9±1,26	5,9±0,55	3,9±0,25
17 : 0	3,5±2,06	1,7±0,06	1,3±0,19	1,5±0,09	1,9±0,31	1,1±0,12
18 : 0	15,2±0,39	15,7±2,28	16,6±2,14	15,1±1,08	18,5±0,64	16,7±0,49
18 : 1	18,2±0,90	22,9±0,63	14,1±0,51	24,2±4,30	18,6±0,77	11,4±0,53
18 : 2	1,5±0,12	1,5±0,43	2,7±0,15	1,3±0,04	3,3±1,29	1,2±0,21
18 : 3	0,7±0,09	1,8±0,30	2,6±0,21	1,7±0,15	1,5±0,27	2,2±0,25
20 : 0	1,2±0,18	0,8±0,12	0	0,8±0,21	0	1,2±0,23
Niezidentyfikowany Unidentified	1,4±0,15	0	0	0	0	0
20 : 1	1,0±0,40	1,9±0,14	1,2±0,15	1,7±0,14	1,0±0,09	1,8±0,19
Niezidentyfikowany Unidentified	1,3±0,25	0,6±0,10	2,0±0,50	0,6±0,06	0,8±0,27	0,4±0,04
Niezidentyfikowany Unidentified	0	1,1±0,27	0	1,2±0,21	0	1,7±0,30
20 : 2	0,4±0,00	0,3±0,06	0,8±0,07	0,3±0,09	0,4±0,14	0,2±0,04
Niezidentyfikowany Unidentified	0,7±0,29	0,6±0,07	1,2±0,35	0,5±0,25	0,3±0,30	0,7±0,09

20 : 3	5,0±0,35	4,3±0,61	1,3±0,44	4,7±0,75	2,6±0,30	4,3±0,90
20 : 4	3,8±0,52	7,6±1,57	4,5±0,50	6,8±1,53	2,9±0,04	6,2±0,97
20 : 5	1,3±0,06	1,8±0,17	2,4±0,17	1,1±0,44	0,9±0,14	9,1±0,99
Niezidentyfikowany Unidentified	1,7±0,21	1,4±0,12	8,0±0,29	1,0±0,07	1,5±0,15	1,1±0,49
Niezidentyfikowany Unidentified	0	0	0,8±0,34	0	0	1,0±0,14
Niezidentyfikowany Unidentified	0	1,4±1,07	0	0,3±0,34	0	0,4±0,13
24 : 0	1,7±0,09	5,4±0,32	0,5±0,27	5,1±1,37	1,4±0,33	4,8±0,46
24 : 1	4,2±0,52	0	3,2±1,09	0	2,5±0,49	0
Niezidentyfikowany Unidentified	0	0	2,8±1,85	0	0	0
Niezidentyfikowany Unidentified	0	0	0	0	0	0
Ogólny % nasyconych Total saturated FA	53,4±3,16	47,0±2,39	48,4±1,65	47,4±3,11	57,5±3,82	53,8±4,01
Ogólny % nienasyconych Total unsaturated FA	41,5±2,57	47,9±1,89	36,8±2,01	49,0±2,14	39,9±1,94	40,9±2,18
Ogólny % niezidentyfikowanych Total unidentified FA	5,1±0,72	5,1±0,66	14,8±0,93	3,6±0,46	2,6±0,13	5,3±0,29

Średnia ± średni błąd średniej
The values are given as mean ± S.E.

Liczba doświadczeń w każdej grupie: 6
Number of experiments in each group: 6

Istotne różnice podkreślono
Significant differences underlined

Skład odsetkowy kwasów tłuszczowych estrów cholesterolu mieliny po zatruciu ENU odbiegał również, chociaż tylko nieznacznie, od obrazu stwierdzonego w estrach cholesterolu mieliny zwierząt kontrolnych.

Zmianą widoczną we wszystkich grupach doświadczalnych był wzrost odsetkowy kwasu lignocerynowego (C 24 : 0). W grupie zwierząt 70-dniowych stwierdzono ponadto bardzo wyraźny wzrost odsetka kwasów wielonienasyconych: arachidynowego — C 20 : 4 i kwasu C 20 : 5.

OMÓWIENIE

Zewnątrz- i wewnątrzpochodne czynniki szkodliwe, działające we wczesnym okresie rozwoju wewnątrzmacicznego, wywołują szereg zmian anatomicznych i czynnościowych rozwijającego się płodu. Najlepiej poznany jest wpływ promieniowania jonizującego, zaburzającego rozwój narządów płodu, w tym również i ośrodkowego układu nerwowego (Haley, Snider 1964; Sikov, Mahlum 1969). Pojedyncza dawka promieniowania jonizującego zastosowana w 8—9 dniu rozwoju zaburza występujące w normie różnicowanie składu aminokwasowego białek, co pozostaje ich trwałą cechą, określaną jako defekt metaboliczny (Wender, Waligóra 1964). Promieniowanie jonizujące, działające w okresie ciąży, również w mózgu zaburza pierwszy etap biosyntezy białka, zależny od aktywności syntetaz aminoacylo-sRNA (Wender, Zgorzalewicz 1970; 1976), a także aktywność szeregu innych enzymów, np. acetylocholinoesterazę (Moletta i wsp. 1967), czy sulfohydrolazę siarczanów arylowych (Wender, Wenclewski 1964). Zmiany te, podobnie jak nieprawidłowości w składzie lipidów mózgu (Wender 1965), przebiegać mogą bez uchwytnych zmian morfologicznych.

Jak stwierdzono w naszych poprzednich badaniach, również etylo-nitrozomocznik podany tranślózyskowo prowadzi do wytworzenia błędu metabolicznego w strukturalnych składnikach mózgu. Tworząca się w tych warunkach doświadczalnych chemicznie nieprawidłowa mielina, wykazuje znaczne odchylenia w obrazie lipidów. Niniejsze badania wykazały, że lipidy, których zawartość jest w mielinie nieprawidłowa, odznaczają się odchyleniami w składzie kwasów tłuszczowych. Wskazuje to na daleko idące przesunięcia w błonach lipidowych osłonek. W świetle przytoczonych we wstępie pracy danych, świadczących o ważnym znaczeniu długołańcuchowych kwasów tłuszczowych w stabilizacji lipidowo-lipidowych połączeń struktur błoniastych, może to stanowić czynnik ułatwiający dekompozycję mieliny i następową demielinizację, stwierdzoną przez Kroh (1973; 1978) w późnych okresach po zatruciu pochodnymi alkilowymi nitrozomocznika.

Podstawowym zagadnieniem dla zrozumienia mechanizmu tworzenia się nieprawidłowej mieliny w następstwie tranślózyskowego zatrucia etylnitrozomocznikiem jest pytanie, czy jest to wynikiem nieprawidłowości w rozwijającym się neurogleju, szczególnie w oligodendrocy-

tach, czy też bezpośrednio zależy od zaburzenia układu akson—mielina. Zagadnienie to było już częściowo dyskutowane w naszej poprzedniej pracy na temat wpływu zatrucia ENU na lipidy rozwijającego się mózgu (Wender i wsp. 1978b).

Istnieje cały szereg danych wskazujących, że występują znaczne różnice w stopniu metylacji RNA, zależnie od rozwoju organizacji komórkowej. Przenośnikowy RNA z tkanki nerwowej zwierząt dojrzałych zawiera znacznie mniej metylowanych nukleozydów niż otrzymany z mózgu płodowego. Zdaje się to świadczyć o tym, że na poszczególnych etapach różnicowania komórek następuje utrata grup metylowych kwasów nukleinowych, przy czym stopień metylacji kwasów nukleinowych jest swoistą i trwałą własnością komórki dojrzałej (Viale 1972).

Biologiczny wpływ chemicznych związków alkilujących, takich jak ENU, odnosi się do ich działania modyfikującego strukturę DNA, podczas gdy oddziaływanie tych związków na enzymy cytoplazmatyczne zdaje się być efektem dodatkowym i drugorzędnym. Magee i Farber (1962) stwierdzili, że alkilowe pochodne nitrozomocznika są metabolizowane *in vivo* do 7-alkilogwaniny, którą wyizolowano z kwasów nukleinowych niektórych komórek w okresie zatrucia. Na nadmierną alkilację kwasów nukleinowych, zachodzącą pod wpływem działania ENU na ustrój żywy, wskazują również badania Gotha i Rajewsky'ego (1972).

Nieprawidłowa alkilacja DNA uważana jest za istotną przyczynę mutacji karcynogennych, prowadzących do rozwoju guzów doświadczalnych. W przypadku niedojrzałego układu nerwowego, składniki alkilujące mogą powodować nadmierną alkilację kwasów nukleinowych proliferujących komórek macierzy, z których część różnicuje się do neurogleju biorącego udział w gleziozie mielinizacyjnej (Wender, Kozik 1968). Może to zaburzać ich rozwój i oddziaływanie czynnościowe na tworzącą się mielinę. Twierdzenie, że dochodzi w ten sposób do zaburzeń w rozwoju składników lipidowych osłonki mielinowej byłoby jednak przypuszczeniem całkowicie hipotetycznym.

PODSUMOWANIE I WNIOSKI

1 Etylonitrozomocznik podany myszom w 15 dniu ciąży w dawce 80 mg/kg ciężaru ciała prowadzi u noworodków do powstania odchyleń w składzie kwasów tłuszczowych lipidów mieliny.

2. Fosfatydylocholina oraz lizofostatydylocholina mieliny mózgu myszy, zatrutych transłożyskowo ENU wykazują zmiany odsetka kwasu olejowego (C 18 : 1) oraz kwasu wielonienasyconego (C 20 : 5), a plazmalogen mieliny przesunięcie ogólnej zawartości kwasów tłuszczowych nasyconych i nienasyconych oraz wzrost odsetka kwasów nerwonowe-

go (C 24:1) i C 20:5, przy równoczesnym spadku zawartości kwasu lignocerynowego (C 24:0).

3. Wpływ transłożyskowy ENU na ośrodkowy układ nerwowy wyraża się nie tylko w działaniu karcinogennym, ale również w zaburzeniu metabolizmu lipidów struktur błoniastych rozwijającego się mózgu.

4. Etylonitrozomocznik działając transłożyskowo prowadzi do wytworzenia chemicznie nieprawidłowej osłonki mielinowej, w której zarówno ogólna zawartość lipidów, jak i skład kwasów tłuszczowych odbiegają w sposób istotny od obrazu typowego dla mózgu prawidłowego.

M. Вендер, А. Журавски, З. Адамчевска-Гонджевич, О. Мулярек

ВЛИЯНИЕ ОТРАВЛЕНИЯ ЭТИЛНИТРОЗОМОЧЕВИНОЙ НА КАРТИНУ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ЛИПИДОВ МИЕЛИНА

Резюме

Исследовали влияние внутривенной подачи беременным мышам однократной дозы этилнитрозомочевина (ЭНМ, 80 мг/кг) на состав жирных кислот липидов миеллина мозга новорожденных. Миелин исследовали на 30, 40 и 70 постнатальный день.

Были получены следующие результаты:

- 1) ЭНМ, введенный мышам на 15 день беременности ведет к развитию отклонений в составе жирных кислот липидов миеллина у новорожденных.
- 2) Фосфатидилхолин и лизофосфатидилхолин миеллина мозга мышей, отравленных трансплацентарно ЭНМ обнаруживают изменения процента олеиновой кислоты (C 18:1) и полиненасыщенной кислоты (C 20:5), а плазмалоген — сдвиг общего содержания насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, а также увеличение процента нервоновой кислоты (C 24:1) и C 20:5 с одновременным снижением содержания лигноцериновой кислоты (C 24:0).
- 3) Трансплацентарное влияние ЭНМ на центральную нервную систему выражается не только в карциногенном действии, а также и в нарушении метаболизма липидов мембранных структур развивающегося мозга.
- 4) Трансплацентарное воздействие ЭНМ ведет к образованию химически несоразмерной миелиновой оболочки, в которой как общее содержание липидов так и содержание их жирных кислот существенным образом отличаются от типичного для нормального мозга.

M. Wender, A. Żórawski, Z. Adamczewska-Goncerzewicz, O. Mularek

EFFECT OF ETHYLNITROSOUREA INTOXICATION ON THE CONTENT OF FATTY ACIDS OF MYELIN LIPIDS

Summary

The effect of intravenous administration of a single dose of ethylnitrosoarea (ENU, 80 mg/kg) to pregnant mice on the content of fatty acids of myelin lipids in newborn brains was studied. Myelin was investigated on the 30th, 40th and 70th day of the extrafetal life. The following results were obtained:

1) ENU administered to mice on the 15th day of pregnancy leads to alterations in the content of fatty acids of brain myelin lipids in the newborns.

2) The myelin phosphatidylcholine and lysophosphatidylcholine of mice intoxicated transplacentally show changes in the content of oleic acid (C 18:1) and polyunsaturated acid C 20:5, while the plasmalogen shows a shift of the total content of saturated and unsaturated fatty acids, as well as the increase in the content of nervonic acid (C 24:1) and C 20:5 acid, with a simultaneous decrease in the level of lignoceric acid (C 24:0).

3) The transplacental effect of ENU on the central nervous system is expressed not only by the cancerogenic action but also by the alteration in the metabolism of membrane structural lipids of the developing brain.

4) The transplacental action of ENU leads to the formation of chemically altered myelin sheath in which both the total content of lipids and their fatty acid composition significantly differ from the pattern present in the regular brain.

PISMIENNICTWO

1. Bosch D.: Short and long term effects of methyl- and ethylnitrosourea (MNU and ENU) on the developing nervous system of the rat. I and II. *Acta Neurol. Scand.* 1977, 55, 85—105 and 106—122.
2. Folch-Pi J., Lees H., Sloane-Stanley G.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. biol. Chem.* 1957, 226, 497—511.
3. Goth R., Rajewsky M.: Ethylation of nucleic acids by ethylnitrosourea-1-¹⁴C in the fetal and adult rat. *Cancer. Res.* 1972, 32, 1501—1505.
4. Haley T., Snider R.: Response of the nervous system to ionizing radiation. Little Brown, Boston 1964.
5. Kishimoto Y., Radin N.: A reaction tube for methanolysis, instability of hydrogen chloride in methanol. *J. Lipid Res.* 1965, 6, 435—436.
6. Kroh H.: Ethylnitrosourea-induced microcephaly in Swiss mice and Wistar rats. W: Aktuelle Probleme der Neuropathologie. Red. K. Jellinger, Fa-cultas-Verlag, Wien 1973, 29—35.
7. Kroh H.: Multiple demyelinating foci induced with ethylnitrosourea in mouse brain. W: Brain Tumors and Chemical Injuries to the Central Nervous System. Red. M. J. Mossakowski, Polish Medical Publishers, Warszawa 1978, 30—36.
8. Lantos P.: The effect of a single dose of N-ethyl-N-nitrosourea on the fine structure of the brain of the rat. *Experientia* 1971, 27, 1322—1323.
9. Magee P., Farber E.: Toxic liver injury and carcinogenesis. Methylation of rat liver nucleic acids by dimethylnitrosoamine in vivo. *Biochem. J.* 1962, 83, 114—124.
10. Maletta G., Vernadakis A., Timiras P.: Acetylcholinesterases activity and proteins content of brain and spinal cord in developing rats after prenatal X-irradiation. *J. Neurochem.* 1967, 14, 647—652.
11. Norton W., Poduslo S.: Myelination in rat brain: method of myelin isolation. *J. Neurochem.* 1973, 21, 749—757.
12. O'Brien J.: Stability of the myelin membrane. *Science* 1965, 147, 1099—1107.
13. Sikov M., Mahlum D. (Red.): Radiation biology of the fetal and juvenile mammal. U. S. Atomic energy commission, Richland 1969.
14. Wender M.: Changes in the content of cerebral lipids during normal development of guinea pigs and after X-radiation. *Folia biol. (Kraków)* 1965, 13, 323—332.

15. Wender M., Waligóra Z.: The content of amino acids in the proteins of the developing nervous system of the guinea pig. IV. Long-term effects of prenatal X-irradiation. *J. Neurochem.* 1964, 11, 585—588.
16. Wender M., Wenclewski A.: Effects of the ionizing radiation on physiological changes in the activity of 3.1.6.1. aryl sulphate sulphohydrolase in the brain. *Radiobiol. Radiother. (Berl.)* 1964, 5, 679—684.
17. Wender M., Kozik M.: Histochemistry of cerebral white matter in relation to myelination of mouse brain. *J. Hirnforsch.* 1968, 10, 83—92.
18. Wender M., Zgorzalewicz B.: Activation of amino acids following prenatal X-irradiation in the developing rabbit brain. *Folia biol. (Kraków)* 1970, 18, 343—351.
19. Wender M., Zgorzalewicz B.: The influence of prenatal X-irradiation on the activity of sRNA-aminoacyl synthetases in the developing rabbit brain. *J. Neurochem.* 1976, 26, 17—23.
20. Wender M., Adamczewska Z., Pangrac J., Wajgt A.: Myelin lipids in cyanide encephalopathy. *Neuropat. Pol.*, 1978a, 16, 153—162.
21. Wender M., Adamczewska-Goncerzewicz Z., Mularek O., Sędzik J., Pankrac J.: Myelin lipids in the brain after transplacental intoxication with ethylnitrosourea. *Exp. Path.* 1978b, 15, 105—110.
22. Wender M., Żórawski A., Adamczewska-Goncerzewicz Z., Mularek O., Stanisławska J., Talkowska D.: Kwasy tłuszczowe lipidów mielinii mózgu w zatruciu metylnitrozomocznikiem. *Neuropat. Pol.* 1980, 18, 53—69.
23. Viale G.: Nucleic acid composition and metabolism in brain tumors. W: *Experimental Biology of Brain Tumors*. Red. W. Kirsch, E. Grossi-Paoletti, P. Paoletti, Ch. Thomas, Springfield-Illinois 1972, 357—403.

Adres autorów: Klinika Neurologiczna AM, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań.

ZBIGNIEW M. RAP, PIOTR RUSZCZEWSKI

WPLYW ZABURZEŃ HEMODYNAMICZNYCH
NA POWSTAWANIE OBRZĘKU MÓZGU I PŁUC
W DOŚWIADCZALNEJ HIPERBARII TLENOWEJZespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
Kierownik: prof. dr M. J. Mossakowski

Ostre niedotlenienie z równoczesnym wzrostem ciśnienia parcjalnego CO_2 we krwi prowadzi do uszkodzenia tkanki nerwowej i zwiększonego gromadzenia wody w mózgu (Bakay, Lee 1968; Bakay, Kobayashi 1971). Podobny obraz zmian w ośrodkowym układzie nerwowym obserwuje się u zwierząt po ekspozycji na tlenek węgla (Korthals i wsp. 1971; Rap i wsp. 1974). Występowanie obrzęku mózgu w tych stanach uważa się za wynik wtórnych zaburzeń w krążeniu mózgowym. Znalazło to potwierdzenie doświadczalne w pracach Kapuścińskiego (1977) i Mossakowskiego (1978). Z prac tych wynika, że ostry niedostatek tlenu w organizmie spowodowany ograniczeniem jego zawartości w powietrzu oddechowym lub też zmniejszeniem jego dostępu do tkanek, prowadzić może poprzez zaburzenia w krążeniu mózgowym do zmian strukturalnych ośrodkowego układu nerwowego. Wyrównanie niedoboru tlenu jest jedną z podstawowych metod leczniczych mających na celu zapobieganie uszkodzeniom OUN. W ostatnich latach, obok podawania tlenu w warunkach normobarii, wprowadzono leczenie hiperbarią tlenową. Znajduje to szczególne zastosowanie u chorych z ostrymi urazami mózgu (Mogani i wsp. 1968; Thiede, Manley 1976; Kollbach i wsp. 1977; Ugrumov i wsp. 1978). Dalsze obserwacje wykazują jednak, że efekty stosowania hiperbarii tlenowej mają charakter doraźny i ograniczają się do krótkotrwałego obniżenia ciśnienia wewnątrzczaszkowego oraz do poprawy zapisu EEG. Uzyskuje się je dzięki naczyniokurczącemu działaniu tlenu znajdującego odzwierciedlenie w spadku przepływu krwi mózgowej (Miller 1969, 1973). Wtórna anemizacja tkanki nerwowej wywołana naczyniokurczącym działaniem tlenu, jak i jego bezpośrednio toksyczne oddziaływanie mogą prowadzić do pogłębienia zaburzeń metabolicznych i uszkodzeń strukturalnych w ośrodkowym układzie nerwowym.

Przedmiotem pracy była ocena stanu mikrokrążenia mózgowego, zmian morfologicznych oraz gromadzenia wody w mózgach i płucach szczurów poddanych działaniu tlenu w warunkach hiperbarii.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenia przeprowadzono na 120 szczurach, rasy August, o ciężarze ciała 180—240 g, które poddawano działaniu hiperbarii tlenowej (HBT) bądź eksponowano na działanie powietrza w hiperbarii (HBP). Czas ekspozycji na HBT i HBP wynosił 30 minut, a ciśnienie wewnątrz komory kompresyjnej 5 atmosfer (ata).

