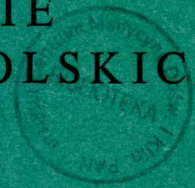


092 2

PL ISSN 0028-3894

STOWARZYSZENIE
NEUROPATOLOGÓW POLSKICH

NEUROPATOLOGIA
POLSKA



TOM 21

1983

ZESZYT 1

WROCLAW · WARSZAWA · KRAKÓW · GDAŃSK · ŁÓDŹ
ZAKŁAD NARODOWY IM. OSSOLIŃSKICH
WYDAWNICTWO POLSKIEJ AKADEMII NAUK

<http://rcin.org.pl>

NEUROPATHOLOGIA POLSKA

KWARTALNIK

TOM 21

1983

ZESZYT 1

KOMITET REDAKCYJNY

Janusz Alwasiak, Maria Dąbwska, Jerzy Dymecki, Janusz Groniowski, Józef Kałuża, Mirosław B. Kozik, Jerzy Kulczycki, Adam Kunicki, Mirosław J. Mossakowski, 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

Wydano z pomocą finansową Polskiej Akademii Nauk

Zakład Narodowy im. Ossolińskich — Wydawnictwo. Wrocław 1983.
Nakład: 550 egz. Objętość: ark. wyd. 11,40, ark. druk. 10,
ark. A₁ — 13. Papier druk. sat. kl. III, 80 g, 70 × 100. Oddano do
składania 25 X 1982. Podpisano do druku 20 IV 1982. Druk ukoń-
czono w maju 1983. Wrocławska Drukarnia Naukowa. Zam. 1331/82
U-7 Cena zł 100.—

MIROSŁAW J. MOSSAKOWSKI

WPLYW WIEKU NA OBRAZ MORFOLOGICZNY
PROCESÓW PATOLOGICZNYCH
W OŚRODKOWYM UKŁADZIE NERWOWYM *

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej
i Klinicznej PAN

Obraz patomorfologiczny procesu chorobowego we wszystkich narządach i układach organizmu, nie wyłączając ośrodkowego układu nerwowego, jest wypadkową złożonego zespołu czynników wewnętrznych i zewnętrznych, zarówno tych, które działały w okresie trwania choroby, jak i tych, które jej wystąpienie poprzedziły, tych, które dotyczyły zajętego narządu, jak i tych, które miały charakter ogólnoustrojowy lub dotyczyły narządów odległych. W owym złożonym kompleksie wzajemnie oddziałujących na siebie i przenikających się uwarunkowań dwa czynniki wydają się odgrywać rolę zasadniczą. Są nimi charakter czynnika wywołującego proces chorobowy oraz stan ustroju, układu, narządu, na który czynnik ów oddziałuje. Wiek jest z kolei jednym z szeregu elementów kształtujących to, co zwykliśmy określać stanem zajętego przez proces chorobowy narządu. Jest to oczywiście pojęcie nieściśle. Wiek metrykalny sam przez się w niewielkim tylko stopniu określa stan ustroju czy układu. Jest on jednakże miernikiem cyklu życiowego organizmu, który niezależnie od tego czy mamy do czynienia z jednokomórkowcem, czy też z tak złożonym ustrojem jak człowiek, składa się z trzech kolejno po sobie następujących, genetycznie uwarunkowanych faz: rozwoju i dojrzewania, stanu dojrzałości i okresu inwolucyjnego.

Fazę pierwszą charakteryzuje przewaga procesów anabolicznych, namnażanie chemicznych i komórkowych składników organizmu, wyrażające się powiększeniem masy ciała i jego elementów składowych oraz osiągnięcie pełnej wydolności czynnościowej. Fazę drugą znamionuje stan

* Niniejsza praca stanowi tekst referatu wygłoszonego na V Konferencji Stowarzyszenia Neuropatologów Polskich, Szczecin 14-16 maja 1981 r.

równowagi metabolicznej, ustabilizowanie składu chemicznego i strukturalnego ustroju jako całości oraz jego poszczególnych składowych. Cechą charakterystyczną stanu dojrzałości biologicznej ustroju jest wysoka zdolność adaptacji czynnościowej i metabolicznej do zmieniających się sytuacji oraz warunków środowiska. Fazę trzecią z kolei, wyróżnia przewaga procesów katabolicznych, upośledzona zdolność adaptacji, labilność czynnościowa i metaboliczna, ograniczona możliwość uzupełniania ubytków komórkowych i tkankowych oraz pogłębiające się obniżenie wydolności czynnościowej. Fazowy rytm genetyczny w każdym okresie rozwoju może być zakłócony na skutek działania uszkodzających czynników środowiska zewnętrznego, zaburzeń środowiska wewnętrznego, bądź brakiem równowagi między wpływami środowiska zewnętrznego a zdolnościami adaptacyjnymi organizmu. Stan taki określamy mianem choroby.

Celem niniejszych rozważań jest próba odpowiedzi na pytanie, na ile i w jaki sposób wiek rozumiany jako wykładnik fazy rozwojowej organizmu kształtuje i modyfikuje obraz patomorfologiczny choroby. W świetle przedstawionych powyżej podstawowych właściwości kolejnych faz cyklu rozwojowego organizmu, największych odrębności i odmienności należałoby oczekiwać w dwóch skrajnych okresach cyklu: w okresie rozwojowym i inwolucyjnym. Tak też jest w rzeczywistości, jakkolwiek płynność przejść międzyfazowych, zwłaszcza między okresem dojrzałości i inwolucji, i niejednoznaczność morfologicznych kryteriów procesu inwolucyjnego bardzo utrudniają odpowiedź na postawione pytanie. Jest to znacznie prostsze w stosunku do okresu rozwojowego. Z tym też wiązać należy bogactwo danych na temat odrębności strukturalnych procesów chorobowych w ośrodkowym układzie nerwowym w okresie rozwojowym, które legły u podstaw wyodrębnienia neuropatologii rozwojowej. Znacznie bardziej złożonymi zagadnieniami są odrębności morfologiczne procesów chorobowych w ośrodkowym układzie nerwowym u ludzi starych. Mózg człowieka starego jest rejestrem procesów chorobowych przebytych w ciągu całego jego życia. Odciska na nim swoje nieodwracalne piętno narastająca z wiekiem miażdżyca naczyń oraz jej tkankowe następstwa. Stąd też patomorfolog staje przed niebywale trudnym zadaniem, chcąc wydzielić odrębności obrazu neuropatologicznego związane z wiekiem od zmian inwolucyjnych, nieprawidłowości stanowiących następstwo uprzednio przebytych procesów chorobowych i skutków miażdżycy. W związku z predylekcyjnym występowaniem niektórych procesów chorobowych w określonych grupach wiekowych słuszniej jest mówić o uwarunkowanej wiekiem reakcji tkankowej.

Zanim przejdę do właściwego tematu, chciałbym zatrzymać się na tym właśnie predylekcyjnym związku pewnych zespołów chorobowych z określonymi grupami wiekowymi. Okres rozwojowy stanowi niewątpliwą domenę chorób metabolicznych, choć wiadomo, że liczne spośród

nich występują również i u ludzi dojrzałych. Późny okres dojrzałości i starość wyróżniają się wysoką częstotliwością chorób naczyniopochodnych oraz chorób nowotworowych. Wiek dojrzały — chorób demielinizacyjnych o infekcyjno-alergicznym podłożu. Warto podkreślić przy tym uwarunkowane wiekiem różnice częstotliwości poszczególnych postaci tych ostatnich chorób. Stwardnienie rozsiane, stanowiące kazuistyczną rzadkość w wieku dziecięcym, występuje niemal wyłącznie w okresie wczesnej dojrzałości i odwrotnie — rozlana postać egzogennej demielinizacji, zwana chorobą Schildera, wyróżnia się znacznie większą częstotliwością w okresie rozwojowym. Przykłady tego typu, zawarte w każdym podręczniku neuropatologii, można by dowolnie mnożyć. Warto jednak zatrzymać się nad zagadnieniem guzów mózgu, gdyż w tym obszarze patologii układu nerwowego zaznaczają się szczególnie wyraźne różnice pomiędzy poszczególnymi grupami wiekowymi. Nowotwory układu nerwowego, występujące u dzieci znacznie rzadziej niż u dorosłych, stanowią wraz z nowotworami układu moczowego najczęstsze nowotwory w tej grupie wieku, podczas gdy u dorosłych i ludzi starych zajmują znacznie dalsze miejsce na liście częstości występowania. Różne jest również ich histogenetyczne spektrum. Glejaki, stanowiące u dorosłych 45% wszystkich guzów wewnątrzczaszkowych, u dzieci wynoszą 89% (Russell, Rubinstein 1963). Wiek dziecięcy jest domeną guzów o podłożu dysgenetycznym, nowotworów pochodzących z komórek zwojowych oraz rzadkich nowotworów, które według klasyfikacji Baileya i Cushinga (1926) wywodzą się mają z najwcześniejszych stadiów rozwojowych ośrodkowego układu nerwowego. Do rzadkości natomiast należą guzy pochodzenia oponowego, osłonkowego oraz gruczolaki przysadki. Różne jest również spektrum guzów należące do tych samych grup histogenetycznych. Wśród glejaków u dzieci, wyściółczaki są, odwrotnie niż u dorosłych, znacznie częstsze niż guzy szeregu astrocytarnego. Skąpodrzewiaki natomiast stanowią rzadkość. Wśród glejaków szeregu astrocytarnego u dzieci przeważają ich najłagodniejsze postaci typu *astrocytoma pilocyticum*, podczas gdy w 4–6 dekadzie życia przeważają najzłośliwsze — gąbczaki wielopostaciowe. Odrębności te dotyczą również umiejscowienia procesu nowotworowego — u dzieci zdecydowanie przeważa lokalizacja podnamiotowa oraz zajęcie struktur linii środkowej (Zülch 1956). Różnice lokalizacyjne ujawniać się mogą również we względnie wąskich przedziałach czasowych. Rdzeniak, typowy guz mózgu wieku dziecięcego, charakteryzuje się dwugarbną krzywą częstotliwości. Jej pierwszy szczyt przypada na pierwszą dekadę życia, a drugi na przełom drugiej i trzeciej dekady. W pierwszym zagęszczeniu częstotliwości występują niemal wyłącznie rdzeniaki robaka, w drugim przeważa lokalizacja półkulowa. Wraz z różnicami związanego z wiekiem umiejscowienia zmienia się również charakterystyka tkankowa guza. W robaku przeważa klasyczna postać *medulloblastoma*, w półkuli — typ desmoplastyczny.

Najwyraźniejsze bodaj odrębności reakcji tkankowej, związane z wiekiem, występują w ośrodkowym układzie nerwowym w okresie jego najintensywniejszego rozwoju i dojrzewania, tj. w życiu płodowym, okresie okołoporodowym i niemowlęcym. Pozwolę sobie przeto zatrzymać się nad tym zagadnieniem. Pominię przy tym dobrze znane uzależnienie charakteru uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego od działania czynnika przed i po zakończeniu organogenezy, wyrażające się w pierwszym przypadku powstawaniem wady rozwojowej, w drugim zaburzeniem dojrzewania lub nieodwracalnym uszkodzeniem. Zajmę się przede wszystkim tym drugim okresem, w którym reakcja tkanek ośrodkowego układu nerwowego na działanie czynników uszkadzających kształtuje się równoległe z dojrzewaniem całego ustroju i mózgu, a w związku z nierównomiernością dojrzewania jego struktur wykazuje zróżnicowany charakter w jego poszczególnych układach anatomiczno-czynnościowych. Zwraca przy tym uwagę fakt, że topografia uszkodzeń tkankowych jest we wczesnych stadiach rozwoju mózgowia również w większym stopniu uzależniona od stopnia dojrzałości poszczególnych jego struktur, niż od charakteru czynnika patogenego (Larroche 1977). W tych właśnie uwarunkowaniach należy szukać wyjaśnienia, że około 4 - 5 miesiąca życia płodowego pod wpływem tego samego czynnika może wystąpić inny typ uszkodzeń w strukturach mózgowia o wyższym stopniu zróżnicowania tkankowego, a inny w częściach, których stopień dojrzałości jest niższy. Nie należy do rzadkości sytuacja, gdy w strukturach pnia występują na przykład ogniska martwicy, a w korze o niedokonanej migracji neuroblastów nieprawidłowości w jej ukształtowaniu (Dąbska 1981).

Uszkodzenia występujące w mózgach najmłodszych zdolnych do życia wcześniaków, rozwijające się najczęściej w następstwie niedotlenienia o różnym podłożu, mają zazwyczaj charakter krwotoków do okołokomorowych gniazd macierzy, umiejscowionych w okolicy rogu przedniego komory bocznej. O takim umiejscowieniu ognisk uszkodzeń decydować ma w pierwszej kolejności nasilenie procesów metabolicznych w tych strukturach, a o ich charakterze — niedojrzałość ścian naczyń podatnych na uszkodzenie przy przekrwieniu biernym towarzyszącym asfiksji (Towbin 1969; Dąbska i wsp. 1971). Ściany naczyń dojrzewają równoległe z dojrzewaniem struktur przez nie unaczynionych (Larroche 1964).

W końcowym okresie życia płodowego i w okresie okołoporodowym procesy dojrzewania przesuwają się na struktury półkul mózgu — podkorową istotę białą i korę (Friede 1975). Okres premielinizacji, początek mielinizacji i wykształcanie się warstwowej struktury kory mózgu przypadają na trzy ostatnie miesiące życia płodowego. Proces dojrzewania neuronów kory mózgu kończy się dopiero po urodzeniu. W tej fazie dojrzewania, uszkodzenia spowodowane niedotlenieniem płodu dotyczą przede wszystkim istoty białej. Obserwuje się dwa typy jej uszko-

dzenia. Pierwszy, to rozległe ogniska martwicy skrzepowej, zlokalizowane głównie w okolicy okołokomorowej. O tej lokalizacji zmian wydają się decydować w pierwszej kolejności warunki jej unaczynienia. Okolica przykomorowa w tym okresie rozwojowym stanowi obszar z pogranicza stref unaczynienia powierzchownego, odoponowego i głębokiego pochodzącego od ścian komór (Larroche 1977). Słabo rozwinięte połączenia między obu układami czynią z okolicy okołokomorowej obszar tzw. ostatniej łączki, szczególnie wrażliwy na wszelkie zaburzenia hemodynamiczne. Typ drugi reprezentuje rozległe ogniska martwicy rozplątanej istoty białej półkul, lokalizujące się przede wszystkim w okolicach przykomorowych, zajmujące jednak częściej jej większe obszary. Ogniska te często ulegają jamistemu rozpadowi, prowadząc do obrazu torbielowatości mózgu (*cerebrum polycysticum*). W patogenzie tego typu zmian istotną rolę odgrywa zapewne obrzęk mózgu. Mózgi płodów, noworodków i niemowląt wykazują bardzo znaczną gotowość obrzękową, co wiążąc zapewne należy z niewykształceniem mechanizmów barierowych krew-mózg. Naturalne, znaczne nawodnienie mózgu w tym okresie, wyrażające się 90% zawartością wody, sprawia jednak, że wykładniki morfologiczne obrzęku są trudno uchwytnie. Trudność tę pogłębia dodatkowo fakt niewykształcenia okołonaczyniowych przestrzeni Virchowa-Robina, których poszerzenie w mózgach dorosłych stanowi najłatwiej zauważalną manifestację morfologiczną zmian obrzękowych. Cechą znamioną płodowych ognisk martwicy istoty białej jest ich niemal całkowita bezodczynowość. Nawet w zmianach starszych, przy dłuższym przeżyciu, zwraca uwagę bardzo ubogi reparacyjny odczyn glejowy. U podłoża tego zjawiska leży zapewne niedojrzałość gleju, nie podejmującego czynności wytwórczych (Kozłowski 1981). Uszkodzenia kory w okresie jej dojrzewania wykazują również tendencję do rozległych zmian, o typie martwicy niezupełnej, ze słabym odczynem glejowym. Dopiero w toku dalszego rozwoju, zachodzącego nierzadko na okres pourodzeniowy, ulegają one bliznowaceni. Przy dużej rozległości uszkodzeń i zaawansowanym bliznowaceni i obkurczeniu zakrętów mózgu dochodzi do rozwoju zmian o charakterze ulegirii.

Zależność lokalizacyjna zmian patologicznych od wieku i ich uwarunkowanie intensywnością metabolizmu, związaną z fazą dojrzewania ośrodkowego układu nerwowego, znalazły swoje przekonywające potwierdzenie w licznych badaniach doświadczalnych. Między innymi Myers (1967) w doświadczeniach prowadzonych na noworodkach małp Rhesus, urodzonych przez cesarskie cięcie w ostatnich dniach życia płodowego i poddanych bezpośrednio po urodzeniu pełnej asfiksji, wykazał obecność ognisk martwicy umiejscowionych w takich strukturach pnia mózgu jak wzgórci czworacze górne, ciała kolankowate boczne i jądra przedśionkowe, oraz w niektórych jądrach wzgórza, przy całkowicie

niezmienionej korze mózgu. Najsilniej uszkodzone okolice mózgu znajdowały się w fazie najintensywniejszego dojrzewania i wykazywały w tym okresie najwyższe zapotrzebowanie energetyczne. Odrębności uwarunkowane wiekiem dotyczą nie tylko zmian strukturalnych. Znajdują one swój wyraz również w zaburzeniach metabolicznych, ujawniających się w obrazie histochemicznym tkanki. W tym samym modelu okołoporodowej asfiksji noworodków małą Mossakowski i wsp. (1968) wykazali, że gromadzenie glikogenu, stanowiące znane następstwo niedostatku tlenowego, ma miejsce wyłącznie w astrocytach istoty białej i to w tych jej okolicach, które znajdowały się w fazie premielinizacyjnej, podczas gdy u zwierząt dojrzałych nieprawidłowe złogi glikogenu w warunkach doświadczalnego niedotlenienia występują tylko w astrocytach formacji szarych. To samo dotyczyło nieprawidłowości odczynów ujawniających aktywność enzymów metabolizujących glikogen. Powszechność tego zjawiska potwierdziły późniejsze badania prowadzone na innych zwierzętach, w innych modelach doświadczalnych, między innymi na szczurach z obustronnie podwiązanyimi tętnicami szyjnymi wspólnymi (Mossakowski i wsp. 1973). W tym ostatnim przypadku na uwagę zasługiwały ponadto uwarunkowane stopniem dojrzałości układu nerwowego różnice dynamiki gromadzenia się glikogenu i jego poziomu.

Bardzo przekonujących danych dotyczących wiekowych uwarunkowań reakcji tkankowej dostarcza prześledzenie sekwencji reakcji zapalnej w rozwijającym się mózgu. Odczyn zapalny pojawia się w połowie życia płodowego, dojrzewając stopniowo ku jego końcowi. Jest on w sposób oczywisty uzależniony od immunologicznego dojrzewania ustroju oraz od dojrzewania autochtonicznych elementów komórkowych uczestniczących w reakcji zapalnej, przede wszystkim gleju. Należy przy tym podkreślić, że we wczesnych reakcjach ośrodkowego układu nerwowego na działanie czynników zakaźnych występuje, wspomniane uprzednio, uzależnienie struktury i topografii zmian patologicznych od fazy rozwojowej mózgu, a nie od natury czynnika biologicznego (Larroche 1977). Nawet tak różne zakażenia jak pasożytnicze (toksoplazmoza) z jednej strony, a wirusowe (cytomegalia) z drugiej, mogą mieć obraz patomorfologiczny tak zbliżony, że dopiero znalezienie morfologicznych wykładników czynnika zakaźnego rozstrzyga o rozpoznaniu.

W następstwie zakażenia, najwcześniej w rozwoju, bo około połowy ciąży, spotyka się odczyn zapalny w oponach miękkich. Ma on charakter nacieku złożonego z makrofagów. Następne w kolejności pojawiają się młode komórki wielojądrzaste o charakterze monocytów. Między 26 i 28 tygodniem życia płodowego pojawiają się w naciekach obojętno-chłonne granulocyty, a około 34 tygodnia komórki plazmatyczne. Trudniejszy do ustalenia jest okres pojawienia się limfocytów, ze względu na ich podobieństwo do młodych mezenchymalnych komórek opon. W dalszym rozwoju reakcji zapalnych znikają z nacieków wielkoją-

drzaste monocyty. Pojawienie się w nacieku zapalnym poszczególnych typów komórek nie odpowiada ściśle etapom ich powstawania w rozwoju organizmu. Tłumaczy się to między innymi faktem, że zakażenie przyspiesza dojrzewanie immunologiczne ustroju w sposób zróżnicowany w różnych narządach (Dąbska 1981).

Sprawą dyskusyjną jest okres, w którym pojawia się morfologiczny zespół zapalenia mózgu. Uważa się, że dopiero około 6-7 miesiąca życia płodowego można mówić o najwcześniejszej, niedojrzałej jeszcze formie odczynu encefalitycznego. W ogniskowych naciekach glejowych występują wówczas komórki młode, odpowiadające aktualnej fazie rozwojowej określonych typów gleju. W następnych miesiącach są one bardziej zróżnicowane, a dopiero w okresie okołoporodowym występują glejowe grudki zapalne o cechach identycznych jak w dojrzałym układzie nerwowym.

Procesy zapalne w niedojrzałym ośrodkowym układzie nerwowym wykazują predylekcję do okolic okołokomorowych. Występuje tu zespół zmian określonych przez Głuszcza (1961) jako *encephalonecrosis septica dispersa neonatorum*. Ma on charakter ogniskowych zmian zapalno-martwiczych o różnej etiologii. Czynniki przyczynowymi zespołu mogą być zarówno bakterie, jak i pasożyty typu toksoplazmozy. Zespół zmian martwiczych jako wiodący element procesu zapalnego jest cechą znamioną zakażeń niedojrzałego układu nerwowego. Proces martwiczy bywa niekiedy bardzo rozległy, zajmując różne struktury układu nerwowego. W skrajnych przypadkach jego zejściem może być zespół hydranencefalii. Opisywano go w szeregu przypadków w następstwie infekcji toksoplazmowej.

Na odrębną uwagę zasługuje długotrwałość dojrzewania odczynowości immunologicznej ośrodkowego układu nerwowego i jej tkankowych eksponentów w procesie zapalnym. Z nią między innymi wiąże się fakt, że hiperergiczne zapalenie mózgu nie występuje u dzieci przed końcem drugiego roku życia oraz powolność wykształcania się odczynu zapalnego w wirusowych zapaleniach mózgu, leżąca u podłoża niespotykanej u dorosłych długotrwałości fazy encefalopatycznej zapalenia mózgu (Osetowska 1980). Być może z tym wiązać należy encefalopatyczny charakter zmian w dziecięcych przypadkach rozpoznawanych jako grypowe zapalenie mózgu (Osetowska, Zelman 1963). Zapewne bardziej niedojrzałości immunologicznej dziecięcego mózgu, niż odmienności antygenowej wirusa, przypisać należy różnice obrazu morfologicznego herpetycznego zapalenia mózgu u dzieci i dorosłych. U dorosłych zespół ten występuje w postaci znamionego w swojej strukturze i topografii zmartwiającego zapalenia mózgu. U noworodków zajęcie układu nerwowego, stanowiące zazwyczaj element wielonarządowego zespołu zmian nekrotycznych, wyraża się niekiedy wyłącznie w postaci tzw. aseptycznego zapalenia opon z ubogimi naciekami, a jeszcze częściej

jako rozsiane, ubogoodczynowe ogniska martwicze, nie wykazujące żadnej predylekcji topograficznej (Juel-Jensen, MacCallum 1972). Z niepełną dojrzałością immunologiczną wiązać należy zjawisko późnego, wykształcającego się w ciągu kilku lat po urodzeniu zespołu tzw. odczynów symptomatycznych, towarzyszących aseptycznemu rozpadowi tkanki nerwowej.

Choroby genetyczne, uwarunkowane określonym lub hipotetycznym blokiem metabolicznym, nie są również wolne od piętna wieku w ich obrazie patomorfologicznym. Znajduje to wyraz przede wszystkim w masowym rozpadzie tkanki nerwowej w przypadkach chorób spichrzeniowych z początkiem procesu chorobowego w okresie przedurodzeniowym. Odrębności wiekowe dotyczą zarówno struktury procesu patologicznego, jak i jego topografii, przy wspólnym podstawowym typie nieprawidłowości komórkowych i tkankowych.

Być może najwyraźniej zjawisko to manifestuje się w heterogenicznej skądinąd grupie ceroidolipofuscynoz, zaliczanej dawniej wspólnie z gangliozydozą G_{M2} do idiocji amaurotycznej. Są to przede wszystkim różnice natury ilościowej, jednakże rzutuują one w sposób znaczący na całościowy obraz patomorfologiczny. We wczesnodziecięcej ceroidolipofuscynozie, zwanej postacią Santavuori-Haltia, występującej przede wszystkim, choć nie wyłącznie w krajach skandynawskich, niezwykle silnie zaznaczone są cechy zaniku mózgu, prowadzące do zmniejszenia ciężaru mózgu do 300—400 g, podczas gdy w postaciach późniejszych, choć zanik mózgu należy do kluczowych elementów ich obrazu patomorfologicznego, nie osiąga on nigdy tak znacznego nasilenia (Haltia i wsp. 1973). W postaci późnej Kufsa zmniejszenie masy mózgu sięga co najwyżej do 70%, mimo najbardziej przewlekłego, długotrwałego przebiegu choroby (Zeman 1975). Zasadniczym elementem leżącym u podłoża zmniejszenia masy mózgu w ceroidolipofuscynozach jest zapewne zanik komórek nerwowych, który w postaci wczesnodziecięcej osiąga największe nasilenie, prowadzące do niemal całkowitego pozbycia kory mózgu populacji neuronalnej. Sam proces spichrzenia, stanowiący wizytówkę patomorfologiczną procesu chorobowego, wykazuje również istotne zróżnicowanie nasilenia. Jest on najbardziej nasilony i uogólniony w przypadkach wczesnodziecięcych, zmniejszając się w postaciach o późniejszym początku choroby. Zmienia się również topografia procesu spichrzeniowego. Zmianę tę można określić jako jego postępującą z wiekiem kaudalizację. Postaci wczesnodziecięce, podobnie zresztą jak w przypadku gangliozydoz, wyróżniają się ciężkim uszkodzeniem istoty białej, sugerującym niekiedy współistnienie procesu leukodystroficznego. Te nieproporcjonalne nawet do ciężkiego uszkodzenia i zaniku komórek nerwowych nieprawidłowości istoty białej można, wydaje się, tłumaczyć obecnością komponentu dysmielinizacyjnego, towarzyszącego zmianom wtórnym (Mossakowski i wsp. 1971). Różnice hi-

stopatologiczne znajdują swój wyraz również w obrazie mikroskopowo-elektronowym spichrzonego materiału. Odrębności te skłoniły niektórych badaczy, takich jak Zeman i Siakotos (1973) lub Dekaban i Herman (1974), do wiązania ciał określonego charakteru mikroskopowo-elektronowego z poszczególnymi grupami wiekowymi ceroidolipofuscynoz. Wymienieni wyżej autorzy uważali na przykład, że ciała skrętnolinijne mają być znamienne dla późnodziecięcej postaci schorzenia, a wtręty o rysunku linii papilarnych dla jego odmiany młodzieńczej. Badania innych autorów, w tym również Majdeckiego (1978), nakazują powątpiewać, a co najmniej odnieść się z rezerwą do tych zależności. Jest jednak faktem bezspornym, że w większości poddanych badaniu mikroskopowo-elektronowemu przypadków wczesnodziecięcych dominowały wtręty o strukturze drobnoziarnistej lub drobnowłókienkowej (Haltia i wsp. 1973), a w późnych złoży lipofuscynopodobne (Kornfeld, 1972). Wydaje się przy tym, że nie ma podstaw do przyjęcia, iż spichrzane złoże w ceroidolipofuscynozach mają postępującą z wiekiem tendencję do przekształcania się w lipofuscynę lub materiał lipofuscynopodobny. Przeczą temu bowiem badania mikroskopowo-elektronowe wykonywane u chorych w różnych fazach choroby, wskazujące na utrzymywanie się tego samego charakteru ultrastrukturalnego złożeń (Herman i wsp. 1971). Niewyjaśniona pozycja nozologiczna zespołu określonego nazwą ceroidolipofuscynozy i możliwość jego heterogenności, choćby w sensie zróżnicowania niedoborowych enzymów lub izoenzymów, jak ma to miejsce w przypadku gangliozydoz, nakazuje powściągliwość wiązania przedstawionych odrębności patomorfologicznych wyłącznie z wiekiem, w czasie ujawnienia się procesu chorobowego. Zróżnicowanie strukturalne złożeń w ceroidolipofuscynozie może zależeć od całego szeregu innych czynników, między innymi od właściwości metabolicznych poszczególnych populacji komórek nerwowych. Wiadomo, że niektóre ich ugrupowania nie spichrzają nieprawidłowych substancji chemicznych. Należą do nich między innymi komórki ziarniste kory mózgu i móżdżku. Nie ma jednakże podstaw wątpić — jak przypuszcza Majdecki (1978) — że może ono zależeć od odmiennego składu i zawartości enzymów komórkowych u osób w różnym wieku.

Odrębności strukturalne związane z wiekiem występują również w innych chorobach metabolicznych. Wspomnę tylko przykładowo o różnicach patomorfologicznych między wczesnodziecięcą i młodzieńczą postacią lipidozy sfingomielinowej, zwanej chorobą Niemann-Picka (Elleder i wsp. 1971; Martin i wsp. 1972) oraz między odmianami dziecięcą i młodzieńczą leukodystrofii metachromatycznej (Zelman 1981). Te ostatnie wyrażają się skąpą na ogół ilością złożeń lipidowych, ich słabo wyrażoną metachromatycznością i niemal całkowitym brakiem cech spichrzenia w komórkach nerwowych w postaci młodzieńczej choroby. Dla przypomnienia tylko zwrócę jeszcze uwagę na odrębności

obrazu demielinizacji w typowej chorobie Pelizaeusa-Merzbachera i w zespole Löwenberga-Hilla, zaliczanych do tego samego kręgu procesów chorobowych.

Tych kilka przykładów odrębności strukturalnych — ich liczbę można by niewątpliwie mnożyć — przedstawiłem po to, aby zwrócić uwagę na to, że nawet w grupie chorób metabolicznych, uwarunkowanych genetycznie określonym defektem enzymatycznym, z których większość dotyczy w istocie rzeczy tej samej grupy wiekowej — okresu rozwojowego — niewielkie różnice, wynoszące najczęściej po kilka lat, znajdują swoje patomorfologiczne odbicie, wyrażające się różnicami ilościowymi, a czasem i jakościowymi obrazu, z którym spotyka się neuropatolog.

Jak już wspomniano poprzednio, wykazanie jednoznacznych wykładników wpływu wieku starczego na kształtowanie się obrazu morfologicznego procesów patologicznych w ośrodkowym układzie nerwowym jest bardzo trudne. U podłoża tych trudności leży szereg czynników, które starano się przedstawić na wstępie. Chciałbym teraz zatrzymać się na zjawiskach zachodzących w starzejącym się organizmie i w mózgu, które mogą modyfikować odpowiedź tkankową tego ostatniego na działanie czynników uszkodzających.

Zjawiskiem charakterystycznym dla wieku starczego jest upośledzenie i zaburzenie czynności układu immunologicznego. Dwa podstawowe elementy dominują w obrazie zaburzeń immunologicznych. Są to: obniżenie odpowiedzi izoimmunologicznej, dotyczącej reakcji na wprowadzenie obcogatunkowych tkanek lub substancji oraz wzrost odpowiedzi autoimmunologicznej, skierowanej przeciwko tkankom własnego organizmu. Wzajemna zależność spadku aktywności izoimmunologicznej i wzrostu aktywności autoimmunologicznej nie jest wyjaśniona, podobnie jak mechanizmy leżące u podłoża obu zjawisk. Istnieje wiele prób ich wyjaśnienia, między innymi poprzez spadek aktywności limfocytów supresorowych typu T (Cheney, Walford 1974). Ich omawianie przekroczyłoby ramy niniejszych rozważań. Występowanie postępujących z wiekiem zaburzeń w funkcjonowaniu układu immunologicznego, wyrażających się wzrostem aktywności odczynów autoagresyjnych, stało się podstawą immunologicznej teorii starzenia, przypisującej im zasadniczą rolę w patogeniezie zjawisk, prowadzących do upośledzenia czynności ustroju i jego elementów składowych oraz zachodzących w nich zmian strukturalnych (Peter 1973).

Upośledzenie aktywności izoimmunologicznej, stwierdzone zarówno u ludzi, jak i w zwierzęcym materiale doświadczalnym, wyraża się w postępującym z wiekiem spadkiem odpowiedzi immunologicznej komórkowej i humoralnej (Makinodan, Peterson 1962; Cheney, Walford 1974) i znajduje swój najbardziej powszechny wyraz w odmienności obrazu klinicznego i przebiegu pospolitych infekcji u ludzi starych w porównaniu z osobnikami w wieku dojrzałym. Wyrazem narastania reakcji auto-

immunologicznych jest pojawienie się u ludzi starych przeciwciał skierowanych przeciwko własnym tkankom, np. narastanie z wiekiem frakcji γ -globulinowej wchodzącej w reakcję typu przeciwciało-antygen z komórkami ośrodkowego układu nerwowego (Ingram i wsp. 1974; Nandy 1975; Nandy i wsp. 1975), a ich klinicznym eksponentem jest występowanie szeregu chorób o udowodnionym autoagresyjnym patomechanizmie.

Związane z wiekiem zmiany aktywności immunologicznej ustroju znajdują swój wyraz w obrazie patomorfologicznym chorób ośrodkowego układu nerwowego. Ich najpospolitszym wykładnikiem jest skąpość komponentu hematogennego w reakcji zapalnej tkanki. Wystarczy wspomnieć o dobrze znanym wszystkim neuropatologom zjawisku, jakim jest ubóstwo nacieków w banalnych ropnych zapaleniach oponowo-mózgowych u ludzi starych, w porównaniu do osób w wieku dojrzałym. Przegląd piśmiennictwa pozwala na stwierdzenie tego samego zjawiska w przypadkach zapaleń mózgu o udowodnionej lub domniemanej etiologii wirusowej, niezależnie od ich typu i przebiegu (ostre nekrotyzujące zapalenie mózgu — Adams i wsp. 1961; Peters i wsp. 1966; Amagai i wsp. 1978; zapalenie mózgu grypowe — Jellinger, Seitelberger 1961; podostre stwardniające zapalenie mózgu — Brierley i wsp. 1961). Analiza materiału Petersa i wsp. (1966), obejmującego 18 przypadków zmartwiającego zapalenia mózgu, pozwala na wysunięcie przypuszczenia, że u osób starszych pełny zespół morfologiczny procesu wykształca się po dłuższym okresie trwania choroby niż u osób dojrzałych i dzieci. Podobne zjawisko obserwował Krajewski (1981) w przypadkach z encefalopatią mocznicową, u której podłoża leżało immunopatologiczne uszkodzenie kłębków nerkowych. Okołonaczyniowe nacieki limfocytarne i grudkowy odczyn mikrogleju u osób starych, w przeciwieństwie do dzieci i ludzi w średnim wieku, były znacznie skąpsze.

W jakiej mierze do wzrostu odpowiedzi typu autoimmunologicznego odnieść można coraz częściej opisywane u ludzi starych procesy granulomatyczne (Jellinger i wsp. 1978) pozostaje sprawą otwartą, tak samo jak nadal czeka na określenie rola związanych z wiekiem zmian w odczynach immunologicznych w ujawnianiu procesów wywołanych przez tzw. wirusy o powolnym działaniu.

Drugim czynnikiem charakteryzującym wiek starczy są zmiany naczyniowe. Pominę tu rozpowszechnienie miażdżycy, której rola w kształtowaniu obrazu morfologicznego procesów patologicznych w mózgu jest nie do wyeliminowania. Chciałbym natomiast położyć nacisk na pozamiażdżycowe nieprawidłowości naczyniowe towarzyszące starzeniu się mózgu. Wiele uwagi poświęcił im w piśmiennictwie ostatnich lat Iwanowski (1980). Zmiany te dotyczące wszystkich elementów ściany naczyniowej, nie wyłączając śródbłonnków, można najkrócej scharakteryzować jako włóknistą przebudowę oraz upośledzenie mechanizmów ba-

rierowych krew-mózg. Ich następstwem jest obniżenie przepływu mózgowego, pogorszenie ukrwienia mózgu, zmniejszenie wymiany substratów energetycznych i produktów przemiany między krwią i mózgiem, a także zwiększenie gotowości obrzękowej (Obrist 1979; Sokoloff 1979; Hossmann 1979). Do tych właśnie zjawisk odnieść należy zapewne częstsze występowanie komponentu martwiczego w przebiegu zapalenia mózgu, niezależnie od jego etiologii. Częstsze są tu ogniska martwicy naczyniopochodnej, a nie tylko martwicy zapalnej, związanej przede wszystkim z bezpośrednim działaniem uszkadzającym czynnika etiologicznego, oraz zmian krwotocznych. Wydaje się wysoce prawdopodobne, że częste występowanie tzw. niedokrwiennej postaci encefalopatii wątrobowej u ludzi starych, stwierdzone zarówno w japońskim materiale Shirakiego (1967), jak i w naszym własnym (Mossakowski 1966; Mossakowski i wsp. 1974), związane jest bezpośrednio ze stanem układu naczyniowego mózgu. Zmiany w stanie mechanizmów barierowych znajdują z kolei wyraz w rozległości i dynamice obrzękowej reakcji mózgu, na działanie egzo- i endogennych czynników uszkadzających. Obrzęk mózgu rozwija się szybko i jest zazwyczaj bardzo rozległy. Tak zwany obrzęk okołogniskowy bardzo łatwo ulega uogólnieniu. Ze stanem układu naczyniowego wiązałbym również przebieg ewolucji procesu obrzękowego, prowadzącego znacznie częściej u osób starych niż u ludzi w okresie dojrzałości, do tzw. martwicy obrzękowej Jakoba.

Trzecim czynnikiem zasługującym na uwagę jest osłabienie aktywności wytwórczej autochtonicznych tkanek mózgu, przede wszystkim gleju. Jest to proces charakterystyczny dla wszystkich tkanek i układów, a nie wyłącznie dla mózgu. Jego wyrazem jest między innymi powolność procesów rozbiórkowych i bliznowacenie ognisk naczyniopochodnych mózgu, częstość niecałkowitego wypełniania ubytków tkankowych i inne. W naszym materiale dotyczącym encefalopatii wątrobowej, zwłaszcza o przebiegu ostrym (Mossakowski i wsp., 1974), zwracał uwagę słabo wyrażony glejowy zespół jej wykładników morfologicznych, przy przewadze zmian o charakterze encefalopatyczno-toksycznym. Dominanta elementów encefalopatycznych i jej stosunkowo długotrwałe utrzymywanie się, jako jedyne lub zasadniczego składnika procesu, jest również wyraźna w zapaleniach mózgu, przy nicości nie tylko nacieków zapalnych krwiopochodnych, ale i odczynu glejowego. To zubożenie reakcji dotyczy przy tym tak aktywnego komponentu komórkowego mózgu, jakim jest mikroglej. W odczynie ze strony neurogleju przeważa zdecydowanie produkcja włókien nad rozplemem komórkowym. Jest rzeczą oczywistą, że wszystkie wymienione czynniki mogą się nakładać na siebie, prowadząc do ogólnego zubożenia reakcji komórkowej oraz przewagi destrukcji tkanki nad procesami wytwórczymi, jak ma to na przykład miejsce w encefalopatii mocznicowej u ludzi starych (Krajewski 1981).

Zwraca uwagę pewne ogólne podobieństwo w reakcji niedojrzałej i inwolucyjnej tkanki. Może ono wynikać z występowania w obu przypadkach podobnych czynników, choć inaczej uwarunkowanych. Są nimi: hipofunkcja układu immunologicznego, w okresie rozwoju wynikająca z jego niedojrzałości, a w wieku starczym z osłabienia i spaczenia jego aktywności, stan łożyska naczyniowego, niedojrzałego i nie w pełni rozwiniętego w przypadku pierwszym, a zmienionego i uszkodzonego w przypadku drugim i wreszcie hipofunkcja autochtonicznych elementów tkankowych mózgu — raz niedojrzałych, a raz inwolucyjnie zmienionych. Efekt tkankowy nieprawidłowej przepuszczalności naczyń mózgu jest w końcu taki sam, niezależnie od tego, czy jest ona uwarunkowana niewykształceniem mechanizmów bariery krew-mózg, czy jej uszkodzeniem. O podobieństwach wykładników morfologicznych uszkodzeń tkanek mózgu może decydować również niemal jednakowy stan ich uwodnienia u dzieci i starców.

Na zakończenie należy stwierdzić raz jeszcze, że na ile odrębności reakcji tkankowej mózgu na czynniki uszkadzające w okresie rozwoju są dobrze poznane i scharakteryzowane, na tyle zmiany w wieku starczym wymagają dalszych badań, gromadzenia materiału i jego analizy z tego właśnie punktu widzenia.

ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА НА МОРФОЛОГИЧЕСКУЮ КАРТИНУ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

Резюме

Обсуждены обусловленные возрастом патоморфологические особенности болезненных процессов в центральной нервной системе, с учетом основных местных и общеорганических факторов, лежащих в основании этих особенностей.

AGE DEPENDENCE OF THE PATHOMORPHOLOGY OF DISEASE PROCESSES INVOLVING THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

Summary

Differences of the brain pathology at various age stages are discussed in respect of both local and systemic factors influencing the tissue reaction.

PIŚMIENNICTWO

1. Adams R. D., Berger E. C., van Bogaert L.: Remarks on three new cases of acute necrotizing encephalitis. [W:] Encephalitides. Red.: L. van Bogaert, J. Radermecker, J. Hozay, A. Lowenthal. Elsevier, Amsterdam 1961, 266-282.
2. Amagai I., Nakashima K., Saito A., Inose T.: A case of encephalitis with inclusion bodies showing clinical feature similar to presenile dementia. Adv. Neurol. Sci., 1978, 22, 519-525.

3. Bailey P., Cushing H.: A classification of tumours of the glioma group on histogenetic basis with the correlated study of prognosis. Lippencott, Philadelphia 1926.
4. Brierley J. B.: Subacute encephalitis of later adult life mainly affecting the limbic system. *Brain*, 1960, 83, 367 - 368.
5. Cheney K. E., Walford R. L.: Immune function and dysfunction in relation to age. *Life Sci.*, 1974, 14, 2075 - 2084.
6. Dąbwska M.: Zaburzenia rozwojowe i uszkodzenia układu nerwowego w okresie rozwoju. [W:] *Podstawy neuropatologii*. Red.: M. J. Mossakowski, J. Dymecki, M. Wender. PZWL, Warszawa 1981, 102 - 135.
7. Dąbwska M., Szamborski J., Troszyński M.: Krwotoki około- i dokomorowe w mózgach wcześniaków. *Neuropat. Pol.*, 1971, 9, 71 - 79.
8. Dekaban A., Herman M.: Childhood, juvenile and adult cerebral lipidoses: are these different nosological entities? *Arch. Path.*, 1974, 97, 65 - 73.
9. Elleder M., Jirásek A., Šmid F.: Niemann-Pick diseases (Crocker's type C). A histochemical study of the distribution and of qualitative differences of the storage process. *Acta Neuropath.*, (Berl.) 1975, 33, 191 - 200.
10. Friede R. L.: *Developmental neuropathology*. Springer. Wien, New York 1975.
11. Głuszczyk A.: Rozsiana okołokomorowa martwica posocznicowa mózgu a tokso-plazmoza u wcześniaków. *Łódzkie Towarzystwo Naukowe*. Łódź 1961, 1 - 72.
12. Haltia M., Rapola J., Santavuori P., Karänen A.: Infantile type of so-called neuronal ceroidlipofuscinosis. *J. Neurol. Sci.*, 1973, 18, 269 - 285.
13. Herman H., Rubinstein L., Mc Khan C.: Additional electron microscopic observation on two cases of Batten-Spielmeier-Vogt disease (neuronal ceroidlipofuscinosis). *Acta Neuropath.*, (Berl.) 1971, 17, 85 - 102.
14. Hossmann K. A.: Cerebral dysfunction related to local and global ischemia. [W:] *Brain function in old age*. Red.: F. Hoffmeister, C. Müller. Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1979, 385 - 393.
15. Ingram C. R., Phegan K. J., Blumenthal H. T.: Significance of an ageing-linked neuron binding gamma-globulin fraction of human sera. *J. Geront.*, 1974, 20, 20 - 27.
16. Iwanowski L.: Rola zmian w naczyniach i w splocie naczyniówkowym w procesie starzenia się mózgu. *Warszawska Akademia Medyczna*, Warszawa 1980.
17. Jellinger K., Seitelberger F.: Findings in fatal cases of encephalitis during 1957 - 1958 influenza epidemic. [W:] *Encephalitides*. Red.: L. van Bogaert, J. Radermecker, J. Hozay, A. Lowenthal. Elsevier, Amsterdam 1961, 89 - 95.
18. Jellinger K., Kothbauer P., Weiss R., Sunder-Plassmann E.: Primary malignant lymphoma of the CNS and polyneuropathy in a patient with necrotizing vasculitis treated with immunosuppression. *J. Neurol.*, 1979, 220, 259 - 268.
19. Juel-Jensen B. E., MacCallum F. O.: *Herpes simplex, varicella and zoster*. Heinemann Medical, London 1977.
20. Kornfeld M.: Generalized lipofuscinosis (generalized Kufs disease). *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1972, 31, 668 - 682.
21. Kozłowski P.: Uszkodzenia okołokomorowej istoty białej noworodka a zespół wykrzepiania śródnaczyniowego. *Neuropat. Pol.*, 1981, 19, 461 - 472.
22. Krajewski S.: Badania immunomorfologiczne ośrodkowego układu nerwowego w mocznicy u ludzi. *Neuropat. Pol.*, 1981, 19, 49 - 66.
23. Larroche J. C.: Hémorragies cérébrales intraventriculaires chez le prématuré. I^e partie: Anatomie et physiopathologie. *Biol. Neonat.*, 1964, 7, 26 - 56.
24. Larroche J.: *Developmental pathology of the neonate*. Excerpta Medica, Elsevier, Amsterdam 1977.

25. Majdecki T.: Ultrastruktura ciał wtrętowych w gangliozydozach i ceroidolipofuscynozie. Akad. Med. Warszawa 1978.
26. Makinodan T., Peterson W. J.: Relative antibody forming capacity of spleen cells as a function of age. Proc. Nat. Acad. Sci., USA 1962, 48, 234 - 238.
27. Martin J. J., Philippart M., Van Hauwaert J. V., Callahan J. W., Deberat R.: Niemann-Pick disease (Crocker's groupe A). Late onset and pigmentary degeneration resembling Hallervorden-Spatz syndrome. Arch. Neurol., 1972, 27, 45 - 51.
28. Mossakowski M. J.: Patomorfologia i histochemia spontanicznych i doświadczalnych encefalopatii pochodzenia wątrobowego. Neuropat. Pol., 1966, 4, 231 - 304.
29. Mossakowski M. J., Kraśnicka Z., Kassur B., Olejnik Z.: Patomorfologia ośrodkowego układu nerwowego w ostrych uszkodzeniach wątroby. Neuropat. Pol., 1974, 12, 51 - 62.
30. Mossakowski M. J., Long D. M., Myers R. E., Rodrigues de Curet H., Klatzo I.: Early histochemical changes in perinatal asphyxia. J. Neuropath. exp. Neurol., 1968, 27, 500 - 516.
31. Mossakowski M. J., Pronaszko-Kurczyńska A., Korthals J., Wrutniak A.: Wpływ umiarkowanego niedokrwienia na poziom glikogenu w mózgu w zależności od stopnia dojrzałości ośrodkowego układu nerwowego. Neuropat. Pol., 1973, 11, 53 - 68.
32. Mossakowski M. J., Zelman I., Majdecki T., Baranowicz B.: G_{M1}-gangliosidosis with unusual involvement of the white matter. Neuropat. Pol., 1971, 9, 23 - 35.
33. Myers R. E.: Experimental brain damage in newborn monkey. J. Neuropath. exp. Neurol., 1967, 26, 172 - 187.
34. Nandy K.: Significance of brain reactive antibodies in serum of aged mice. J. Geront., 1975, 30, 412 - 416.
35. Nandy K., Fritz R. B., Threatt J.: Specificity of brain reactive antibodies in serum of old mice. J. Geront., 1975, 30, 269 - 274.
36. Obrist W. D.: Cerebral circulatory changes in normal aging and dementia. [W:] Brain function in old age. Red.: F. Hoffmeister, C. Müller. Springer. Berlin, Heidelberg, New York 1979, 278 - 287.
37. Osetowska E.: Tissue neuropathology of viral and allergic encefalitides. PZWL, Warszawa 1980.
38. Osetowska E., Zelman I.: Caractères neuropathologiques de l'encephalite gripale en Pologne (Epidémie de 1961 - 1962). Acta Neuropath., (Berl.) 1963, 2, 328 - 333.
39. Peter Ch. P.: Possible immune origin of age — related pathological changes in long-lived mice. J. Geront., 1973, 28, 265 - 275.
40. Peters G., Tateishi J., Minauf M.: Akute nekrotisierende Encephalitiden. Neuropat. Pol., 1966, 4, 605 - 611.
41. Russell D. S., Rubinstein L. J.: Pathology of tumours of the nervous system. E. Arnold, London 1963.
42. Shiraki H.: The comparative study of various types of hepatocerebral diseases in the Japanese. [W:] The central nervous system. Red.: O. T. Bailey. Baltimore, 1968, 2, 454 - 462.
43. Sokoloff L.: Effects of normal aging on cerebral circulation and energy metabolism. [W:] Brain function in old age. Red.: F. Hoffmeister, C. Müller. Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1979, 367 - 380.
44. Towbin A.: Cerebral hypoxia damages of fetus and newborn. Arch. Neurol., 1969, 20, 35 - 42.
45. Zelman I. B.: Choroby metaboliczne układu nerwowego. [W:] Podstawy neu-

- ropatologii. Red.: M. J. Mossakowski, J. Dymecki, M. Wender. PZWL, Warszawa 1981, 136 - 182.
46. Zeman W.: The neuronal ceroidlipofuscinoses. [W:] Proc. VII Intern. Congress Neuropath. Excerpta Medica. Amsterdam, 1975, 201 - 208.
 47. Zeman W., Siakotos A.: The neuronal ceroid-lipofuscinoses. [W:] Lysosomes and storage diseases. Red.: H. Hers, N. Van Hoof. Academic Press, New York, London 1973, 519 - 551.
 48. Zülch K. J.: Biologie und Pathologie der Hirngeschwülste. [W:] Handbuch der Neurochirurgie. Red.: H. Olivecrona i W. Tönnis. Springer, Berlin, Gettingen, Heidelberg 1956.

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

MIECZYŚLAW WENDER, WIEŚLAWA BICZYSKO, ANDRZEJ PIECHOWSKI,
URSZULA CHMIELEWSKA

ARYLSULFATE SULFOHYDROLASE C OF THE CENTRAL MYELIN
DURING ONTOGENIC DEVELOPMENT OF THE RAT
(Biochemical and ultrastructural studies)

Department of Neurology and Department of Pathology Medical School,
Poznań

In spite of the fact that, compared to other membranes of the nervous tissue myelin demonstrates a relatively low metabolic activity, a number of enzymes more or less specific for this structure, have been detected in the myelin fraction.

2'3' cyclic nucleotide-3'-phosphohydrolase (Kurihara, Tsukuda 1967) and sterol ester hydrolase (Eto, Suzuki, 1971; 1973) are claimed to be specifically localized in the myelin membrane, whereas leucine aminopeptidase, arylamidase, neutral proteinase, nonspecific esterase and protein kinase are according to Norton (1977) the nonspecific myelin enzymes.

Very little is known about myelin enzymes participating in the metabolism of glycolipid components of the myelin sheath.

Histochemical investigations point to the myelin sheath as the morphological structure which shows the strongest histoenzymatic staining accounting for arylsulfate sulfohydrolase (Miętkiewski, Kozik, 1966). We have showed in our previous studies (Wender, Piechowski, 1978) that the myelin fraction of the maturing brain demonstrates considerable arylsulfate sulfohydrolases A + B and C activities. The specific activity of arylsulfate sulfohydrolase A + B in myelin, though somewhat lower than that of the total white matter, remains at almost constant level throughout the period of active myelin formation, to increase significantly during the period of myelin maturation. Arguments speaking in favor of the assumed localization of an enzyme in a given structure, and thus also in myelin are either the biochemically established enrichment of this enzyme in this structure, i.e. a higher specific activity of this enzyme in the myelin fraction — compared to the homogenate of the

total brain, or a histochemical detection of a given enzyme activity at the ultrastructural level in the electron microscope.

The hitherto performed chemical investigations did not give a conclusive answer to the question of whether sulfohydrolases of arylsulfate esters are localized in the myelin.

In this respect we are presenting results of our study on the insoluble arylsulfatase C, the localization of which has been investigated using histoenzymic reactions on the ultrastructural level in the nervous tissue of the rat. The results of our morphological study were compared with those obtained in a biochemical study of arylsulfatase C.