Grupę kontrolną stanowiły zwierzęta, których nie poddawano żadnym zabiegom doświadczalnym. Stan kliniczny zwierząt oceniano zarówno w czasie ekspozycji jak i po wyjęciu z komory kompresyjnej. Za kryteria oceny klinicznej przyjmowano: sprawność ruchową, częstotliwość oddechów oraz reakcję na bodźce bólowe. Zwierzęta dekapitowano bezpośrednio po ekspozycji lub po 3, 6, 12, 24 i 48-godzinnym okresie przeżycia poprzedzonym 10-minutową dekompresją. W pobranych mózgach oceniano stan mikrokrążenia mózgowego, przepuszczalność naczyń dla znaczników bariery krew-mózg oraz oznaczano zawartość wody.

Badania morfologiczne: materiał do badań mikrokrążenia mózgowego i stanu bariery krew-mózg utrwalano w 10% roztworze formaliny, a następnie krojono w mikrotomie zamrozeniowym. W celu wykazania sieci naczyń krwionośnych mózgu stosowano metodę benzydynową Pickwortha.

Zachowanie się bariery krew-mózg dla związków wielkocząsteczkowych badano używając jako znacznika 2% roztwór błękitu Evansa, który wstrzykiwano dożylnie w ilości 0,2 ml/100 g ciężaru ciała zwierzęcia bezpośrednio przed rozpoczęciem doświadczenia. Mózgi oceniano makroskopowo i w mikroskopie fluorescencyjnym f-my Zeiss przy użyciu lampy HBO-200 przy użyciu filtra wzbudzającego BG-12/4 i barierowego OG-1.

Materiał do badań histologicznych po utrwaleniu w 10% roztworze formaliny zatapiano w parafinie. Skrawki z wybranych okolic mózgu i płuc barwiono hematoksyliną-eozyną, fioletem krezyłu oraz według metody Heidenhaina.

Do badań w mikroskopie elektronowym pobierano wycinki z kory mózgu, istoty białej i zwojów podstawy. Utrwalano je przez okres 1½ godziny w 5% roztworze aldehydu glutarowego o pH 7,2 w temperaturze 4°C, następnie w 2% roztworze OsO₄ w buforze kakodylowym i zatapiano w Eponie 812. Ultracienkie skrawki kontrastowano w nasycyonym roztworze uranylu w temp. 37° przez 45 min., a następnie odczynnikami Reynoldsa w temp. pokojowej przez 15 min. Zdjęcia wy-

konano w mikroskopie elektronowym JEM-7A na kliszach ORWO E-42.

Badania zawartości wody: zawartość wody oznaczano w całym mózgowiu obejmującym obie półkule, mózdzek i pień mózgu oraz w płucach. Mózgi ważono natychmiast po pobraniu, a następnie suszono je w temp. 100°C do stałej wagi przez 10 dni. Zawartość wody w płucach określano na podstawie współczynnika wynikającego ze stosunku ciężaru płuc (WP) do ciężaru ciała (WC) $\times 100$. Znamienność statystyczną zmian w zawartości wody oceniano przy zastosowaniu testu t Studenta.

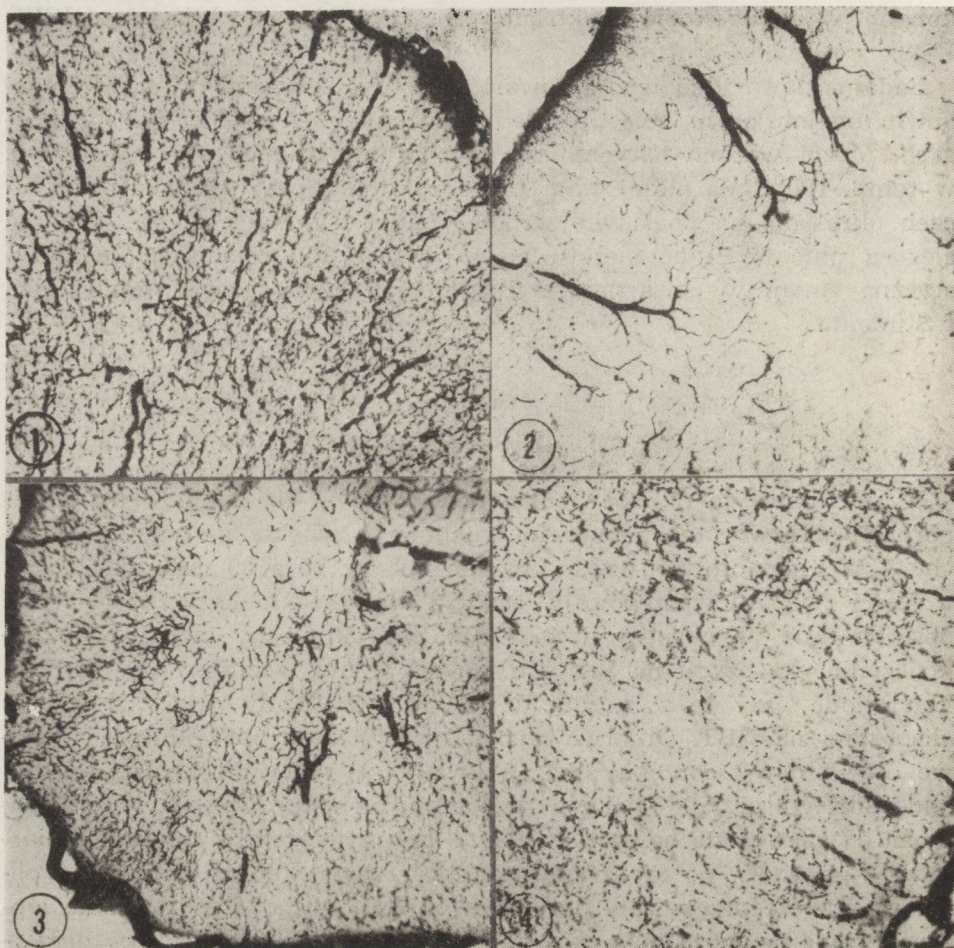
WYNIKI

Obserwacje kliniczne

W początkowym okresie poddawania zwierząt działaniu tlenu w hiperbarii obserwowano pobudzenie ruchowe i zwiększoną częstość oddechów. W miarę upływu czasu, zwykle między 15 a 20 min. ekspozycji, u części zwierząt występowały drgawki toniczno-kloniczne, których nie obserwowano po ekspozycji na HBP. Stan kliniczny zwierząt po zakończeniu ekspozycji na tlen lub powietrze był zróżnicowany. W ciężkim stanie były te zwierzęta, u których wystąpiły drgawki podczas ekspozycji na HBT. Obserwowano u nich znaczne spowolnienie ruchowe oraz objawy obrzęku płuc. Wyrażały się one zaburzeniami rytmu oddechowego przy wyraźnym zaleganiu pianistej wydzieliny w górnych drogach oddechowych. Objawy te utrzymywały się przez pierwsze 3—6 godz., po czym stan ogólny zwierząt ulegał stopniowej poprawie, tak że przeżywały one okres od 3 do 48 godz. W znacznie lepszym stanie ogólnym były zwierzęta, u których nie występowały drgawki. Nie obserwowano u nich klinicznych objawów obrzęku płuc. Wyraźne ożywienie w zachowaniu i poprawa sprawności ruchowej występowały po 24 godz. od chwili wyjęcia z komory kompresyjnej. Najszybciej powracały do pełnej sprawności zwierzęta poddawane działaniu hiperbarii powietrzem. Przedstawione powyżej obserwacje kliniczne zadecydowały o wyodrębnieniu dwóch podgrup doświadczalnych w ekspozycji na działanie tlenu w hiperbarii: zwierząt, u których występowały drgawki i tych, u których ich nie stwierdzono.

Ocena morfologiczna mózgow

Ocena mikrokrążenia mózgowego. U zwierząt kontrolnych, gęsta sieć naczyń krwionośnych w istocie szarej mózgu wyraźnie kontrastowała z ubogim unaczynieniem istoty białej. Na tle silnie wypełnionych krwią tętniczek i żył promienistych kory i naczyń, wnikających do zwojów podstawy, rysowała się delikatna, gęsta sieć naczyń włosowa-



Ryc. 1. Prawidłowe unaczynienie kory mózgu szczura. Kontrola. Met. Pickwortha. Pow. 60 \times .

Fig. 1. Vascularization of the cerebral cortex in control rat. Pickworth's meth. \times 60.

Ryc. 2. Znaczne zubożenie sieci naczyń krwionośnych w korze mózgu szczura bezpośrednio po ekspozycji na HBT. Met. Pickwortha. Pow. 60 \times .

Fig. 2. Reduced vascular network of the cerebral cortex immediately after exposure to OHP. Pickworth's meth. \times 60.

Ryc. 3. Umiarkowane przekrwienie bierne w korze mózgu z nierównomiernym wypełnieniem sieci naczyń krwionośnych u szczura w 3 godz. po ekspozycji na HBT. Met. Pickwortha. Pow. 60 \times .

Fig. 3. Moderate hyperemia of the cerebral cortex with foci of reduced blood vessel filling in rat, 3 hrs after exposure to OHP. Pickworth's meth. \times 60.

Ryc. 4. Obszary skąpego wypełnienia krwią sieci naczyń włosowatych kory mózgu szczura w 6 godz. po ekspozycji na HBT. Met. Pickwortha. Pow. 100 \times .

Fig. 4. Regions with poor erythrocytes content in the capillary network in cerebral cortex. Rat 6 hrs after exposure to OHP. Pickworth's meth. \times 100.

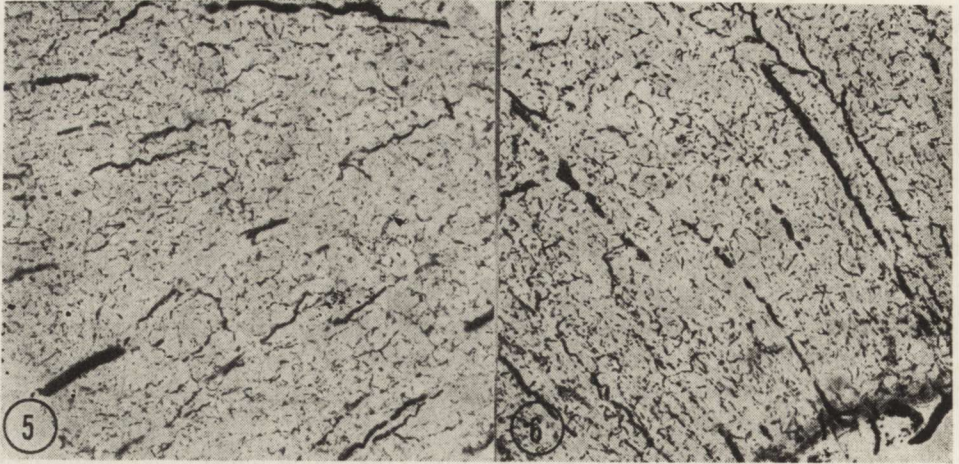
tych (ryc. 1). Obraz ukrwienia mózgu u zwierząt poddanych działaniu HBT ulegał wyraźnym zmianom, których charakter i nasilenie wykazywały zależność od czasu przeżycia i stanu klinicznego zwierząt. Bezpośrednio po ekspozycji obserwowano znaczne zmniejszenie wypełnienia krwią sieci naczyń włosowatych oraz naczyń tętniczych większego kalibru w korze mózgu, zakręcie hipokampa i zwojach podstawy. Równocześnie stwierdzono rozszerzenie pojedynczych lub występujących w skupieniach naczyń (ryc. 2). Normalizacja obrazu naczyń krwionośnych mózgu u zwierząt po HBT postępowała stopniowo. W jej przebiegu zwracało uwagę utrzymywanie się nierównomiernego rozmieszczenia krwi w sieci naczyń włosowatych. Przekrwieniu biernemu wyrażającemu się poszerzeniem naczyń żylnych towarzyszyło nierównomierne wypełnienie sieci naczyń włosowatych. Pola zmniejszonego ukrwienia w postaci plackowatych ubytków sieci naczyń włosowatych w korze nowej i zakręcie hipokampa obserwowano jeszcze w 3, a nawet w 6 godz. po ekspozycji (ryc. 3, 4). Pełną normalizację ukrwienia osiągnęto w drugiej dobie po zakończeniu ekspozycji, kiedy całkowicie ustępowały cechy przekrwienia biernego (ryc. 5, 6). Różnice w ukrwieniu mózgu między dwoma podgrupami zwierząt poddawanych działaniu HBT sprowadzały się jedynie do częstszego występowania poszerzonych naczyń żylnych w pierwszych godzinach po ekspozycji u zwierząt z drgawkami.

Zmiany w ukrwieniu mózgow zwierząt po HBT charakteryzował przepełnienie krwią całej sieci naczyńiowej (szczególnie naczyń żylnych), składające się na obraz umiarkowanego przekrwienia biernego, które utrzymywało się przez okres 6 do 12 godz.

Ocena stanu bariery krew-mózg. Makroskopowa ocena stanu przepuszczalności naczyń u zwierząt poddawanych działaniu HBT nie ujawniła obecności błękitu Evansa poza łożyskiem naczyńiowym. Natomiast w badaniach w mikroskopie fluorescencyjnym, i to szczególnie u zwierząt z drgawkami, stwierdzono pojedyncze ogniska wynaczynienia znacznika położone w zakręcie hipokampa, korze mózgu, rzadziej w zwojach podstawy. Miały one postać wąskiej obwódki czerwonej fluorescencji, otaczającej ściany naczyń krwionośnych.

U zwierząt eksponowanych na HBT nie obserwowano przechodzenia błękitu Evansa poza ściany naczyń krwionośnych.

Badania w mikroskopie świetlnym. Charakterystycznym zjawiskiem spostrzeganym w mózgow zwierząt poddawanych działaniu HBT była obecność ciemnych neuronów. Najliczniej występowały one w nowej korze mózgu, praktycznie we wszystkich jej warstwach z wyjątkiem dobrze zachowanych warstw 5 i 6 (ryc. 7). Rzadziej spotykano je w zakręcie hipokampa, zwojach podstawy, w mózdku i pniu mózgu. Miały one zbitą i ciemno barwiącą się cytoplazmę, ciemne, słabo widoczne jądro oraz niekiedy spiralnie skręconą wypust-



Ryc. 5. Normalizacja ukrwienia kory mózgowej u szczura 24 godz. po ekspozycji na HBT. Met. Pickwortha. Pow. 100 \times .

Fig. 5. Normalization of blood supply in cerebral cortex in rat 24 hrs after exposure to OHP. Pickworth's meth. $\times 100$.

Ryc. 6. Sieć naczyń krwionośnych w korze mózgu szczura 48 godz. po ekspozycji na HBT. Met. Pickwortha. Pow. 100 \times .

Fig. 6. Vascular network of cerebral cortex in rat 48 hrs after exposure to OHP. Pickworth's meth. $\times 100$.

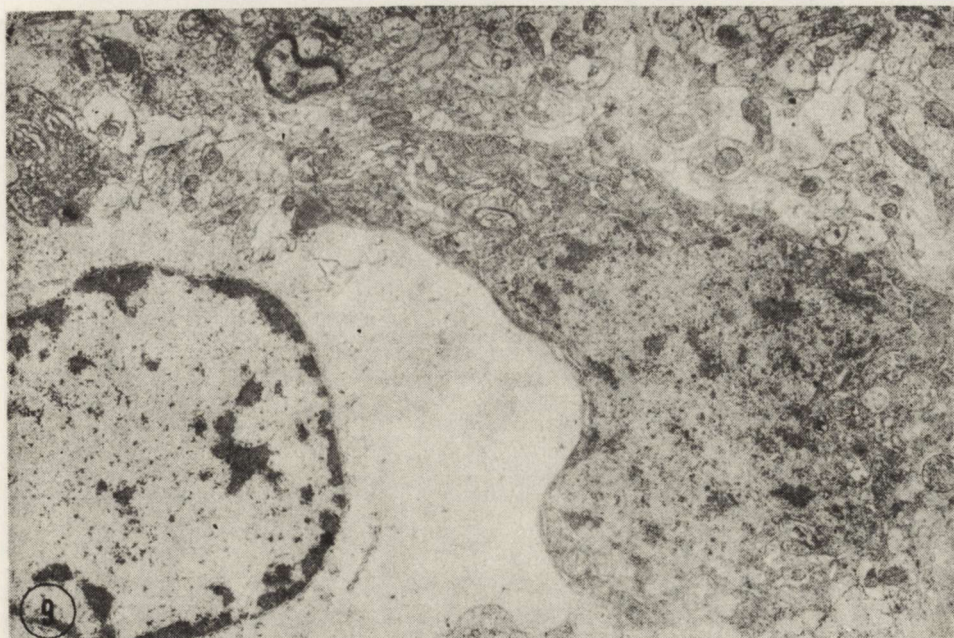


Ryc. 7. Liczne ciemne neurony w korze mózgu szczura bezpośrednio po ekspozycji na HBT. Fiolet krezyłu. Pow. 100 \times .

Fig. 7. Numerous dark neurons in rat cerebral cortex immediately after exposure to OHP. Cresyl violet $\times 100$.

Ryc. 8. Ciemne neurony w korze mózgu szczura w 3 godz. po ekspozycji na HBT. Fiolet krezyłu. Pow. 400 \times .

Fig. 8. Dark neurons in the cerebral cortex of rat 3 hrs after exposure to OHP. Cresyl violet. $\times 400$.



Ryc. 9. Ciemny obkurczony neuron otoczony licznymi obrzniętymi wypustkami glijowymi. W sąsiedztwie obkurczona tętniczka. Kora mózgu szczura bezpośrednio po ekspozycji na HBT. Pow. 6.600 X.

Fig. 9. Dark, shrunken neuron surrounded by swollen glial processes, neighbouring with contracted arteriole. The cerebral cortex of rat immediately after exposure to OHP. X 6 600.

kę osiową (ryc. 8). U zwierząt po 12, 24 i 48 godz. przeżycia, liczba ciemnych neuronów zmniejszała się, z tym, że część spośród nich ulegała tigrolizie. Nierzadko ciemnym neuronom towarzyszyły obrznięte, jasne komórki astrogleju. Obrznięte oligodendrocyty towarzyszyły rozluźnieniu pasm włókien nerwowych w istocie białej mózgu.

U zwierząt eksponowanych na działanie HBP zmiany morfologiczne w poszczególnych strukturach mózgu były słabiej wyrażone, a ciemne neurony spotykano rzadko.

Badania mikroskopowo-elektronowe. Zmiany ultrastrukturalne w nowej korze, w zakręcie hipokampa i innych strukturach mózgu stwierdzone bezpośrednio po ekspozycji HBT dotyczyły głównie komórek nerwowych. Podobnie jak w badaniach w mikroskopie świetlnym, w obrazie mikroskopowo-elektronowym przeważały ciemne neurony. Wypełniała je uboga w rybosomy, pogrubiała ciemna siatka śródplazmatyczna z poszerzonymi kanałami. Obraz ten uzupełniały ciemne nieregularne jądra, wypełnione zbitymi grudkami osmo-filnej chromatyny oraz ciemne obkurczone mitochondria. Zmienione neurony otaczały obrznięte komórki astrogleju lub ich wypustki. Tętniczki promieniste w korze mózgu były obkurczone, a sąsiadujące z ni-

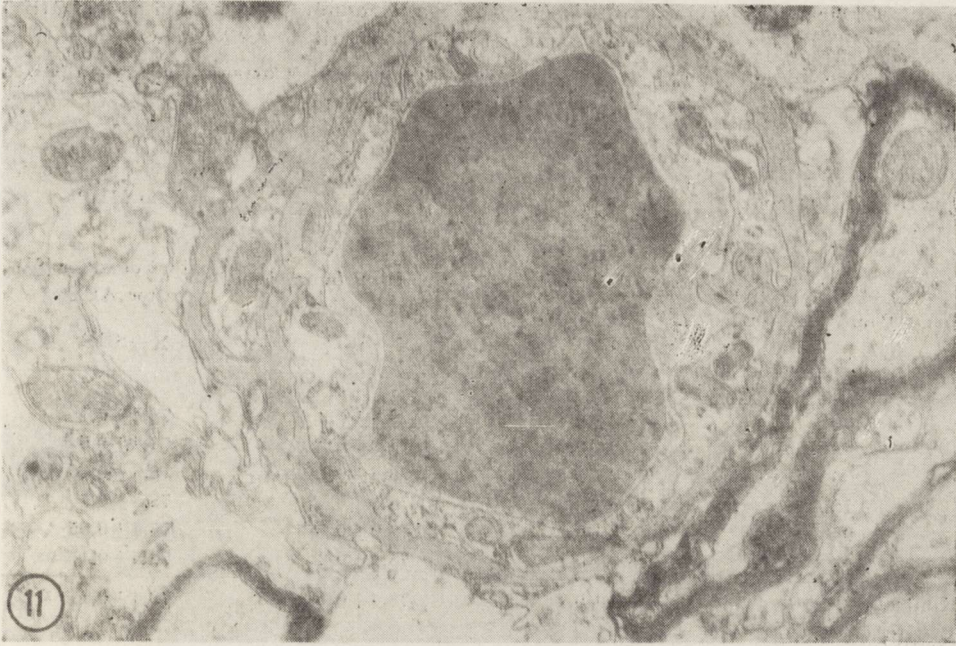


Ryc. 10. Ciemny obkurczony neuron z towarzyszącą, obrzmiałą komórką astrogleju w korze mózgu szczura w 3 godz. po ekspozycji na HBT. Pow. 6 800 ×
 Fig. 10. Dark, shrunken neuron and swollen astrocyte in the cerebral cortex of rat 3 hrs exposure to OHP. × 6 800.

mi wypustki glejowe nie wykazywały cech obrzmienia (ryc. 9, 10). W późniejszym okresie, tj. po 3 i 6 godz. i później, uwidaczniały się zmiany w istocie białej mózgu. Polegały one na rozwarstwieniu osłonek mielinowych włókien nerwowych i obkurczeniu aksoplazmy. W tym samym czasie dochodziło do obrzmienia śródbłonna naczyń krwionośnych i otaczających je wypustek glejowych (ryc. 11). W drugiej dobie po ekspozycji na HBT opisane zmiany, szczególnie te, które dotyczyły gleju były nieobecne. Jednakże nadal stwierdzano ciemne neurony. Nieprawidłowości ultrastrukturalne występowały zarówno u zwierząt bez drgawek, jak i z drgawkami.