MATERIAL AND METHODS

The activity of arylsulfate sulfohydrolase C (E.C. 3.1.6.1.) in the developing rat brain was determined using the method of Clendenon and Allen (1970).

The enzymatic activities were studied in the cerebral grey and white matter as well as the myelin fraction isolated according to the method of Horrocks (1967).

The experimental groups consisting of 10 animals each were made up of animals aged 7, 14, 21, and 28 days and 6-8 months (adult rats).

The rats were killed by decapitation and the brains instantly removed from the cranial vaults and dissected into grey and white matter specimens, from which a 5 per cent homogenate in 0.32 M sucrose was obtained by means of a motor driven teflon homogenizer. The myelin fractions were obtained from the individual white matter samples.

Isolation of the myelin fraction. The cerebral white matter, was dispersed in 10 ml of 1.0 M sucrose containing 0.003 M EDTA and homogenized in a tissue grinder equipped with a teflon pestle. The homogenate was then centrifuged for 1 hr at $40\,000 \times g$ in the swinging bucket rotor of a VAC 60 centrifuge. The floating fluffy layer was collected by means of a syringe and transferred into 5 ml of 0.8 M sucrose in 0.003 M EDTA and recentrifuged for 1 hr at the same speed. The resulting floating fluffy layer was suspended in bidistilled water and centrifuged at $100\,000 \times g$ in an angle rotor for 15 min. The supernatant was discarded and the pellet resuspended in bidistilled water and recentrifuged for 25 min. The resulting supernatant was discarded, and the pellet suspended in 5 ml of 0.8 M sucrose with 0.003 M EDTA and centrifuged at $40\,000 \times g$ for 1 hr in a swinging bucket rotor. The floating pellet was resuspended in bidistilled water and then centrifuged at $100\,000 \times g$ in the angle rotor. The last washing procedure was repeated 4 times.

The purity of the finally obtained myelin fraction was checked by

means of electron microscopy according to the technique described by Horrocks (1967).

Arylsulfatase C activity was assayed as follows. To 0.5 ml of the prewarmed buffered substrate solution containing p-nitrofenol sulfate (NPS), 0.5 ml of the prewarmed homogenate was added and incubation continued for 90 min at 37°C. The reaction was terminated by the addition of ice cold 2 per cent phosphotungstic acid (PTA), the precipitate spun off, and the supernatant made alkaline by the addition of 4 ml of 1 M Na₂CO₃. The intensity of the resulting color reaction was determined spectrophotometrically at 400 nm.

The protein content of the homogenates was determined using the method of Lowry et al. (1951).

The results are expressed in specific activities of the enzyme preparation, i.e. in nanomoles of substrate hydrolysed by 1 mg of enzyme protein during 1 minute.

For ultrastructural localization of arylsulfate sulfohydrolase C activity in myelin sheath the method of Rutenberg et al. (1952) was used.

Tissue sections from the corpus callosum were fixed in 4% paraformaldehyde buffered with cacodylic buffer. Fixation of the tissue was continued for 90 min. at room temperature. The fixed sections were rinsed overnight in cacodylic buffer pH 7.4 and then treated with saline solution of increasing salt concentration from 0.85 to 2% for 2-5 min.

Enzyme assay conditions. The fixed sections were incubated in a solution containing 6 benzoil-2-naftylsulfate as the substrate and the resulting reaction products were visualized by coupling the released free phenol with diazosalt: Fast Blue B.

One part of the stained sections were then additionally fixed with 1% osmium tetroxide.

Control sections were incubated in 2% saline instead of substrate solution but otherwise were processed exactly as the experimental ones.

The dehydrated sections were embedded in Epon 812. Ultrathin sections were cut on the OMU3 Reichert microtome and pictures were taken in the JEM 7 a electron microscope.

Light microscopical examinations were made on both fresh frozen and celloidine processed brain sections. The staining procedures of Spielmeier, Klüver-Barrera, Nissl, Woelcke-Heidenhain were employed as well as staining with hematoxylin and eosine.

RESULTS

Histological staining did not reveal any myelinated fibers in the brains of 7-day-old rats. At the age of 14 days, the first myelinated fibers could be demonstrated but only in the philogenetically older

brain parts. Myelination of nerve fibers, though progressing was still incomplete in preparations from 21 and 28 day old animals.

In white matter preparations of 7 and 14 day-old animals stained with cytological methods, myelination gliosis was demonstrable by the white matter of the rhinencephalon and somewhat later in the cerebral hemispheres and corpus callosum. The characteristic feature of these areas was the high cellularity made up of glial cells of various degree of maturation, i.e. of spongioblasts, intermediate forms, and immature oligodendrocytes and astrocytes.

Table 1. The activity of arylsulfate sulfohydrolase C in rat brain development
Aktywność sulfohydrolazy siarczanów arylowych C w rozwoju mózgu szczura

Age of animals Wiek zwierząt	Arylsulfatase C Sulfataza aryłowa C	
	total white matter całkowita istota biała	myelin fraction frakcja mielinowa
7 days 7 dni	2.0±0.4	2.8±0.1
14 days 14 dni	2.8±0.1	3.8±0.2
21 days 21 dni	2.4±0.05	1.6±0.1
28 days 28 dni	2.2±0.05	1.8±0.1
Adults (6-8 month) Dojrzałe (6-8 miesięcy)	2.5±0.1	3.7±0.2

Each age group consists of 10 animals

Każda grupa składa się z 10 zwierząt

The results are expressed in nanomoles of substrate hydrolyzed by 1 mg of enzyme protein during 1 minute (Mean ± S. E.)

Wyniki wyrażono w nanomolach substratu hydrolizowanego przez 1 mg białka enzymu w ciągu 1 minuty (średnia ± średni błąd)

The results of chemical investigations of the ASS activity in the developing rat brain are shown in table 1. It appeared that the activity of arylsulfatase C of the white matter remains unchanged throughout the whole developmental period, whereas that of the isolated myelin fraction happens to increase biphasically, the first peak of activity being observed at the age of between 7 - 14 days, the second one in the myelin of adult brains.

In ultrastructural studies, precipitates accounting for arylsulfate sulfohydrolase C activity were demonstrable within the protein layers of the rat myelin commencing from the 10th day of postnatal life (Fig. 1). At this age the deposits of enzyme reaction products were still very faint and appeared in appreciably lesser amounts than in the next



Fig. 1. Corpus callosum of a rat, 10 days postnatal. Fine deposits of arylsulfatase C reaction products showing intramyelin localization. Stained with Fast blue B without further contrasting with osmium tetroxide. $\times 66\ 500$

Spoidło wielkie szczura, 10 dni życia. Drobne złoże produktu reakcji sulfohydro-lazy siarczanów arylowych C wykazują lokalizację wewnątrzmielinową. Barwienie błękitem trwałym B bez następnego kontrastowania czterotlenkiem osmu. Pow. 66 500 \times

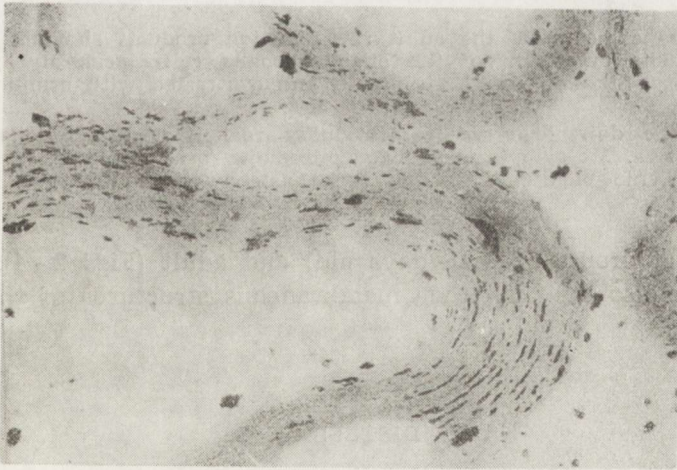


Fig. 2. Corpus callosum of the 18 days old rat. Reaction products located amidst myelin layers. Stained with Fast blue B and contrasted with osmium tetroxide. $\times 66\ 500$

Spoidło wielkie 18-dniowego szczura. Produkty reakcji zlokalizowane między warstwami mieliny. Barwienie błękitem trwałym B z następnym kontrastowaniem czterotlenkiem osmu. Pow. 66 500 \times

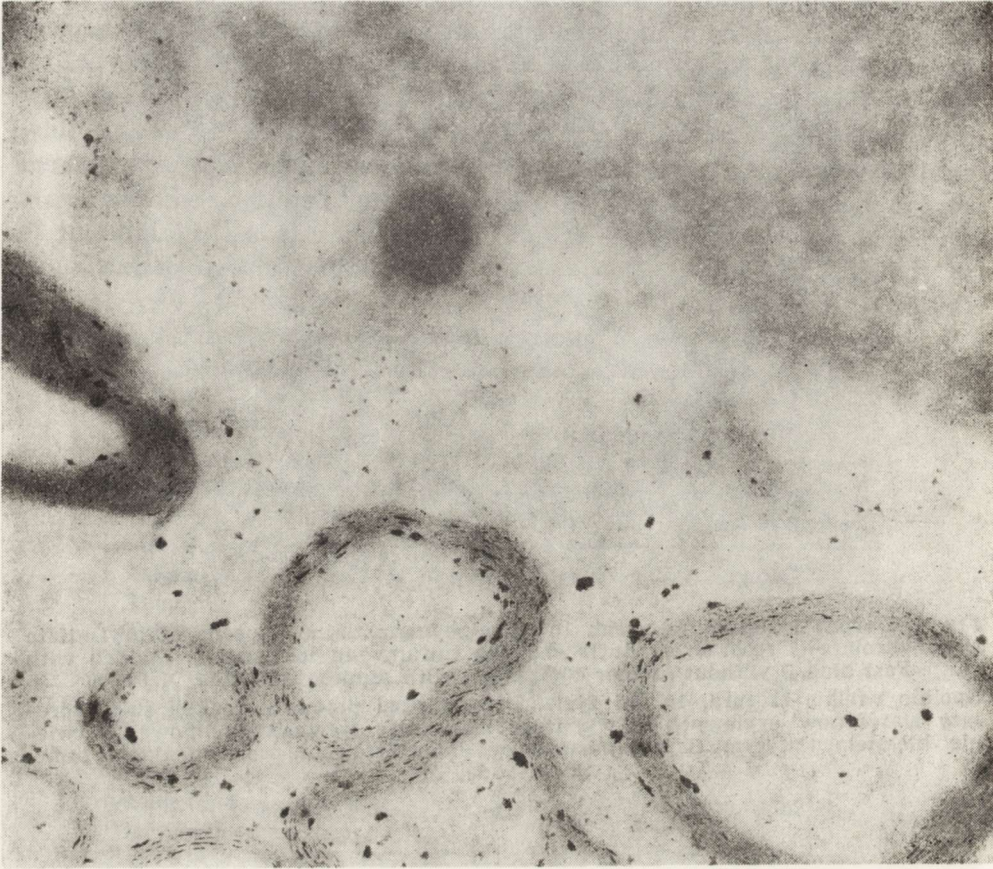


Fig. 3. Corpus callosum of the adult rat. Reaction products showing intramyelin localization. The cytoplasm of the oligodendroglia cells lacks any products of ASS-C activity. Stained with Fast blue B and contrasted with osmium tetroxide. $\times 66\ 500$

Spoidło wielkie dojrzałego szczura. Produkty reakcji wykazują lokalizację wewnątrzmielinową. W cytoplazmie oligodendrogleju brak produktów aktywności ASS-C. Barwienie błękitem trwałym B z następowym kontrastowaniem czterotlenkiem osmu. Pow. 66 500 \times

experimental groups (14-18 days old) and adult (Figs 2-4). Few deposits were also seen in other membraneous structures of the nervous tissue.

DISCUSSION

Animal tissues are equipped with two main types of arylsulfate sulfohydrolases: the soluble arylsulfatase A and B and the insoluble one-called C. Mehl and Jetzkewitz (1968) suggest that arylsulfate sulfohydrolase A is capable of hydrolysing cerebroside sulfates, the essential com-

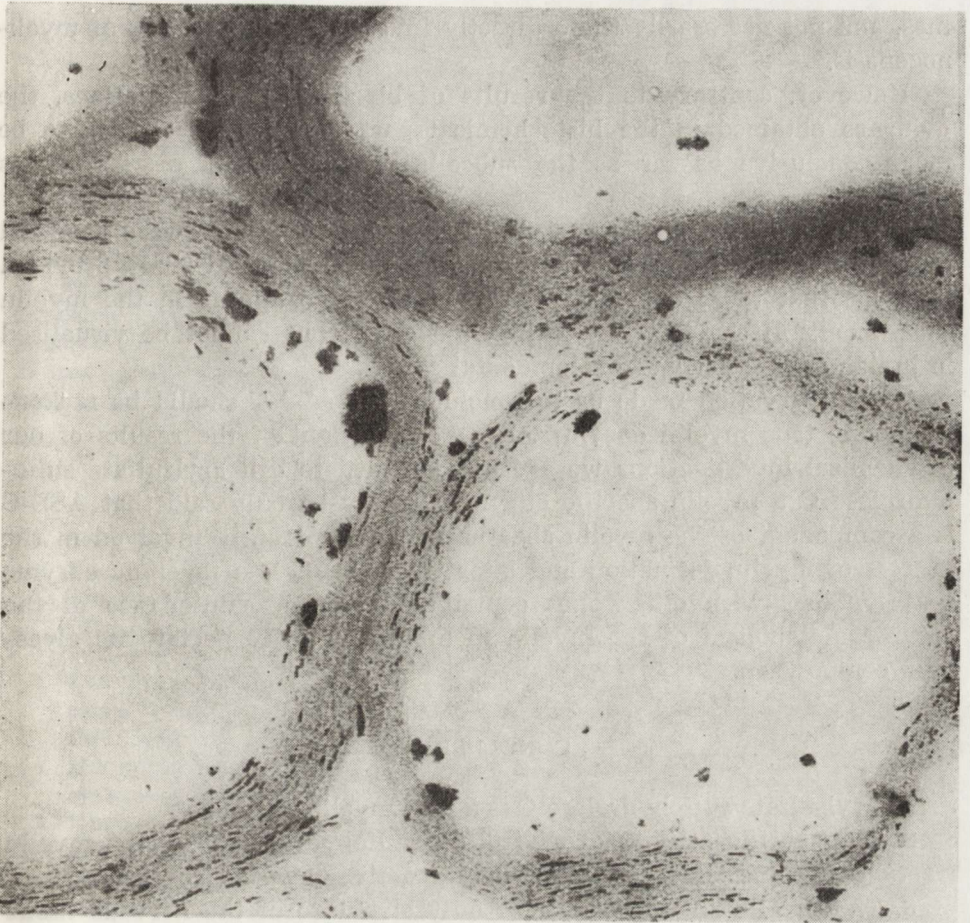


Fig. 4. Frontal section of the corpus callosum of the adult rat. Enzyme reaction products located between myelin layers. The preparation was stained with Fast blue B and contrasted with osmium tetroxide. $\times 66\,500$

Przekrój czołowy spoidła wielkiego dojrzałego szczura. Produkty reakcji enzymu zlokalizowane pomiędzy blaszkami mieliny. Preparat barwiony błękitem trwałym B z następowym kontrastowaniem czterotlenkiem osmu. Pow. $66\,500 \times$

ponent of the nervous tissue. It may thus be assumed that sulfatides may constitute the natural substrate for this enzyme.

The biochemically established distribution and activity changes of arylsulfate sulfohydrolase C in the rat cerebral white matter and in the myelin during ontogenic development are unequivocal as to its intramyelinic localisation and participation in the process of myelinogenesis. Owing to the inevitable contamination of the myelin fraction by microsomal structures which are believed to be the site to which arylsulfate sulfohydrolase C is bound, it appears likely that the observed biochemical changes of the enzyme activity in this fraction in course of brain maturation could reflect at least partially the developmental changes occurring in the contaminating cell structures, i.e. in micro-

mes, and not necessarily those directly involved in the process of myelinogenesis.

However, contrary to the results of biochemical investigations, the evidence obtained in the histochemical part of our study seems to be more conclusive as far as the subcellular localization of ASS-C is concerned.

In the brain of adult rats — ASS-C reaction products were localized distinctly within the myelin lamellae. The developmental study provided evidence that these enzyme reaction products do appear in the myelin sheath only after the onset of myelinogenesis but cannot be visualized in brains during earlier developmental stages.

This observation made us to conclude that ASS-C should be reckoned among true myelin enzymes. However in light of the results of our biochemical investigations we are not justified to call arylsulfate sulfohydrolase C a myelin specific enzyme. It may be only said that ASS-C is a component of the myelin sheaths and is apparently involved in the process of myelin formation and later that ASS-C is a myelinic enzyme that together with other ones contributes to the maintenance of the specific metabolism of the myelin membrane with respect to its glycolipid composition.

CONCLUSIONS

1. Arylsulfate sulfohydrolase C is a true myelin enzyme.
2. The specific activity of arylsulfate sulfohydrolase C of the myelin fraction increases during the period of active myelinogenesis.
3. The myelin sheath is not the only structure of the nervous tissue to which arylsulfatase C is confined.

SULFOHYDROLAZA SIARCZANÓW ARYLOWYCH C OŚRODKOWEJ MIELINY PODCZAS ROZWOJU ONTOGENETYCZNEGO SZCZURA (Badania biochemiczne i ultrastrukturalne)

Streszczenie

Przeprowadzono badania biochemiczne i ultrastrukturalne aktywności sulfohydrolazy C arylosiarczanu ośrodkowej mieliny, podczas rozwoju ontogenetycznego szczura.

Wyniki badań doprowadziły do następujących wniosków: 1) Sulfohydrolaza siarczanów arylowych C jest enzymem mieliny; 2) Aktywność swoista sulfohydrolazy siarczanów arylowych C frakcji mielinowej wzrasta podczas okresu aktywnej mielinogenezy; 3) Osłonka mielinowa nie jest jedyną strukturą tkanki nerwowej, w której występuje sulfataza aryłowa C.

СУЛЬФОГИДРОЛАЗА АРИЛСУЛЬФАТОВ С ЦЕНТРАЛЬНОГО МИЕЛИНА
ВО ВРЕМЯ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ КРЫСЫ
(Биохимические и ультраструктурные исследования)

Резюме

Были проведены биохимические и ультраструктурные исследования активности сульфогидролазы С арилсульфата центрального миелина во время онтогенетического развития крысы.

Результаты исследований привели к следующим выводам: 1) сульфогидролаза арилсульфатов С является энзимом миелина; 2) специфическая активность сульфогидролазы арилсульфатов С миелиновой фракции возрастает в периоде активного миелиногенеза; 3) миелиновая оболочка не является единой структурой нервной ткани, в которой выступает арилсульфатаза С.

REFERENCES

1. Clendenon N., Allen N.: Assay and subcellular localisation of the arylsulphatases in rat brain. *J. Neurochem.*, 1970, 17, 865 - 879.
2. Eto Y., Suzuki K.: Cholesterol ester metabolism in the brain: Properties and subcellular distribution of cholesterol esterifying enzymes and cholesterol ester hydrolases in adult rat brain. *Biochem. Biophys. Acta*, 1971, 239, 293 - 296.
3. Eto Y., Suzuki K.: Cholesterol esters metabolism in rat brain: A cholesterol esters hydrolase specifically localized in the myelin sheath. *J. biol. Chem.*, 1973, 248, 1986 - 1992.
4. Horrocks L.: Composition of myelin from peripheral and central nervous system of the squirrel monkey. *J. Lipid Res.*, 1967, 8, 569 - 576.
5. Kurihara T., Tsukuda Y.: The regional and subcellular distribution of 2' 3'-cyclic nucleotide 3'-phosphohydrolase in the central nervous system. *J. Neurochem.*, 1967, 14, 1167 - 1171.
6. Lowry O., Rosenbrough N., Farr A., Randall R.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, 193, 265 - 275.
7. Mehl E., Jatzkewitz M.: Cerebroside -3-sulphate as a physiological substrate of arylsulphatase A. *Biochim. Biophys. Acta*, 1968, 151, 619 - 627.
8. Miętkiewski K., Kozik M.: Histotopochemische Untersuchungen über die Aktivität der Arylsulphatase im Nervensystem des Kaninchens. *Acta Histochem.*, 1966, 25, 205 - 218.
9. Norton W.: Isolation and characterisation of myelin. [In:] *Myelin*, Ed. P. Morell, Plenum Press, New York, London 1977, 161 - 199.
10. Rutenberg A., Cohen E., Seligmann A.: Histochemical demonstration of aryl sulphate. *Science*, 1952, 116, 539 - 544.
11. Wender M., Piechowski A.: Arylsulphate hydrolase of the brain during ontogenetic development of the rat. *Folia Biol.*, (Kraków) 1977, 25, 63 - 69.

Author's address: Department of Neurology, Medical School, 49, Przybyszewskiego Str., 60 - 355 Poznań

MARIA DĄBBSKA, BOŻENA ZGORZALEWICZ

MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL MATURATION
OF MYELIN SHEATHS IN SOME STRUCTURES
OF THE RABBIT CEREBRAL HEMISPHERES

Laboratory of Developmental Neuropathology, Medical Research Centre, Polish Academy of Sciences, Warszawa, Department of Neurology, Institute of Neurology and Diseases of Sensory Organs Academy of Medicine, Poznań

Axon myelination is actually a very important event of neuron maturation. It occurs at different rate in particular cerebral structures. The formation of myelin sheath is connected with biochemical processes taking place both in the neuron and the glia. The subject of the present study is the correlation between changes occurring in the myelin proteins content and the ultrastructural appearance of myelin sheaths in the selected structures of the rabbit cerebral hemispheres in ontogenic development.

MATERIAL AND METHODS

The studies were carried out on rabbits in 12th, 16th, 32nd, and 48th days of life. In each group 3 animals were used for morphological and 6 for biochemical studies. Ultrastructural studies were performed on the cross section through the cerebral hemispheres and tissue samples were taken from central part of the corpus callosum and from the internal capsule. Animals were perfused with glutaraldehyde and paraformaldehyde solution in phosphate buffer pH 7.4. Material was post-fixed in 1% osmium tetroxide and embedded in Epon 812. Topography of the section was checked on semi-thin sections stained with toluidine blue. Semiquantitative evaluation of the myelin formation was performed in the following way: In each case 10 electron microscope pictures of both structure were taken at the same magnification of 5000 times. The pictures included exclusively those fields of the examined structures which were lacking of glial cells and contained axon cylinders cut perpendicularly to their long axis. On each electronogram myelinated

fibers were counted and the mean value was calculated for each of the structures in the chosen days of the development. The degree of myelin sheaths formation was evaluated calculating mean value of myelin lamellae around the fibers of $1\ \mu\text{m}$, in diameter measured with use of the planimeter. The lamellae were counted from the innermost to the outermost electron dense line (Sima, 1974).

In the same days of life myelin from the corpus callosum and the semioval center of the cerebral hemispheres was isolated in the discontinuous sucrose gradient and subjected to electrophoresis on 12% polyacrylamide gel in the presence of dodecyl sulphate (Zgorzalewicz et al., 1974). Gel was stained with Coomassie blue according to Agrawal et al. (1972). Gel strips corresponding to particular myelin components were cut out, weighed and percentage content of them was calculated. The concentration of myelin protein was determined with the method of Lowry et al. (1951) using bovine serum albumin. Molecular mass of myelin sheaths protein was determined according to the method of Weber and Osborn (1969) using for calibration of the gel column cytochrom C (1.17×10^4), chicken albumin (4.6×10^4), human albumin (6.7×10^4), bovine albumin (6.4×10^4), catalase (6.0×10^4) and egg albumin (8.0×10^4 daltons).

RESULTS

Ultrastructural studies. On the 12th day of life in the corpus callosum only few fibers were found with a thin myelin sheath. The majority of nerve fibers were unmyelinated. Around some of them either cytoplasmic processes of the myelinating glia or one/two electron-dense lines corresponding to the first myelin lamellae were seen in close contact with the fiber. In the internal capsule the number of fibers, varying in diameter with myelin sheath was higher. No relation between the diameter of fibers and the degree of their myelination was noted. In the 16th day of life the number of fibers with myelin lamellae increased in both structures. However, they were still more numerous in the internal capsule. In the 32nd day of life the progress of myelination was very prominent. In the 48th day of life the majority of fibers in the corpus callosum had myelin sheaths of various thickness, and the internal capsule looked completely myelinated (Figs 1, 2).

Biochemical studies. Concentration of total myelin protein obtained from 1 g of fresh tissue underwent significant increase between the 12th and 32nd days of life, later the increase was slight (Fig. 3). At the same time there were differences in proportion between various myelin components. In the time span studied there was a decrease of percentage content of Wolfgram and Agrawal proteins with a concomitant increase of basic protein and proteolipid (Fig. 4).

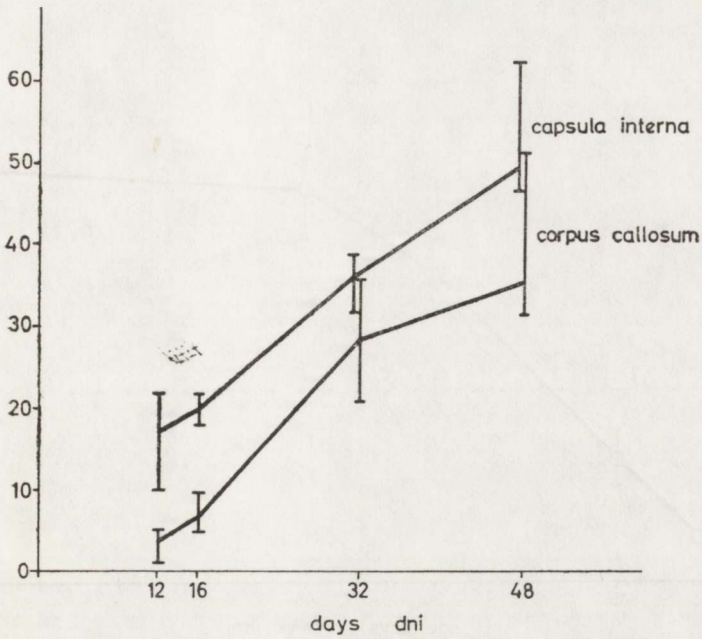


Fig. 1. Average number of myelinated fibers in electronograms
Srednia liczba zmielinizowanych włókien w elektronogramach

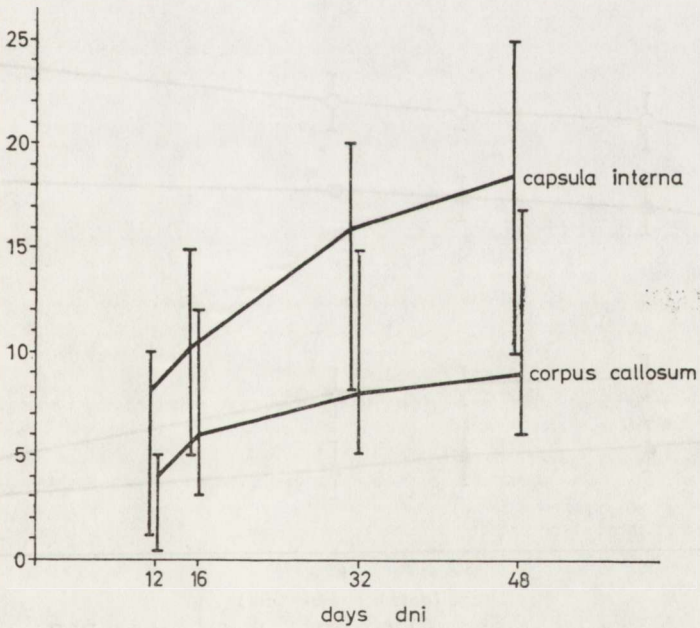


Fig. 2. Average number of myelin lamellae around the fibers $\varnothing 1 \mu$
Srednia liczba blaszek mieliny wokół włókien $\varnothing 1 \mu$

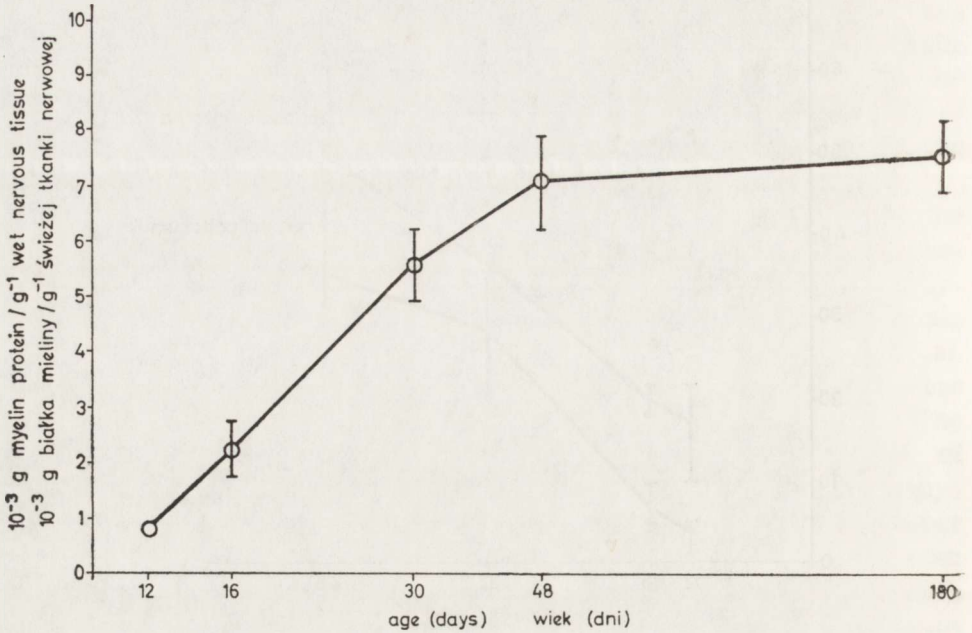


Fig. 3. Amount of myelin protein in nervous tissue
Zawartość białka mieliny w tkance nerwowej

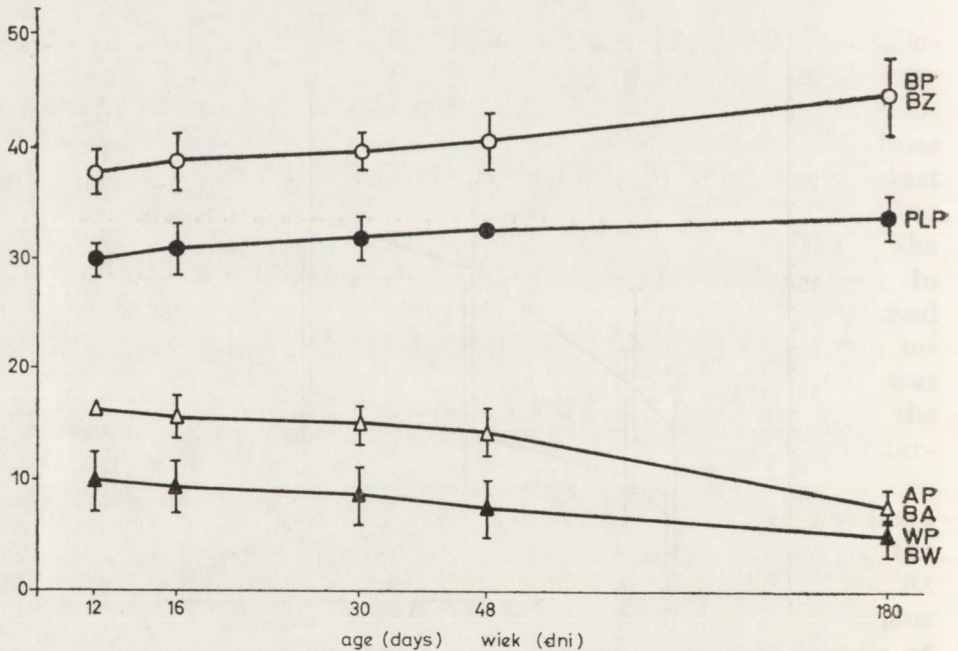


Fig. 4. Percent of total myelin protein: BP — basic protein, PLP — proteolipid,
AP — Agrawal protein, WP — Wolfgram protein
Procent białka całkowitego mieliny: BZ — białko zasadowe, BA — białko Agra-
wala, BW — białko Wolfgrama

DISCUSSION

Myelination of the rabbit cerebral hemispheres begins around the 8th day of life (Edgar, 1957; Dąmbska, Danielewicz-Kotowicz, 1978). Isolation of myelin sheaths with use of centrifugation is not possible until 12th day of life due to their very low number. This day was starting point of our studies. Ultrastructural observations confirmed different rate of myelination of the corpus callosum and the internal capsule. It concerns both number of sheaths as well as their thickness. Myelination appears in the nerve fibers of different diameter. At this stage the relation between axon diameter and the number of myelin lamellae is not clearly evident (Samorajski, Friede, 1968; Knobler, Stempak, 1973). In the 48th day of life the majority of axons in the most studied field are surrounded by myelin sheaths. The degree of myelination is still greater in the internal capsule. This morphological progress in myelination correlates well with an increase of myelin protein. The changes in percentage composition of myelin proteins seem to be significant for the process of myelination. A higher percentage content of Wolfgram protein in the early period of myelination indicates its participation in the formation of myelin lamellae. This protein has been found to be connected with myelin like fraction (Agrawal et al., 1970) or fraction SN-4 (Waehneltdt, 1975) which contain great amounts of proteins of high molecular weight and low content of basic protein. These fractions could be considered as transitional forms occurring in the stage between myelination gliosis and the appearance of myelin lamellae (Zimmerman et al., 1975). The increasing with the progress of myelination content of basic protein is the expression of myelin sheaths maturation. This protein seems to be an important element in the processes of formation of dense myelin lamellae. The studies of Adams et al. (1971) indicated that it is situated in the major dense line. The acquisition of antigenic properties by basic protein, which occurs during the 3 week of rabbits life (Einstein et al., 1970) is an important event in the development of immunological reactivity of the nervous tissue.

MORFOLOGICZNE I BIOCHEMICZNE DOJRZEWANIE OSŁONEK
MIELINOWYCH
W WYBRANYCH STRUKTURACH PÓŁKUL MÓZGU KRÓLIKA

Streszczenie

Przedmiotem badań była ocena współzależności między zmianami zachodzącymi w składzie białek mieliny a dojrzewaniem osłonek w niektórych strukturach mózgu królika w okresie rozwoju. Ultrastrukturalne i biochemiczne badania przeprowadzono na królikach w 12, 16, 32 i 48 dniu życia. Zmielinizowane włókna i blaszki osłonek mielinowych były liczone na elektronogramach. Mielina była izolowana w tych samych grupach wiekowych ze spoidła wielkiego i ośrodka pół-

owalnego, w gradiencie nieciągłym gęstości sacharozy i poddawana elektroforezie w obecności siarczanu dodecylu. Badania ultrastrukturalne potwierdziły różne tempo mielinizacji w spoidle i torebce wewnętrznej. Dwunastego dnia znaleziono w spoidle tylko nieliczne włókna posiadające osłonki mielinowe. W 48 dniu większość aksonów w obydwu strukturach była zmielinizowana. Stwierdzony morfologicznie postęp mielinizacji znalazł swe odzwierciedlenie we wzroście stężenia białka mielinowego. Wzrost zawartości całkowitego białka mielinowego okazał się szczególnie duży między 16 a 32 dniem życia, później zmniejszał się. Stwierdzono, że w badanym okresie obniża się procentowa zawartość białka Wulfgrama i Agravala, a zwiększa białka zasadowego i proteolipidu.

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ И БИОХИМИЧЕСКОЕ СОЗРЕВАНИЕ МИЕЛИНОВЫХ ОБОЛОЧЕК В ВЫБРАННЫХ СТРУКТУРАХ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРОЛИКА

Резюме

Предметом исследований была оценка взаимозависимости между изменениями имеющими место в составе белков миеллина и созреванием оболочек в некоторых структурах головного мозга кролика в периоде развития. Ультраструктурные и биохимические исследования были проведены с кроликами в 12, 16, 32 и 48 дню жизни. Миелинизированные волокна и пластинки миелиновых оболочек были подсчитываны на электронограммах. Миелин был изолирован в тех самых возрастных группах от большой спайки и полуовального центра в перерывистом градиенте плотности сахарозы и подвергался электрофорезу при наличии фосфата дodeцила. Ультраструктурные исследования подтвердили разный темп миелинизации в спайке и во внутренней сумке. В двенадцатом дню авторы нашли в спайке только немногочисленные волокна имеющие миелиновые оболочки. В 48 дню большинство аксонов в обеих структурах было миелинизировано. Констатированный морфологически прогресс миелинизации нашел свое отражение в росте концентрации миелинового белка. Рост содержания полного миелинового белка оказался особенно большим между 16 и 32 днем жизни, затем он снижался. Констатировано, что в исследуемом периоде снижалось процентное содержание белка Вольфграма и Агравала и увеличивалось содержание основного белка и протеолипида.

REFERENCES

1. Adams C. W. M., Bayliss O. B., Hallpike J. S., Turner D. R.: Histochemistry of myelin XII. Anionic staining of myelin basic proteins for histochemistry, electrophoresis and electron microscopy. *J. Neurochem.*, 1971, 18, 389 - 394.
2. Agrawal H. C., Banik N. L., Bohe A. H., Davison A. N., Mitchell R. F., Spohn M.: The identity of myelin-like fraction isolated from developing brain. *Biochem. J.*, 1970, 120, 635 - 642.
3. Agrawal H. C., Burton R. M., Fishman M. A., Mitchell R. F., Prensky A. L.: Partial characterization of new myelin protein component. *J. Neurochem.*, 1972, 19, 2083 - 2089.
4. Dąbbska M., Danielewicz-Kotowicz A.: Morphological study on myelination of some structures of rabbit brain. *Neuropat. Pol.*, 1978, 16, 203 - 209.
5. Edgar G. W. F.: Myelination studies by quantitative determination of myelin lipids. *Acta anat.*, 1957, 31, 451 - 495.
6. Einstein E. R., Dadal K. B., Csejtey J.: Biochemical maturation of central

- nervous system. II. Protein and proteolytic enzyme changes. *Brain Res.*, 1970, 18, 35 - 49.
7. Knobler R. L., Stempak J. G.: Serial section analysis of myelin development in the central nervous system of the albino rat: an electron microscopical study of early axonal ensheathment. *Neurobiological aspects of maturation and aging. Progr. Brain Res.* 1973, 40. Ed. D. M. Ford. Elsevier, Amsterdam 1973.
 8. Lowry O. H., Rosenbrough N. A., Farr A. L., Randall R. J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, 193, 265 - 275.
 9. Samorajski T., Friede R. L.: A quantitative electron microscopic study of myelination in the pyramidal tract of rat. *J. Comp. Neurol.*, 1968, 134, 323 - 331.
 10. Sima A.: Relation between the number of myelin lamellae and axon circumference in fibres of ventral and dorsal roots and optic nerve in normal, undernourished, and rehabilitated rats. *Acta Physiol. scand., Suppl.* 410, Göteborg 1974.
 11. Waehneltdt T. V.: Ontogenetic study of myelin derived fraction with 2'3'-cyclic nucleotide 3'phosphohydrolase activity higher than that of myelin. *Biochem. J.*, 1975, 151, 435 - 437.
 12. Weber K., Osborn M.: The reliability of molecular weight determination by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, 1969, 244, 4406 - 4412.
 13. Zgorzalewicz B., Neuhoff V., Waehneltdt T. V.: Rat myelin proteins. Compositional changes in various regions of the nervous system during ontogenetic development. *Neurobiology*, 1974, 4, 265 - 276.
 14. Zimmerman A. W., Quarlos R. H., Webster F., Matthieu J. M., Brady R. O.: Characterization and protein analysis of myelin subfractions in rat brain: developmental and regional comparisons. *J. Neurochem.*, 1975, 25, 749 - 757.

Authors' address: Laboratory of Developmental Neuropathology Medical Research Centre, Polish Academy of Sciences, 3 Pasteur St., 02-093 Warszawa

MIECZYŚŁAW WENDER, ZOFIA ADAMCZEWSKA-GONCERZEWICZ,
JADWIGA PANKRAC, DANUTA TALKOWSKA

THE EFFECT OF A FATTY ACIDS DEFICIENT DIET ON MYELIN LIPIDS OF THE DEVELOPING RAT BRAIN *

Department of Neurology, Medical School, Poznań

Membraneous structures of the adult animal brains are fairly resistant to long term both quantitative and qualitative dietary deficiencies. Contrary to that, in the developing brain, various membranes, in that, also the myelin sheaths become affected by improper nutritional conditions.

The fundamental questions concerning the effect of malnutrition on the composition and metabolism of myelin are reviewed by Smith and Benjamins (1977). The results of investigations cited by these authors indicate, that both quantitatively deficient diets applied during the fetal life, as well as protein and lipid deficiencies lead to a defective myelinogenesis (Benton et al., 1966; Winich et al., 1972; Wiggins et al., 1976).

Animals kept on a lipid deficient diet are capable of synthesizing all fatty acids except of those belonging to the linoleate and linolenoleate families. The lipid deficient diet however is without any notable influence on the mature central nervous system, whereas the growth and maturation of the developing brain severely impaired under such experimental conditions. The process of myelinogenesis, especially its early stage are preferentially affected (Dobbing, 1968; Galli et al., 1970; White et al., 1971; Paoletti, Galli, 1972). The results of these investigations did not explain in detail the various effects of essential fatty acid deficiency on the composition of myelin lipids, some of the results showing significant differences and inconsistencies. We were thus interested in determining the effects of a long-term lipid deficient diet on the myelin lipid composition of animals at later stages of the postnatal development.

* The investigations were supported by Polish Academy of Sciences Research Agreement No 10.4.06.3.2.

MATERIAL AND METHODS

Wistar rat served as the experimental animals. The pregnant animals were divided into two groups, one of the experimental groups was fed with an artificially composed diet containing 0.2% rape seed oil, and the other one serving as the control group was fed with the same diet supplemented up to 2% with rape seed oil. The formula of the experimental diet was as follows: sucrose 700 g, caseine 200 g, cellulose 40 g, multivitamin preparation (Biovit) 30 g, sodium chloride 20 g, choline chloride 10 g. To this mixture 20 (control group) or 1.2 g (experimental group) of rape seed oil were added.

The experimental diets were fed to both groups of pregnant rats starting 6 day before the expected delivery and then continued as the only source of food for both nursing mothers and their offsprings over the whole postnatal period. The nourishing mixture as well as drinking water were available *ad libitum*.

The animals were killed at various steps of their postnatal life i.e. at the age of 60, 90 and 180 days. Each experimental and control group consisted of 6 rats.

Biochemical procedure. The myelin fraction was isolated as described by Norton and Poduslo (1973). The brain homogenates were centrifuged in a discontinuous sucrose gradient (0,32 and 0,85 M of pH 7,0), using a swing-out rotor. The crude myelin fraction was rinsed 3 times with distilled water, each washing step being followed by a sedimentation of the myelin fraction at 70 000 g for 20 min.

The myelin lipids were extracted by means of the Folch-Pi procedure (1957) and the so extracted lipids were separated by means of column and thin-layer chromatography.

Cerebrosides, sulfatides and cholesterol were separated using the method of Svennerholm (1964). Cholesterol was quantitated using the method of Sperry and Webb (1950), cerebrosides and sulfatides were determined by means of the method of Radin et al. (1955). The phospholipids were separated by means of bidimensional thin layer chromatography according to Singh et al. (1971), and the phosphorus content of the eluted fractions was determined using the method of Bartlett (1959).

RESULTS

The comparison of results obtained in the control and in the experimental groups has shown that animals maintained on a fat deficient diet over a period ranging from the last week of intrauterine life till their sacrifice develop a myelin significantly deprived of the main lipid constituents. The largest decrease was seen in the free cholesterol and cerebroside content, the latter one being particularly augmented in

Table 1. The effect of a fatty acid deficient diet on myelin lipids of the developing rat brain (in mg/g of fresh myelin)

Wpływ niedoboru kwasów tłuszczowych na lipidy mieliny rozwijającego się mózgu szczura (w mg/g świeżej mieliny)

Lipids Lipidy	60 days 60 dni		90 days 90 dni		180 days 180 dni	
	controls grupa kontrolna	experimental grupa doświadczalna	controls grupa kontrolna	experimental grupa doświadczalna	controls grupa kontrolna	experimental grupa doświadczalna
Cholesterol	25.3±2.54	6.4±0.29	17.0±1.22	9.1±0.75	32.2±4.50	13.2±0.91
Cholesteryl esters	traces	1.0±0.18	traces	0.6±0.08	0,05±0.01	0.05±0.01
Estry cholesterolu	ślady		ślady			
Total galactolipids	20.2±1.16	13.3±1.00	23.2±1.23	11.5±0.49	47.2±0.73	12.9±0.89
Całkowite galaktolipidy						
Cerebrosides	15.7±0.89	10.9±0.86	19.7±1.22	8.9±0.38	37.7±6.20	10.6±0.87
Cerebrozydy						
Sulfatides	4.5±0.54	2.4±0.33	3.6±0.27	2.6±0.49	9.5±1.67	2.3±0.19
Sulfatydy						
Total phospholipids	30.5±1.81	13.3±1.22	23.7±1.64	20.7±1.71	46.0±6.20	18.1±0.86
Całkowite fosfolipidy						
Sphingomyelins	1.8±0.21	1.2±0.14	1.8±0.10	1.3±0.23	4.0±0.59	1.6±0.11
Sfingomieliny						
Phosphatidylcholine	10.4±0.76	3.7±0.33	7.0±0.71	6,0±0.58	13.0±2.25	5.2±0.28
Fosfatydylocholina						
Lysophosphatidylcholine	0.3±0.08	0.9±0.30	0.6±0.05	1.5±0.14	1.5±0.15	0.5±0.09
Lyzofosfatydylocholina						
Phosphatidylserine + phosphoinositide	4.2±0.62	1.9±0.21	2.9±0.22	2.8±0.10	4.7±0.66	2.4±0.13
Fosfatydyloseryna + fosfoinozytydy						
Phosphatidylethanolamine	3.3±0.53	1.1±0.22	2.7±0.13	3.2±0.30	6.5±1.04	2.3±0.11
Fosfatydyloetanoloamina						
Plasmalogen	10.5±0.64	4.5±0.31	8.7±0.58	5.9±0.51	16.3±2.20	6.1±0.28
Plazmalogen						

Mean ± S. E.

Number of animals in each group: 6

Significant results are in bold type

Średnia ± S. E.

Liczba zwierząt każdej grupy: 6

Istotne różnice pogrubione

Table 2. The effect of a fatty acid deficient diet on myelin lipids of the developing rat brain (in % of total lipids)

Wpływ niedoboru kwasów tłuszczowych na lipidy mieliny rozwijającego się mózgu szczura (w % całkowitych lipidów)

Lipids Lipidy	60 days — 60 dni		90 days — 90 dni		180 days — 180 dni	
	control grupa kontrolna	experimental grupa doświadczalna	control grupa kontrolna	experimental grupa doświadczalna	control grupa kontrolna	experimental grupa doświadczalna
Cholesterol	33.3±1.31	18.8±0.69	26.6±1.31	21.7±1.06	25.7±0.49	29.9±1.14
Cholesteryl esters	traces	3.0±0.13	traces	1.4±0.03	0.04±0.01	0.1±0.01
Estry cholesterolu	ślady		ślady			
Total galactolipids	26.6±0.94	39.1±1.02	36.3±1.22	27.4±1.88	37.6±1.80	29.1±1.18
Całkowite galaktolipidy						
Cerebrosides	20.7±0.69	32.0±0.82	30.7±0.94	21.2±1.18	30.1±1.92	24.0±1.10
Cerebrozydy						
Sulfatides	5.9±0.41	7.1±0.49	5.6±0.65	6.2±0.73	7.5±0.16	5.1±0.26
Sulfatydy						
Total phospholipids	40.1±0.73	39.1±0.86	37.1±0.69	49.5±1.47	36.7±0.63	40.9±1.10
Całkowite fosfolipidy						
Sphingomyelins	2.4±0.12	3.5±0.08	2.8±0.20	3.1±0.24	3.2±0.12	3.6±0.20
Sfingomieliny						
Phosphatidylcholine	13.7±0.20	10.9±0.23	11.0±1.11	14.4±0.65	10.4±0.04	11.8±0.49
Fosfatydylocholina						
Lysophosphatidylcholine	0.4±0.04	2.7±0.53	0.9±0.12	3.6±0.20	1.2±0.12	1.1±0.08
Lyzofosfatydylocholina						
Phosphatidylserine + phosphoinositide	5.5±0.16	5.6±0.37	4.3±0.37	6.7±0.61	3.7±0.12	5.4±0.33
Fosfatydyloseryna + fosfoinozytydy						
Phosphatidylethanolamine	4.3±0.12	3.2±0.37	4.2±0.29	7.6±0.24	5.2±0.16	5.2±0.16
Fosfatydyloetanolamina						
Plasmalogen	13.8±0.20	13.2±0.36	13.6±0.49	14.1±0.61	13.0±0.20	13.8±0.33
Plazmalogen						

Mean ± S. E.

Number of animals in each group: 6

More important results are in bold type

Średnia ± S. E.

Liczba zwierząt każdej grupy: 6

Istotne różnice pogrubiono

<http://rcin.org.pl>

adult animals (180 days rats). Cholesteryl esters as well as lysophosphatidylcholine were the only lipid constituents the content of which was increased and this particularly in the younger fat-deficiency groups (60 and 90 days old). The results of these estimations are listed in details in table 1.

Table 2 presents the myelin lipid composition expressed in percentage of total lipids. It shows clearly that in spite of the large decrease of the lipid content of the myelin fraction, the proportions of individual lipids constituting the lipid spectrum show only minor, yet irregular changes, both with respect to the individual lipid species in question and to the age group in which this change occurred. The only consistent change that was observed in all experimental groups was the increased percentage of cholesteryl esters.

The phospholipid spectrum, showing the percentage contribution of individual phospholipids in the total myelin phospholipids (tab. 3) remained essentially unchanged under the long term fat-deficient feeding regime except for the significantly increased percentage of lysophosphatidylcholine in the two younger experimental groups (60 and 90 days).

DISCUSSION

The development of the central nervous system, and thus also the process of myelinogenesis should be regarded as a sequel biochemical, morphological and functional events subjected to a precise time sequence.

Any interference with this genetically determined course of biological events is capable not only of delaying the process of maturation but may also result in changes that are irreversible.

The critical period of maturation that is particularly sensitive to nutritional deficiencies, that may lead to irreversible lesions in the phase of intensive cerebral growth that is characterised by the occurrence of numerous cell divisions, fast myelination, enzymatic maturation and changes in the carbohydrate, water and mineral metabolism (Dobbing, 1972).

In the herewith presented study we are dealing with a qualitatively determined nutritional deficiency, where fatty acids constituted the deficient component. The experimental diet was applied as early as the last period of intrauterine development and continued throughout the whole postnatal development till the death of the animal. Thus it does not surprise that under such experimental conditions, the deposition of all myelin lipids was drastically reduced. The observed drop pertained both to the so called myelin lipids, such as cholesterol, cerebroside and plasmalogens, but also to phospholipid fractions, such as sphingomyelin, phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine that

are known to constitute the lipid moiety of all cellular membranes. It also should be mentioned that the differences between the experimental and control groups did not decrease as maturation of the animal proceeded, but in many instances become even larger. This observations applies to cholesterol, cerebrosides, plasmalogens and total phospholipids.

An entirely different behavior in the course of the experimental fatty acid deficiency demonstrated cholesteryl esters and lysophosphatidylcholine, the content of which exceed significantly that found in control myelin preparations of 60 and 90 day animals. Under normal circumstances, nonesterified cholesterol constitutes the integral membrane component, the myelin membrane being particularly rich in cholesterol.

Cholesteryl esters, though always present in appreciable amounts in the myelin fraction of immature animals, are found only in traces in mature myelin of most animals (Eto, Suzuki, 1972). The physiological role of cholesteryl esters in the developing myelin sheath however is only a speculative one.

The amount of esterified cholesterol is in dynamic equilibrium with its substrate from which it is formed, i.e. with the free fatty acid pool and the free cholesterol available for esterification. The actual equilibrium state is rendered possible by the action of enzyme (enzymes) catalyzing the hydrolysis of cholesteryl esters or esterification of free cholesterol respectively (Wender et al., 1978).

Factors or conditions affecting the activity of these enzymes (this enzyme) or the actual concentration and composition of substrates, such as may be in the case of our experimental fatty acid deficiency may be responsible for the observed changes in the myelin cholesteryl esters content, independently on changes in accumulation or transportation processes of these compounds by phagocytosing cells, which are formed from some structural elements of the myelination gliosis.

The myelin fraction of the experimental groups maintained of the fatty acid deficient diet has been found to contain undue amounts of lysophosphatidylcholine, a compound the amount of which used to increase during the fast phase of demyelination occurring in the late stage of myelin decay (Wender et al. 1981). Lysocompounds, due to their high surface activity seem to play an important role in the pathomechanism of demyelination in the central nervous system. The fact, that their concentration in the myelin fraction of fatty acid deficient animals rose 3 fold points distinctly to an abnormal lipid metabolism of the myelin sheath under these lipid conditions, indicating an imbalance between hydrolytic and esterifying processes. However this imbalance is overcome with time so that in 180 day animals it is no longer detectable. The same time sequence of events holds true for cholesteryl esters.