W grupie zwierząt, które poddawane były działaniu HBP nasilenie zmian ultrastrukturalnych było znacznie słabiej zaznaczone. Dotyczyły one głównie komórek glejowych, których wypustki okołonacyniowe wykazywały cechy obrzmienia. Rzadziej stwierdzano obrzmienie perikarionów astrocytów. Jeszcze rzadziej występowały obkurczone, ciemne komórki nerwowe. Zmiany te utrzymywały się jedynie przez pierwszą dobę po wyjęciu z komory kompresyjnej.

Badania zawartości wody w mózgach. Zawartość wody w mózgach zwierząt z drgawkami, bezpośrednio i w 3 godz. po ekspozycji na HBT, wynosiła $77,9 \pm 0,3$ i była nieznacznie niższa w porów-



Ryc. 11. Obrzmienie śródbłonna oraz okołonaczyniowych wypustek astrocyta w korze mózgu w 12 godz. po ekspozycji na HBO. Pow. 9.100 X.

Fig. 11. Swelling of endothelial cells and perivascular astrocytic processes in the cerebral cortex 12 hrs after exposure to OHP. 9 100 X.

naniu z zawartością wody u zwierząt kontrolnych ($78,4 \pm 0,1$). U pozostałych zwierząt w tej grupie zawartość wody utrzymywała się na poziomie zwierząt kontrolnych. W grupie zwierząt, u których drgawki nie występowały stwierdzono znamienny przyrost wody w 12 ($78,8 \pm 0,1$) i 24 godz. ($78,9 \pm 0,1$) po ekspozycji, podczas gdy w pozostałych przedziałach czasowych nie obserwowano istotnych zmian. HBP nie powodowała żadnych zmian w zawartości wody (tabela 1).

Badania histopatologiczne i zawartość wody w płucach. U zwierząt poddanych działaniu tlenu w hiperbarii występowały znaczne nieprawidłowości w obrazie histologicznym płuc. Były one wyraźnie bardziej nasilone u tych zwierząt, u których w przebiegu doświadczenia obserwowano drgawki. Płuca były u nich przekrwione, a przegrody międzypęcherzykowe poza cechami obrzęku wykazywały liczne ogniska krwotoczne i krwinkotoki (ryc. 12). Płyn obrzękowy obecny był również w rozdętych i porzrywanych pęcherzykach oraz w oskrzelach. Nasilenie zmian w płucach zwierząt, u których nie stwierdzono drgawek było znacznie mniejsze (ryc. 13). Niewielkiego stopnia obrzęk i krwinkotoki w przegrodach międzypęcherzykowych towarzyszyły rozdęciu i nieznacznemu uszkodzeniu pęcherzyków płucnych.

Tabela 1. Dynamika zmian zawartości wody w mózгах szczurów po ekspozycji na tlen (HBT) i powietrze (HBP) w hiperbarii

Table 1. Dynamics of changes in water content in rats brain after exposure to oxygen (OHP) and air (AHP) at high pressure

Czas po ekspozycji na HBT i HBO (godz.)	Zawartość wody w % po HBT (zwierzęta z drgawkami)	Zawartość wody w % po HBT (zwierzęta bez drgawek)	Zawartość wody w % po HBP
Time after exposure to OHP and AHP (hrs)	Content of water (%) after OHP (animals with seizures)	Content of water (%) after OHP (animals without seizures)	Content of water (%) after AHP
	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$	$\bar{X} \pm \text{SEM}$
0	77,9 ± 0,3	78,4 ± 0,2	78,4 ± 0,1
3	77,9 ± 0,2	78,2 ± 0,2	78,4 ± 0,5
6	78,2 ± 0,2	78,4 ± 0,1	78,3 ± 0,05
12	78,5 ± 0,2	78,8 ± 0,1*	78,3 ± 0,1
24	78,1 ± 0,2	78,9 ± 0,1*	78,4 ± 0,05
48	78,3 ± 0,1	78,1 ± 0,2	78,5 ± 0,1
Kontrola	78,4 ± 0,1	78,4 ± 0,1	78,4 ± 0,1
Control			

$x \pm \text{SEM}$ — średnia arytmetyczna ± średni błąd średniej

— arithmetic mean ± SEM

*) — $p < 0,05$

Każda grupa doświadczalna zawierała 5 zwierząt

Each experimental group consisted of 5 animals

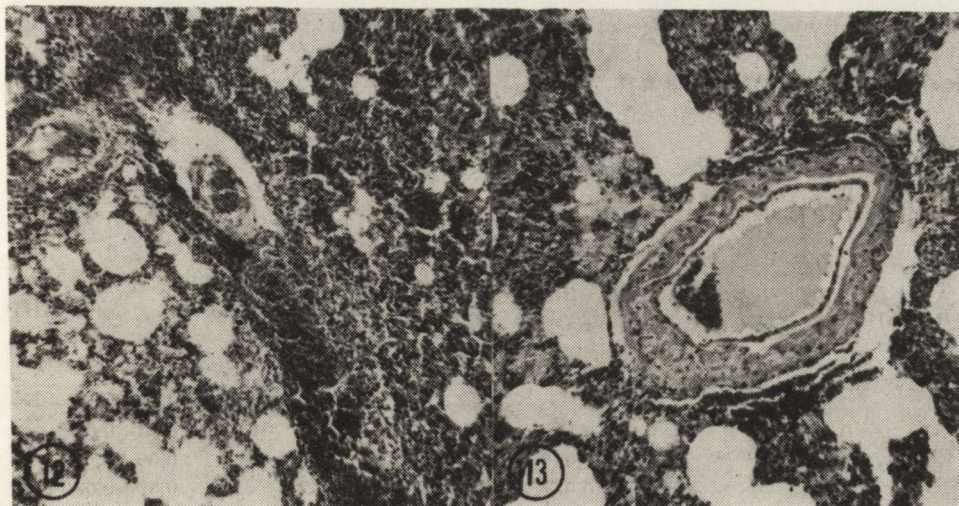
W okresie 48 godz. część opisanych zmian, szczególnie wykładników obrzęku ustępowała.

Najsłabiej wyrażone były zmiany w płucach zwierząt ekspozowanych na HBP. Wyrażały się one przekrwieniem oraz obecnością pojedynczych krwinkotoków i nieznacznym uszkodzeniem pęcherzyków płucnych.

Znamienny wzrost zawartości wody w płucach stwierdzano bezpośrednio po wyjęciu z komory ($1,18 \pm 0,12$) oraz w 3 ($0,39 \pm 0,08$) i 6 godz. ($0,84 \pm 0,05$) u zwierząt, u których występowały drgawki. Nie stwierdzono natomiast zmian zawartości wody w płucach u zwierząt poddawanych działaniu HBP, u których nie wystąpiły drgawki. Dane dotyczące zmian zawartości wody w płucach po HBT i HBP zestawiono w tabeli 2.

OMÓWIENIE

Poddanie zwierząt działaniu hiperbarii tlenowej wywoływało u części z nich drgawki toniczno-kloniczne. Zarówno u zwierząt, u których występowały drgawki, jak i u tych, u których były one nieobecne, stwierdzono różnicowane w natężeniu wykładniki zaburzeń hemodynamicz-



Ryc. 12. Znaczne poszerzenie przestrzeni okołonacyniowej oraz wylewy krwawe w miąższu płuc u szczura (z drgawkami) bezpośrednio po ekspozycji na HBT. Pow. 100 X.

Fig. 12. Enlargement of perivascular space and severe hemorrhages in lung parenchyma in rat (with seizures) immediately after exposure to OHP. H-E. X 100.

Ryc. 13. Niewielkie poszerzenie przestrzeni okołonacyniowej, drobne wynacznienia krwotoczne w miąższu płuca szczura (bez drgawek) bezpośrednio po ekspozycji na HBT. H-E. Pow. 100 X.

Fig. 13. Slight enlargement of perivascular space with small hemorrhages in lung parenchyma in rat (without seizures) immediately after exposure to OHP. H-E. X 100.

nych krążenia mózgowego, cechy strukturalnych uszkodzeń mózgu i płuc oraz zmiany w zawartości wody w obu narządach.

Przyczyny zwiększonej pobudliwości drgawkowej, występującej u zwierząt tej samej rasy i miotu na działanie tlenu w hiperbarii, nie są dostatecznie wyjaśnione. Przyjmuje się, że zwiększony próg pobudliwości drgawkowej u zwierząt eksponowanych na HBT jest wynikiem gwałtownego spadku zawartości kwasu gamma-aminomasłowego (GABA) w tkance nerwowej (Wood i wsp. 1969). Stąd też profilaktyczne stosowanie barbituranów i innych substancji hamujących procesy metaboliczne tkanki nerwowej może zapobiegać szybkim zmianom stężenia GABA, a tym samym i występowaniu drgawek (Lembeck i wsp. 1977). Podobny efekt uzyskano stosując indometacynę. Spostrzeżenia te mogłyby wskazywać na ewentualny udział prostaglandyn w mechanizmie prowadzącym do występowania drgawek w HBT (Ruszczeński i wsp. 1979).

W rozwoju zaburzeń hemodynamicznych w krążeniu mózgowym, występujących po ekspozycji na tlen w hiperbarii, można było wyróżnić dwa okresy: pierwszy rozpoczynający się w czasie ekspozycji i trwający do 3 godz. po jej zakończeniu i drugi dłuższy, obejmujący okres

Tabela 2. Zmiany wskaźnika ciężaru płuc u szczurów po ekspozycji na tlen (HBT) i powietrze (HBP) w hiperbarii

Table 2. Changes of lungs weight index in rats after exposure to oxygen (OHP) and air (AHP) at high pressure

Czas po ekspozycji na HBT i HBP (godz.)	Wskaźnik ciężaru płuc u zwierząt z drgawkami po HBT	Wskaźnik ciężaru płuc u zwierząt bez drgawek po HBT	Wskaźnik ciężaru płuc u zwierząt po HBP
Time after exposure to OHP and AHP (hrs)	Lungs weight index in animals with seizures after OHP	Lungs weight index in animals without seizures after OHP	Lungs weight index in animals after AHP
	$\bar{x} \pm \text{SEM}$	$\bar{x} \pm \text{SEM}$	$\bar{x} \pm \text{SEM}$
0	1,18 ± 0,12*	0,71 ± 0,13	0,65 ± 0,06
3	0,93 ± 0,08*	0,63 ± 0,02	0,69 ± 0,04
6	0,84 ± 0,05*	0,64 ± 0,03	0,62 ± 0,03
12	0,65 ± 0,07	0,55 ± 0,02	0,64 ± 0,04
24	0,68 ± 0,09	0,56 ± 0,02	0,67 ± 0,03
48	0,57 ± 0,02	0,55 ± 0,03	0,65 ± 0,05
Kontrola	0,67 ± 0,05	0,67 ± 0,05	0,67 ± 0,05
Control			

$\bar{x} \pm \text{SEM}$ — średnia arytmetyczna ± średni błąd średni

— arithmetic mean ± SEM

* — $p < 0,05$

Każda grupa doświadczalna zawierała 5 zwierząt

Each experimental group consisted of 5 animals

od 3 do 24 godz. Pierwszy charakteryzował się skąpym na ogół wypełnieniem krwią sieci naczyniowej mózgu, szczególnie naczyń włosowatych, stanowiącym prawdopodobnie następstwo naczyniokurczącego działania tlenu. W drugim przeważały cechy przekrwienia biernego. Wyrażało się ono znacznym wypełnieniem krwią naczyń żylnych różnego kalibru przy nierównomiernie i skąpo wypełnionej krwią sieci naczyń włosowatych.

Zaburzeniom hemodynamicznym stwierdzanym po HBT towarzyszyły ogniskowe uszkodzenia bariery krew-mózg, spotykane przede wszystkim u zwierząt z drgawkami. Zwiłokrotnienie i przedłużenie czasu ekspozycji na tlen w hiperbarii, u zwierząt takich jak koty i szczury, powodowało wyraźne i masywne zwiększenie przepuszczalności naczyń mózgowych dla związków wielkocząsteczkowych (Lause i wsp. 1978). Należy liczyć się jednak z faktem, że nawet przy stosunkowo nieznacznym uszkodzeniu mechanizmów barierowych dla związków wielkocząsteczkowych, występować mogą nieprawidłowości w transporcie związków niskocząsteczkowych, takich jak glukoza lub woda (Holbach i wsp. 1977).

Zaburzenia naczynioruchowe w mózgu, spostrzegane u zwierząt eksponowanych na HBT, charakteryzujące się znacznym obkurczeniem

i następnie poszerzeniem naczyń, mogą stanowić istotny czynnik, prowadzący do zwiększonej wymiany wody między krwią a mózgiem. Nieznamiennie obniżenie zawartości wody w mózgach zwierząt z drgawkami, odnotowane bezpośrednio i w 3 godz. po ekspozycji, można zapewne tłumaczyć spadkiem ciśnienia hydrostatycznego w obkurczonych naczyniach włosowatych, prowadzącym w konsekwencji do przemieszczenia wody z mózgu do łożyska naczyniowego. Z kolei stwierdzony w grupie zwierząt, u których nie występowały drgawki, znamieny wzrost wody w mózgach w 12 i 24 godz. po HBT należy łączyć z długotrwałym przekrwieniem biernym mózgu, które sprzyja przechodzeniu wody ze krwi do tkanki nerwowej. Podobne zmiany w gromadzeniu wody w mózgach szczurów obserwowano również w innych modelach doświadczalnych, między innymi w zatruciu tlenkiem węgla (Rap i wsp. 1974). Przy porównaniu wyników uzyskanych w obu modelach doświadczalnych zwraca uwagę współistnienie zaburzeń hemodynamicznych w całym układzie krążenia, nie wyłączając mózgowego. Spostrzeżenia te znajdują poparcie w badaniach przeprowadzonych na różnych modelach anoksyjno-ischemicznych (Kapuściński 1977; Mossakowski 1978). Zwraca w nich uwagę obecność układowych zaburzeń hemodynamicznych prowadzących do zastoju żylnego w mózgu. Ten z kolei może odgrywać podstawową rolę w mechanizmie powstawania obrzęku mózgu (Mchedlishvili i wsp. 1980).

Nie można jednak wyłączyć ewentualnego związku zmian w zawartości wody w mózgu z samymi zmianami objętości krwi w mózgowym łożysku naczyniowym — jej obniżenia w okresie obkurczenia naczyń i zwiększenia w okresie zastoju żylnego. Uwzględnić również trzeba toksyczne działanie tlenu na tkankę nerwową. Polega ono między innymi na inaktywowaniu szeregu enzymów łańcucha oddechowego oraz na inicjowaniu reakcji wolnorodnikowego utleniania lipidów błonowych (Gerschman 1964; Chance i wsp. 1966; Ruszczewski i wsp. 1979). Inaktywacja enzymów błonowych wiąże się z utlenianiem grup SH, których poziom w tkance nerwowej spada w czasie narastania naczyniopochodnego obrzęku mózgu (Rap, Wideman 1976; 1980). W naczyniopochodnym obrzęku mózgu występuje wzrost poziomu wolnych rodników z równoczesnym spadkiem poziomu antyoksydantów lipidowych (Rap, Dąbrowiecki 1978). Zmiany te prowadzić mogą do uogólnionych zaburzeń funkcji i uszkodzeń strukturalnych błon różnych elementów morfotycznych tkanki nerwowej, a tym samym decydować o ich zwiększonej przepuszczalności. Przedstawione dane sugerują, że hiperbaria tlenowa może wywoływać nieznaną formę obrzęku łącząc cechy obrzęku naczyniopochodnego i cytotoksycznego (Klatzo 1967). Na tę formę obrzęku mózgu wskazywałyby również zmiany ultrastrukturalne tkanki nerwowej, stwierdzane u zwierząt poddawanych działaniu HBT. W pierwszych godzinach po ekspozycji na HBT obserwowano przede

wszystkim obrzmienie astrogleju, które towarzyszyło obkurczonym neuronom. Obrzmienie okołonaczyniowych wypustek astrocytów i wakuolizacja śródbłonka naczyń krwionośnych następowały w późniejszym okresie. Podobne zmiany ultrastrukturalne w ośrodkowym układzie nerwowym opisywano również u dorosłych szczurów poddawanych ekspozycji na HBT oraz u niedojrzałych królików po zatruciu tlenem w normobarii (Balentine 1974; Dydyk 1980).

Stwierdzone w badanym materiale nieprawidłowości strukturalne płuc, występujące u zwierząt poddanych hiperbarii tlenowej są identyczne z opisanymi w bogatym piśmiennictwie (Meyer i wsp. 1966; Jamieson, Cass 1967; Rosenbaum i wsp. 1973). Ich charakter oraz znamieny przyrost zawartości wody w tkance wskazywały na istnienie obrzęku płuc. Zmiany w płucach prowadzić mogły do zaburzeń w układzie sercowo-naczyniowym, których następstwem był obserwowany w mózgu zastój żylny.

Przy porównaniu zmian morfologicznych w mózgach zwierząt po ekspozycji na HBT, ze zmianami obserwowanymi u zwierząt poddanych działaniu HBP zwraca uwagę fakt, że zaburzenia w krążeniu mózgowym u tych ostatnich nie miały charakterystycznej dla HBT dwufazowości. Zarówno w mózgach, jak i płucach zwierząt poddawanych działaniu HBP przeważało przekrwienie bierne, które ustępowało w pierwszych 12 godz. po ekspozycji. Można sądzić, że przyczyną tego zjawiska był wzrost ciśnienia parcjalnego CO_2 we krwi, jak i wpływ samej hiperbarii.

Z przedstawionych danych wynika, że nawet jednorazowa ekspozycja na tlen w hiperbarii może prowadzić do obrzęku mózgu i/lub do obrzęku płuc. Zmiany zachodzące w mikrokrażeniu mózgowym w zawartości oraz nieprawidłowości ultrastrukturalne tkanki pozwalają na określenie obrzęku jako mieszanego, łączącego cechy obrzęku naczyniopochodnego z cytotoksycznym.

З. М. Рап, П. Руцевски

ВЛИЯНИЕ ГЕМОДИНАМИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ
НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ ОТЕКА МОЗГА И ЛЕГКИХ
В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КИСЛОРОДНОЙ ГИПЕРБАРИИ

Резюме

Исследовалось влияние однократной экспозиции крыс на кислород в гипербарии (НВТ 5 ата, 30 мин) на состояние мозгового кровообращения и барьера кровь-мозг, а также на громаждение воды в нервной ткани и в легких и на возникновение структурных изменений. Материал для исследований брали непосредственно, а также спустя 3, 6, 12 и 48 часов после экспозиции.

Во время экспозиции у части животных имели место судорги. У всех же животных наблюдали нарушения мозгового кровообращения. В первый период, продолжающийся до 3 часов наблюдали значительное сужение кровеносных сосудов мозга, которое уступало место пассивной гиперемии. В мозгах живот-

ных, у которых имели место судорги, наблюдали недостоверное снижение содержания воды, в первых 3 часах, в то время когда у животных без судоргов достоверное увеличение содержания воды имело место спустя 12 и 24 часа после экспозиции.

Структурные изменения у всех животных после НВТ сводились к обобщенному наличию темных, сморщенных нейронов, которым сопровождали отечные тела и отростки астроглии.

Значительные морфологические изменения в легких вместе со значительным увеличением их веса указывающим на возникновение отека, наблюдались только у животных с судоргами в первые 6 часов после экспозиции.