However, in spite of inducing highly abnormal lipid composition of the myelin sheath, the fatty acid deficient diet does not lead to demyelination.

CONCLUSIONS

1. Animals maintained on a fatty acid deficient diet during the last period of intrauterine and during their whole postnatal life developed a myelin deficient in all lipid constituents.

2. The deficit of basic lipid classes in the myelin fraction of animals maintained on the fatty acid deficient diet grew larger with the animals maturation.

3. The myelin fraction from rats kept on a fatty acid deficient diet showed a transient, but appreciable increase in the content of esterified cholesterol.

4. The fatty acid deficient diet caused a significant, albeit temporary increase of lysophosphatidylcholine content in the myelin fraction of experimental animals.

5. Changes in the cholesteryl esters and lysocompound concentration of the lipid deficient myelin fraction paralleled each other closely, being detectable only in the younger animals.

6. The pattern of changes evoked in the myelin fraction of rats maintained on a fatty acid deficient diet did not compare with those demonstrated in demyelinating processes.

WPLYW NIEDOBORU KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W DIECIE NA LIPIDY MIELINY ROZWIJAJĄCEGO SIĘ MÓZGU SZCZURA

Streszczenie

Badania przeprowadzono na szczurach rasy Wistar. Samice ciężarne podzielono na dwie grupy: doświadczalną, żywną dietą zawierającą 0,12% oleju rzepakowego, i kontrolną, której dieta zawierała 2% oleju rzepakowego. Obie mieszanki rozpoczynano podawać samicom ciężarnym na 6 dni przed przewidzianym porodem i stosowano jako jedyne pożywienie dla matek karmiących oraz nowonarodzonych zwierząt przez cały okres życia pozapłodowego. Ilość pożywienia nie była ograniczona. Szczury zabijano w 60, 90 i 180 dniu życia. Frakcję mielinową izolowano według metody Nortona i Poduslo (1973). Wyekstrahowane lipidy rozdzielano za pomocą chromatografii kolumnowej i cienkowarstwowej.

Uzyskane wyniki doprowadziły do następujących wniosków:

1. Żywnienie samic w ostatnim okresie ciąży oraz nowonarodzonych zwierząt dietą ze znacznym niedoborem kwasów tłuszczowych prowadzi do obniżenia zawartości wszystkich podstawowych lipidów w mielinie.

2. Mielina szczurów żywnych dietą z niedoborem kwasów tłuszczowych wykazuje nasilenie się niedoboru podstawowych lipidów w miarę dojrzewania zwierzęcia.

3. Zawartość estrów cholesterolu jest podwyższona u młodych zwierząt otrzymujących dietę z niedoborem kwasów tłuszczowych.

4. Dieta z niedoborem kwasów tłuszczowych prowadzi do przejściowego wzrostu zawartości lizofosfatydylocholiny w mielinie.

5. Pomimo spowodowania nieprawidłowego składu mieliny dieta z ograniczeniem kwasów tłuszczowych nie prowadzi do demielinizacji.

ВЛИЯНИЕ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ДИЕТЕ НА ЛИПИДЫ МИЕЛИНА РАЗВИВАЮЩЕГОСЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫСЫ

Резюме

Авторы проводили исследования с крысами расы Вистар. Беременные самки разделены на две группы: экспериментальную, кормленную диетой содержащей 0,12% рапсового масла и контрольную, которой диета содержала 2% рапсового масла. Обе смеси начинали давать беременным самкам на 6 дней перед предвиденными родами и применяли их как единственную пищу для кормящих матерей и новорожденных животных через весь период внеплодной жизни. Количество пищи не было ограничено. Крысы убивали в 60, 90 и 180 дню жизни. Миелиновую фракцию изолировано по методу Нортон и Подусло (1973). Экстрагированные липиды разделяли при помощи колонковой и тонкослойной хроматографии.

Полученные результаты привели к следующим заключениям;

1. Питание самок в последнем периоде беременности и новорожденных животных диетой со значительной недостаточностью жирных кислот ведет до снижения содержания всех основных липидов в миелине.

2. Миелин крыс кормленных диетой с недостаточностью жирных кислот проявляет интенсивность недостатка основных липидов по мере созревания животного.

3. Содержание жиров холестерина повышена у молодых животных, получающих диету с недостатком жирных кислот.

4. Диета с недостатком жирных кислот ведет до временного роста в миелине содержания лизофосфатидилохолина.

5. Несмотря на то, что диета с ограничением жирных кислот вызывает неправильный состав миелина, она не ведет до демиелинизации.

REFERENCES

1. Bartlett G.: Phosphorus assay in column chromatography. *J. biol. Chem.*, 1959, 234, 466 - 468.
2. Benton J., Moser H., Dodge P., Carr S.: Modification of the schedule of myelination in the rat by early nutritional deprivation. *Pediatrics* 1966, 38, 801 - 811.
3. Dobbing J.: Effects of experimental undernutrition on development of the nervous system. [In:] *Malnutrition, learning and behaviour*. Eds. N. Serim-show, J. Gordon, MIT Press, Cambridge, Mass., 1968, 181 - 202.
4. Dobbing J.: Vulnerable periods of brain development. [In:] *Lipids, malnutrition and the developing brain*. Elsevier, North Holland, Amsterdam 1977, 9 - 20.
5. Eto Y., Suzuki K.: Cholesterol esters in developing rat brain: enzymes of cholesterol ester metabolism. *J. Neurochem.*, 1972, 19, 117 - 121.
6. Folch-Pi J., Lees J., Sloane-Stanley G.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. biol. Chem.*, 1957, 226, 497 - 511.
7. Galli C., White H. Jr., Paoletti R.: Brain lipid modification induced by essen-

- tial fatty acid deficiency in growing male and female rats. *J. Neurochem.*, 1970, 17, 347 - 355.
8. Norton W., Poduslo S.: Myelination in rat brain: method of myelin isolation. *J. Neurochem.*, 1973, 21, 749 - 757.
 9. Paoletti R., Galli C.: Effects of essential fatty acids deficiency on the central nervous system in the growing rat. [In:] *Lipids, malnutrition and the developing brain*. Elsevier, North Holland, Amsterdam 1972, 121 - 140.
 10. Radin N., Lavin F., Brown J.: Determination of cerebrosides. *J. biol. Chem.*, 1955, 217, 789 - 796.
 11. Singh H., Spritz M., Geyer B.: Studies of brain myelin in the "Quaking mouse". *J. Lipid Res.*, 1971, 12, 473 - 481.
 12. Smith H., Benjamins J.: Model system for study of perturbation of myelin metabolism. [In:] *Myelin*. Ed. P. Morell, Plenum Press, New York 1977, 447 - 488.
 13. Sperry W., Webb M.: A revision of the Schoenheimer-Sperry method for cholesterol determination. *J. biol. Chem.*, 1950, 187, 97 - 106.
 14. Svennerholm L.: The distribution of lipids in the human nervous system. *J. Neurochem.*, 1964, 11, 839 - 859.
 15. Wender M., Kozik M., Adamczewska-Goncerzewicz Z., Goncerzewicz A.: Wallerian degeneration of the optic nerve in light of histological and biochemical studies. *Acta neuropath.*, (Berl.) Suppl. VII, 1981, 36 - 39.
 16. Wender M., Stanisławska J., Filipek-Wender H.: Cerebral cholesteryl esters in cyanide encephalopathy. *Neuropat. Pol.*, 1978, 16, 163 - 172.
 17. White H. Jr., Galli C., Paoletti R.: Brain recovery from essential fatty acid deficiency in developing rats. *J. Neurochem.*, 1971, 18, 869 - 882.
 18. Wiggins R., Miller S., Benjamins J., Krigman M., Morell P.: Myelin synthesis during postnatal nutritional deprivation. *Brain Res.* 1976, 107, 257 - 264.
 19. Winich M., Rosso P., Brasel J.: Malnutrition and cellular growth in the brain: existence of critical periods. [In:] *Lipids, malnutrition and the developing brain*. Elsevier, North Holland, Amsterdam 1972, 199 - 212.

Authors' address: Department of Neurology, School of Medicine, 49, Przybyszewskiego Str. 60-355 Poznań

MARIA DĄBBSKA, MILENA LAURE-KAMIONOWSKA,
PIOTR B. KOZŁOWSKI

MENINGOENCEPHALITIS IN NEWBORNS AND INFANTS AS THE CAUSE OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM INJURY DURING ITS DEVELOPMENT

Laboratory of Developmental Neuropathology, Medical Research Centre, Polish
Academy of Sciences

Inflammatory processes in the maturing brain are often followed by more or less widespread necroses and play an important role in pathomechanism of encephalopathy in early childhood. Postinflammatory tissue damage may also impair the subsequent brain development, causing malformations.

It is difficult to reconstruct the pathomechanism of the changes observed in individual cases and it is easier to detect them by means of analysis of the selected groups. In the present report the authors demonstrate three groups of cases with meningitis or meningoencephalitis and analyze different types of postinflammatory lesions.

NEUROPATHOLOGICAL OBSERVATIONS

The first group includes three cases (case 1-3) of toxoplasmosis leading to different degree of brain tissue damage (Tab. 1).

The first case concerned a 3-week old infant that died because of pneumonia. In neuropathological examination the brain showed dilatation of the lateral ventricles and widespread periventricular inflammatory lesions (Fig. 1). Large foci of necrosis lead to destruction of the tissue. In other parts of the central nervous system glial and perivascular lympho-plasmatic inflammatory infiltrates were less pronounced. Terminal toxoplasmic cysts were found among the inflammatory and necrotic changes (Fig. 2).

The second case concerned a newborn delivered on 35th week of gestation who died two days later. Etiology of meningoencephalitis found on microscope examination was the same. Abundant inflammatory infil-

Table 1. Group I
Grupa I

Case No Przyp. Nr	Antecedents Wywiad	Clinical data Dane kliniczne	Placenta Łożysko	General autopsy Sekcja ogólna	Neuropathological examination Badanie neuropatologiczne
1	Normal pregnancy Ciąża bez powikłań	Hydrocephalus with high intracranial pressure. Survival 3 weeks. Wodogłowie ze wzmożonym ciśnieniem śródczaszkowym. Przeżycie 3 tyg.	?	Pneumonia Zapalenie płuc	Hydrocephalus. Periventricular inflammatory foci. Terminal toxoplasma cysts. Wodogłowie. Przykomorowe zmiany zapalne. Cysty końcowe toksoplazm
2	Feverish infection of mother in the 6th month of pregnancy Choroba gorączkowa matki w 6 miesiącu ciąży	Hydrocephalus Survival 2 days Wodogłowie Przeżycie 2 dni	Inflammatory changes Zmiany zapalne	Erythropoiesis in spleen liver and lungs Cechy krwiotworzenia w śledzionie, wątrobie i płucach	Acute inflammatory necrosis leading to destruction of brain hemispheres. Terminal toxoplasma cysts. Zmiany zapalno-martwicze, prowadzące do zniszczenia półkul mózgu. Cysty końcowe toksoplazm
3	Normal pregnancy. Intradermal test for toxoplasmosis positive after delivery Ciąża bez powikłań. Dodatni test śródskórny na toksoplazmozę po porodzie	Hydrocephalus. Nystagmus. Atrophy of optic nerves. Survival 10 days Wodogłowie. Oczopląs. Zanik nerwów wzrokowych. Przeżycie 10 dni	?	General cachexia Wyniszczenie ogólne	Hydranencephalus. Terminal toxoplasma cysts. Hydranencefalia Końcowe cysty toksoplazm



Fig. 1. Toxoplasmosis. Necrotic changes in the hemispheres. Case No 1. Cresyl violet. $\times 10$

Toksoplazmoza. Zmiany martwicze w półkulach mózgu. Przyp. 1. Fiolet krezyłu. Pow. $10 \times$

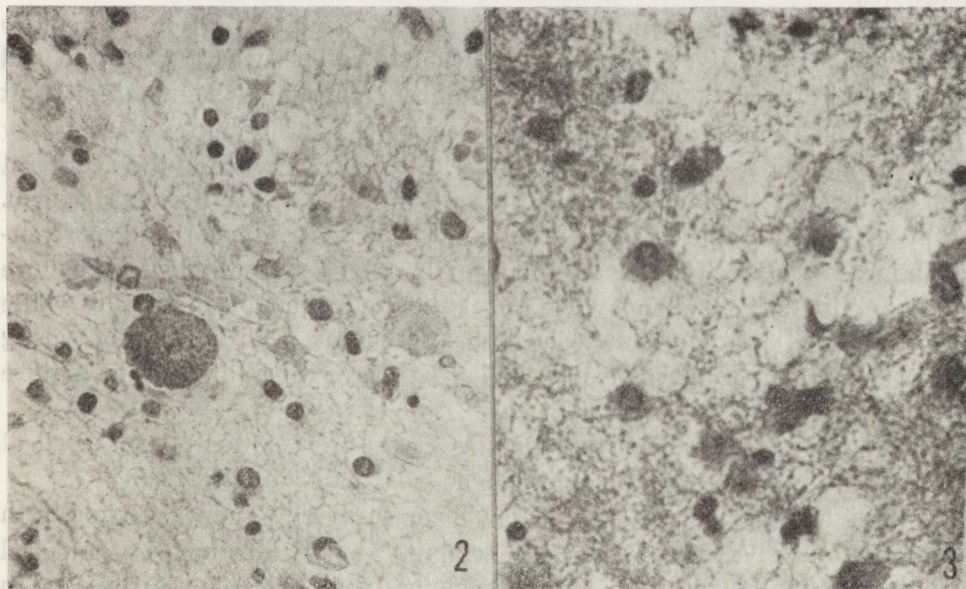


Fig. 2. Terminal toxoplasmic cysts. Case No 1. H - E. $\times 200$

Końcowe cysty toksoplazm. Przyp. 1. H - E. Pow. $200 \times$

Fig. 3. Leukomalacia in a premature infant. Macrophages and young glial cells in disintegrated area. Case No 5. Cresyl violet. $\times 400$

Rozmiękanie istoty białej u wcześniaka. Makrofagi i młode komórki glejowe w ognisku uszkodzenia. Przyp. 5. Fiolet krezyłu. Pow. $400 \times$

trates of young blast cells, macrophages, plasmacytes and lymphocyte-like cells corresponded with the child developmental age. In this case necrotic changes were extensive and involved the whole hemispheres. Only in the basal ganglia, brain stem and cerebellum the structural abnormalities were less pronounced.

In the third case concerning a mature newborn who survived ten days, neuropathological examination revealed the presence of only basal ganglia instead of hemispheres. They were covered by a layer of proliferating glia. In place of hemispheres there was a balloon-like structure with thin walls formed of glia tissue and mesodermal fibers. Subtentorial structures were normal. In the basal ganglia several toxoplasmic cysts were found. Slight perivascular and meningeal infiltrates indicated the remnants of the inflammatory process.

The second group consists of two cases (case 4-5) in which death of the newborns resulted of generalized perinatal infection (Tab. 2).

In both cases leptomeningitis was present. The fourth case concerned an infant born on the 30th week of conceptional age after a pregnancy with pathological complications. The child survived only 38 h. The ascending type of infection was seen in after-birth, in the lungs initial state of pneumonia and hyaline membrane disease. In the meninges the inflammatory process consisted mainly of macrophagic infiltrations.

The fifth case, born on 31st week of gestation after premature amniorrhexis survived 6 days. The perinatal sepsis was generalized and resulted in bronchopneumonia, peritonitis and purulent meningitis. It is worth mentioning that in both cases of this group no inflammatory changes, except slight perivascular infiltrations within the cerebral cortex in the fifth case, were present in the central nervous system. Both of them manifested disseminated neuronal damage and periventricular necrotic changes. In the fourth case neuropathological picture was dominated by edema with focal disintegration of the tissue while in the fifth case leukomalacia with prominent proliferation of young glial cells and numerous macrophages was rather diffuse in nature (Fig. 3).

The third group consisted of three cases (case 6-8) with cortical malformations resulting of meningoencephalitis (Tab. 3).

The sixth case, a mature newborn survived 2 days. After-birth examination revealed a hematogeneous type of infection. Pathological examination allowed to diagnose a generalized cytomegalic disease. In the brain, inflammatory process with necrotic changes was particularly evident around the lateral ventricles (Fig. 4). Several inclusion bearing cells were present in the infiltrated tissue. The neocortex did not display inflammatory changes but malformations in form of either micro-

Table 2. Group II
Grupa II

Case No Przyp. Nr	Antecedents Wywiad	Clinical data Dane kliniczne	Placenta Łożysko	General autopsy Sekcja ogólna	Neuropathological examination Badanie neuropatologiczne
4	Immature delivery imminent on 22nd week. Suture Shirodkar. Premature abruption of placenta Zagrażający poród niewczesny w 22 tyg. Szew Shirodkara. Przedwczesne odklejenie łożyska.	Premature delivery on the 30 th week. Survival 2 days Poród przedwczesny w 30 tyg. ciąży. Przeżycie 2 dni	Inflammatory changes Zmiany zapalne	Hyaline membranes in lungs Pneumonia. Błony szkliste w płucach. Zapalenie płuc	Meningitis. Periventricular edema with necrotic foci Zapalenie płuc. Okołosomorowo obrzęk i ogniska martwicy tkanki
5	Early bag of waters rupture Przedwczesne pęknięcie pęcherza płodowego	Survival 6 days Przeżycie 6 dni	?	Pneumonia. Peritonitis. Zapalenie płuc i otrzewnej	Meningitis. Periventricular edema and malacia Zapalenie opon. Okołosomorowo obrzęk i rozmiękanie tkanki nerwowej

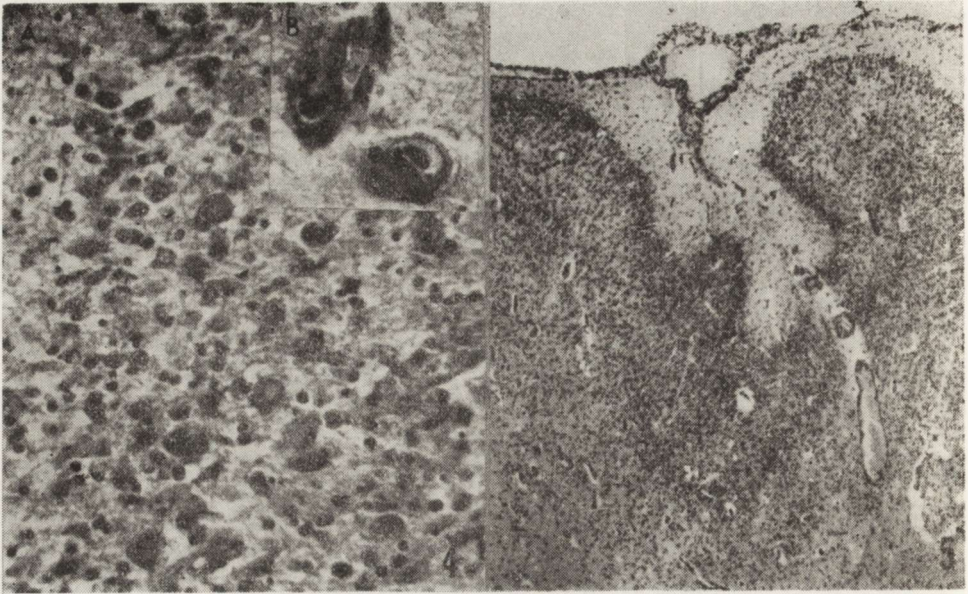


Fig. 4. Cytomegalic inclusion disease. A. Inflammatory changes in the white matter. Case No 6. Cresyl violet. $\times 100$ B. Cytomegalic cells with typical inclusions. Case 6. Cresyl violet. $\times 600$

Cytomegalia. A. Zmiany zapalne w istocie białej. Przyp. 6. Fiolet krezyłu. Pow. 100 \times . B. Komórki cytomegaliczne z typowymi wtrętami. Przyp. 6. Fiolet krezyłu. Pow. 600 \times

Fig. 5. Cytomegalic inclusion disease. Disturbances of gyrification. Case No 6. Cresyl violet. $\times 60$

Cytomegalia. Zaburzenia w uzwojeniu kory mózgu. Przyp. 6. Fiolet krezyłu. Pow. 60 \times

polygyria or smaller disturbances of gyrification (Fig. 5). The intensity of meningitis was slight.

In the seventh case *ablatio placentae precox* and the premature amniorrhexis was followed by birth on the 36th week of gestation Newborn died during delivery. The brain demonstrated periventricular necroses similar to those described in the previous group. In the leptomeninges abundant inflammatory infiltrations were found. They were composed of lymphocytes and plasmocytes. The cortex over the necrotic region and under the meningeal infiltrates presented the malformations similar to those found in sixth case.

The eighth case was born on 26th week of gestation and died after one hour. In after-birth the ascending inflammatory changes, and in the lungs pneumonia were found. The leptomeninges were infiltrated by cells showing morphological feature typical of the developmental age of the newborn: macrophages, young blast cells and small lymphocyte-like cells (Fig. 6). The perivascular infiltrations penetrated into the cortex, the remaining portions of the brain showed no inflammatory changes. The cortex undergoing differentiation presented four layers

Table 3. Group III
Grupa III

Case No Przyp. Nr	Antecedents Wywiad	Clinical data Dane kliniczne	Placenta Łożysko	General autopsy Sekcja ogólna	Neuropathological examination Badanie neuropatologiczne
6	Feverish state of the mother about the half of pregnancy W połowie ciąży choroba gorączkowa matki	Survival 2 days Przeżycie 2 dni	Inflammatory changes Zmiany zapalne	Hepato-splenomegaly. Generalized cytomegalia disease. Hepatosplenomegalia. Cytomegalia	Periventricular inflammatory process Microgyria Zmiany zapalne okołokomorowe Mikrogiria
7	Bleeding in the middle of pregnancy. Premature abruption of placenta. Krwawienie w połowie ciąży. Przedwczesne odklejenie łożyska	Stillborn on the 34th week. Martwo urodzony w 34 tyg. ciąży	?	?	Periventricular necrosis. Meningitis. Microgyria. Okołokomorowe ogniska martwicy Zapalenie opon. Mikrogiria
8	?	Immature delivery on 26th week. Survival 1 hour. Poród niewczesny 26 tyg. ciąży. Przeżycie 1 godz.	Inflammatory changes Zmiany zapalne	Hepato-splenomegaly. Pneumonia. Hepatosplenomegalia Zapalenie płuc	Meningitis. Early stage of microgyria Zapalenie opon. Wczesne stadium mikrogirii

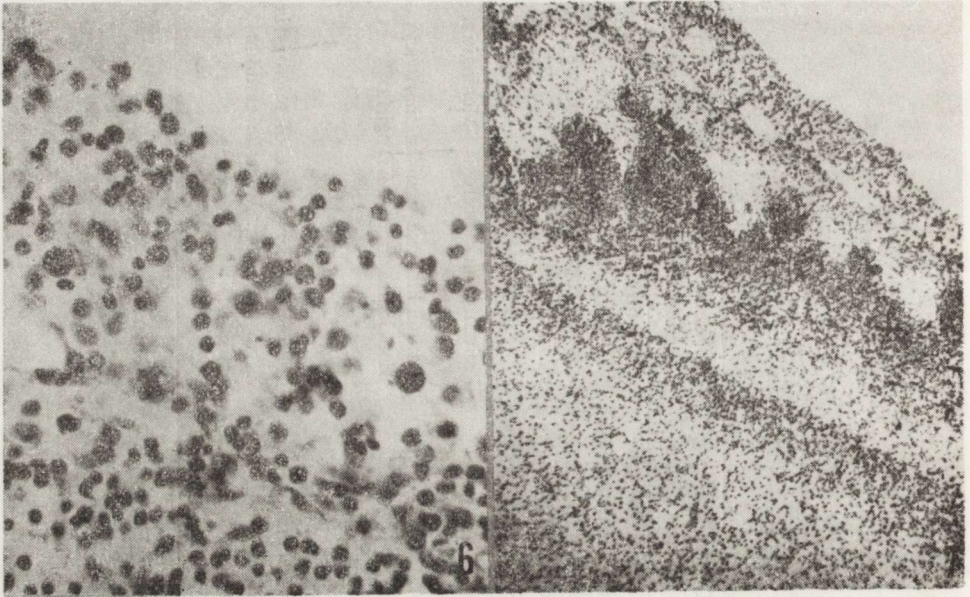


Fig. 6. Meningitis in a premature infant. Infiltration of young blast cells, macrophages, small lymphocyte-like cells. Case No 8. Cresyl violet. $\times 100$

Zapalenie opon u wcześniaka. W nacieku młode komórki wielojądrzaste, makrofagi, młode komórki limfocytopodobne. Przyp. 8. Fiolet krezyłu. Pow. $100 \times$

Fig. 7. Microgyria under the infiltration of meninges. Case No 8. Cresyl violet. $\times 60$

Mikrogyria w korze pokrytej oponami z naciekiem zapalnym. Przyp. 8. Fiolet krezyłu. Pow. $60 \times$

instead of six; the third layer with disappearing neurons and the second with abundant gyrification (Fig. 7). This appeared as microgyria in the course of formation.

DISCUSSION

The first group of the presented cases shows the successive stages of the brain tissue destruction by acute inflammatory necrosis. At the beginning (case 1) the changes are most pronounced in the periventricular region representing the typical localization of septic necrosis described by Głuszczyński (1961). During the next stage (case 2) the hemispheres were transformed into sacks composed of leptomeninges and remnants of nervous tissue containing fragments of the basal ganglia. At the end, the pathological process resulted in hydranencephaly which was observed in the third case. In these three cases the inflammatory process destroyed the tissue during the last three months of the fetal life. This could be indicated by the developmental stage of the subtentorial structures. For a long time toxoplasmosis has been suspected as a possible cause of hydranencephaly. Nevertheless there were many doubts that such degree of destruction could be caused by an inflammatory

process. Several authors proved the role of toxoplasmosis by demonstrating the toxoplasmic cysts in damaged brain (Francois 1963; Dąbska et al., 1965; Altshuler 1973). Our cases seem to illustrate well the mechanism of the spread of the inflammatory necrotic process. Severe proliferation of the supra- and subependymal glia blocked the pathways of the cerebro-spinal fluid circulation and both processes resulted in hydrocephaly progressing until hydranencephaly.

The cases of the second group show, that a non-inflammatory periventricular necrosis display a different type of brain tissue damage in the course of generalized sepsis with meningitis. The role of perinatal asphyxia in the pathomechanism of this kind of lesions was discussed by Banker and Larroche (1962). In our previous communication attention was brought to cerebral lesions connected with after-birth infection and pneumonia which lead to respiratory disturbances in newborns (Dąbska et al., 1971). Leviton and Gilles (1973) also stress the frequency of leukomalacia in newborns with generalized bacterial infection.

It is known that the final result of all types of periventricular necrosis depends on the time of its appearance. Before the end of neuroblasts migration periventricular lesions may lead to alterations in the definite differentiation of the cortex (Hallervorden 1949). The 6th case from our last group displayed a classical example of cytomegaly which caused this type of cortical malformation (Wolf, Coven, 1959). In the 7th case with the leptomeningeal infiltration covering the cortex, the infiltrations could participate in injury of this developing structure. Richman et al. (1974) suggested that microgyria could be the result of postmigratory encephaloclastic events. Our last case, in which no changes in the matrix nests and intermediate layer were found, showed that the organization of the cortex was disturbed by the infiltration which covered the brain and penetrated to the cortex.

As a general conclusion we may suggest that the brain abnormalities observed in our material of meningoencephalities were closely connected with the general tendency of immature brain to necrotic changes in the periventricular white matter. In some instances infiltration in the leptomeninges penetrating into the cortex could also be the cause of the lesions resulting in cortical malformations.

ZAPALENIA OPONOWO-MÓZGOWE JAKO PRZYCZYNA USZKODZEŃ UKŁADU NERWOWEGO W OKRESIE ROZWOJU

Streszczenie

Celem pracy jest ocena różnych typów pozapalnych uszkodzeń mózgów dzieci. Pierwsza grupa obejmuje 3 przypadki toksoplazmozy wrodzonej ze zmianami prowadzącymi do hydranencefalii. Druga grupa składa się z 2 przypadków, w których w przebiegu wrodzonego zakażenia połączonego z zapaleniem opon wystą-

piła niezapalna martwica okołokomorowa. W trzeciej grupie znajdują się 3 przypadki z wadami w uzwojeniu kory spowodowanymi przez zapalenie oponowo-mózgowe. Analiza przedstawionych przypadków wykazuje, że w przebiegu zapaleń oponowo-mózgowych w okresie dojrzewania ośrodkowego układu nerwowego dochodzi najczęściej do zmian martwiczych w okołonaczyniowej istocie białej. Nacieki zapalne w oponach mogą stać się także przyczyną zaburzeń w ukształtowaniu kory mózgu.

МЕНИНГОЭНЦЕФАЛИТЫ КАК ПРИЧИНА ПОВРЕЖДЕНИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ В ПЕРИОДЕ РАЗВИТИЯ

Резюме

Целью работы является оценка разных типов послевоспалительных повреждений головных мозгов детей. Первая группа охватывает 3 случая врожденного токсоплазмоза с изменениями ведущими к гидраненцефалии. Вторая группа состоит из 2 случаев, в которых течении врожденного заражения связанного с менингитом выступил невоспламеняемый околожелудочковый некроз. В третьей группе находятся 3 случая с пороками в извилинах коры, вызванными менингоэнцефалитом. Анализ представленных случаев показывает, что в течение менингоэнцефалитов в периоде созревания центральной нервной системы наиболее часто доходит до некрозных изменений в околососудистом белом веществе. Воспалительные инфильтраты в оболочках могут стать также причиной нарушений в конфигурации коры головного мозга.

REFERENCES

1. Altshuler G.: Toxoplasmosis as a cause of hydranencephaly. *Am. J. Dis. Child.*, 1973, 125, 251 - 259.
2. Banker B. Q., Larroche J.: Periventricular leukomalacia of infancy. *Arch. Neurol.*, (Chic.) 1962, 7, 386 - 410.
3. Dąbska M., Kraśnicka Z., Michałowicz R.: Hydranencephalia w przypadku toksoplazmozy wrodzonej. *Neuropat. Pol.*, 1965, 3, 49 - 58.
4. Dąbska M., Liebhardt M., Ferens Z., Marciniak M.: Uszkodzenie układu nerwowego a zakażenie płodu i zmiany w płucach noworodków. *Neuropat. Pol.*, 1971, 9, 297 - 305.
5. Francois J.: La toxoplasmose et ses manifestations oculaires. Paris 1963.
6. Głuszczyk A.: Rozsiana okołokomorowa martwica posocznicowa mózgu a toksoplazmoza u wcześniaków. *Łódzkie Towarzystwo Naukowe*, Łódź 1961.
7. Hallervorden J.: Über eine Kohlenoxydvergiftung im Fetalleben mit Entwicklungsstörung der Hirnrinde. *Allg. Ztschr. Psych.*, 1949, 124, 289 - 298.
8. Leviton A., Gilles F. H.: An epidemiologic study of perinatal telencephalic leukoencephalopathy in an autopsy population. *J. Neurol. Sci.*, 1973, 18, 53 - 66.
9. Richman D. P., Stewart R. M., Caviness V. S. Jr.: Cerebral microgyria in a 27-week fetus. An architectonic and topographic analysis. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1974, 33, 374 - 384.
10. Wolf A., Coven D.: Perinatal infections of central nervous system. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1959, 18, 191 - 243.

Authors' address: Laboratory of Developmental Neuropathology Medical Research Centre, Polish Academy of Sciences, 3 Pasteur Str., 02-093 Warszawa

AGNIESZKA JĘDRZEJEWSKA

W SPRAWIE MODYFIKACJI OBRAZU NEUROPATHOLOGICZNEGO
WIRUSOWYCH ZAPALEŃ MÓZGU W WIEKU PODESZŁYM*

Zakład Diagnostyki Patomorfologicznej CMKP

Wirusowe zapalenia mózgu występują w każdym wieku, w tym również u ludzi w wieku podeszłym. Przypadki te opisywane są w piśmiennictwie z różnego punktu widzenia. Nie udało się jednak znaleźć pracy, naświetlającej wpływ wieku pacjentów na kształtowanie się obrazu reakcji tkankowej w tej grupie procesów zapalnych. Celem pracy nie jest, z uwagi na niewielką liczbę przypadków, jaka była do dyspozycji, opracowanie tej zależności. Praca jest jedynie próbą spojrzenia na wykładniki neuropatologiczne z punktu widzenia wieku, w jakim doszło do infekcji wirusowej ośrodkowego układu nerwowego.

MATERIAŁ I METODY

Analizie neuropatologicznej poddano 6 przypadków (tab. 1), w których na podstawie badania neuropatologicznego rozpoznano wirusowe zapalenie ośrodkowego układu nerwowego. Cztery przypadki pochodzą z archiwum Zakładu Diagnostyki Patomorfologicznej CMKP, dwa zostały udostępnione przez Pracownię Neuropatologii Rozwojowej Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN. W większości przypadków rozpoznanie neuropatologiczne potwierdziło zgodną z nim sugestię kliniczną. Zwraca uwagę krótki przebieg choroby w 5 przypadkach (kilka dni). W jednym przypadku choroba trwała miesiąc. Podczas sekcji tylko w jednym przypadku stwierdzono chorobę, która mogłaby bez infekcji ośrodkowego układu nerwowego doprowadzić do zgonu, a mianowicie nowotwór złośliwy drobnokomórkowy przestrzeni zaozłonowej, bez przerzutów. Wiek, w jakim chorzy zmarli, wahał się od 44 do 80 lat.

* Praca wygłoszona na V Konferencji Neuropatologicznej, Szczecin 14-16 maj 1981 r.

Tabela 1. Zestawienie danych kliniczno-patomorfologicznych omawianych przypadków
Clinico-pathomorphological data of discussing cases

Przypadek Case	Wiek (lata) i płeć Age (years) and sex	Czas trwania choroby (dni) Disease dura- tion (days)	Główne objawy choroby Main clinical symptoms	Rozpoznanie kliniczne Clinical diagnosis	Rozpoznanie anatomo-patologiczne Postmortem diagnosis	
					Sekcja ogólna General autopsy	Badanie neuropatologiczne neuropathology
1/172/80	62, M.	8	Gorączka 39,4°C, bóle głowy, wymioty, objawy oponowe, śpiączka Fever 39.4°C, headache, vomiting, meningitic response, coma	<i>Encephal meningitis</i>	<i>Bronchopneumonia inf. bil. Cholecystitis calc. Atherosclerosis</i>	<i>Encephalitis necroticans (herpetiformis).</i>
2/655/76	56, M.	8	Gorączka 39°C, zaburzenia psychiczne, nadciśnienie, objawy oponowe, zespół mózdkowy, śpiączka Fever 39°C, mental disorders, hypertonia, meningitic response, cerebellar syndrom, coma	<i>Encephalopatia hypertonica?</i> <i>Encephalitis?</i>	<i>Hypertrophia cordis sin. Neoplasma microcellulare spatieiretroperitoneal.</i>	<i>Encephalitis viralis</i>
3/276/79	44, F.	14	Gorączka 39°C, drgawki, zespół opuszkowo-mózdkowy, objawy oponowe, drżenia pozapiramidowe, śpiączka Fever 39°C, convulsive fits, medullo-cerebellar syndrome, meningitic response, extrapyramidal tremor, coma	<i>Encephalomyelitis (ixodical?)</i>	<i>Splenomegalia. Haemorrhagiae confluentes subendocardiales. Steatosis hepatis. Cystitis chronica.</i>	<i>Myeloencephalitis viralis (ARBO)</i>
4/545/75	80, M.	30	Zaburzenia psychiczne, objawy oponowe, porażenie kończyn górnych, nagłe zejście śmiertelne Mental disorders, meningitic response, superior paraplegia, mors subita	<i>Encephalomyelitis?</i> <i>Lues? Infarctus cordis susp.</i>	<i>Infarctus myocardii. Bronchopneumonia. inf. dex. Atherosclerosis</i>	<i>Myeloencephalitis viralis (ARBO)</i>
5/15/69	62, F.	5	Gorączka 38°C, zaburzenia psychiczne i ruchowe, objawy oponowe, arefleksja, oftalmoplegia wewnętrzna Fever 38°C, mental and motor disorders, coma, meningitic response, areflexia, internal ophtalmoplegia	<i>Encephalomalacia trunci. Ophthalmoplegia int.</i>	<i>Bronchopneumonia. Pyelonephritis. Cholecystitis calculosa. Atherosclerosis</i>	<i>Encephalitis trunci (gripposa?)</i>
6/73/74	78, M.	10	Gorączka 39°C, zaburzenia ruchowe, napady drgawkowe, objawy oponowe, arefleksja, śpiączka Fever 39°C, motor disorders, convulsive fits,	<i>Encephalitis lymphocytaria?</i>	Nie wykonano Not performed	<i>Encephalitis viralis necroticans acuta</i>

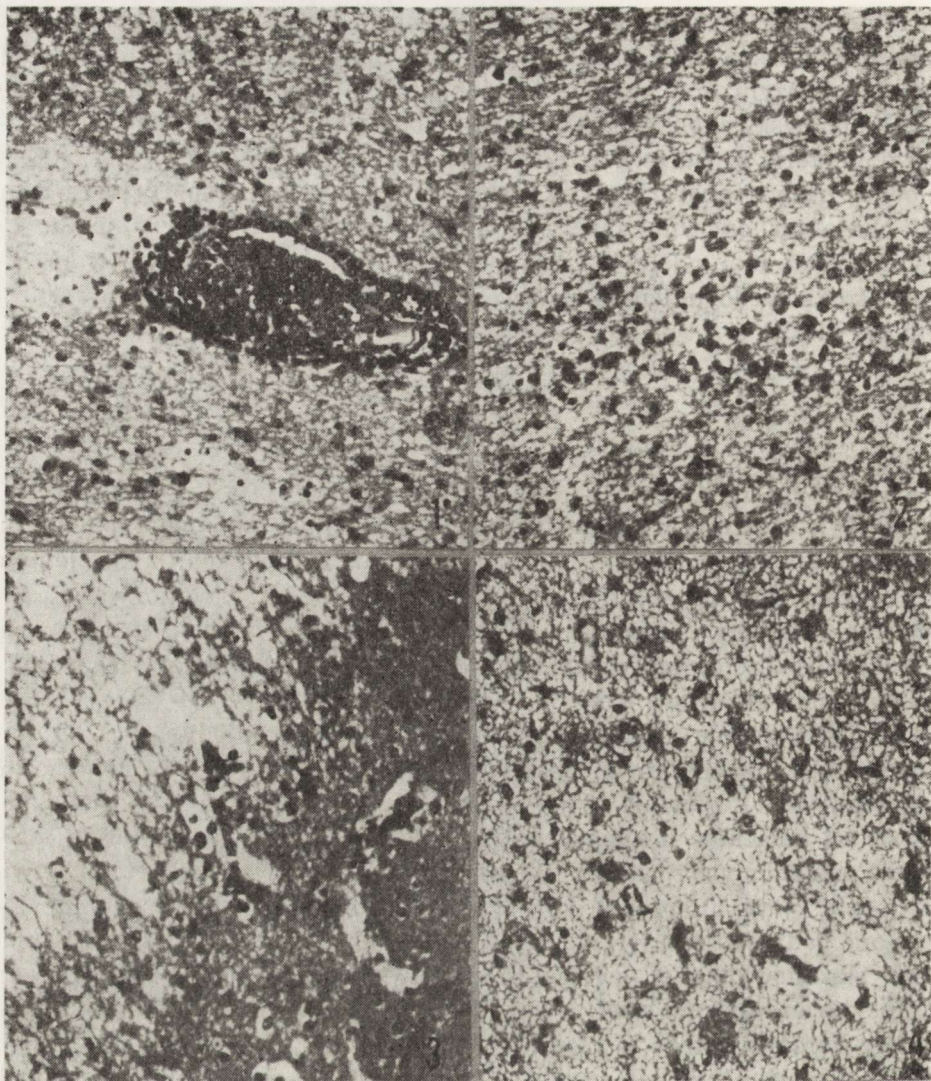
Materiał do badania neuropatologicznego opracowany był rutynowo przy użyciu skrawków półkulowych, barwionych hematoksyliną-eozyną, fioletem krezylu oraz metodą Heidenhaina, a niektóre preparaty metodą Bielchowsky'ego. Rozpoznanie neuropatologiczne stawiano w oparciu o kryteria zawarte w monografii Osetowskiej (1974), przyznając wiodącą rolę topografii uszkodzeń. Tam gdzie ani topografia zmian, ani charakter odczynu zapalnego nie pozwalały na precyzyjne rozpoznanie, bądź tam gdzie badanie neuropatologiczne nie obejmowało całego ośrodkowego układu nerwowego porzeczano na rozpoznaniu *encephalitis viralis*.

WYNIKI

Przypadek 1/172/80

Odczyn zapalny widoczny był we wszystkich badanych okolicach, zarówno w istocie szarej, jak i białej oraz w oponach, z nasileniem w okolicach dołu bocznego mózgu, płatach czołowych, skroniowych i podwzgórza. Zmiany martwicze występowały w płatach skroniowych, w zakrętach czołowych dolnych i zakrętach obręczy. W opuszczonej dotkniętą strukturą były oliwy.

Nacieki zapalne z limfocytów, plazmocytów i pojedynczych granulocytów obojętnochłonnych obserwowano w oponach oraz wokół naczyń mięszkowych — głównie żylnych (ryc. 1) oraz w korze i istocie białej w postaci nacieków ławicowych — te ostatnie głównie w okolicach martwiczo zmienionych (ryc. 2). Większość ognisk martwiczych to martwice „puste” (ryc. 3), prawie bezodczynowe; jedynie powiększone i przejaśnione jądra astrocytów reprezentowały elementy odczynowe. W płatach skroniowych, w ogniskach martwiczych widoczny był odczyn limfocytarno-mikroglejowy: większość komórek mikroglejowych stanowiły komórki młode, o biszkoptowatym kształcie, ale spotykało się też pojedyncze komórki pałeczkowate i żerne. Typowych, obfitych grudek neuronofagicznych nie napotkano. Widoczne jedynie były zgrupowania 2-4 komórek glejowych wokół uszkodzonych neuronów. Na uszkodzenie neuronów wskazywał ich rozpad, cienie neuronów oraz komórki ze shomogenizowaną cytoplazmą i dużymi jasnymi jądrami. Nacieki okołozylne komórek jednojądrowych najbardziej demonstratywne były w istocie białej, zwłaszcza okołokomorowej, towarzyszyła im proliferacja mikrogleju i makrogleju. Komórkowy odczyn zapalny był stosunkowo mało nasilony, nacieki typu grudkowego czy ławicowego były „luźne” (ryc. 1), a nacieki okołonaczyniowe najwyżej kilkurzędowe. We wszystkich okolicach widoczny był bardzo silny obrzęk z wybitną reakcją gleju brzeżnego oraz znaczne przekrwienie z odcinkową martwicą ścian naczyń, z licznymi krwinkotokami, krwotokami kolistymi i z wybroczy-



Ryc. 1. Przypadek 1. Kilkurzędowy naciek z komórek jednojądrowych wokół naczynia żylnego w obrębie martwicy pokrytej „luźnym” naciekiem zapalnym. Płat skroniowy lewy. H - E. Pow. 200 ×

Case 1. Perivenous mononuclear cell infiltration within the necrotic field covered with loose inflammatory infiltrates. Left temporal lobe. H - E. × 200

Ryc. 2. Przypadek 1. Naciek typu „luźna grudka” w martwiczo zmienionym płacie skroniowym prawym. H - E. Pow. 200 ×

Case 1. Loose nodular infiltrate in the necrotic right temporal lobe. H - E. × 200

Ryc. 3. Przypadek 1. Martwica „pusta” w płacie czołowym w zakręcie oczodołowym. H - E. Pow. 200 ×

Case 1. „Empty” necrosis in the orbital gyrus of the frontal lobe. H - E. × 200

Ryc. 4. Przypadek 1. Drobne ognisko martwicze z minimalnym naciekiem zapalnym w zakręcie obręczy lewym. H - E. Pow. 200 ×

Case 1. Small necrotic focus with minimal inflammatory infiltration in the left cingular gyrus. H - E. × 200

mi podpajęczynówkowymi. W mózdku stwierdzono ponadto niewielką ektopię korową. Rozpoznanie: *Encephalitis necroticans (herpertiformis?)*.

Przypadek 2/655/76

Odczyn zapalny obserwowano w płatach skroniowych, czołowych (z akcentacją w zakrętach oczodołowych) oraz w płatach ciemieniowych, jądrach podstawy, w jądrach bocznych wzgórza i podwzgórzu. W pniu odczyn zapalny stopniowo wygasał, sięgając do poziomu oliw dolnych. Płaty skroniowe i zakręty oczodołowe w całości uległy martwicy.

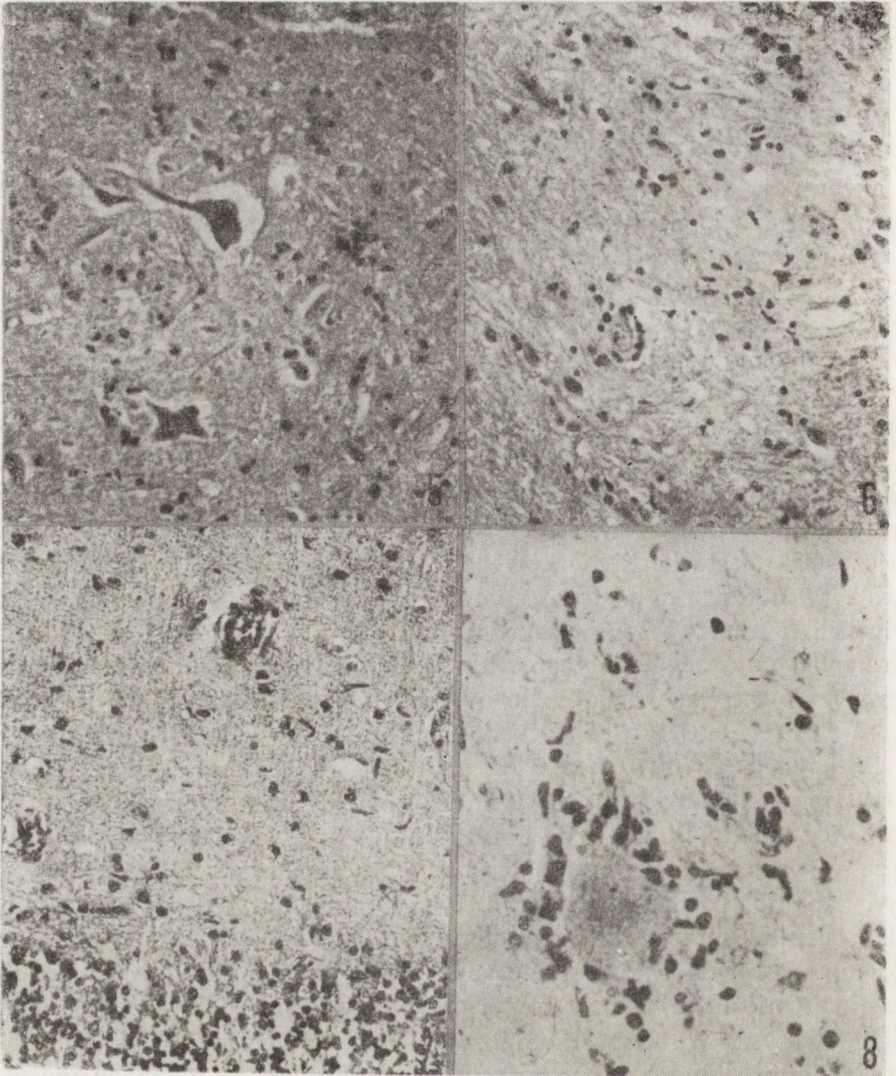
Uszkodzenie martwicze odpowiadało martwicy krwotocznej. Komórkowy odczyn zapalny, głównie limfocytarno-mikroglejowy, z niewielką domieszką granulocytów i plazmocytów obserwowano w oponach. W istocie szarej odnotowano również pojedyncze grudki neuronofagiczne (niezbyt obfite) i kilkurzędowe nacieki okołozylne. Te ostatnie występowały również w istocie białej zwłaszcza płatów skroniowych. Najczęstszą postacią komórkowego odczynu zapalnego była „luźna ławica”. Widoczna była dysproporcja między rozległością zmian martwiczych i martwiczym uszkodzeniem ścian naczyń a „gęstością komórkową” odczynu zapalnego. Przekrwienie i silny obrzęk mózgu uzupełniały obraz neuropatologiczny. Rozpoznanie: *Encephalitis viralis*.

Przypadek 3/276/79

W obrazie neuropatologicznym dominowały zmiany martwicze (typu martwicy pustej, krwotocznej, niepełnej), w rdzeniu kręgowym (zwłaszcza w poziomach szyjnych) oraz w pniu i mózdku. Komórkowy odczyn zapalny, bardzo skąpy (ryc. 5, 6, 7) (nacieki jednojądrowe okołozylne, grudki mikroglejowe z domieszką krwinek białych, ogólna mobilizacja astrocytów), był widoczny poza rdzeniem kręgowym i pniem mózgu, w mózdku, istocie białej okołokomorowej, podwzgórzu i jądrze migdałowatym. We wszystkich badanych okolicach było widoczne silne przekrwienie i obrzęk z odczynem gleju brzeźnego. W oponach mózdku i rdzenia były widoczne skąpe nacieki zapalne. Rozpoznanie: *Myeloencephalitis viralis (ARBO?)*.

Przypadek 4/545/75

Martwicy krwotocznej uległ rdzeń kręgowy w odcinkach dolnych, szyjnych i piersiowych oraz korzonki rdzeniowe tylne na tym poziomie. Poza martwicą proces zapalny wyrażał się w uszkodzeniu neuronów w postaci rozpadu tigroidu i obrzmieniu komórek, rozpadu neuronów, cieni komórkowych, stwardnienia neuronów, zwyrodnienia barwnikowego neuronów; w formowaniu typowych grudek neuronofagicznych (ryc. 8), dość obfitych oraz poszerzonych grudek neuronofagicznych, rozlanych nacieków ławicowych z dużym udziałem gleju pałeczkowatego



Ryc. 5. Przypadek 3. Grudki neuronofagiczne w rogu przednim rdzenia szyjnego. H-E. Pow. 200 ×

Case 3. Neuronophagic nodules in the anterior horn of the spinal cord. H-E. × 200

Ryc. 6. Przypadek 3. Komórkowy odczyn zapalny w rogu przednim rdzenia kręgowego na pograniczu martwicy. H-E. Pow. 200 ×

Case 3. Cellular inflammatory reaction on the periphery of necrosis in the anterior horn of the spinal cord. H-E. × 200

Ryc. 7. Przypadek 3. Odczyn mikroglejowy w warstwie drobinowej mózdzku. H-E. Pow. 200 ×

Case 3. Microglial reaction in the cerebellar molecular layer. H-E. × 200

Ryc. 8. Przypadek 4. Grudka neuronofagiczna wokół komórki rogu przedniego rdzenia szyjnego. H-E. Pow. 400 ×

Case 4. Neuronophagia of a large motor neuron in the spinal anterior horn. H-E. × 400

w klasycznych naciekach okołozylnych (ryc. 9). W oponach odnotowano skąpe nacieki złożone z komórek jednojądrowych. W całym mózgowiu obserwowano szkliwienie naczyń małego i średniego kalibru, natomiast w rdzeniu kręgowym, zwłaszcza w odcinku piersiowym, stwierdzono liczne konwoluty naczyniowe o zmienionych szkliście ścianach.

Niewątpliwie najsilniej zajęta strukturą był rdzeń kręgowy, a w następnej kolejności pień mózgu. W tym ostatnim szczególnie zaakcentowane było uszkodzenie w oliwach, jądrach tworu siatkowatego, jądrach nn XII, X, XI, III i istocie czarnej. Zmiany zapalne były widoczne również w moście, jądrze zębatym, jądrach migdałowatych, wzgórzu, zakrętkach hipokampa i w prążkowie, z tendencją do wygasania na przekrojach oddalających się od rdzenia w kierunku czołowym.

Rozpoznanie neuropatologiczne stwierdzało wirusowe zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego, najbardziej odpowiadające postaci rdzeniowej kleszczowego zapalenia mózgu, nasilone przez zaburzenia rozwojowe naczyń i zmiany miażdżycowe, co znalazło wyraz w szczególnie ciężkim uszkodzeniu odcinka szyjnego dolnego i odcinka piersiowego rdzenia kręgowego.