Однократная экспозиция на НВТ может вести к возникновению отека легких или мозга, обусловленного гемодинамическими нарушениями, чем цитотоксическим действием кислорода.

Z. M. Rap, P. Ruszczewski

EFFECT OF THE HEMODYNAMICS DISTURBANCES ON THE OCCURRENCE OF BRAIN AND LUNG EDEMA AFTER EXPERIMENTAL HYPERBARIC OXYGENATION

Summary

The influence of high oxygen pressure (OHP 5 ata/30 min) on the cerebral vascular bed, blood-brain barrier (BBB), structural changes in the nervous tissue and the lungs as well as the water content in these two rat organs were examined immediately and 3, 6, 12, 12, 24, 48 hrs after the exposure. Disturbances in cerebral microcirculation were observed in animals with and without seizures. During the first 3 hrs the vasoconstriction of cerebral blood vessels was strongly expressed but later (3—24 hrs) hyperemia dominated. Slight decrease of water content in the brain was noted in animals with the seizures only immediately and 3 hrs after OHP exposure while in animals without seizures its significant increase at 12 and 24 hrs was found. The morphological studies of the nervous tissue revealed a high number of dark neurons which were accompanied by swollen astrocytes. Severe morphological changes mainly hemorrhage with an increase of water content in the lungs of animals with seizures was noted during first 6 hrs after exposure.

In conclusion it is to be pointed out that only one exposure to OHP could lead to development of brain edema (animals without seizures) and lung edema (animals with seizures). The symptoms depend on the hemodynamics disturbances rather than oxygen intoxications.

PIŚMIENNICTWO

1. Bakay L., Lee L. C.: The effect of acute hypoxia and hypercapnia on the ultrastructure of central nervous system. *Brain* 1968, 91, 697—706.
2. Bakay L., Kobayashi T.: Cerebral isotope uptake in acute experimental hypercapnia, hypoxia. *Exp. Neurol.* 1971, 32, 303—312.
3. Balentine J. D.: Ultrastructural pathology of hyperbaric oxygenation in the CNS. Observation in anterior horn grey matter. *Lab. Invest.* 1974, 31, 580—592.
4. Chance R., Jamieson D., Williamson J. R.: Control of the oxidation reduction state of pyridine nucleotides in vivo and in vitro by hyperbaric oxygen. W: *Proc. 3rd Intern. Conf. on Hyperbaric Medicine, Washington. Natl. Acad. Sci., Natl. Res. Council* 1966, 15—41.

5. Dydyk L.: patogenezę obrzęku mózgu w normobarycznej hiperoksji. *Pol. Przegl. Chirur.* 1979, 51, 1211—1218.
6. Gerschman R. W.: *Oxygen in animals organism.* Pergamon Press, Oxford 1964, 475.
7. Holbach K. H., Cordi A., Wassmann E.: Cerebral energy metabolism in patients with brain lesions at normo- and hyperbaric oxygen pressure. *J. Neurol.* 1977, 217, 17—30.
8. Jamieson D., Cass N.: CNE and pulmonary damage in anesthetized rats exposed to hyperbaric oxygen. *J. appl. Physiol.* 1967, 23, 235—242.
9. Kapuściński A.: Badania nad ischemiczno-hipoksyjnym obrzękiem mózgu przy użyciu metod izotopowych. *Neuropat. Pol.* 1976, 14, 137—142.
10. Klatzo I.: Neuropathological aspects of brain edema. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1967, 23, 1—14.
11. Korthals J., Mossakowski M. J., Śmiałek M.: Obraz histologiczny i ultrastrukturalny w ostrej doświadczalnej encefalopatii tlenko-węglowej. *Neuropat. Pol.* 1973, 11, 279—300.
12. Lembeck F., Beubler E.: Convulsions induced by hyperbaric oxygen: inhibition by phenobarbital, diazepam and baclofen. *Arch. Pharm.* 1977, 297, 47—57.
13. Mchedlishvili G. I., Mossakowski M. J., Itkis M. L., Sikharulidze N. V., Januszewski S.: Changes in mechanical properties of brain tissue as factor of brain edema development. *Neuropat. Pol.* 1980, 18, 543—554.
14. Meyer J., Doboszyński T., Łokuciejewski B.: Morfologia płuc szczurów w doświadczalnej hiperbarii tlenowej. *Biul. Woj. AM.* 1966, 9, 209—216.
15. Miller J. D., McLedugham A., Jennett W. B.: The effect of HBO on intracranial pressure and cerebral edema. W: *Cerebral Blood Flow.* Red. M. Brock, C. Fieschi, D. H. Ingvar, N. A. Lassen, K. Schürmann, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1969, 268—278.
16. Miller J. D.: The effect of HBO at 2 and 3 ata absolute and intravenous mannitol on experimental increased intracranial pressure. *Neurology* 1973, 10, 1—11.
17. Mogami H., Hoyokowa T., Konal N., Suginato T., Kotsurada K.: HBO therapy in neurosurgical practice. *J. Clin. Med. (Japan)* 1968, 45, 106—113.
18. Mossakowski M. J.: Cerebral circulation disturbances in various types of hypoxic conditions. W: *Advances in Neurology. Vol. 20. Pathology of Cerebrospinal Microcirculation.* Red. J. Cervos-Navarro, E. Betz, G. Ebhardt, P. Ferszt, R. Wüllenweber, Raven Press, New York 1978, 161—171.
19. Rap T. M., 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.
20. Rap Z. M., Wideman J.: Changes in the sulfhydryl group level and influence of exogenous glutathione on dynamics of vasogenic brain edema. W: *Dynamics of Brain Edema.* Red. H. Papius, W. Feindel. Springer-Verlag, Berlin, New York, Heidelberg 1976, 164—168.
21. Rap Z. M., Dąbrowiecki Z.: The free radical lipid peroxidation in nervous tissue during development of vasogenic brain edema and influence of Decadron phosphate on its dynamics. W: *Proc. Cerebrovascular Diseases Symposium.* Reims 1978 (w druku).
22. Rap Z. M., Wideman J.: Effect of reduced and oxidized glutathione on structural changes of nervous tissue in vasogenic brain edema. *Neuropat. Pol.* 1980, 18, 191—202.
23. Rosenbaum R., Wittner M., Scarpelli E.: Parameters in the pathophysiology of oxygen tolerance in the rat lung. *Am. J. Path.* 1973, 70, 31a.

24. Ruszczewski P., Truskolaski P., Dąbrowiecki Z., Rap Z. M., Herbaczyńska-Cedro K.: Effect of prostaglandin E₂ and indomethacin upon cerebral and pulmonary consequences of exposure to hyperbaric oxygen in rats. *Acta neurol. scand.* 1979, 59, 188—199.
25. Thiede W. H., Manley J.: Cerebral air embolism and cerebral edema. One regimen of treatment. *Aviat. Space Environ. Med.* 1976, 47, 553—555.
26. Wood J. D., Watson W. J., Murray G. W.: Correlation between decreases in brain γ -aminobutyric acid levels and susceptibility to convulsions induced by hyperbaric oxygen. *J. Neurochem.* 1969, 16, 281—287.
27. Ugrjumov V. M., Shustin V. A., Elinski M. P.: Experience with hyperbaric oxygenation in neurosurgery. *Vopr. Neurokir.* 1977, 41, 3—8.

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

RECENZJA PISMA

BRITISH MEDICAL BULLETIN 1980, 36, Nr 2

Kolejny numer czasopisma *British Medical Bulletin* poświęcony jest w całości dystrofii mięśniowej i zawiera artykuły autorów brytyjskich prowadzących od wielu lat badania nad chorobami mięśni. Grupa naukowców brytyjskich zajmuje szczególne miejsce i odgrywa wiodącą rolę w świecie w tej dziedzinie wiedzy, do czego niewątpliwie przyczynił się prof. J. N. Walton z Uniwersytetu w Newcastle, twórca współczesnej szkoły chorób mięśni.

Zamieszczone w piśmie artykuły stanowią przegląd dokonanych osiągnięć, podnoszą kwestie sporne i nierozstrzygnięte oraz sygnalizują kierunki i perspektywy dalszych badań w dystrofiach. Przedmiotem największego zainteresowania jest postępująca dystrofia mięśniowa typu Duchenne'a.

Część pierwszą prac, dotyczącą zagadnień klinicznych i genetycznych dystrofii, rozpoczyna artykuł D. Gardnera-Medwina, jednego z najbliższych współpracowników prof. Waltona, na temat klasyfikacji dystrofii. Autor przedstawia propozycję nowego podziału i w oparciu o kryteria genetyczne wyróżnia postacie dystrofii związane z chromosomem x o dziedziczeniu recesywnym (postać Duchenne'a i postać Beckera) i dominującym oraz postacie dystrofii o przekazywaniu autosomalnym: dominującym i recesywnym.

A. E. H. Emery, najwybitniejszy genetyk w dziedzinie chorób mięśni, omawia problemy genetyki w dystrofiach, ze szczególnym uwzględnieniem metod wykrywania nosicielstwa w dystrofii Duchenne'a i Beckera oraz perspektywy rozpoznawania tych chorób w życiu płodowym. Wobec braku metod efektywnego leczenia dystrofii Duchenne'a (możliwości lecznicze przedstawione w pracy V. Dubowitza i J. Heckmatta) wykrywanie nosicielstwa stanowi dziś jedyną metodę działania profilaktycznego. Do zagadnienia tego nawiązuje również praca R. J. T. Penningtona (Newcastle). Autor ten wskazuje na wartość określania aktywności kinazy pyrogronianowej w wykrywaniu nosicielstwa; omawia nadto zachowanie się aktywności kinazy fosfokreatynowej w surowicy krwi w zależności od typu dystrofii i stopnia zaawansowania choroby.

Znaczenie badań elektrofizjologicznych dla głębszej oceny procesu chorobowego w miopatiach omawia M. Hayward (Liverpool) i podkreśla szczególną wartość metody badania włókien izolowanych. Zmiany w mięśniu sercowym w dystrofii są przedmiotem pracy S. Huntera (Newcastle). Stwierdza on, że zmiany w mięśniu sercowym należą do obrazu zaawansowanego stadium choroby i nie są swoiste.

Interesujące zagadnienie kliniczne porusza J. Newson-Davis (Londyn). Omawia on patomechanizm i objawy kliniczne niewydolności oddechowej w dystrofiach oraz metody jej zapobiegania. Autor zwraca uwagę, że niewydolność oddechowa związana jest przede wszystkim ze zmianami w przeponie i pogłębia się w czasie snu, czemu należy zapobiegać poprzez stosowanie w nocy kontrolowanego oddechu.

Prace zamieszczone w części zatytułowanej „Patogeneza i kierunki badań w dystrofii” koncentrują się przede wszystkim na problemie hipotetycznego defektu błony komórki mięśniowej, jako pierwotnej nieprawidłowości w dystrofii. Z punktu widzenia histologii zagadnienie to omawiają M. J. Cullen i F. L. Mastaglia (Newcastle), ze strony biochemii — D. A. Ellis (Smethwick). W oparciu o wyniki badań w hodowli tkankowej możliwość defektu błony komórkowej dyskutuje E. J. Thompson (Londyn) dostarczając nadto nowych dowodów na miogenne pochodzenie dystrofii. Te ostatnie spostrzeżenia mają istotne znaczenie wobec zapoczątkowanej przez McComasa i ciągnącej się do dziś dyskusji na temat neurogennej patogenezy dystrofii. Dyskusję o roli błony komórki mięśniowej w powstawaniu dystrofii podsumowuje wybitny biochemik londyński J. A. Lucy stwierdzając, iż brak jest jeszcze przekonujących dowodów, aby hipotezę tę w pełni zaakceptować.

Inne zagadnienia omawiane w tej części, to różne metody oceny wydolności mięśni (R. H. T. Edwards — Londyn) oraz doświadczalne modele dystrofii mięśniowej (J. B. Harris i C. R. Slater — Newcastle).

Oceniane wydawnictwo spotka się na pewno z dużym zainteresowaniem osób zajmujących się problematyką chorób nerwowo-mięśniowych. Należy jednak podkreślić, że prace dotyczące klinicznych i genetycznych aspektów dystrofii powinny znaleźć znacznie szerszy krąg odbiorców, bowiem zawierają one szereg cennych informacji, potrzebnych każdemu neurologowi w jego codziennej działalności lekarskiej.

Hanna Jędrzejowska

JÓZEF SZCZECH

MORFOLOGIA I HISTOCHEMIA NEUROGLEJU
W OSTRYM ZATRUCIU CERESANEM *

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

Ceresan (chlorek metoksyetylortęciowy) stosowany jest w rolnictwie jako środek grzybobójczy. Związek ten zawierający 2,5% rtęci może, w określonych warunkach, wywierać szkodliwy wpływ zarówno na ludzi, jak i na zwierzęta. Możliwość zatrucia ludzi i zwierząt powstaje w wyniku nieprzestrzegania zasad bezpieczeństwa i higieny pracy, przedostawania się Ceresanu do gleby, a następnie do roślin i organizmów zwierzęcych oraz w wyniku nieprzestrzegania okresu karencji lub omyłkowego spożycia. Możliwości zatrucić sprzyja dość duża trwałość związku (Rusiecki 1973).

Z dotychczasowych badań doświadczalnych na zwierzętach wiadomo, że zatrucie Ceresanem prowadzi do rozległych uszkodzeń w układzie nerwowym (Sosiński 1979), lecz mechanizm ich powstawania nie jest dotąd wyjaśniony. Dlatego podjęto próbę oceny zmian morfologicznych i histochemicznych gleju w doświadczalnym zatruciu szczurów, która być może przyczyni się do dokładniejszego wyjaśnienia patogenezy obserwowanych zjawisk.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 57 szczurach rasy Wistar, obu płci, o ciężarze ciała od 160 do 200 g. Zwierzęta otrzymywały Ceresan dożołądkowo przy pomocy odpowiedniej sondy. Preparat bezpośrednio przed użyciem rozpuszczano w wodzie destylowanej.

Grupa I (12 szczurów) otrzymywała po 200 mg Ceresanu dziennie przez 3 dni;

Grupa II (20 szczurów) otrzymywała po 100 mg przez 6 dni;

Grupa III (25 szczurów) otrzymywała po 50 mg przez 7 dni.

Praca wykonana w ramach problemu węzłowego 10.4.2.02.3.5.

Grupę kontrolną stanowiło 5 szczurów, którym wprowadzano dożołądkowo wodę destylowaną.

Bezpośrednio po przeprowadzonym doświadczeniu szczury uśmiercano w narkozie eterowej przez przecięcie serca i wykrwawienie. Do badań histopatologicznych i histoenzymatycznych pobierano mózgowie, które utrwalano w płynie Bakera przez 16 godz. w temp. 4°C. Materiał przeznaczony do badań histopatologicznych zatapiano w parafinie, a sporządzone skrawki barwiono przy zastosowaniu rutynowych metod neuropatologicznych. Badania histoenzymatyczne wykonywano na skrawkach ciętych przy pomocy mikrotomu mrozeniowego i następnie poddanych reakcjom wykazującym aktywność następujących enzymów:

Pyrofosfatazy tiaminowej (TPPazy) — EL*. 2.5.1.3., wg metody Novikoffa i Goldfischera (1961). Inkubacja w temp. pokojowej przez 30 min.

Esterazy nieswoistej (NsE) — EL. 3.1.1.1., wg metody Nachlasa i Seligmanna (1949). Inkubacja w temp. 37°C przez 15 min.

Fosfatazy zasadowej (FZ) — EL. 3.1.3.1., wg metody Gomoriego (1953). Inkubacja w temp. 37°C przez 30 min.

Fosfatazy kwaśnej (FK) — EL. 3.1.3.2., wg metody Gomoriego (1953). Inkubacja w temp. 37°C przez 50 min.

Acetylocholinoesterazy (AChE) — EL. 3.1.1.7., wg metody Gerebtzoffa (1953). Inkubacja w temp. 37°C przez 2 godz.

Butyrylocholinoesterazy (BuTJ) — EL. 3.1.1.8., wg metody Gerebtzoffa (1953). Inkubacja w temp. 37°C przez 3 godz.

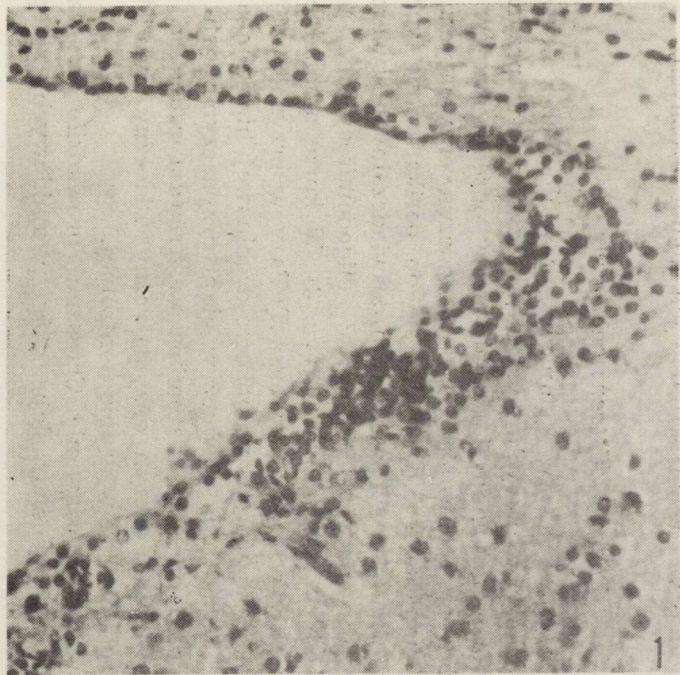
Adenozynotrójfosfatazy (ATPazy) — EL. 3.6.1.3., wg metody Wachsteina i Meisela (1957). Inkubacja w temp. 37°C przez 45 min.

WYNIKI

Badania histopatologiczne

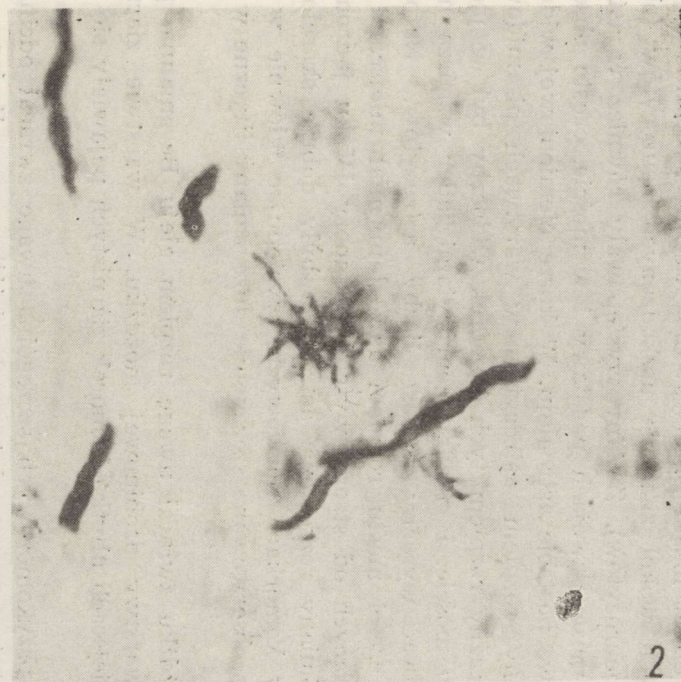
Pomimo zróżnicowania dawek oraz okresu podawania Ceresanu, w badaniach histopatologicznych nie zaobserwowano wyraźnych różnic pomiędzy poszczególnymi grupami zwierząt. We wszystkich grupach doświadczalnych zmiany glejowe polegały na obrzmieniu i umiarkowanym rozplemie zarówno oligo- jak i astrogleju. Jądra oligodendrocytów spoidła wielkiego często były powiększone i w barwieniu met. Nissla wybarwiały się jasno. Gdziekolwiek widoczna była skąpa i nieregularna obwódka różowej cytoplazmy. Często obserwowano rozplem tych komórek tworzących kuliste skupienia. Poza spoidłem wielkim podobne zmiany w oligodendrogleju widoczne były w pasmie wzrokowym, sklepieniu i w drodze piramidowej w moście. W jądrach nn. czaszkowych

* EL. — number of enzymes list (Florkin, Stotz 1973).



Ryc. 1. Rozplem gleju podwyściółkowego w okolicy rogu skroniowego komory bocznej mózgu. H-E. Pow. 128 \times .

Fig. 1. Proliferation of subependymal glia around temporal horn of the cerebral ventricle. H-E. $\times 128$.



Ryc. 2. Spoidło wielkie. Przerośnięty astrocyt z silną aktywnością TPP-azy. Pow. 200 \times .