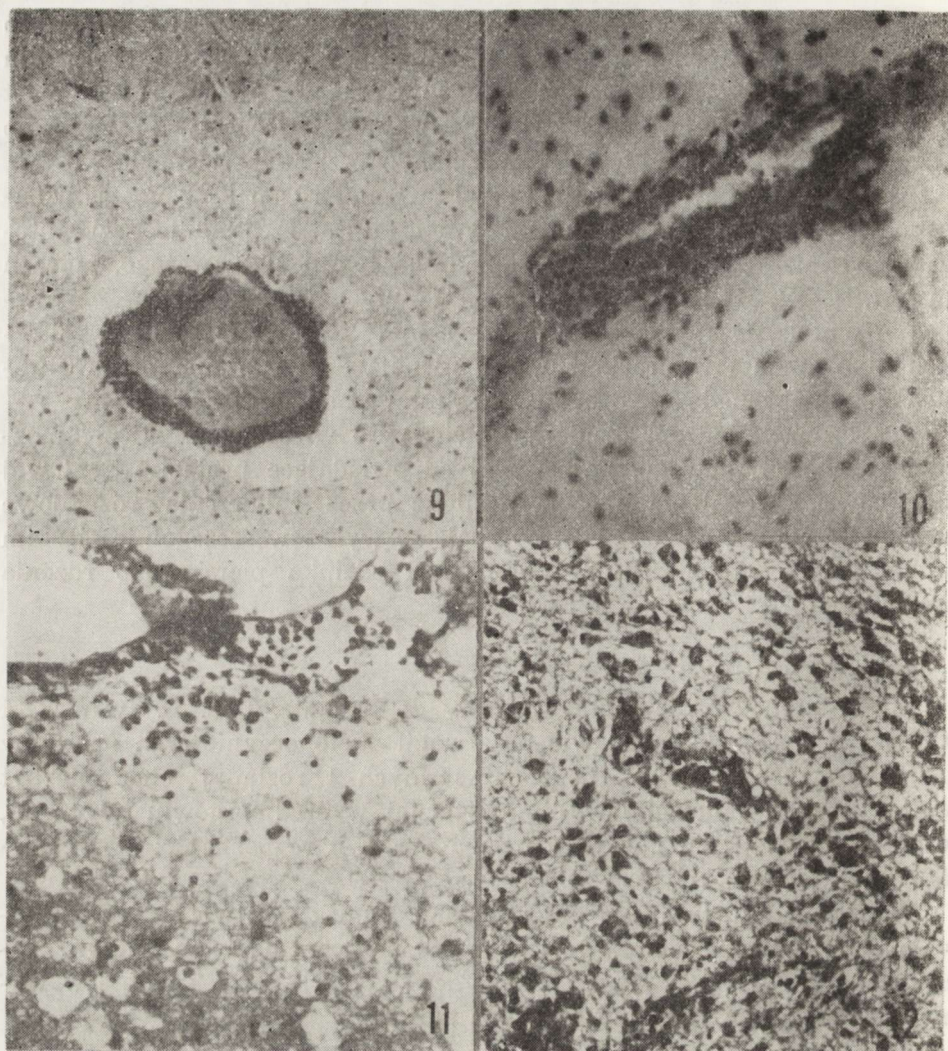
Przypadek 5/15/69

Rdzeń kręgowy nie został pobrany do badania. Doc. L. Iwanowski (CMD i K PAN) na podstawie obserwacji okołonaczyniowych nacieków jednojądrowych, grudek neuronofagicznych i rozlanej choć niezbyt obfitej reakcji mikroglejowo-limfocytarnej w śródmózgowiu (ryc. 10), wzgórzu, podwzgórzu i w pniu mózgu postawił rozpoznanie: *Encephalitis trunci (gripposa?)*.

W przypadku tym nie obserwowano ognisk martwiczych. Dominowało przekrwienie, odcinkowe martwicze uszkodzenie ścian naczyń. Naciek zapalny był dość skąpy. Pojedyncze komórki nacieku obserwowano w oponach podstawy mózgu i pnia mózgu.

Przypadek 6/73/74

Badaniem mikroskopowym 3 półkulowych wycinków (udostępnionych przez doc. L. Iwanowskiego, CMD i K PAN) pobranych na poziomach: 1) przednich odcinków rogów przednich komór bocznych mózgu, 2) rozwiniętej gałki bladej, 3) rozwiniętego wzgórza — stwierdzono martwicę obu gałek białych z korą wyspy i prążkowiec (z zaoszczędzeniem części przyśrodkowej jądra ogoniastego), sięgającą aż po jądra boczne wzgórza. Martwica ta miała charakter martwicy skrzepowej. W płatach skroniowych, czołowych i ciemieniowych oraz w okolicy okołomorowej występowały ogniska martwicy skrzepowej i typowe ogniska martwic „pustych”. Zmianom martwiczym towarzyszył odczyn zapalny (ryc. 11). Naciek z gleju pałeczkowatego i astrocytarnego z domieszką elementów jednojądrowych był widoczny na obrzeżach martwic i pene-



Ryc. 9. Przypadek 4. Obfity naciek okołozylny w międzymózgowiu. H - E. Pow. 100 ×

Case 4. Perivenous infiltration in the mid-brain. H - E. × 100

Ryc. 10. Przypadek 5. Kilkurzędowy naciek okołonacyniowy na tle odczynu tkankowego typu „luźnej ławicy” w śródmózgowiu. Fiolet krezylu. Pow. 200 ×

Case 5. Multilayer perivascular cuff on the background of more diffuse, loose infiltration in the mid-brain. Cresil violet. × 200

Ryc. 11. Przypadek 6. Minimalny naciek zapalny penetrujący od naczynia w głąb martwiczo zmienionej tkanki. Płat skroniowy lewy. H - E. Pow. 200 ×

Case 6. Slight perivascular infiltration penetrating into the neurotic tissue. Left temporal lobe. H - E. × 200

Ryc. 12. Przypadek 6. Naciek zapalny w martwiczo zmienionym płacie skroniowym z dużym udziałem mikro- i makrogleju. H - E. Pow. 200 ×

Case 6. Inflammatory infiltration with a considerable micro- and macroglial components in the necrotic right temporal lobe. H - E. × 200

trował w głąb zachowanej tkanki. Był to naciek dość skąpy w postaci grudek, „poszerzonych grudek” lub małych „ławic”. Najobfitszy odczyn komórkowy występował w płatach skroniowych (ryc. 12) i to w okolicach brzeżnych. Mikroglej występował tu głównie w postaci pałeczko-watej. Reakcja astrogleju była widoczna w postaci młodych form gemistocytarnych oraz powiększonych, jasnych w hematoksylinie-eozynie, jądrach bez widocznej w tym barwieniu cytoplazmy. Ściany naczyń były odcinkowo pobudzone, odcinkowo zmienione martwiczo. Ściany naczyń żylnych otoczone były jedno- lub dwurzędowym naciekiem z komórek jednojądrowych. W naczyniach żylnych, zwłaszcza drenujących obszary martwicy, były widoczne świeże zakrzepy. W naczyniach tętnicznych były obecne zmiany miażdżycowe (I - II°). W oponach występowały dość skąpe nacieki z komórek jednojądrowych przy dużej ilości wysokobiałkowego płynu. Wyściółka komór uległa martwicy na znacznych odcinkach. We wszystkich okolicach występowały cechy przekrwienia i obrzęku. W okolicach brzeżnych mózgu widoczne były ciała skrobio-wate. Rozpoznanie: *Encephalitis viralis necroticans acuta. Arteriosclerosis cerebri II°.*

OMÓWIENIE

Przedstawiony materiał miał pewne cechy wspólne w obrazie neuropatologicznym, wyrażające się dość skąpym komórkowym odczynem zapalnym, znacznym uszkodzeniem ścian naczyń, zwłaszcza małego kalibru i rozległymi zmianami martwiczymi (z wyjątkiem przyp. 5/15/69).

Różnice w topografii uszkodzeń przemawiają przeciwko wspólnemu czynnikowi etiologicznemu w omawianych 6 przypadkach. Na podstawie analizy obrazu neuropatologicznego odnosi się wrażenie, że na ostateczny obraz odczynu komórkowego miały wpływ zarówno wiek, w jakim doszło do infekcji ośrodkowego układu nerwowego, jak i czas trwania procesu chorobowego. Są to zresztą czynniki modyfikujące wtórne w stosunku do czynnika etiologicznego i osobniczej odporności w momencie infekcji.

Przy porównaniu obrazu neuropatologicznego przedstawionych przypadków, który w większości sugerował zapalenie mózgu kleszczowe i zmartwiające, z opisywanymi tego typu zapaleniami u ludzi młodych, uderza skąpość komórkowego odczynu zapalnego. Najobfitszy naciek zapalny obserwowano w przypadku z najdłuższym (jednomiesięcznym) przebiegiem choroby. Wpływ czasu trwania choroby na morfologiczne wykładniki odczynu zapalnego jest zjawiskiem znanym. Podkreślał to na Sympozjum w Antwerpii van Bogaert (1961). W piśmiennictwie spotyka się opisy wirusowych zapaleń mózgu u ludzi w wieku bardziej zaawansowanym (Brierley, 1960; Adams i wsp., 1961; Jellinger, Seitelberger, 1961; Grant, McMenemey, 1961; Perier i wsp., 1961; Verhaart,

1961; Peters i wsp., 1966; Amagai i wsp., 1978). Z analizy tych doniesień wynika, że po 50 roku życia dopiero choroba trwająca dłużej niż miesiąc pozwala na rozwinięcie dość obfitego i reprezentatywnego komórkowego odczynu zapalnego. Wydaje się, że przedstawiony materiał własny może być dobrą ilustracją tej tezy.

Odczyn komórkowy krwiopochodny, czy też tkankowy jest tylko jednym z morfologicznych wykładników zapalenia. W naszym materiale inne wykładniki procesu zapalnego, jak uszkodzenie ścian naczyń, zakrzepica, uszkodzenia neuronalne czy też ogniska martwicze, były wyraźnie akcentowane. Wydaje się, że we wszystkich przedstawionych przypadkach wiek pacjentów, a przede wszystkim związany z nim stan układu krążenia i układu odpornościowego, w znacznym stopniu modyfikowały ostateczny obraz neuropatologiczny.

К ВОПРОСУ О МОДИФИКАЦИИ НЕВРОПАТОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ ВИРУСНЫХ ВОСПАЛЕНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ПОЖИЛОМ ВОЗРАСТЕ

Резюме

Анализу подвергнули 6 случаев распознанных при помощи невропатологического исследования как вирусное воспаление центральной нервной системы. Возраст, в котором больные умерли, колебался в границах 44—80 лет. Продолжительность болезни: от 5 дней до 1 месяца. Наблюдали некоторые общие признаки невропатологической картины: 1) довольно скудную клеточную воспалительную реакцию, 2) значительной степени повреждение стенок сосудов, особенно малого калибра, 3) протяженные некротические изменения в 5 случаях. Кажется, что на невропатологическую картину кроме этиологического фактора, влияли возраст, в котором пациент заболел, и продолжительность болезни. Из анализа собственного материала и данных из литературы вытекает, что после 50-го года жизни для развития полной картины клеточной реакции в вирусном воспалении центральной нервной системы требуется относительно долгая продолжительность заболевания, т. зн. ок. 1 месяца.

ON AGE DEPENDENT MODIFICATION OF THE NEUROPATHOLOGY OF VIRAL ENCEPHALITIDES

Summary

Six cases, diagnosed neuropathologically as viral encephalitides were analysed. The age of patients ranged from 44 to 80 years. Disease duration was from 5 to 30 days. Some common neuropathological features were found in all cases regardless the nature of basic pathological process. These were: 1) scanty cellular inflammatory reaction; 2) severe damage to the walls of the blood vessels, especially those of small caliber; 3) diffuse necroses of the nerve tissue.

It seems that final pathomorphological picture of the inflammatory process in the central nervous system depends both on the etiological factor and on the age of patient at the disease beginning and the duration of pathological process. Analysis of the presented material and literature data indicate that after 50th year of age an appropriate duration of the disease process is necessary for the development of full pathomorphological picture of the inflammatory reaction.

PIŚMIENICTWO

1. Adams R. D., Berger E. C., van Bogaert L.: Remarks on three new cases of acute necrotizing encephalitis. [W:] Encephalitides. Red. L. van Bogaert, Elsevier, Amsterdam 1961, 266 - 282.
2. Amagai I., Nakashima K., Saito A., Inose T.: A case of encephalitis with inclusion bodies, showing clinical feature similar to presenile dementia. Adv. Neurol. Sci., 1978, 22, 519 - 525.
3. Bogaert van L.: Leucoencephalitides and panencephalitides — closing remarks. [W:] Encephalitides. Ed L. van Bogaert, Elsevier, Amsterdam 1961, 706 - 707.
4. Brierley J. B.: Subacute encephalitis of later adult life mainly affecting the limbic area. Brain 1960, 83, 367 - 368.
5. Grant H. G., Mc Menemey W. H.: A case of necrotizing encephalitis. [W:] Encephalitides. Ed. L. van Bogaert, Elsevier, Amsterdam 1961, 227 - 229.
6. Jellinger K., Seitelberger F.: Findings in fatal cases of encephalitis during the 1957 - 1958 influenza epidemic. [W:] Encephalitides. Ed. L. van Bogaert, Elsevier, Amsterdam 1961, 89 - 95.
7. Osetowska E.: Neuropatologia zapaleń mózgu wirusowych i alergicznych. PZWL, Warszawa 1974.
8. Périér O., Parmentier R., Brikaye J., Flament-Durand J.: A case of inclusion-body necrotizing encephalitis. [W:] Encephalitides. Red. L. van Bogaert, Elsevier, Amsterdam 1961, 235 - 244.
9. Peters G., Tateishi J., Minauf M.: Akute Nekrotisierende Encephalitiden. Neuropat. Pol., 1966, 4, 605 - 611.
10. Shiraki H.: The neuropathology of encephalitis japonica in humans especially from subchronic to chronic stage. Neuropat. Pol., 1966, 4, 419 - 448.
11. Verhaart W. J. C.: A case of brain stem encephalitis. Neuropat. Pol., 1966, 4, 701 - 705.

Adres autorki: Zakład Diagnostyki Patomorfologicznej CMKP, ul. Ceglowska 80, 01-809 Warszawa

HANNA GRABOWSKA

ZMIANY STARCZE W SZYSZYNCIE LUDZKIEJ

Zakład Patomorfologii Instytutu Biostruktury Akademii Medycznej, Warszawa

Nieliczne publikacje poświęcone badaniu morfologii ludzkiej szyszynki dostarczyły sprzecznych informacji w ocenie jej masy u zmarłych w różnym wieku (Rodin, Overall, 1967; Tapp, Huxley, 1971), gromadzenia w jej mięszu złogów wapnia (Arieti, 1964; Khelimsy, 1961; Vildi, Frauchiger, 1965; Tapp, Huxley, 1971), rozrostu tkanki łącznej i neurogleju (Arieti, 1954; Vildi, Frauchiger, 1965; Tapp, Huxley, 1972). Wątpliwości budziła informacja o nie znalezieniu oznak wiądu szyszynki w wieku starczym (Vildi, Frauchiger, 1965), jak również o niezmiennym liczbie i budowie pinealocytów w ciągu całego życia (Vildi, Frauchiger, 1965; Rodin, Overall, 1967; Tapp, Huxley, 1972).

Celem obecnej pracy była analiza morfologiczna szyszynki ludzkiej od chwili urodzenia do zgonu, ze szczególnym uwzględnieniem zmian związanych ze starzeniem się całego ustroju.

MATERIAŁ I METODY

W trakcie sekcji rutynowych wykonanych w Zakładzie Patomorfologii Instytutu Biostruktury i w Samodzielnej Pracowni Patologii Instytutu Pediatrii oraz sekcji sądowych wykonanych w Zakładzie Medycyny Sądowej Warszawskiej Akademii Medycznej w okresie od października 1976 do czerwca 1978 r. pobrano 203 szyszynki ze zwłok ludzkich. Wszystkie przypadki podzielono na dziesięć grup według dekady życia. Do pierwszej zaliczono szyszynki dzieci zmarłych do 9 roku życia, w tym kilka przypadków pochodzących od noworodków przedwcześnie urodzonych. Do ostatniej grupy zaliczono szyszynki chorych, którzy przekroczyli 90 rok życia, w tym przypadek 103-letniego mężczyzny. Szyszynki pobrane świeżo ze zwłok, w okresie od 6 do 30 godzin po zgonie, były ważone na wadze analitycznej typu WE-33 z dokładnością do 0,001 g.

Nie ważono szyszynek dziecięcych. Następnie utrwalano je w 4% formalinie buforowanej przez okres 2 miesięcy. Później, z wyjątkiem szyszynek pobranych od noworodków, umieszczano je na 2 tygodnie w 5% roztworze wersenianu, zatapiano w parafinie i skrawano na mikrotomie saneczkowym firmy Reichert na skrawki grubości 5 μm tak, aby przekrój objął jednocześnie szypułę i miąższ szyszynki. Posługiwano się następującymi metodami barwień histologicznych: hematoksyliną i eozyną, azanem, fuksyną aldehydową, trójbarwną metodą Massona, metodą Holzera. Stosowano również metody impregnacyjne według Gomoriego, Bodiana i Massona-Fontany. Ponadto zastosowano metodę histochemiczną PAS. Preparaty oceniano w mikroskopie optycznym (firmy Karl Zeiss, Jena) w powiększeniach do 800 razy.

Oceniano histologicznie budowę miąższu szyszynki bez szypuły we wszystkich przypadkach, uwzględniając wiek i płeć zmarłych, dostępne dane kliniczne oraz wynik badania sekcyjnego. Zwracano uwagę na kształt i wielkość jąder pinealocytów oraz na ziarnistości w ich cytoplazmie. Oceniano częstość występowania w jej miąższu rozrostu tkanki łącznej i neurogleju, ziaren piasku, włókien Rosenthala i torbieli we wszystkich przypadkach. Dokonano oceny liczby ogólnej pinealocytów oraz liczby pinealocytów wykazujących cechy zwyrodnienia barwnikowego w postaci gromadzenia ziaren lipofuscyny w cytoplazmie w 20 fragmentach obejmujących pole widzenia mikroskopu przy powiększeniu 600 razy, pochodzących z przypadkowo wybranego skrawka szyszynki u 5 mężczyzn zmarłych w wieku 20-29 lat w wyniku wypadku oraz u 5 mężczyzn zmarłych w wieku 70-79 lat z powodu niewydolności krążenia, w przebiegu miażdżycowego uszkodzenia mięśnia serca. Za pomocą mikroskopu (PZO typ MB 30) z nasadką projekcyjną, na którą naniesiono siatkę pomiarową 11 \times 13 punktów, dokonano pomiaru wielkości pola zajmowanego przez pinealocyty, a nie przez tkankę łączną, piasek, glej, torbiele lub naczynia krwionośne, u 36 przypadkowo wybranych chorych zmarłych pomiędzy 20 a 99 rokiem życia, niezależnie od płci. Zliczano ilość punktów pomiarowych, które trafiły w zraziki szyszynki w dziesięciu przypadkowych polach złożonych ze 120 kwadratów o boku 42 μm , z dowolnie wybranego skrawka preparatu szyszynki. Dokonano analizy statystycznej pomiaru: 1) liczby ogólnej pinealocytów oraz liczby pinealocytów wykazujących cechy zwyrodnienia barwnikowego u mężczyzn zmarłych w wieku 20-29 lat i 70-79 lat; 2) częstości występowania w miąższu szyszynki rozrostu tkanki łącznej i neurogleju, gromadzenia ziaren piasku i włókien Rosenthala oraz tworzenia torbieli z uwzględnieniem dekady życia zmarłych; 3) średniej masy szyszynki w kolejnych dekadach życia; 4) wielkości powierzchni zajmowanej przez pinealocyty w kolejnych dekadach życia.

Wyniki pomiarów wymienionych w punktach 1, 3 i 4 oceniono metodą analizy wariancji jednoczynnikowej przy $\alpha \leq 0,05$, a wyniki po-

miarów wymienionych w punkcie 2 oceniono testem χ^2 przy $\alpha \leq 0,05$. Wszystkie obliczenia wykonano na programowanym kalkulatorze Hewlett-Packard typ HP 9821.

WYNIKI

U noworodków przedwcześnie urodzonych szyszynka przedstawiała się jako owalny, drobny, lekko wypukły narząd, nieznacznie odróżniający się jasnoszarą barwą od otaczającej tkanki nerwowej. U noworodków urodzonych o czasie szyszynka była owalna, jej szypuła niewidoczna. U starszych dzieci była ona większa, położona na szypule, kształtem i barwą przypominała szyszynkę ludzi dorosłych. U ludzi zmarłych w wieku dojrzałym szyszynka miała kształt kulisty lub stożkowy, barwę szarobeżową, średnicę 3—7 mm. Na powierzchni zewnętrznej, po usunięciu opony miękkiej, widoczne były niekiedy cienkościennie torbiele wypełnione jasnym płynem. Widoczne były one również na powierzchni przekroju szyszynki obok licznych ziaren piasku.

Tabela 1. Średnia masa szyszynki (mg) ($\bar{x} \pm SE$)Mean weight of the pineal gland (mg) ($\bar{x} \pm SE$)

Płeć Sex	Wiek (lata)				Age (years)			
	20—29	30—39	40—49	50—59	60—69	70—79	80—89	90—99
Kobiety Females	229±69	x	x	179±22	190±44	185±15	194±15	269±52
Mężczyźni Males	186±47	x	186±29	167±19	186±16	164±14	165±18	x

\bar{x} — wartość średnia mean; SE — błąd standardowy średniej standard error of mean; x — nie badano not examined

Ocena średniej masy szyszynki w kolejnych dekadach od 20 do 89 roku życia nie wykazała różnic statystycznych w zależności od wieku i płci zmarłych (tab. 1). Zwraçało uwagę znaczne zróżnicowanie masy szyszynki pomiędzy poszczególnymi przypadkami tej samej płci i wieku (tab. 2). Ocena histologiczna przypadków przedstawionych w tabeli 2 wykazała, że w gruczołach o masie przekraczającej wartości średnie mięszsz szyszynki zawierał liczne ziarna piasku, rozległe pola gleju i torbiele, a w przypadku młodego mężczyzny z obrażeniami urazowymi, obok licznych drobnych i dużych złogów wapniowych, również rozległe pola martwicy. Natomiast w gruczołach o małej masie utkanie mięszszu szyszynki było podobne — pinealocyty rozdzielone pasmami bogato unaczynionej tkanki łącznej. Również stosunek powierzchni zajmowanej przez pinealocyty do pozostałych elementów utkania mięszszu szyszynki, jak tkanka łączna, neuroglej, piasek (tab. 3), nie ulegał zmianie w miarę upływu lat życia.

Tabela 2. Przykłady skrajnych wartości masy szyszynki
Examples of the extreme values of pineal weight

Średnia masa (mg) dla płci i wieku Mean weight (mg) for sex and age	Masa wyższa od średniej Weight above the mean		Masa niższa od średniej Weight below the mean	
	masa rzeczy- wista (mg) real weight (mg)	płeć, wiek, choroba podstawowa sex, age and basic disease	masa rzeczy- wista (mg) real weight (mg)	płeć, wiek, choroba podstawowa sex, age and basic disease
269±52	489	♀, 93 przewlekły zespół serca płucnego chronic cor pulmonale	136	♀, 98 przewlekły zespół serca płucnego chronic cor pulmonale
176±32	459	♂, 88 nasilona miażdżycza tętnic, zwłaszcza wieńcowych; liczne blizny po zawałach mięśnia serca severe atherosclerosis, pre- dominantly coronary; nu- merous scars post myo- cardial infarcti on	123	♀, 80 nasilona miażdżycza tętnic; przewlekła choroba wrzodowa żołądka severe atherosclerosis; chro- nic gastric ulcer
168±47	369	♂, 26 liczne pourazowe złamania kości kończyn i czaszki numerous postraumatic frac- tures of extremities and skull	62	♂, 25 rak odbytnicy rozlegle na- ciekający narządy miedni- cy małej; posocznica; wy- niszczenie rectal carcinoma infiltrating widely pelvic organs; sep- sis; ematiation

Obraz histologiczny miąższu szyszynki dzieci uzależniony był od wieku. U noworodków urodzonych przedwcześnie i urodzonych o czasie miąższ szyszynki zbudowany był z dwubarwnych komórek o mozaikowym układzie przypominającym zraziki — w centrum znajdowały się komórki o jądrach jaśniejszych niż na obwodzie. Widoczne były również

Tabela 3. Wielkość powierzchni zajmowanej przez pinealocyty (μm^2) ($\bar{x} \pm \text{SE}$)
Area occupied by pinealocytes (μm^2) ($\bar{x} \pm \text{SE}$)

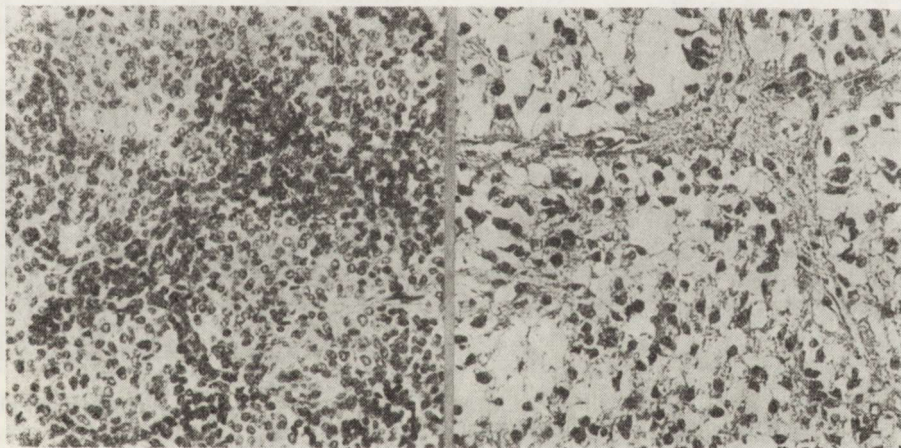
Płeć Sex	x	Wiek (lata)				Age (years)			
		20—29	30—39	40—49	50—59	60—69	70—79	80—89	90—99
Kobiety Females	x	86,8±9,2	85,4±7,0	63,3±3,6	59,2±3,8	56,9±3,9	64,2±4,5	59,7±5,2	
Mężczyźni Males	54,1±6,2	x	71,4±3,9	57,9±4,5	66,2±2,9	60,9±3,9	57,0±3,5	x	

\bar{x} — wartość średnia mean; SE — błąd standardowy średniej standard error of mean; x — badano not examined

liczne duże naczynia krwionośne i komórki o wydłużonych jądrach, prawdopodobnie fibroblasty (ryc. 1). U starszych dzieci obraz histologiczny przypominał szyszynkę ludzi dorosłych z tym, że zarówno cały narząd, jak i jądra pinealocytów były mniejsze.

U ludzi dorosłych miąższ szyszynki zbudowany był z pinealocytów, komórek charakteryzujących się słabo widoczną w rutynowych barwieniach cytoplazmą oraz pęcherzykowym jądrem o rozproszonej chromatynie i pofałdowanej błonie jądrowej (ryc. 2). Specjalne metody impregnacyjne uwidaczniały kolbowate wypustki cytoplazmy pinealocytów (ryc. 3). Cienkie pasma bogato unaczynionej tkanki łącznej dzieliły miąższ szyszynki na zraziki i pseudozraziki. Oprócz pinealocytów w miąższu szyszynki widoczne były komórki glejowe, głównie astrocyty włókniste, komórki tuczne, plazmatyczne, granulocyty, limfocyty i makrofagi.