Fig. 2. Corpus callosum. Hypertrophic astrocyte with high activity of TPP-ase activity. $\times 200$.

w grzbietowej części mostu obserwowano czasami tworzenie się trumienek glejowych wokół znacznie uszkodzonych neurocytów (obkurczenie, cienie neurocytów). Zmiany występowały również w astrocytach. W korze mózgu, zwojach podstawy i w moście, często obserwowano przerostowe postaci astrogleju. W korze ciemieniowej widoczny był umiarkowany rozplem astrocytów w warstwach piramidowych. Szczególnie wyraźny rozplem tych komórek widoczny był w jądrach wzgórza oraz w moście. Pomiedzy neurocytami jąder wzgórza można było zaobserwować wyraźny wzrost liczby astrocytów. Natomiast w grzbietowej części mostu rozplem astrogleju miał miejscami charakter ławic, idących od strony wyściółki komory IV ku jądrům nn. czaszkowych. Zmiany rozrostowe astrogleju były dobrze skorelowane ze zmianami w komórkach nerwowych, występując głównie w tych miejscach, gdzie obserwowano szczególnie duże zmiany lityczne w neurocytach.

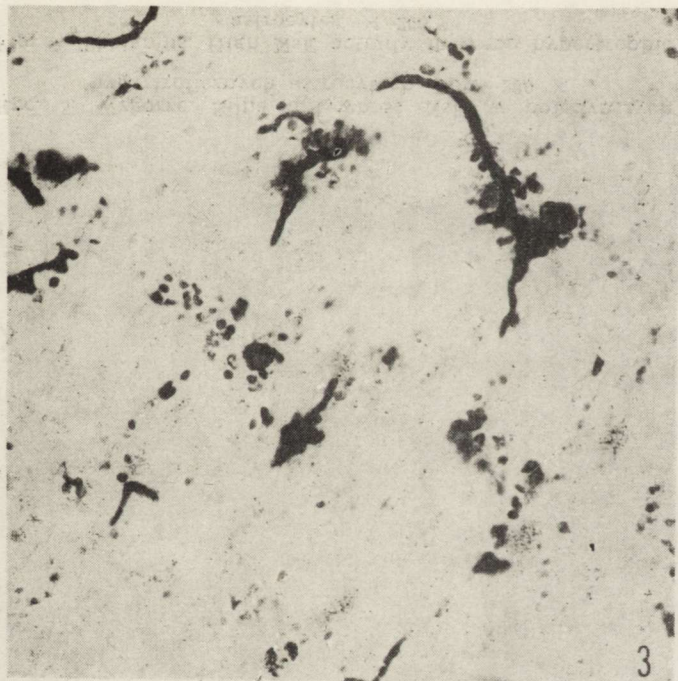
W korze mózdzku zwracał uwagę rozplem gleju Bergmanna, penetrującego do warstwy drobinowej mózdzku. W warstwie ziarnistej natomiast, w miejscach ubytku komórek ziarnistych pojawiały się przerosłe astrocyty.

W okolicach przykomorowych szczególną uwagę zwracał odcinkowy rozplem niezróżnicowanego gleju podwyściółkowego. Zmiany takie obserwowano w otoczeniu III komory (ryc. 1) oraz strzępka i koryta hipokampa. Niekiedy na biegunach tych komórek występowały pojedyncze delikatne wypustki. Miejscami stwierdzano też rozrost komórek wyściółki, szczególnie w rogach skroniowych komór bocznych.

Badania histoenzymatyczne

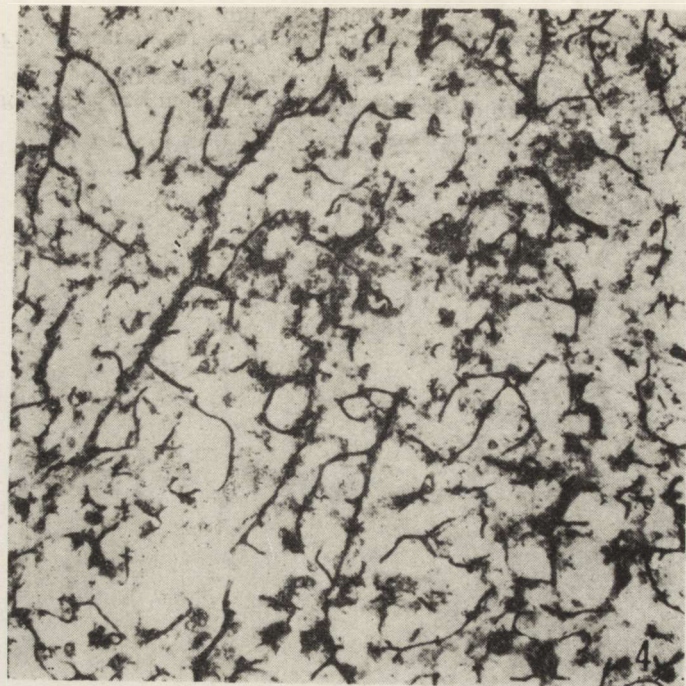
Pyrofosfataza tiaminowa. W stanach prawidłowych aktywność TPPazy w komórkach glejowych występuje zazwyczaj w przynaczyniowych wypustkach astrogleju i to głównie w obrębie zwojów podstawy. Pod wpływem podawania Ceresanu odczyn enzymatyczny na ogół zanika w wypustkach i ogranicza się do perikarionów tych komórek (ryc. 2). W omawianych warunkach doświadczalnych stwierdzono niewielki wzrost aktywności TPPazy w oligodendrocytach, przede wszystkim w spidle wielkim mózgu (ryc. 3). W korze amonalnej zaobserwowano znaczny wzrost aktywności TPPazy w przynaczyniowych wypustkach astrocytów warstwy zatokowo-drobinowej hipokampa. Podobne zmiany widoczne były również w gleju przynaczyniowym jądra brzuszego wzgórza (ryc. 4). Natomiast w *striatum radiatum* hipokampa słaby, dyfuzyjny odczyn enzymatyczny widoczny był jedynie wokół naczyń, podobnie jak w grupie kontrolnej.

Esteraza nieswoista. Podawanie Ceresanu prowadziło do wzrostu aktywności NsE w oligodendrogleju dróg piramidowych, sklepienia



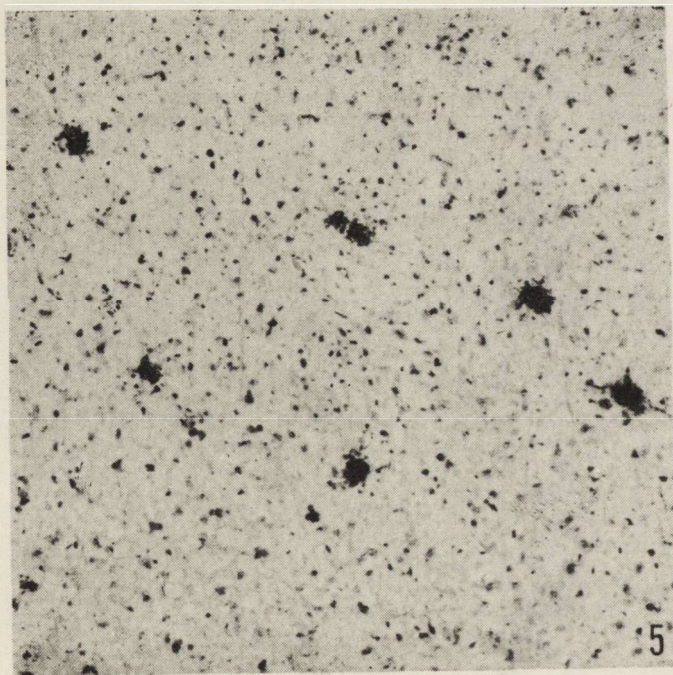
Ryc. 3. Spidło wielkie. Rozrost oligodendrogleju połączony ze wzrostem aktywności TPP-azy. Pow. 200 \times .

Fig. 3. Corpus callosum. Hyperplasia of oligodendrocytes with increased TPP-ase activity. \times 200.



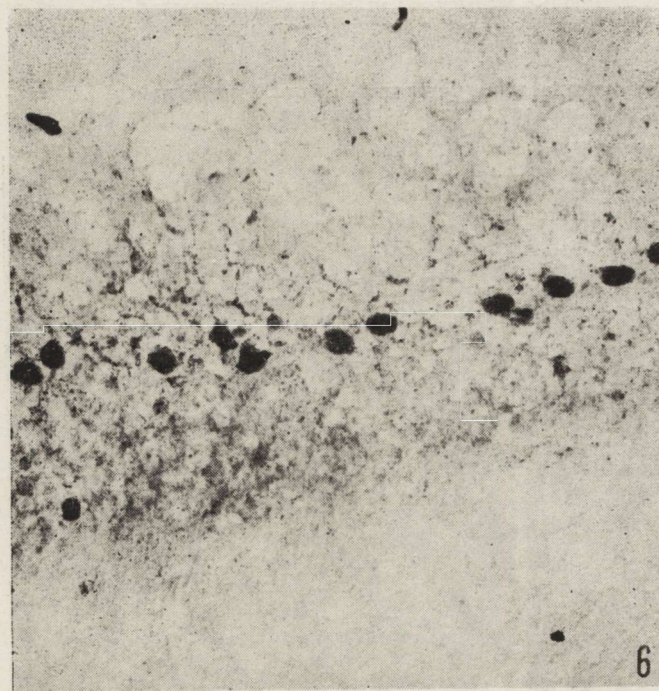
Ryc. 4. Jądro brzuszne wzgórza. Wyraźna aktywność TPP-azy w przynaczyniowych wypustkach astrocytów. Pow. 80 \times .

Fig. 4. Nucleus ventralis thalami. High TPP-ase activity in perivascular astrocytic processes. \times 80.



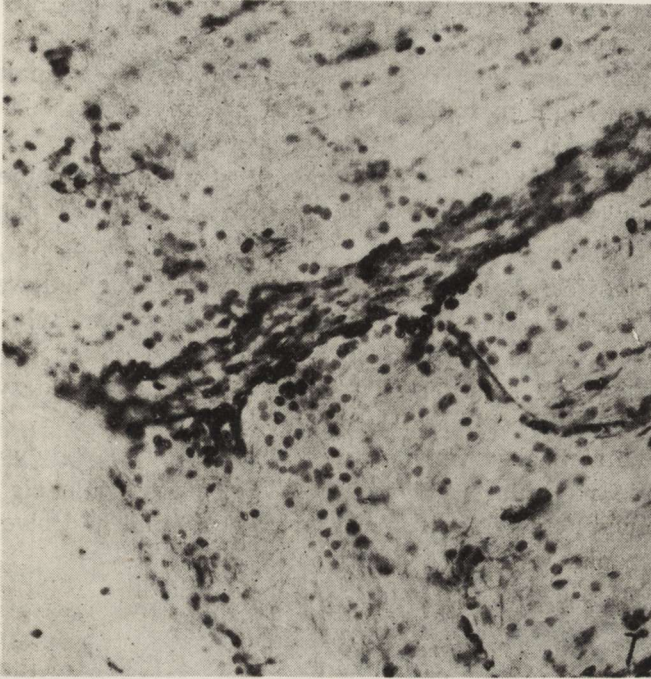
Ryc. 5. Wzgórze. Silna aktywność NsE w pojedynczych hipertroficznym astrocytach. Pow. 200 X.

Fig. 5. Thalamus. High NsE activity in some hypertrophic astrocytes. X 200.



Ryc. 6. Kora mózdzku. Aktywność FK w komórkach Purkinjego i gleju Bergmanna. Pow. 80 X.

Fig. 6. Cerebellar cortex. Activity of AcP-ase in Purkinje cells and Bergmann glia. X 80.



Ryc. 7. Spoidło wielkie. Rozrost oligodendrogleju w pobliżu naczynia krwionośnego, połączony ze wzrostem aktywności ATP-azy. Pow. 200 X.

Fig. 7. Corpus callosum. Hyperplasia of oligodendrocytes in the vicinity of the blood vessel. Increased ATP-ase activity. X 200.

i konarów mózdzku. Wzrost aktywności tego enzymu widoczny był również w rozrastającym się gleju podwysciółkowym, szczególnie w otoczeniu III komory. W innych okolicach mózgu aktywność NsE nie ulegała zmianie. W astrocytach, z wyjątkiem obszaru wzgórza (ryc. 5), nie stwierdzono aktywności tego enzymu.

Fosfataza zasadowa. W komórkach glejowych zwierząt kontrolnych nie wykryto aktywności fosfatazy zasadowej. We wszystkich grupach doświadczalnych pojawiał się dyfuzyjny odczyn w rozrastającym się gleju podwysciółkowym. Zarówno przerosłe postacie astrocytów jak i rozrastające się oligodendrocyty nie wykazywały aktywności FZ.

Fosfataza kwaśna. W mózgu zwierząt doświadczalnych dodatni odczyn enzymatyczny występował w niektórych oligodendrocytach spoidła wielkiego w postaci drobnych ziarenek. Nieco większą aktywność wykazywały oligodendrocyty dróg piramidowych w moście i w konarach mózdzku. W astrocytach natomiast dodatnia reakcja pojawiała się tylko sporadycznie. Zjawisko to miało miejsce głównie w astrogleju jąder nerwów czaszkowych, w moście i rdzeniu przedłużonym. W rozrastającym się gleju podwysciółkowym w otoczeniu III komory obserwowano umiarkowaną aktywność FK w postaci drobnopylkowej.

W mózdku silny odczyn enzymatyczny pojawiał się w przerosłym gleju Bergmanna (ryc. 6).

Acetylocholinoesteraza. W komórkach glejowych zwierząt kontrolnych odczyn na ten enzym był na ogół ujemny. Podobnie u zwierząt doświadczalnych nie obserwowano aktywności AChE.

Butyrylotiocholinoesteraza. Zarówno w grupie kontrolnej jak i u zwierząt doświadczalnych nie stwierdzono aktywności tego enzymu w komórkach glejowych.

Adenozynotrójfosfataza. Podawanie Ceresanu powodowało wzrost aktywności ATPazy w licznych komórkach glejowych. Była ona bardzo wyraźna w komórkach oligodendrogleju spoidła wielkiego (ryc. 7) i pasma wzrokowego. W korze mózgu i we wzgórzu silny odczyn enzymatyczny widoczny był w błonie jądrowej wielu astrocytów. Znaczne nasilenie aktywności obserwowano w jądrach gleju podwyściółkowego. W hipokampie natomiast aktywność ATPazy pojawiała się w przynaczyniowych wypustkach astrogleju oraz w błonie jądrowej oligodendrocytów strzępka i koryta hipokampa.

OMÓWIENIE

Toksyczność organicznych związków rtęci zależy w znacznej mierze od chemicznego charakteru rodnika organicznego połączonego z rtęcią (Bidstrup 1964; Rusiecki 1973). Szczególnie toksyczne właściwości wykazuje niskocząsteczkowy metylek rtęci, który jak się przypuszcza, był odpowiedzialny za wywołanie endemicznych zatruc rtęcią w zatoce Minemata (Hiyakawa, Deshimaru 1969). Zmianom w układzie nerwowym wywołanym przez ten związek poświęconych jest szereg prac doświadczalnych i spostrzeżeń klinicznych (Miyakawa i wsp. 1970; Mukai 1972; Ware i wsp. 1974).

Pod względem chemicznym Ceresan różni się od metylku rtęci tylko obecnością tlenu i grupy metylowej. Związek ten jest zarazem fungicydem rtęciowym o najmniejszej masie cząsteczkowej ze stosowanych w Polsce (Rusiecki 1973).

W poprzednich pracach (Kozik, Wigowska-Sowińska 1978; Szczech 1979) dotyczących toksycznego działania fungicydów arylortęciowych na ośrodkowy układ nerwowy zwracano uwagę na znaczne zmiany histopatologiczne i histoenzymatyczne w neurocytach i neuropilu. Zmiany glejowe były niewielkie. W odniesieniu do toksycznego oddziaływania Ceresanu na ośrodkowy układ nerwowy godne podkreślenia wydaje się, obok występowania zmian w neuronach, znaczne uszkodzenie oligo- i astrogleju. Podobne zmiany przerostowe astrogleju oraz rozplem gleju podwyściółkowego i gleju Bergmanna obserwował Mukai (1972) w doświadczalnym zatruciu myszy alkilortęciową pochodną cysteiny. Inni autorzy (Cavanagh, Chen 1971; Chang, Hartmann 1972)

po podskórnym podawaniu metylku rtęci obserwowali rozrost gleju Bergmanna, rozplem astrocytów w II, III i IV warstwie kory mózgu oraz rozplem mikrogleju. Zjawisko to obserwowano także w istocie szarej rdzenia kręgowego (Greenfield 1976) oraz w amficytach zwojów współczulnych (Leech 1967).

Chociaż topografia zmian glejowych, występujących po podawaniu Ceresanu jest nieco inna niż w zatruciach metylkiem rtęci, to struktura procesu patologicznego może wskazywać na podobny mechanizm patogenetyczny.

Jednym z elementów tego mechanizmu, jak wynika z prac doświadczalnych Ware i wsp. (1974) oraz Chang i wsp. (1972), jest uszkodzenie bariery krew-mózg. Ware i wsp. (1974) zaobserwowali bowiem elektronowo-gęste złoże rtęci w śródbłonkach kapilarów i obrzmiałych wypustkach przynaczyniowych astrogleju. Pojawiały się one już po 30 min. od chwili podania metylku rtęci. Ceresan jako chlorek metoksyetylortęciowy zawiera grupę alkilową, która być może odgrywa istotną rolę w patogenezie obserwowanych zmian. Brak istotnych różnic w obrazie morfologicznym i histoenzymatycznym pomiędzy poszczególnymi grupami doświadczalnymi w naszym materiale być może wynika z szybkości przenikania tego związku przez barierę naczyniowo-mózgową, podobnie jak to wykazał Ware i wsp. (1974) w przypadku metylku rtęci. Przypuszczenie to wymagałoby jednak szerszych badań z uwzględnieniem stanu bariery naczyniowo-mózgowej w zatruciu Ceresanem.

Niektórzy autorzy (Rotstein 1959; Chang 1972) podkreślają także wpływ związków rtęci na inaktywację szeregu enzymów, głównie ATPazy, FZ i dehydrogenaz. Zjawisko to w przypadku omawianych warunków doświadczalnych jest niewątpliwie bardzo złożone. Bowiem oprócz spadku aktywności enzymatycznej po zatruciu Ceresanem obserwuje się miejscami wzmożony odczyn enzymatyczny w rozrastającym się lub przerośniętym neurogleju. Ponadto zaobserwowano przemieszczanie się aktywności TPPazy i ATPazy w astrogleju z wypustek przynaczyniowych do perikarionu. Obraz taki może przemawiać za wzrostem aktywności biologicznej neurogleju jako nieswoistej reakcji na zatruciu Ceresanem. Na możliwość tę wskazują spostrzeżenia dokonane w licznych badaniach dotyczących zarówno patologii jak i fizjologii układu nerwowego, w których obserwowano podobne zmiany aktywności enzymatycznej (Kozik 1975; Wender i wsp. 1973; Wender, Kozik 1978).

Na odrębną uwagę zasługuje rozplem astrogleju i gleju podwysiółkowego. Wydaje się, że rozplem astrogleju we wzgórzu i w jądrach nn. czaszkowych w moście ma charakter odczynowy i jest odpowiedzią na uszkodzenie neurocytów, pojawiające się w wyniku zatrucia. Trud-

no natomiast wyjaśnić przyczynę rozplemu gleju podwyściółkowego, obserwowanego zarówno w zatruciu Ceresanem jak i metylkiem rtęci.

PODSUMOWANIE

1. Dożołądkowe podawanie Ceresanu wywołuje w mózgu szczura przerost astrocytów oraz rozplem oligodendrocytów i nieznaczny rozplem gleju podwyściółkowego.

2. Przerost astrocytów ma charakter odczynowy, towarzyszący zmianom litycznym neurocytów.

3. Przeronięte komórki glejowe cechują się zwiększoną aktywnością TPPazy i niekiedy fosfatazy kwaśnej. Aktywność ATPazy ulega przemieszczeniu z wypustek komórek glejowych do części perikarialnej.

4. Proliferyjny glej podwyściółkowy cechuje się podwyższoną aktywnością TPPazy, ATPazy, NsE i fosfatazy kwaśnej.

Ю. Щех

МОРФОЛОГИЯ И ГИСТОХИМИЯ НЕЙРОГЛИИ В ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ ЦЕРЕСАНОМ

Резюме

Исследования проводились на 57 взрослых, разделенных на 3 группы, крысах породы Вистар, которым вводили Цересан (антигрибковое вещество содержащее 2,5% ртути) в следующих дозах: 200 мг в течение 3 дней, 100 мг в течение 6 дней и 50 мг в течение 7 дней. Животных умерщвляли в эфирном наркозе. На замороженных срезах проводились гистохимические реакции на активность фосфатаз и эстераз. Парафиновые срезы окрашивались обычными гистологическими методами.

Гистологически обнаруживали отек и гиперплазию нейроглии и недифференцированной субэпендимальной глии.

Гиперпластические глиальные клетки характеризовала повышенная активность ТФФазы и кислой фосфатазы. В субэпендимальной глии наблюдали повышенную активность ТФФазы, АТФазы, НсЭ и кислой фосфатазы.

J. Szczech

MORPHOLOGY AND HISTOCHEMISTRY OF NEUROGLIA IN ACUTE INTOXICATION WITH CERESAN

Summary

Ceresan, a fungicide containing 2.5% of mercury was administered to 57 adult Wistar rats. The substance was given in the form of water solutions to the stomach in following doses: 200 mg for 3 days, 100 mg for 6 days, and 50 mg for 7 days. The animals were sacrificed under ether anesthesia. The frozen sections of the brain were used for the histochemical reactions for phosphatases and esterase activity. Cerebral tissue was also embedded in paraffin and stained with routine histological methods.

Light microscopy revealed swelling proliferation and hypertrophy of neuroglia and hyperplasia of nondifferentiated subependymal glia. Hyperplastic neu-

rogial cells showed increased activity of TPP-ase and acid phosphatase. Proliferating subependymal glia revealed additionally enhanced activity of ATP-ase and NSE-ases.

PIŚMIENNICTWO

1. Bidstrup P. L.: Toxicity of mercury and its compounds. Elsevier 1964, 8—13.
2. Cavanagh J. B., Chen F. C. K.: The effects of methyl-mercury dicyandiamide on the peripheral nerves and spinal cord of rat. *Acta neuropath. (Berl.)* 1971, 19, 208—215.
3. Chang L. W., Hartmann H. A.: Ultrastructural studies of the nervous system after mercury intoxication. I. Pathological changes in the nerve cell bodies. *Acta neuropath. (Berl.)* 1972, 20, 122—138.
4. Chang L. W., Hartmann H. A.: Blood-brain barrier dysfunction in experimental mercury intoxication. *Acta neuropath. (Berl.)* 1972, 21, 179—184.
5. Dixon J. S.: Changes in the fine structure of satellite cells surrounding chromatolytic neurone. *Anat. Rec.* 1969, 163, 101—110.
6. Florkin M., Stotz E. H.: Enzyme nomenclature. W: *Comprehensive Biochemistry*. Elsevier, Amsterdam 1973, 13.
7. Gerebtzoff M.: Recherches histochimiques sur les acetylcholine et choline esterases. *Acta anat. (Basel)* 1953, 19, 366—379.
8. Gomori G.: *Microscopic histochemistry*. University Press, Chicago 1953.
9. *Greenfield's Neuropathology*. Red. W. Blackwood, J. A. N. Corsellis, E. Arnold Publishers, London 1976, 157—160.
10. Kozik M.: Histoenzymatic changes in the brain in a case of cardiac arrest. *Neuropat. Pol.* 1975, 13, 165—173.
11. Kozik M. B., Wigowska-Sowińska J.: Cerebral changes in course of intoxication with mercury phenylacetate. *Exp. Path.* 1978, 16, 267—275.
12. Leech R. W.: Changes in satellite cells of rat dorsal root ganglia during central chromatolysis. An electron microscopic study. *Neurology (Minneapolis)* 1967, 17, 349—358.
13. Miyakawa T., Deshimaru M.: Electronmicroscopical study of experimentally induced poisoning due to organic mercurial compound. Mechanism of development of the morbid changes. *Acta neuropath. (Berl.)* 1969, 14, 126—136.
14. Miyakawa T., Deshimaru M., Sumiyoshi S., Teraoka M., Udo N., Hatori E., Tatetsu S.: Experimental organic mercury poisoning—pathological changes in peripheral nerves. *Acta neuropath. (Berl.)* 1970, 15, 45—55.
15. Mukai N.: An experimental study of alkylmercurial encephalopathy. *Acta neuropath. (Berl.)* 1972, 22, 102—109.
16. Nachlas M., Seligmann A.: The histochemical demonstration of esterases. *J. Nat. Cancer Inst.* 1949, 9, 415—425.
17. Novikoff A., Goldfischer B. S.: Nucleoside diphosphatase activity in the Golgi apparatus and its usefulness for cytological studies. *Proc. nat. Acad. Sci.* 1961, 9, 47—61.
18. Rothstein A.: Cell membrane as site of action of heavy metals. *Fed. Proc.* 1959, 18, 1026—1038.
19. Rusiecki W.: *Toksykologia środków ochrony roślin*. PZWL, Warszawa 1973.
20. Sosiński E.: Zmiany neuropatologiczne w mózgu szczura w następstwie zatrucia Ceresanem. *Neuropat. Pol.* 1979, 17, 585—593.
21. Szczech J.: Zmiany morfologiczne i histoenzymatyczne w korze amonalnej szczura w przebiegu zatrucia octanem fenylortęciowym. *Neuropat. Pol.* 1978, 16, 347—360.

22. Wachstein M., Meisel E.: Histochemistry of hepatic phosphatases of a physiologic pH with special reference to the demonstration of bile canaliculi. *Amer. J. Clin. Path.* 1957, 27, 13—23.
23. Ware R., Chang L. W., Burkholder P. M.: An ultrastructural study on the blood-brain barrier dysfunction following mercury intoxication. *Acta neuropath. (Berl.)* 1974, 30, 211—224.
24. Wender M., Kozik M. B., Piechowski A.: Effect of chronic triethyltin intoxication on the morphological and histoenzymic pattern of rat brain. *Neuropat. Pol.* 1973, 11, 323—329.
25. Wender M., Kozik M. B.: Enzyme histochemistry of neuroglia in demyelinating diseases. *Neuropat. Pol.* 1978, 16, 211—218.

Adres autora: Samodzielna Pracownia Patologii Układu Nerwowego i Narządów Zmysłów AM, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań.

PRZEMYSŁAW NOWACKI, GRAŻYNA SZECHEREW

PRZYPADEK ROZLEGŁEJ MARTWICY
RDZENIA KRĘGOWEGO
PRAWDOPODOBNIEM O ETIOLOGII ZAPALNEJ

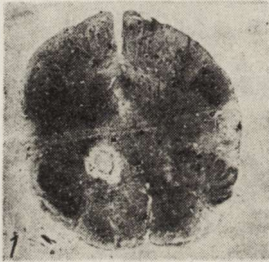
Klinika Neurologii Instytutu Chorób Układu Nerwowego
i Narządów Zmysłów PAM, Szczecin
Kierownik: prof. dr M. Jarema

Warunki unaczynienia, jak i znaczna odporność na niedokrwienie sprawiają, że rozległe procesy martwicze rdzenia kręgowego należą do rzadkości. W nielicznych opisanych dotychczas przypadkach martwicy rdzenia dopatrywano się zazwyczaj dodatkowego, pozanaczyniowego czynnika patogenego. Ponieważ w dostępnym piśmiennictwie nie znaleźliśmy opisu podobnych zmian w rdzeniu, uważamy za celowe opublikowanie niniejszego przypadku, w którym na uwagę zasługuje zarówno przebieg kliniczny, jak i obraz morfologiczny.

Opis przypadku

Chora I. N., lat 22 (nr hist. chor. 776/77), została przyjęta do Kliniki Neurologii PAM w Szczecinie z powodu nagłego porażenia wszystkich kończyn, poprzedzonego kilkuminutowym ich drętwieniem. Poza infekcją dróg moczowych, którą przeżyła dwa tygodnie przed początkiem choroby, pacjentka uchodziła za zdrową. W dniu przyjęcia do Kliniki była przytomna, zorientowana, skarżyła się na uczucie duszności. Oddech był przyspieszony i sploty, a ruchomość oddechowa klatki piersiowej ogólnie ograniczona. Ciśnienie krwi wynosiło 80/60 mmHg, tętno 50/min. Badaniem neurologicznym stwierdzono wiotkie porażenie 4 kończyn z osłabieniem czucia powierzchniowego od wysokości odpowiadającej 3 kręgowi piersiowemu. Z badań dodatkowych wynikało, że chora ma zasadowicę oddechową (pH krwi 7,60), podwyższoną leukocytozę (12,0), niedobór potasu w surowicy krwi (2,88 mol). Po kilku godzinach wystąpiło całkowite porażenie mięśni oddechowych klatki piersiowej, wobec czego rozpoczęto oddychanie kontrolowane przy użyciu respiratora. Podejrzewając zapalenie rdzenia kręgowego podano

antybiotyki i hormony sterydowe oraz witaminę B12. Wyrównano zaburzenia w gospodarce wodno-elektrolitowej i kwasowo-zasadowej. Następnego dnia, ze względu na konieczność utrzymania oddechu kontrolowanego, wykonano tracheostomię. Dwukrotne badanie płynu mózgowo-rdzeniowego w ciągu dwóch kolejnych dni wypadło prawidłowo. Wobec utrzymujących się stale zaburzeń oddechu przekazano chorą do Oddziału Reanimacji i Intensywnej Terapii. Tam w ciągu kilku dni porażenie wiotkie przekształciło się w spastyczne. Poza tym stan neurologiczny nie uległ zmianie. Pacjentka przebywała kilkakrotnie obrzęk płuc. Po kilku dniach dołączyło się zapalenie płuc, które pogorszyło istniejącą już niewydolność oddechową. W 13 dniu od chwili zachorowania pacjentka zmarła wśród objawów szybko pogłębiającej się niewydolności oddechowej.



Ryc. 1. Martwica z rozpadem tkanki w obrębie przyśrodkowej części oliwy dolnej na wysokości niskiej opuszki. Fiolet krezyłu. Pow. lupowe, ok. 5 X.

Fig. 1. Necrotic focus with tissue breakdown in medial portion of inferior olive. Lower medulla. Cresyl-violet. Magnifying glass. X 5.

Na sekcji ogólnej stwierdzono masywne, obustronne, odoskrzelowe zapalenie płuc, które uznano za bezpośrednią przyczynę zgonu. Ponadto obecne było wodobrzusze oraz zastój żylny wątroby i nerek.

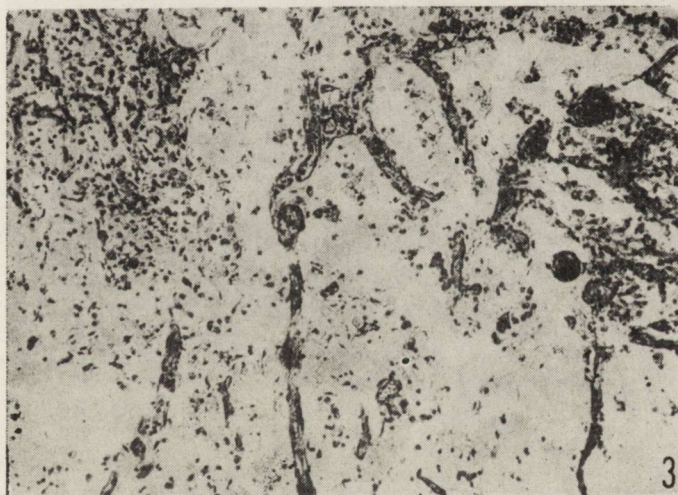
W badaniu makroskopowym rdzeń kręgowy wykazywał cechy rozmiękania, był obrzęknięty, na przekrojach jednolicie szary i rozpadający się. Mózg i mózdzek makroskopowo nie wykazywały zmian. Badaniem mikroskopowym stwierdzono, że martwica obejmuje całą długość rdzenia, lokalizując się głównie wokół kanału środkowego i zajmując obszar rogów przednich oraz sznurów bocznych i przednich. Występowały również jamy po rozpadłej tkance nerwowej (ryc. 1, 2, 3, 4). Największe nasilenie zmian martwiczych obserwowano na wysokości zgrubienia szyjnego i w pograniczu rdzenia szyjnego i piersiowego. W niższych odcinkach martwica nie była tak rozległa, a rozpad tkanki ograniczał się do istoty szarej, zwłaszcza rogów przednich. Na wszystkich poziomach martwica wykazywała podobne zaawansowanie organizacji, polegające na rozbiórce makrofagowej i proliferacji drobnych naczyń (ryc. 5), przy znacznym udziale wytwórczego odczynu glejowego. Drugim elementem obrazu patologicznego były zmiany zapalne. Składały się na nie nieliczne grudki neuronofagiczne występujące przede wszystkim na poziomie rdzenia szyjnego, drobne,

śródkankowe nacieki mikrogleju-limfocytarne i pojedyncze okrągłokomórkowe nacieki wokół naczyń w okolicy jądra pasma rdzeniowego nerwu V w opuszce, oraz kilka wyraźnych okrągłokomórkowych nacieków przynaczyniowych w jądrach podstawy. W całości, obraz neuro-



Ryc. 2. Lokalizacja i rozległość martwicy w szyjnym i piersiowym odcinku rdzenia: a) środkowy odcinek szyjny, b) dolny odcinek szyjny, c) górny odcinek piersiowy. Fiolet krezyłu. Pow. lupowe, ok. 5 X.

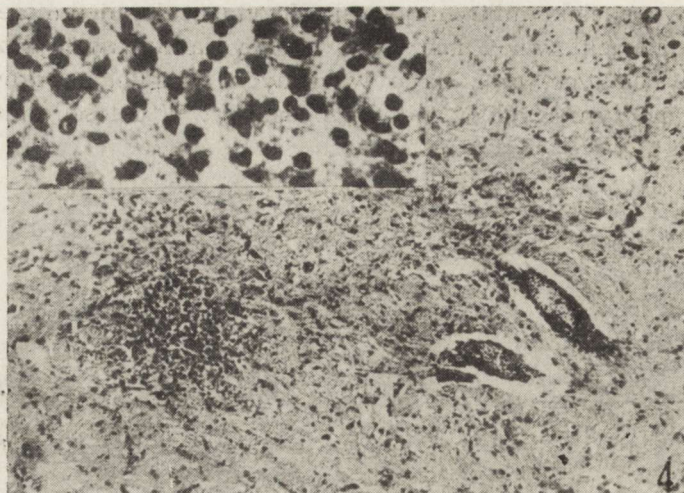
Fig. 2. Topography and extension of the necrosis in cervical and thoracic segments of the spinal cord: a) middle cervical segment, b) lower cervical segment, c) upper thoracic segment. Cresyl violet. Magnifying glass X 5.



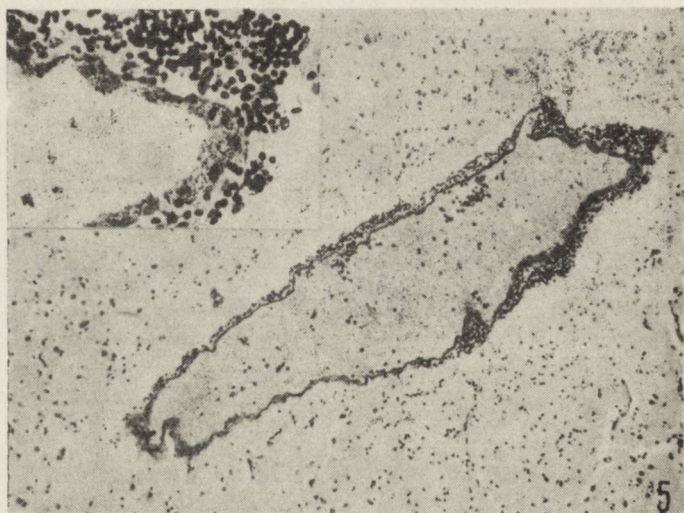
Ryc. 3. Ognisko martwicy w stadium rozbiórki makrofagowej i proliferacji naczyń. H-E. Pow. 100 X.

Fig. 3. Necrotic focus in a stage of macrophagic reaction with proliferation of small blood vessels. H-E. X 100.

patologiczny odpowiadał rozległej martwicy rdzenia kręgowego prawdopodobnie o etiologii zapalnej, pochodzenia wirusowego. Należy jednak podkreślić niewielkie nasilenie komponentu zapalnego w porównaniu z rozmiarami martwicy.



Ryc. 4. Śródmózgowy naciek mikroglejowo-limfocytny i okrągło-komórkowe nacieki okołonaczyniowe na poziomie rdzenia przedłużonego. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×. W górnym lewym rogu struktura śródkankowego nacieku. Pow. 240 ×.
 Fig. 4. Parenchymal microglial-lymphocytic infiltration and perivascular lymphocytic cuffing in the medulla. Cresyl violet. × 100. Insert showing the cellular elements of the infiltrate. × 240.



Ryc. 5. Wielowarstwowy naciek limfocytny wokół dużego naczynia żylnego w łupinie. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×. W górnym lewym rogu struktura nacieku. Pow. 240 ×.

Fig. 5. Multilayer lymphocytic perivenous infiltration in the putamen. Cresyl violet. × 100. Insert showing the cellular structure of the infiltrate. × 240.

OMÓWIENIE

W piśmiennictwie znany jest zespół określany nazwą ostrej mielopatii martwiczej (Altrocchi 1963). Jego rozpoznanie ustala się na podstawie obrazu morfologicznego rdzenia. Nie daje on jednak wskazówek

co do przyczyny choroby. Przymuszczalnie istnieje szereg czynników, które mogą prowadzić do zespołu mielopatii martwiczej. Należą do nich infekcje bakteryjne i wirusowe, w tym pierwotne zapalenia ośrodkowego układu nerwowego, szczepienia prewencyjne, czynniki infekcyjno-alergiczne, urazy rdzenia, choroby naczyń rdzeniowych, nowotwory poza centralnym układem nerwowym (Jaffe, Freeman 1943; Hoffman 1955; Környey 1965). Z wymienionych wyżej czynników etiologicznych, w różnicowaniu naszego przypadku, braliśmy pod uwagę przede wszystkim procesy zapalne ośrodkowego układu nerwowego, a zwłaszcza zapalenie wywołane przez wirusy z grupy ARBO. Ten rodzaj zapalenia ośrodkowego układu nerwowego ma wyraźną predylekcję do lokalizacji rdzeniowej, zwłaszcza w odcinku szyjnym, a w jego strukturze morfologicznej występuje znaczny komponent martwiczy (Seitelberger, Jellinger 1960; 1966). Jednakże nasilenie zmian zapalnych w naszym przypadku było tak niewielkie, że utrudniało dokładną ocenę struktury procesu i prawie uniemożliwiało jednoznaczne określenie topografii procesu, osłabiając w ten sposób morfologiczne kryteria ustalenia rodzaju zapalenia. Z grupy chorób zapalnych brano również pod uwagę zapalenia przyzakazne i poszczepienne. Nie uzyskano jednakże danych, które mogłyby przemawiać za takim rozpoznaniem, a obraz morfologiczny przypadku nie zawierał elementów typowych dla tej grupy chorób. W różnicowaniu uwzględniono również ciężką postać zespołu Devica, ponieważ stopień nasilenia i rozległość martwicy w tym zespole mogą również być tak znaczne jak w przedstawionym przypadku. W wycinkach ze skrzyżowania wzrokowego w naszym przypadku nie stwierdziliśmy jednak zmian patologicznych, choć z drugiej strony należy uwzględnić fakt, że przedmiotem oceny był jedynie niewielki fragment tej okolicy uzyskany do badań.

Urazy rdzenia mogą również powodować powstanie podobnych ognisk martwicy. Są one zwykle ograniczone do okolicy urazu, niekiedy tylko rozprzestrzeniając się na jego najbliższe sąsiedztwo. Przebiegają przy tym bez odczynu zapalnego.

Dokładna ocena korzeni rdzenia, opon oraz fragmentów dobrze zachowanych tkanek samego rdzenia, nie wykazała ani zwiększonej ilości naczyń ani wyraźnych nieprawidłowości w strukturze ich ścian i zawartości ich światła, które mogłyby sugerować pierwotną, bądź wtórną patologię naczyniową jako podłoże stwierdzonego zespołu chorobowego.

W rozważaniach patogenetycznych należało uwzględnić również ewentualną rolę zabiegów reanimacyjnych, którym poddawana była chora w przebiegu leczenia oraz występującą w czasie choroby niewydolność oddechowo-kръżeniową. Przeciwno ich pierwotnej roli przemawia fakt, iż rdzeniowa symptomatologia kliniczna obserwowana była od początku choroby, a więc przed podjęciem jakichkolwiek zabiegów

reanimacyjnych i wystąpieniem komplikacji ze strony układu krążenia i oddychania. Możliwa do przyjęcia jest koncepcja, że pierwotny proces zapalny i towarzyszący mu obrzęk mogły doprowadzić do niedokrwienia okolic ośrodkowego układu nerwowego związanych z regulacją czynności układu krążenia i oddychania, a wtórna niewydolność oddechowo-krążeniowa mogła stać się bezpośrednią przyczyną obserwowanej martwicy rdzenia. W przypadku takim nasuwa się jednak pytanie, jaki czynnik decydował o jej ograniczeniu do rdzenia i dlaczego nie wystąpiła ona w strukturach mózgu, w których występował również proces zapalny.

Z przedstawionych koncepcji etiopatogenetycznych najbardziej prawdopodobna wydaje się wirusowa infekcja ośrodkowego układu nerwowego. Wytlumaczenie patogenezy martwicy w tym procesie chorobowym jest jednak bardzo trudne i pozostaje w sferze przypuszczeń. Zdaniem Környeya (1965) i Csermely i Szüesa (1970) we wszystkich typach zapaleń współistnieje czynnik niedokrwienia, sprzyjający powstawaniu martwicy. Według Murofuschy (1968) dużą rolę w tworzeniu martwic odgrywa obrzęk tkanki wywołany przez proces zapalny, upośledzający lokalne krążenie w drobnych i średnich naczyniach. Martwica (wywołana przez procesy zapalne rozwija się zazwyczaj w ich obrębie, czego nie obserwowaliśmy jednak w naszym przypadku. Rozległemu rozmiękaniu odpowiadały bowiem niewielkie tylko zmiany zapalne i to położone zwykle w okolicach oddalonych od martwicy. W tym świetle uzasadnione wydaje się przypuszczenie, że mamy do czynienia z procesem zapalno-alergicznym, w którym komponent odczynowy, manifestujący się rozpadem tkanki, zdecydowanie przeważa nad zapalnym.

П. Новацки, Г. Шехерев

СЛУЧАЙ ОБШИРНОГО НЕКРОЗА СПИННОГО МОЗГА ВЕОРИТНО
ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Резюме

Авторы представляют случай обширного некроза спинного мозга у 22-летней больной. Кроме преобладающих в нейропатологической картине признаков размягчения наблюдали они небольшую воспалительную компоненту. Это заставило авторов утверждать, что в патогенезе заболевания основную роль играет воспалительно-аллергический процесс.

P. Nowacki, G. Szecherew

A CASE OF EXTENSIVE NECROSIS OF THE SPINAL CORD
WITH PROBABLE INFLAMMATORY ETHIOLOGY

Summary

The authors present a case of extensive necrosis of the spinal cord in a 22-year patient. Beside features of malacia, which predominated in the neuropat-

hological picture, the authors noticed a minor inflammatory component. This may be interpreted to mean that an inflammatory allergic process played an essential role in the pathogenesis of the disease.

PÍSMIENNICTWO

1. Altrocchi P. H.: Acute transverse myelopathy. Arch. Neurol. 1963, 9, 111—119.
2. Csermely H., Szües O.: Über die postoperativen anoxischen Veränderungen des Zentralnervensystems. Zbl. Bllg. Path. 1970, 113, 556—563.
3. Hoffman H. J.: Acute necrotic myelopathy. Brain 1955, 78, 377—393.
4. Jaffe D., Freeman W.: Spinal necrosis and softening of obscure origin. Arch. Neurol. Psychiat. 1943, 49, 683—707.
5. Környey S.: Anoxisch-vasale Hirnschädigung bei allgemeinen und neuralen Infektionskrankheiten. Acta neuropath. (Berl.) 1965, 4, 278—287.
6. Murofushi K.: Encephalite necrosante aigue. Etude de la structuration de ce type et du role des facteurs vasculaires et oedemateux. Acta Neurol. Psych. Belg. 1968, 68, 26—84.
7. Seitelberger F., Jellinger K.: Frühjahr-Sommer-Encephalomyelitis in Mittel-Europa. Nervenarzt 1960, 31, 49—60.
8. Seitelberger F., Jellinger K.: Neuropathologie der Zeckenencephalitis. Neuro-pat. Pol. 1966, 4, 367—400.

Adres autorów: Klinika Neurologii PAM, ul. Unii Lubelskiej 1, 71-344 Szczecin.

OCENA KSIĄŻKI

Fundamentals of sensorineural auditory pathology. W. B. Dublin. Ch. C. Thomas Publisher. Springfield, Ill. 1976, str. 229, ryc. 9.

Do przedstawienia monografii czytelnikowi, pomimo spóźnionego terminu (5 lat od wydania), skłania mnie nie tylko głęboki szacunek dla jej autora, którego podręcznik neuropatologii wydany w roku 1954 należy do dziś do najczęściej używanych przez mnie, lecz przede wszystkim jej unikalność i zgoła niezwykłość.

Monografia stanowi wnikliwe, wszechstronne studium patomorfologii drogi słuchowej od ucha wewnętrznego poczynając na korze słuchowej kończąc. Część ściśle patomorfologiczną poprzedza dokładne omówienie technik służących pobieraniu, utrwalaniu i preparatyce ucha wewnętrznego i mózgu oraz szczegółowy, bogato ilustrowany wykład poświęcony embriologii, anatomii makroskopowej i mikroskopowej (z mikroskopią elektronową transmisyjną i odbiciową włącznie), części ślimakowej ucha wewnętrznego oraz kolejnych poziomów drogi słuchowej. Sporą część stanowią również rozważania fizjologiczne i patofizjologiczne.

W dalszych działach autor systematycznie omawia patomorfologię narządu ślimakowego i drogi słuchowej w zaburzeniach rozwojowych zarówno wrodzonych, jak i uwarunkowanych genetycznie, w zakażeniach, zatruciach i zaburzeniach o podłożu immunopatologicznym. Obszerne rozdziały poświęcone są problematyce urazów, guzów nowotworowych oraz chorób metabolicznych zarówno ogólnoustrojowych, jak i dotyczących wybiórczo aparatu słuchowego i/lub mózgu. W części ściśle neuropatologicznej przedmiotem szczegółowego zainteresowania autora są te procesy chorobowe, w których zespole klinicznym występują zaburzenia słuchu.

Książka stanowi znakomite wykorzystanie wieloletnich doświadczeń autora, równoczesnego kierownika zakładu neuropatologii i laboratorium patologii otiatrycznej w Veterans Administration Hospital, Martinez California. Korzystając z praw monografii, autor świadomie poświęca więcej uwagi tym zagadnieniom, w zakresie których ma bogatsze własne doświadczenie, mniej zaś tym, w których korzysta z danych piśmiennictwa. Nie zaburza to jednak systematycznego układu opracowania. Na szczególną uwagę zasługuje zwięzłość i jasność opisu oraz znakomity, bogaty materiał ilustracyjny pochodzący z materiałów własnej pracowni. Tekst monografii uzupełnia zestawienie źródłowego materiału piśmienniczego, dotyczącego zarówno prawidłowego jak i chorobowo zmienionego aparatu słuchowego i mózgowia.

Sądzę, że książka stanowi bardzo pożyteczne i interesujące opracowanie monograficzne, które powinno zainteresować otiatrów i neurologów, anatomo-patologów i neuropatologów, stwarza ona bowiem pomost między tymi dziedzinami nauk medycznych. Przypuszczam, że na długo zachowa swoją aktualność.

Mirostaw J. Mossakowski

JOANNA STROSZNAJDER

REGULACJA METABOLIZMU GLICEROFOSFOLIPIDÓW
W MÓZGU W NORMIE I NIEDOTLENIENIUZespół Neurochemii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN,
Warszawa

STRESZCZENIE PRACY HABILITACYJNEJ

Glicerofosfolipidy cholinowe i glicerofosfolipidy etanoloaminowe są najliczniej występującymi fosfolipidami w błonach komórkowych. Odgrywają one istotną rolę jako element budulcowy błon jak również biorą udział w licznych procesach życiowych komórki. Synteza *de novo* glicerofosfolipidów cholinowych z dwuradylogliceroli katalizowana jest przez etanoloaminofosfotransferazę CDP etanoloamina:1,2-dwugliceryd (EC 2. 7. 8. 1) oraz cholinofosfotransferazę CDP cholina:1,2 dwugliceryd (EC 2.7.8.2). Enzymy te przenoszą fosfoetanoloaminę lub fosfocholinę z odpowiednich nukleotydów cytydynowych na dwuglicerydy (Kennedy, Weiss 1956; Rossiter, Strickland 1970; Ansell 1973). Diacylowe glicerofosfolipidy syntetyzowane są z 1,2-diacylo-sn-gliceroli, alkilowe glicerofosfolipidy mogą być również syntetyzowane, aczkolwiek w nieznacznym stopniu, z 1-alkenylo-2-acylo-sn-glicerolu. Biosynteza plasmalogenów etanoloaminowych przebiega jednak w głównej mierze w wyniku enzymatycznej desaturacji alkilowych glicerofosfolipidów etanoloaminowych (Paltauf 1971; Wykle i wsp. 1972; Strosznajder, Dąbrowiecki 1977). Do chwili obecnej pozostają nie wyjaśnione zarówno niektóre etapy syntezy glicerofosfolipidów etanoloaminowych i glicerofosfolipidów cholinowych, jak również mechanizmy regulujące ich syntezę.

Podstawowym substratem dla syntezy lipidów i pozostałych makromolekuł w mózgu jest glukoza, której przemiana zapewnia równocześnie stały dopływ energii dla komórek OUN. Glicerofosfolipidy błon mózgu są bogate w wielonienasycone kwasy tłuszczowe. Znaczenie kwasów tłuszczowych glicerofosfolipidów dla struktury i funkcji błon jest dobrze poznane, natomiast mechanizmy regulujące metabolizm grup

acylowych lipidów nie są w pełni wyjaśnione (Corbin, Sun 1978). Metabolizm glicerofosfolipidów oraz wchodzących w ich skład kwasów tłuszczowych ulega zaburzeniom w warunkach niedotlenienia OUN (Kosow i wsp. 1966; Hinzen i wsp. 1970; Bazan 1970; Banschbach, Geison 1974).

Nieliczne i fragmentaryczne dane z literatury na temat metabolizmu lipidów w niedotlenieniu skłoniły do podjęcia szerszych badań dotyczących regulacji metabolizmu glicerofosfolipidów błon i związanych z nimi kwasów tłuszczowych w normie i niedotlenieniu. W badaniach uwzględniono wpływ tych związków, których poziom i rozmieszczenie wewnątrzkomórkowe może ulegać zmianie w warunkach niedotlenienia mózgu. Określono rodzaj zmian metabolizmu glicerofosfolipidów i kwasów tłuszczowych w różnych rodzajach niedotlenienia oraz podjęto próbę wytłumaczenia mechanizmów odpowiedzialnych za stwierdzone w niedotlenieniu zmiany.

MATERIAŁ I METODY

Modele niedokrwienia i niedotlenienia

Do badań użyto szczury rasy Wistar i Sprague Dawley — samce, w wieku 16—19 i ok. 90 dni oraz króliki obu płci o ciężarze ciała 2—3 kg.

Niedokrwienie podekapitacyjne mózgu szczurów wywoływano przez obcięcie głów i przetrzymywanie ich w temperaturze 37°C przez okres 30 sek. — 5 min. Niedotlenienie hipoksyjne (1% O₂ w N₂) wywoływano umieszczając szczury w komorze o objętości 12 l, przez którą przepływał azot zawierający 1% O₂, z szybkością 2 l/min. Zwierzęta przetrzymywano w tych warunkach 30 min, z krótkimi przerwami przeznaczonymi na poprawę stanu krążeniowo-oddechowego. Niedotlenienie hipoksyjne (7% O₂ w N₂) przeprowadzono umieszczając zwierzęta w tej samej komorze w atmosferze mieszanki gazowej o składzie 7% O₂ w N₂ na okres od 15 min do 2 godzin. W każdym przypadku temperaturę ciała zwierząt utrzymywano na poziomie 37°C. Kontrolę stanowiły zwierzęta dekapitowane lub zamrożone w ciekłym azocie bez wywoływania niedokrwienia lub niedotlenienia.

Preparatyka frakcji komórkowych i podkomórkowych z kory mózgu

Do badań poziomu fosfolipidów i wolnych kwasów tłuszczowych w korze mózgu, zwierzęta dekapitowano i głowy wrzucano bezpośrednio do ciekłego azotu. Następnie w ciągu kilkunastu sekund odpreparowywano korę mózgu i poddawano ją odpowiednim metodom ekstrakcyjnym. W celu uzyskania frakcji komórkowych i podkomórkowych

zwierzęta dekapitowano, a z kory mózgu przygotowywano skrawki grubości ok. 4 mm i homogenat, który poddawano odpowiednim różnicowym wirowaniom. Całość procedury prowadzono w 0—4°C. Frakcje komórek wzbogacone w ciała neuronów i komórki gleju izolowano według metody opisanej przez Blomstranda i Hambergera (1970). Frakcję mitochondrialną izolowano wg metody Ozawy i wsp. (1966) i oczyszczano na nieciągłym gradiencie Ficollu w izotonicznej sacharozie. Frakcję mikrosomalną uzyskiwano przez odwinowanie supernatantu pomitochondrialnego przy 105 000 g przez 1 godz. Synaptosomy izolowano wg metody Lai i Clarka (1976) oraz wg metody Sun i Samorajski (1970).

*Badanie biosyntezy lipidów i aktywności enzymów
przy użyciu radioaktywnych substratów*

Biosyntezę glicerofosfolipidów etanoloaminowych badano przy użyciu CDP [¹⁴C]etanoloaminy, którą syntetyzowano wg metody Chojnackiego i Metcalfe'a (1966). Biosyntezę glicerofosfolipidów cholinowych badano przy zastosowaniu CDP [¹⁴C]choliny, którą otrzymywano wg metody Kennedy'ego (1956). W badaniach syntezy plazmalogenów etanoloaminowych stosowano [¹⁴C] alkiloglicerofosfoetanoloaminę, jak również [¹⁴C, ³²P] alkiloglicerofosfoetanoloaminę. Prekursory te syntetyzowano wg metody Debuch i wsp. (1970). Zdolność tkanki nerwowej do syntez lipidowych oznaczano przez określenie stopnia wbudowywania piętna izotopowego do lipidów mózgu z [U ¹⁴C] glukozy (Strosznajder, Domańska-Janik 1980).

Wbudowywanie kwasów tłuszczowych do glicerofosfolipidów badano przy użyciu kwasu [¹⁴C] linolowego C_{18:2} i kwasu [¹⁴C] oleinowego C_{18:1} (Strosznajder 1980). Aktywność procesu deacylacji-reacylacji glicerofosfolipidów błon, aktywowaną przez fosfolipazę A₂ i acylotransferazę, badano przez określenie wbudowywania radioaktywnego kwasu tłuszczowego z [¹⁴C]oleiloCoA do endogennych lizoglicerofosfolipidów (Strosznajder i wsp. 1980). Aktywność hydrolazy acyloCoA określano przez pomiar radioaktywności w puli wolnych kwasów tłuszczowych po inkubacji frakcji podkomórkowych w obecności radioaktywnego acyloCoA (Strosznajder i wsp. 1980).

Oznaczenie nagromadzenia jonów wapnia prowadzono w mitochondriach przy użyciu ⁴⁵CaCl₂ (Carafoli, Lehninger 1967; Strosznajder 1979).

Oznaczanie aktywności enzymów i niektórych związków chemicznych metodami spektrofotometrycznymi. Metodami spektrofotometrycznymi oznaczano następujące enzymy: NADPH cytochrom c oksydazę, cytochrom c oksydazę, dehydrogenazę mleczanową, fosfatazę kwasną, a ponadto białko, fosfor nieorganiczny, kwas mlekowy i wolne kwasy tłuszczowe.

Ekstrakcja i analiza lipidów

Lipidy ekstrahowano wg metody Folcha i wsp. (1957). Rozdział ilościowy lipidów prowadzono przy użyciu chromatografii kolumnowej z Florisilem, jak również przy zastosowaniu metod preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej. Analizę jakościową lipidów przeprowadzano stosując chromatografię cienkowarstwową jednokierunkową lub dwukierunkową, z równoczesną hydrolizą kwaśną wiązania alkenylowego glicerofosfolipidów etanoloaminowych lub glicerofosfolipidów cholinowych wg metody Horrocksa i Sun (1972) lub bez hydrolizy kwaśnej. Wolne kwasy tłuszczowe ekstrahowano metodą Dole'a i Meinertza (1960) i oznaczano metodą kolorymetryczną (Strosznajder i wsp. 1972) oraz przy użyciu chromatografii gazowej.

WYNIKI I OMÓWIENIE

Regulacja biosyntezy glicerofosfolipidów we frakcjach podkomórkowych w komórkach nerwowych i glejowych z kory mózgu w normie i niedotlenieniu

Synteza glicerofosfolipidów etanoloaminowych oraz glicerofosfolipidów cholinowych aktywowana przez etanoloaminofosfotransferazę i cholinofosfotransferazę przebiega aktywnie we frakcji mikrosomalnej z kory mózgu oraz we frakcji komórek wzbogaconych w ciała neuronów. Znacznie niższa jest aktywność obu transferaz w komórkach glejowych w porównaniu z komórkami nerwowymi. W synaptosomach poddanych szokowi hipoosmotycznemu stwierdzano aktywność obu enzymów. Aktywność fosfotransferaz wykazuje bezwzględną zależność od obecności jonów Mg^{2+} i Mn^{2+} , natomiast jony wapnia wywierają silny efekt hamujący. Alkiloacyloglicerol pobudza syntezę eterowych glicerofosfolipidów cholinowych jak również eterowych glicerofosfolipidów etanoloaminowych. W tych samych warunkach doświadczalnych hamuje on syntezę diacyloglicerofosfolipidów. Diacyloglicerol powoduje wzrost syntezy diacyloglicerofosfocholiny i diacyloglicerofosfoetanoloaminy. Nukleotydy adeninowe ATP i cAMP oraz neurotransmitery hamują aktywność etanoloaminofosfotransferazy i cholinofosfotransferazy w komórkach nerwowych i synaptosomach przy braku statystycznie znamiennych różnic w komórkach glejowych. cAMP wybiórczo hamuje syntezę alkiloacyloglicerofosfolipidów — prekursorów plasmalogenów. Kwas oleinowy obniża znacznie syntezę alkilowych glicerofosfolipidów cholinowych w komórkach glejowych. We frakcji mikrosomalnej z kory mózgu zwierząt, poddanych działaniu niedokrwienia podekapitacyjnego i niedotlenienia hipoksyjnego 1% O_2 w N_2 , stwierdzano obniżenie syntezy eterowych glicerofosfolipidów etanoloaminowych i eterowych glicerofosfolipidów cholinowych. W wyniku działania niedotlenienia hi-

poksyjnego 1% O₂ w N₂ obserwowano również obniżenie syntezy glicerofosfolipidów w obecności endogennych substratów lipidowych oraz obniżenie syntezy diacyloglicerofosforylocholinyl. Zaburzenia aktywności syntezy wymienionych glicerofosfolipidów obserwowano w tych warunkach doświadczalnych, którym towarzyszy wzrost poziomu cAMP oraz znaczny wzrost poziomu wolnych kwasów tłuszczowych. Aktywność obu enzymów nie ulega zmianie w niedotlenieniu hipoksyjnym 7% O₂ w N₂. Cykliczny AMP lub kwasy tłuszczowe mogą zmieniać konformację etanoloaminofosfotransferazy i cholinofosfotransferazy w ten sposób, że enzymy łatwiej wchodzi w reakcję z diacyloglicerolem niż z alkiloacyloglicerolem (Strosznajder i wsp. 1979).

*Biosynteza plazmalogenów etanoloaminowych
w mózgu szczurów w normie i niedotlenieniu*

Badania biosyntezy plazmalogenów etanoloaminowych prowadzono przy użyciu bezpośredniego prekursora [¹⁴C] alkiloglicerofosforyloetanoloaminy i [¹⁴C, ³²P]alkiloglicerofosforyloetanoloaminy. Stwierdzono, że alkiloglicerofosforyloetanoloamina zawierająca alkohol C₁₆ przy pierwszym węglu glicerolu ulega aktywniejszemu przekształceniu do plazmalogenów etanoloaminowych aniżeli glicerofosfolipid alkilowy zawierający resztę alkoholową C₁₈. Ponadto zaobserwowano, że część hydrofilna plazmalogenów etanoloaminowych metabolizowana jest aktywniej niż część lipofilna. Uzyskane wyniki wskazują, że w procesie syntezy plazmalogenów etanoloaminowych proces acylacji alkiloglicerofosforyloetanoloaminy do alkiloacyloglicerofosforyloetanoloaminy wyprzedza proces odwodorowania wiązania eterowego do enoloeterowego. Potwierdzono, że w procesie syntezy plazmalogenów etanoloaminowych bierze udział enzym, który wymaga do pełnej aktywności takich czynników jak NADPH, CoA, tlen cząsteczkowy oraz ATP i Mg²⁺. Niedokrwienie podekapitacyjne oraz niedotlenienie hipoksyjne 1% O₂ w N₂ powoduje obniżenie aktywności enzymatycznego przekształcenia wiązania eterowego alkiloglicerofosforyloetanoloaminy do wiązania enoloeterowego plazmalogenów etanoloaminowych. Dehydrogenaza plazmalogenowa ulega prawdopodobnie nieodwracalnym zmianom w warunkach eksperymentalnych, którym towarzyszy dramatyczne obniżenie poziomu tlenu i związków wysokoenergetycznych. Zmieniona w wyniku niedotlenienia aktywność enzymu, w znacznie mniejszym stopniu reaguje na brak w środowisku inkubacyjnym, takich czynników jak NADPH, ATP i CoA, w porównaniu do aktywności procesu badanego w mikrosomach z mózgu zwierząt kontrolnych. Niedotlenienie hipoksyjne 7% O₂ w N₂ nie wywiera wpływu na proces syntezy plazmalogenów etanoloaminowych. Zaburzenie metabolizmu plazmalogenów etanoloaminowych może powodować zmiany składu ilościowego i jakościowego glicerofosfolipidów

blon. Plazmalogeny są kompetycyjnymi inhibitorami fosfolipaz (Woelk, Porcellati 1973). Wysoki ich poziom w błonach ośrodkowego układu nerwowego może odgrywać istotną rolę w utrzymaniu stabilności tych błon.

*Biosynteza lipidów z [U ¹⁴C] glukozy
w skrawkach kory mózgu szczurów w normie i niedotlenieniu*

[U ¹⁴C] glukoza jest uniwersalnym prekursorem syntezy lipidów w mózgu. W skrawkach kory mózgu zwierząt kontrolnych synteza lipidów z [U ¹⁴C] glukozy przebiega w następującej kolejności: obojętne lipidy > glicerofosfolipidy cholinowe > glicerofosfolipidy inozytolo-we i glicerofosfolipidy serynowe > kwasy tłuszczowe lipidów > glicerofosfolipidy etanoloaminowe > sfingomielina.

Porównano syntezę lipidów z [U ¹⁴C] glukozy w mózgu zwierząt, poddanych działaniu niedotlenienia hipoksyjnego 7% O₂ w N₂, któremu nie towarzyszy obniżenie poziomu związków wysokoenergetycznych i zmniejszenie dopływu tlenu do mózgu (Berntman, Siesjö 1978), z niedokrwieniem podekapitacyjnym, w którym obserwuje się dramatyczne obniżenie poziomu związków wysokoenergetycznych i brak tlenu. Stwierdzono, że niedokrwienie podekapitacyjne i niedotlenienie hipoksyjne 7% O₂ w N₂ nie zaburza procesu utleniania glukozy, natomiast powoduje obniżenie wbudowywania [¹⁴C] z [U ¹⁴C] glukozy do lipidów mózgu. Najistotniejsze różnice pomiędzy wpływem obu warunków doświadczalnych na metabolizm lipidowy polegają na obniżeniu syntezy glicerofosfolipidów inozytolowych i glicerofosfolipidów serynowych w wyniku działania niedotlenienia hipoksyjnego 7% O₂ w N₂, a braku zmian w wyniku działania niedokrwienia podekapitacyjnego. Poza tym stwierdzono obniżenie syntezy kwasów tłuszczowych glicerofosfolipidów pod wpływem niedotlenienia, natomiast wzrost syntezy kwasów tłuszczowych po działaniu niedokrwienia podekapitacyjnego. Wzrost syntezy kwasów tłuszczowych z [U ¹⁴C] glukozy w skrawkach kory mózgu zwierząt poddanych niedokrwieniu podekapitacyjnemu może wskazywać na zdolność tkanki nerwowej do kompensacji zaburzeń błonowych lipidów. Znaczny wzrost poziomu nukleotydów pirydynowych w warunkach niedokrwienia może być czynnikiem sprzyjającym syntezie kwasów tłuszczowych podczas inkubacji skrawków kory mózgu z glukożą. Obniżona w wyniku działania niedotlenienia hipoksyjnego synteza kwasów tłuszczowych osiąga wartości kontrolne w czasie pierwszej godziny po działaniu niedotlenienia 7% O₂ w N₂. Wbudowywanie znakowanej glukozy do pozostałych klas lipidów wykazuje zdolność powrotu do wartości kontrolnych w czasie 24 godzin po niedotlenieniu 7% O₂ w N₂.

*Metabolizm kwasów tłuszczowych glicerofosfolipidów błon
w normie i niedotlenieniu*

Zaburzenie równowagi dynamicznej pomiędzy wolnymi kwasami tłuszczowymi, a grupami acylowymi glicerofosfolipidów błon w niedotlenieniu mózgu, doprowadza do wzrostu puli wolnych kwasów tłuszczowych, szczególnie nienasyconych. Mechanizm tego zjawiska nie został wyjaśniony. W obecnej pracy stwierdzono zaburzenie procesów deacylacji-reacylacji glicerofosfolipidów błon z mózgu zwierząt poddanych działaniu niedokrwienia podekapitacyjnego oraz niedotlenienia hipoksyjnego 7% O₂ w N₂. Obserwowano wzrost aktywności procesu acylacji, który spowodowany jest wzrostem ilości lizoglicerofosfolipidów powstających w wyniku działania aktywowanej przez wapń fosfolipazy A₂. Zwiększona wrażliwość fosfolipazy A₂ na działanie jonów wapnia w warunkach niedotlenienia może być jednym z czynników odpowiedzialnych za wzrost puli nienasyconych kwasów tłuszczowych w mózgu. Innym czynnikiem, który może wpływać na poziom wolnych kwasów tłuszczowych jest zaburzenie cyklicznego procesu odpowiedzialnego za aktywowanie kwasów tłuszczowych do ich pochodnych acylo-CoA przez acyloCoA ligazę i kolejną hydrolizę tłuszczowych estrów acyloCoA do wolnych kwasów tłuszczowych przez acyloCoA hydrolazę. Obniżenie wbudowywania kwasów tłuszczowych do glicerofosfolipidów inozytolowych i plazmalogenów etanoloaminowych w wyniku działania niedotlenienia i niedokrwienia, może być spowodowane hamowaniem aktywności acyloCoA ligazy lub brakiem substratu, w wyniku hydrolizy wymienionych glicerofosfolipidów. Niedokrwienie podekapitacyjne powoduje obniżenie aktywności acyloCoA ligazy, natomiast aktywność acyloCoA hydrolazy jest niższa po działaniu niedokrwienia, jak również niedotlenienia hipoksyjnego 7% O₂ w N₂. Jony wapnia, które hamują aktywność acyloCoA hydrolazy w mózgu zwierząt kontrolnych nie wywierają wpływu na obniżoną w wyniku niedotlenienia aktywność enzymu. Równocześnie ze wzrostem poziomu wolnych kwasów tłuszczowych obserwuje się obniżenie poziomu glicerofosfolipidów, w tym głównie glicerofosfolipidów inozytolowych, w synaptosomach i glicerofosfolipidów etanoloaminowych w mitochondriach. Obniżenie poziomu glicerofosfolipidów etanoloaminowych może być jednym z czynników odpowiedzialnych za stwierdzone hamowanie nagromadzania jonów wapnia w mitochondriach z mózgu zwierząt poddanych działaniu niedokrwienia podekapitacyjnego i niedotlenienia hipoksyjnego 7% O₂ w N₂.

WNIOSKI

1. Istotną rolę w regulacji metabolizmu glicerofosfolipidów etanoloaminowych i glicerofosfolipidów cholinowych (związków diacylowych,

alkiloacylowych, alkenyloacylowych) spełnia etanoloaminofosfotransferaza i cholinofosfotransferaza oraz dehydrogenaza plazmalogenowa. Aktywność transferaz kontrolowana jest przez jony Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} , diradyloglicerole, nukleotydy adeninowe, neurotransmitery i kwasy tłuszczowe. cAMP wybiórczo hamuje syntezę alkilowych glicerofosfolipidów, prekursorów plazmalogenów. Aktywność syntezy plazmalogenów etanoloaminowych zależy od obecności ATP, Mg^{2+} , NADPH, O_2 oraz od rodzaju łańcucha węglowodorowego przy pierwszym węglu glicerolu w alkiloglicerofosforyloetanoloaminie.

2. Niedokrwienie podekapitacyjne i niedotlenienie hipoksyjne 1% O_2 w N_2 powoduje obniżenie syntezy alkilowych glicerofosfolipidów cholinowych i alkilowych glicerofosfolipidów etanoloaminowych oraz plazmalogenów etanoloaminowych w reakcji etanoloaminofosfotransferazy i cholinofosfotransferazy oraz dehydrogenazy plazmalogenowej. Niedotlenienie hipoksyjne 7% O_2 w N_2 nie wywiera wpływu na aktywność wymienionych enzymów. Zmiany metabolizmu wymienionych glicerofosfolipidów mogą zaburzyć względny stosunek diacylowych glicerofosfolipidów do eterowych glicerofosfolipidów w błonie, a tym samym wpływać na obniżenie stabilności błon.

3. Niedotlenienie hipoksyjne 7% O_2 w N_2 i niedokrwienie podekapitacyjne powoduje obniżenie syntezy *de novo* lipidów z [$U^{14}C$] glukozy. Zaburzenie metabolizmu lipidów w niedotlenieniu mózgu nie zależy bezpośrednio od poziomu związków wysokoenergetycznych oraz dopływu tlenu. Metabolizm lipidów błon zależy raczej od rodzaju niedotlenienia i czasu jego trwania, a więc od występujących oraz towarzyszących zmian w stężeniu i rozmieszczeniu wewnątrzkomórkowym jonów Ca^{2+} , cAMP, nukleotydów adeninowych i pirydynowych oraz neurotransmiterów.

4. Metabolizm grup acylowych glicerofosfolipidów błon jest najbardziej wrażliwy na działanie niedotlenienia. Zaburzenia procesu deacylacji-reacylacji glicerofosfolipidów błon aktywowane przez fosfolipazę A_2 i acylotransferazę oraz obniżenie aktywności acyloCoA ligazy mogą być bezpośrednią przyczyną wzrostu poziomu wolnych kwasów tłuszczowych w mózgu w warunkach niedotlenienia. Stwierdzenie obniżonej aktywności acyloCoA hydrolazy wyklucza udział tego enzymu w procesie wzrostu wolnych kwasów tłuszczowych. Jony wapnia odgrywają istotną rolę w regulacji wymienionych procesów enzymatycznych w warunkach normy i niedotlenienia.

Obserwowane zmiany metabolizmu lipidów, obniżenie syntezy lipidów i wzrost hydrolizy może wpływać na zaburzenie funkcji błon, a w ciężkich postaciach niedotlenienia może prowadzić do nieodwracalnych zaburzeń integralności błon OUN.

PIŚMIENNICTWO

1. Ansell G. B.: Phospholipids and the nervous system. W: Form and Functions of Phospholipids. Red. G. B. Ansell, R. M. C. Dawson, J. N. Hawthorne, Elsevier, Amsterdam 1973, 377—422.
2. Bazan N. G.: Effect of ischemia and electroconvulsive shock on free fatty acid pool in the brain. *Biochim. Biophys. Acta* 1970, 218, 1—10.
3. Banschbach N. W., Geison R. L.: Post-mortem increase in rat cerebral hemisphere diglyceride pool size. *J. Neurochem.* 1974, 23, 875—877.
4. Berntman L., Siesjö B. K.: Brain energy metabolism and circulation in hypoxia. *Proceedings of the European Society for Neurochemistry*, Red. V. Neuhoff, Verlag Chemie Weinheim, New York 1978, 1, 253—265.
5. Blomstrand C., Hamberger A.: Amino acid incorporation in vitro into protein of neuronal and glial cell-enriched fractions. *J. Neurochem.* 1970, 17, 1187—1195.
6. Chojnacki T., Metcalfe R. F.: Enzymatic synthesis of labelled cytidine-5 diphosphate ethanolamine. *Nature* 1966, 210, 947—948.
7. Corbin D. R., Sun G. Y.: Characterization of the enzymic transfer of arachidonoyl groups to 1-acyl-phosphoglycerides in mouse synaptosome fraction. *J. Neurochem.* 1978, 30, 77—82.
8. Carafoli E., Lehninger A. L.: Energy-linked transport of Ca^{2+} , phosphate and adenine nucleotides. W: *Methods in Enzymology*. Red. R. W. Estabrook, M. E. Pullman, Academic Press, New York 1967, 10, 745—749.
9. Debuch H., Friedemann H., Müller J.: Über die Bildung der Plasmalogene zur Zeit der Myelinisierung bei der Ratte III. *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.* 1970, 351, 613—621.
10. Dole V. P., Meinertz H.: Microdetermination of long-chain fatty acids in plasma and tissues. *J. Biol. Chem.* 1960, 235, 2595—2599.
11. Folch J. M., Lees M., Sloane Stanley G. H.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 1957, 226, 497—509.
12. Hinzen D. H., Isselhard W., Füsgen O., Müller U.: Phospholipid-Stoffwechsel und Function des Säugergehirns in vivo. I. Katabole Veränderung der Phospholipide in verschiedenen Anteilen des Kaninchengehirns während Ischämie. *Pflüger. Arch. Ges. Physiol.* 1970, 318, 117—129.
13. Horrocks L. A., Sun G. Y.: Ethanolamine plasmalogens. W: *Research Methods in Neurochemistry*. Red. R. Rodnight, N. Marks, Plenum Press, New York 1972, 223—231.
14. Kennedy E. P., Weiss S. B.: The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of phospholipids. *J. Biol. Chem.* 1956, 222, 193—214.
15. Kennedy E. P.: The synthesis of cytidine diphosphate choline, cytidine diphosphate ethanolamine and related compounds. *J. Biol. Chem.* 1956, 222, 185—191.
16. Kosow D. P., Schwarz H. P., Marmolejo A.: Lipid biosynthesis in anoxic-ischemic rat brain. *J. Neurochem.* 1966, 13, 1139—1142.
17. Lai J. C. K., Clark J. B.: Preparation and properties of mitochondria derived from synaptosomes. *Biochem. J.* 1976, 154, 423—432.
18. Ozawa K., Seta K., Takeda H., Ando K., Handa H., Araki C.: On the isolation of mitochondria with high respiratory control from rat brain. *J. Biochem.* 1966, 59, 501—510.
19. Paltauf F.: Biosynthesis of plasmalogens from alkyl and alkyl-acyl glycerophosphoryl ethanolamine in the rat brain. *FEBS Lett.* 1971, 17, 118—120.
20. Rossiter R. J., Strickland K. P.: Metabolism of phosphoglycerides. W: *Hand-*

- book of Neurochemistry. Ed. A. Lajtha Plenum Press, New York, London 1970, 3, 467—489.
21. Strosznajder J., Gromek A., Łazarewicz J. W.: Wpływ niedokrwienia na zawartość wolnych kwasów tłuszczowych w mózgu świnek morskich. *Neuropat. Pol.* 1972, 10, 447—455.
 22. Strosznajder J., Dąbrowiecki Z.: Enzymic synthesis of ethanolamine plasmalogens in the microsomal fraction of rat brain under oxygen deficiency. *Bull. Acad. Pol. Sci., Sér. Sci. Biol.* 1977, 25, 133—139.
 23. Strosznajder J., Domańska-Janik K.: Effect of anoxia and hypoxia on brain lipid metabolism. *Neurochem. Res.* 1980, 5, 585—591.
 24. Strosznajder J.: Incorporation of linoleic acid into membrane glycerophospholipids from rat brain submitted to ischemia and hypoxia. *Neurochem. Res.* 1980, 12, 1265—1277.
 25. Strosznajder J.: Role of phospholipids in calcium accumulation in brain mitochondria from adult rat after ischemic anoxia and hypoxic hypoxia. *Bull. Acad. Pol. Sci., Sér. Sci. Biol.* 1979, 27, 683—692.
 26. Strosznajder J., Tang W., Sun G. Y.: Metabolism of oleoyl CoA in synaptosomes from rat brain submitted to ischemia and hypoxia. *J. Neurochem.*, 1980, w recenzji.
 27. Strosznajder J., Radomińska-Pyrek A., Horrocks L. A.: Choline and ethanolamine glycerophospholipid synthesis in isolated synaptosomes of rat brain. *Bioch. Biophys. Acta* 1979, 574, 48—56.
 28. Sun A. Y., Samorajski T.: Effects of ethanol on the activity of adenosine triphosphatase and acetylcholinesterase in synaptosomes isolated from guinea pig brain. *J. Neurochem.* 1970, 17, 1365—1372.
 29. Woelk H., Porcellati G.: Subcellular distribution and kinetic properties of rat brain phospholipases A₁ and A₂. *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.* 1973, 354, 90—100.
 30. Wykle R. L., Blank M. L., Malone B., Snyder F.: Evidence for a mixed function oxidase in the biosynthesis of ethanolamine plasmalogens from 1-alkyl-2-acyl-sn-glycero-3-phosphorylethanolamine. *J. Biol. Chem.* 1972, 247, 5442—5447.

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

T R E Ś Ć

A. Loesch: Pituicyty u zdrowych i odwodnionych szczurów: badania mikroskopowo-elektronowe z uwzględnieniem impregnacji ZIO	1
B. Gajkowska: Badania ultrastrukturalne układu podwzgórzowo-przysadkowego mózgu szczura w stresie hipotermicznym	21
A. Taraszewska, I. B. Zelman, J. Sawicki: Charakterystyka zmian morfologicznych we wzgórzu królika pt	33
S. Krajewski: Badania immunomorfologiczne ośrodkowego układu nerwowego w mocznicy u ludzi	49
W. Hilgier: Zawartość glutaminy oraz aktywność aminotransferazy glutaminowej w mózgu w doświadczalnej encefalopatii wątrobowej	67
Z. Kraśnicka, B. Gajkowska: Obraz histologiczny i ultrastrukturalny organotypowej hodowli tkanki nerwowej po działaniu metylonitrozomocznika	75
M. Wender, A. Zórawski, Z. Adamczewska-Goncerzewicz, O. Mularek: Wpływ zatrucia etylonitrozomocznikiem na obraz kwasów tłuszczowych lipidów mielin	91
Z. M. Rap, P. Ruszczewski: Wpływ zaburzeń hemodynamicznych na powstawanie obrzęku mózgu i płuc w doświadczalnej hiperbarii tlenowej	107
J. Szczech: Morfologia i histochemia neurogleju w ostrym zatruciu Ceresanem	125
P. Nowacki, G. Szecherew: Przypadek rozległej martwicy rdzenia kręgowego prawdopodobnie o etiologii zapalnej	137
J. Strosznajder: Regulacja metabolizmu glicerofosfolipidów w mózgu w normie i niedotlenieniu. Streszczenie pracy habilitacyjnej	145
J. Dymecki: Dział kroniki i informacji	20, 32

СО Д Е Р Ж А Н И Е

А. Леш: Питуициты у здоровых и обезвоженных крыс: электронномикроскопические исследования с учетом импрегнации ЗИО	1
Б. Гайковска: Ультраструктурные исследования гипоталамо-гипофизарной системы крысы в гипотермическом стрессе	21
А. Тарашевска, И. Б. Зельман, Я. Савицки: Характеристика морфологических изменений в таламусе кролика рт	33
С. Краевски: Иммуноморфологические исследования центральной нервной системы в уремии у людей	49
В. Хильгер: Содержание глутамина и активность глутаминтрансферазы в мозге в экспериментальной гепатической энцефалопатии	67
З. Красьницка, Б. Гайковска: Гистологическая и ультраструктурная картина органотипической культуры нервной ткани после воздействия метилнитрозомочевины	75
М. Вендер, А. Журавски, З. Адамчевска-Гонцеевич, О. Мулярек: Влияние отравления этилнитрозомочевинной на картину жирных кислот липидов миелина	91
З. М. Рап, П. Рущевски: Влияние гемодинамических нарушений на возникновение отека мозга и легких в экспериментальной кислородной гипербарии	107
Ю. Щех: Морфология и гистохимия нейроглии в остром отравлении Церебраном	125
П. Новаски, Г. Шехерев: Случай обширного некроза спинного мозга вероятно воспалительного происхождения	137
Е. Строшнайдер: Регуляция метаболизма глицерофосфолипидов в нормальном мозге и в гипоксии. Резюме докторской диссертации	145
Е. Дытецки: Кроника и информации	20, 32

CONTENTS

A. Loesch: The pituicytes in the normal and dehydrated rats: an electron microscope study including ZIO-impregnation	1
B. Gajkowska: Ultrastructural study of hypothalamo-neuro-hypophyseal system of the rat after hypothermal shock	21
A. Taraszewska, I. B. Zelman, J. Sawicki: Pathomorphology of the thalamus in pt rabbit	33
S. Krajewski: Immunomorphologic studies of the central nervous system in human's uremia	49
W. Hilgier: Glutamine content and glutamine aminotransferase activity in the brain in experimental hepatoencephalopathy	67
Z. Kraśnicka, B. Gajkowska: Histological and ultrastructural picture of organotypic tissue culture of the CNS following exposition to MNU action	75
M. Wender, A. Żórawski, Z. Adamczewska-Goncerzewicz, O. Mularek: Effect of ENU intoxication on fatty acids of myelin lipids	91
Z. M. Rap, P. Ruszczewski: Effect of the hemodynamics disturbances on the occurrence of brain and lung edema after experimental hyperbaric oxygenation	107
J. Szczech: Morphology and histochemistry of neuroglia in acute intoxication with Ceresan	125
P. Nowacki, G. Szecherew: A case of extensive necrosis of the spinal cord with probable inflammatory ethiology	137
J. Strosznajder: Regulation of glycerophospholipids metabolism in the brain in normal conditions and in hypoxia. Summary of the Ph. D. Thesis	145
J. Dymecki: Chronicle and information	20, 32

WARUNKI PRENUMERATY

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

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

Cena prenumeraty:

półrocznie	50 zł
rocznie	100 zł

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

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

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

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

Indeks 36668