W cytoplazmie pinealocytów i astrocytów stwierdzono kilka typów ziarnistości: złociste lipofuscyny (barwienie H—E), brązowe melaniny (widoczne również w metodzie impregnacyjnej wg Massona-Fontany) oraz ziarna fuksynofilne (wybarwiają się fuksyną aldehydową na fioletowo i na różowo, widoczne również w metodzie impregnacyjnej wg Gomoriego). Wszystkie trzy typy ziarnistości układały się w pobliżu jąder pinealocytów i astrocytów, ziarna fuksynofilne również wzdłuż



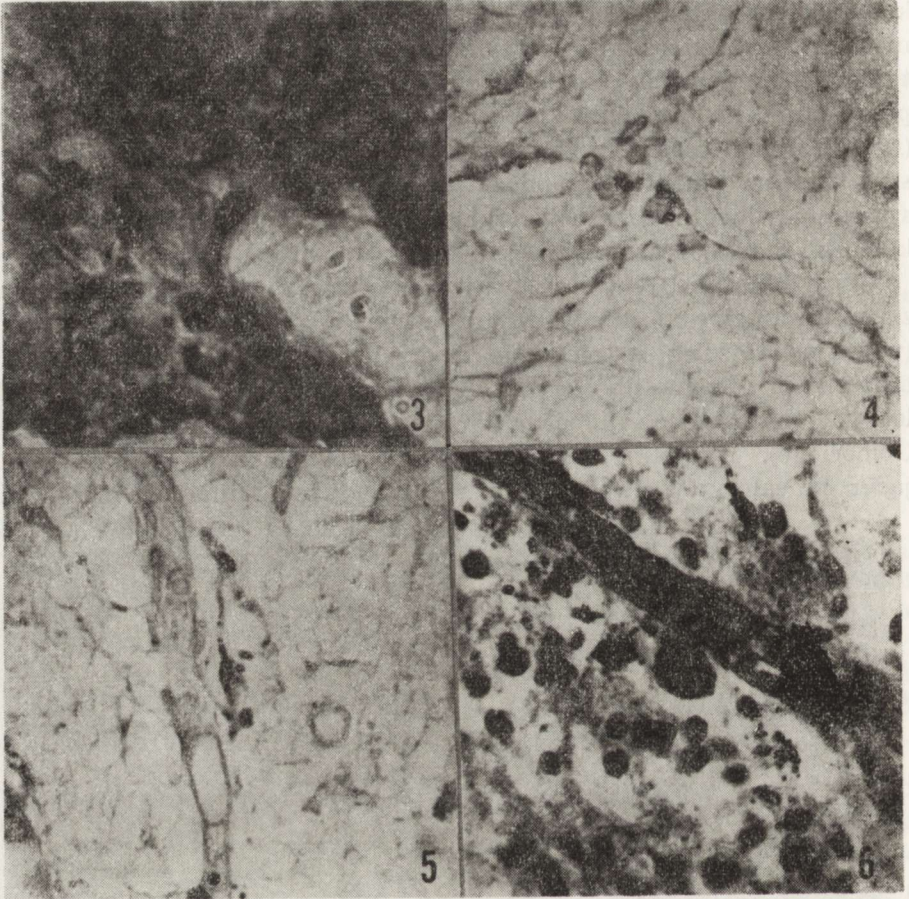
Ryc. 1. Miąższ szyszynki donoszonego 1-dniowego noworodka. (♂) Widoczny układ mozaikowy, w centrum zrazików komórki o jądrach jaśniejszych niż na obwodzie. H - E. Pow. 100 ×

Pineal parenchyma of a 1 day-old mature newborn (♂) with mosaic pattern. Central portions of lobuli contain the cells with lighter nuclei than those on their periphery. H - E. × 100

Ryc. 2. Miąższ szyszynki człowieka dorosłego (♀, 74). Pinealocyty o ciemnych, nieregularnie zarysowanych jądrach i słabo widocznej cytoplazmie, z długimi wypustkami, podzielone na zraziki przez pasma tkanki łącznej. Azan. Pow. 250 ×

Pineal gland of an aged person (♀ 74). Pinealocytes with dark, irregularly outlined nuclei, pale cytoplasm and long cellular processes are grouped in lobuli, separated by strands of the connective tissue fibers. Azan. × 250

wypustek cytoplazmy tych komórek (ryc. 4, 5). Często, w postaci grubych ziaren, pojawiały się w obrębie przegród łącznotkankowych (ryc. 6). Czasami, przy dużej liczbie ziaren lipofuscyny w cytoplazmie pinealocyту lub astrocytu obserwowano zmiany zwyrodnieniowe jądra ko-



Ryc. 3. Kolbowato zakończona wypustka cytoplazmy pinealocyту. Bodian. Pow. 100 ×
Knob-like ending of the pinealocyte process. Bodian. × 1000

Ryc. 4. Ziarna fuksynofilne otaczające jądro pinealocyту. Fuksyna aldehydowa.
Pow. 400 ×

Fuchsinophilic grains surrounding pinealocyte nucleus. Aldehyde fuchsin. × 400

Ryc. 5. Kolbowate wypustki cytoplazmy pinealocyту wypełnione ziarnistościami fuksynofilnymi w pobliżu ściany dużego naczynia krwionośnego przestrzeni międzyzrazikowej. Fuksyna aldehydowa. Pow. 400 ×

Knob-like pinealocyte processes, filled with fuchsinophilic granulations in the vicinity of the wall of large blood vessel in the interlobular space. Aldehyde fuchsin. × 400

Ryc. 6. Skupisko ziarnistości fuksynofilnych w pobliżu naczynia krwionośnego. Gomori. Pow. 400 ×

Aggregation of fuchsinophilic granules in the vicinity of the blood vessel. Gomori. × 400

mórkowego — było ono małe, ciemne, o nieregularnych zarysach, niekiedy niewidoczne (ryc. 7—9).

Ocena porównawcza (tab. 4) liczby pinealocytów zawierających w cytoplazmie ziarna lipofuscyny na tle ogólnej liczby pinealocytów mięszu szyszynki w dwu skrajnych grupach wiekowych wykazała, że grupa zmarłych w wieku starczym różni się od grupy młodych niewielkim spadkiem ogólnej liczby pinealocytów i wybitnym wzrostem liczby pinealocytów wykazujących cechy zwyrodnienia barwnikowego.

Tabela 4. Pomiar liczby pinealocytów w mięszu szyszynki ($\bar{x} \pm SE$)

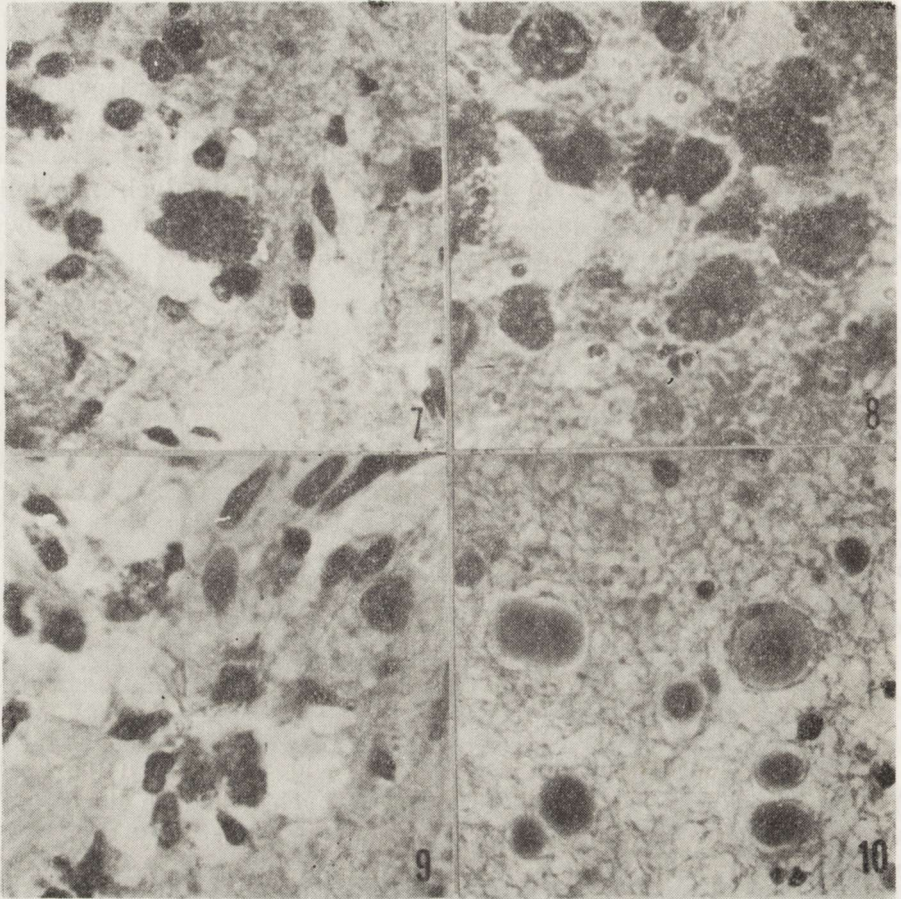
Pinealocytes survey in the gland parenchyma ($\bar{x} \pm SE$)

Pomiar Survey	Wiek (lata)	Age (years)
	20—29	70—79
Ogólna liczba pinealocytów General number of pineal cells	117,2±4,2	91,1±2,5
Procent pinealocytów z cechami zwyrodnienia barwnikowego (lipofuscyna) Percent of cells with lipochrome degeneration (lipofuscin)	9,0±1,0	30,5±1,3

\bar{x} — wartość średnia mean; SE — błąd standardowy średniej standard error of mean

W polach neurogleju mięszu szyszynki widoczne były u ludzi zmarłych po 60 roku życia pojedyncze, w następnych dekadach liczne, perłowo-fioletowe (w barwieniu H—E), owalne twory o średnicy do 40 μm (ryc. 10). Były one identyczne z ciałami amyloidowymi widywanymi w mózgu ludzi starych jako wyraz zwyrodnienia astrocytów włóknistych. Ciał amyloidowych nie stwierdzono w szyszynkach ludzi zmarłych w młodszym wieku.

Zauważono, że w mięszu ludzkiej szyszynki dochodzi do rozrostu tkanki łącznej w postaci poszerzenia przegród międzyzrazikowych lub siatki włókien oplatających poszczególne komórki w 50,7% przypadków (tab. 5). Rozrost neurogleju w postaci różnokształtnych pól i pasm towarzyszących międzyzrazikowej tkance łącznej lub rozdzielających nieregularnie komórki szyszynki obserwowano w 40,3%. Gromadzenie ziaren piasku związanych z utkaniem zrazików, tkanką łączną lub giejem stwierdzano w 75,9%, zwyrodnienie astrocytów włóknistych w postaci gromadzenia włókien Rosenthala w 45,3%, a tworzenie torbieli w 18,8% przypadków. U chorych obojga płci zmarłych po 40 roku życia wszystkie wymienione elementy występowały w mięszu szyszynki jednakowo często w każdym wieku. Szerokie przegrody międzyzrazikowe stwierdzono najwcześniej u 3-miesięcznej dziewczynki. Drobne pola gleju stwierdzono po raz pierwszy u noworodka zmarłego w pierwszej dobie życia, natomiast rozległe pola hiperplazji neurogleju, z objawami jego



Ryc. 7. Zwyródnienie barwnikowe pinealocytów: cytoplazma komórki wypełniona licznymi drobnymi ziarnami lipofuscyny (σ 90). H - E. Pow. 630 \times

Lipochrome degeneration of pinealocytes: cell cytoplasm filled with abundant tiny granules of lipofuscin (σ 90). H - E. \times 630

Ryc. 8. Zwyródnienie barwnikowe pinealocytów: małe jądra o zbitej chromatynie, liczne grube ziarna lipofuscyny w cytoplazmie (σ 90). H - E. Pow. 1000 \times

Lipochrome degeneration of pinealocytes: small, dense nucleus, abundant coarse granules of lipofuscin in the cytoplasm (σ 90). H - E. \times 1000

Ryc. 9. Grudki lipofuscyny pośród pinealocytów (σ 90). H - E. Pow. 630 \times

Lipofuscin lumps among pinealocytes (σ 90). H - E. \times 630

Ryc. 10. Ciała amyloidowe w polu fibroglejozy mięszu szyszynki (σ 90). H - E. Pow. 400 \times

Corpora amylacea in the field of fibrogliosis of the pineal parenchyma (σ 90). H - E. \times 400

zwyródnienia w postaci torbieli i licznych włókien Rosenthala, u 8-letniego chłopca. Pojedyncze ziarna piasku w mięszu szyszynki stwierdzono najwcześniej u 3,5-letniego chłopca, duże i liczne u 8-letniego.

Tabela 5. Częstość występowania rozrostu tkanki łącznej i neurogleju, ziaren piasku, włókien Rosenthala i torbieli w mięszu szyszynki z uwzględnieniem dekady życia zmarłych
 Frequency of connective tissue and glial proliferation, occurrence of pineal sand, Rosenthal fibers and cysts in the pineal parenchyma in different decades of life

Dekada życia Decade of life	Rozrost tkanki łącznej Connective tissue proliferation		Rozrost neurogleju Neuroglial proliferation		Ziarna piasku Pineal sand		Włókna Rosenthala Rosenthal fibers		Torbiele Cysts	
	Liczba przypadków number of cases	%	Liczba przypadków number of cases	%	liczba przypadków number of cases	%	liczba przypadków number of cases	%	liczba przypadków number of cases	%
0-9	2	20,0	2	20,0	2	20,0	1	10,0	1	10,0
10-19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20-29	4	33,3	4	33,3	8	66,7	4	33,3	0	0
30-39	0	0	0	0	2	66,7	0	0	0	0
40-49	5	35,8	9	64,2	12	85,8	7	50,0	4	28,6
50-59	10	47,7	10	47,7	16	76,1	11	52,3	6	28,6
60-69	20	58,9	13	38,2	30	88,2	15	44,1	7	20,6
70-79	30	56,7	18	34,0	41	77,3	26	49,0	10	18,9
80-89	29	61,8	24	51,0	38	80,9	26	55,3	10	21,2
99-	3	37,5	3	37,5	5	62,5	2	25,0	0	0
Łącznie Total	103	50,7	83	40,9	154	75,9	92	45,3	38	18,8

DYSKUSJA

Budowa makroskopowa szyszynki dzieci i dorosłych w badanym materiale nie różniła się od opisów w piśmiennictwie (Arieti, 1954; Megyeri, 1960; Rodin, Overall, 1967, Wurtman i wsp., 1968; Hajdu i wsp., 1972; Karasek, 1976).

Ocena średniego ciężaru szyszynki nie wykazała różnic, ani pomiędzy płciami, ani w kolejnych dekadach życia. Powyższy wniosek jest zgodny z wnioskami Legait i Legait (1977) oraz Mugondi i Poltera (1977), a odmienny niż wnioski Rodina i Overalla (1967), Tappa i Huxleya (1971). Stwierdzono duże zróżnicowanie masy szyszynki — ocena mikroskopowa wykazała, że do jej zwiększenia dochodzi wówczas, gdy w mięszu nagromadzi się znaczna liczba ziaren piasku, utworzą się rozległe pola fibroglejozy lub torbiele. Powyższe spostrzeżenia są zgodne z oceną Kutsherenki (1943), Tappa i Blumfielda (1970), Tappa i Huxleya (1971) oraz Hajdu i wsp. (1972).

Stosunek powierzchni zajmowanej przez pinealocyty do innych elementów utkania mięszu szyszynki w materiale własnym był jednakowy u zmarłych obojga płci w kolejnych dekadach życia, co stwierdzili w odniesieniu do kobiet Tapp i Huxley (1972).

Ocena mikroskopowa materiału dziecięcego pozwoliła na zgodne z piśmiennictwem (Pawlikowski, 1954; Wildi, Frauchiger, 1965; Rodin, Overall, 1967; Kerényi, Sarkar, 1968; Wurtman i wsp., 1968; Karasek 1976) stwierdzenie, że u noworodków i dzieci zmarłych w pierwszych miesiącach życia komórki mięszu szyszynki tworzyły charakterystyczny układ mozaikowy, który zanikał w ciągu pierwszego roku życia.

Ocena materiału własnego wykazała, że w wieku podeszłym dochodziło do zmian spotykanych rzadko, jak gromadzenie lipofuscyny w cytoplazmie pinealocytów i astrocytów, lub nie widywanych wcale jak u ludzi zmarłych w młodości, np. gromadzenie ciał amyloidowych. Zwyrrodnienie barwnikowe prowadziło często do zupełnego rozpadu komórek, czego skutkiem było zmniejszenie ich ogólnej liczby. Jest to wynik odmienny od spostrzeżeń Rodina i Overalla (1967) oraz Tappa i Huxleya (1972), niemniej zgodny z obserwacjami zmian zwyrrodnieniowych związanych ze starzeniem się ośrodkowego układu nerwowego (Brody, 1970; Rafałowska, 1975) i narządów wewnętrznych (Strehler, 1959; Anderson, 1966).

Gromadzenie ciał amyloidowych jest objawem zwyrrodnienia astrocytów włóknistych. Zjawisko to, w posiadanym materiale, występowało wyłącznie u chorych, którzy przekroczyli 60 rok życia. Gromadzenie ciał amyloidowych uważa się za jeden z morfologicznych objawów starzenia się tkanek mózgu (Wilcox 1959). W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono opisu ciał amyloidowych w szyszynce.

Piasek szyszynkowy stwierdzano równie często jak inni autorzy, jednak równomiernie w kolejnych dekadach od 20 do 99 roku życia. Ziarna piasku widoczne były również w szyszynkach dzieci, podobnie jak zauważyli Heidel (1965), Tapp i Huxley (1971, 1972), oraz Shey (1977). Powyższe spostrzeżenia zaprzeczają opinii, iż gromadzenie piasku w mięszu szyszynki jest związane z płcią i wiekiem zmarłych lub jest przejawem zwyrrodnienia i starzenia się tego narządu (Khelimsky, 1961; Hajdu i wsp., 1972; Adeloje, Felson, 1976; Mugondi, Poltera, 1976; Shey, 1977). Zgodnie z opinią innych autorów (Arieti, 1954; Rodin, Overall, 1967; Tapp, Huxley, 1972), należy podkreślić znaczne różnicowanie ilości piasku w mięszu szyszynki pomiędzy poszczególnymi przypadkami chorych zmarłych w tym samym wieku lub w skrajnych grupach wiekowych — przykładem tego może być przypadek 8-letniego chłopca z szyszynką „obładowaną” piaskiem i 103-letniego mężczyzny, gdzie nie stwierdzono go w skrawkach seryjnych. Według Łukaszyka i Reitera (1977) ziarna piasku są zwapniałymi złogami białkowego nośnika neurohormonu szyszynkowego. W naszym materiale stwierdzono je nie tylko wokół naczyń, lecz również pomiędzy pinealocytami i astrocytami, jednakowo często zarówno w wieku młodzieńczym, jak i starszym, co wydaje się zaprzeczać powyższej koncepcji.

Rozrost tkanki łącznej w mięszu szyszynki w materiale własnym

nie był związany z wiekiem zmarłych. Obserwacja ta jest zgodna ze spostrzeżeniami Arieti (1954) i odmienna od obserwacji Tappa i Huxleya (1972). Rozrost neurogleju nie wykazywał korelacji z wiekiem zmarłych, podobnie jak stwierdzili Khelimsky (1961) oraz Tapp i Huxley (1972). Gromadzenie włókien Rosenthala w mięszu szyszynki, podobnie jak w pracy Vui (1975), nie miało związku z wiekiem zmarłych. Torbiele mięszu szyszynki stwierdzano również często jak Khelimsky (1961), a rzadziej niż Arieti (1954), Megyeri (1960) oraz Tapp i Huxley (1972). Podobnie jak ci ostatni autorzy, nie znaleziono związku pomiędzy tymi zjawiskami a wiekiem i płcią zmarłych.

W podsumowaniu pracy można powiedzieć, że u ludzi zmarłych w wieku starczym zwyrodnienie komórek mięszu szyszynki w postaci gromadzenia ziaren lipofuscyny w cytoplazmie pinealocytów i astrocytów oraz ciał amyloidowych w astrocytach, a także spadek ogólnej liczby pinealocytów, są morfologicznymi wykładnikami procesu starzenia się szyszynki. Natomiast inne, często spotykane w szyszynce zjawiska morfologiczne, jak rozrost tkanki łącznej i neurogleju, ziarna piasku, włókna Rosenthala oraz torbiele występują jednakowo często u ludzi młodych i starych, spotyka się je również u dzieci.

WNIOSKI

Mięsz szyszynki ludzi starych ulega zwyrodnieniu i zanikowi, co wyraża się:

- 1) zwyrodnieniem barwnikowym pinealocytów i astrocytów,
- 2) gromadzeniem ciał amyloidowych w astrocytach,
- 3) zmniejszeniem ogólnej liczby pinealocytów.

*

Za opracowanie statystyczne danych liczbowych dziękuję Panu mgr. inż. W. Szymkowiakowi.

СТАРЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЧЕЛОВЕЧЕСКОЙ ШИШКОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ

Резюме

Были обследованы макроскопически и микроскопически 203 шишковидные железы людей, умерших в периоде от младенческого до старческого возраста. Констатировано, что по мере истечения лет жизни доходило до пигментной дегенерации пинеалочитов и астроцитов, до кумуляции амилоидных тел в астроцитах и до уменьшения общего числа пинеалочитов. Не констатировано изменений в средней массе шишковидной железы, ни уменьшения поля занимаемого пинеалочитами в ее паренхиме от младенческого до старческого возраста у пациентов обоего пола. Не констатировано также связи между частотой выступления гиперплазии соединительной ткани и невроглии, песчаных зерен, волокон Розенталя и кисты с одной стороны и возрастом умерших обоего пола с другой.

AGE-RELATED LESIONS IN HUMAN PINEAL GLAND

Summary

Two hundred three human pineal glands of people who died in the period from infancy to advanced age were studied grossly and microscopically. With the lapse of years there appeared accumulation of lipofuscin in pinealocytes and astrocytes, accumulation of amyloid bodies and reduction of total number of pinealocytes. In the period from youth to old age the patients of both sexes failed to show any changes in the mean mass of the gland or decrease of the area occupied by pinealocytes. No relation was found in either sex between the age and incidence of proliferation of connective tissue and neuroglia as well as the number of pineal calcifications, Rosenthal fibers and cysts.

PIŚMIENNICTWO

1. Adeloje A., Felson B.: Incidence of normal pineal gland calcification in skull roentgenograms of black and white Americans. *Am. J. Roentgenol.*, 1974, 122, 503 - 507.
2. Anderson W. A. D.: Zanik starczy. [W:] *Patologia*. Red. W. A. D. Anderson, PZWŁ, Warszawa 1966, t. 1, 71.
3. Arieti S.: The pineal gland in old age. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1954, 13, 482 - 491.
4. Brody H.: Structural changes in the aging nervous system. *Interdiscipl. Topics Geront.*, 1970, 7, 9 - 21.
5. Hajdu S. I., Porro R. S., Liebermann P. H.: Degeneration of the pineal gland of patients with cancer. *Cancer*, 1972, 29, 706 - 709.
6. Heidel G.: Die Häufigkeit des Vorkommens von Kalkkonkrementen im Corpus Pineale des Kindes. *Anat. Anz. Bd.*, 1965, 116, 139 - 154.
7. Karasek M.: Szyszynka. PZWŁ, Warszawa 1976, 88 - 104.
8. Kerényi N. A., Sarkar K.: The postnatal transformation of the pineal gland. *Acta Morph. Acad. Sci. Hung.*, 1968, 16, 223 - 236.
9. Khelimsky A. M.: Differential diagnosis of changes occurring in the pineal body in connection with advancing age and pathology. *Arkh. Path.*, 1961, 23, 76 - 79.
10. Kutscherenko B.: Über die Veränderungen der Zirbeldrüse (Epiphysis cerebri) bei bösartigen Geschwülsten. *Z. Krebsforsch.*, 1943, 54, 189 - 195.
11. Legait H., Legait E.: Contribution a l'étude de la glande pineale humaine. Etude faite a l'aide de 747 glandes. *Bull. Assoc. Anat. (Nancy)* 1977, 61 (172), 107 - 121.
12. Łukaszyk A., Reiter R.: Morfologiczne podstawy dla sekrecji hormonów polipeptydowych w szyszynce małpy (*Maccacus rhesus*). *Endokr. Pol.*, 1977, 26, 603 - 611.
13. Megyeri L.: Cystische Veränderungen des Corpus pineale. *Franff. Zeitschr. Path.*, 1960, 70, 699 - 704.
14. Mugondi S. G., Poltera A. A.: Pineal gland calcification (PGC) in Ugandas. A radiological study of 200 isolated pineal glands. *Br. J. Radiol.*, 1976, 49, 594 - 599.
15. Pawlikowski T.: Histofizjologia gruczołów dokrewnych. Rozdz. V, Szyszynka, 65 - 74. PZWŁ, Warszawa 1951.
16. Rafałowska J.: W sprawie procesu starzenia się w rdzeniu kręgowym. *Neuropat. Pol.*, 1975, 1 - 120.

17. Schey W. L.: Intracranial calcifications in childhood. Frequency of occurrence and significance. *Am. J. Roentgenol. Radium Ther. Nucl. Med.*, 1977, 122, 495 - 502.
18. Strehler B. L., Mark D. D., Mildvan A. S., Gee M. V.: Rate and magnitude of age pigment accumulation in the human myocardium. *J. Gerontol.*, 1959, 14, 430 - 439.
19. Rodin A. E., Overall J.: Statistical relationship of weight of the human pineal to age and malignancy. *Cancer*, 1967, 20, 1203 - 1214.
20. Tapp E., Blumfield M.: The weight of the pineal gland in malignancy. *Br. J. Cancer*, 1970, 24, 67 - 70.
21. Tapp E., Huxley M.: The weight and degree of calcification of the pineal gland. *J. Path.*, 1971, 105, 31 - 39.
22. Tapp E., Huxley M.: The histological appearance of the human pineal gland from puberty to old age. *J. Path.*, 1972, 108, 137 - 144.
23. Wilcox H. H.: Structural changes in the nervous system related to the process of aging. [W:] *The process of aging in the nervous system*. Ed. J. E. Birren, H. A. Imus, W. F. Windle, Blackwell Scientific Publication. Oxford 1959, 16.
24. Wildi E., Frauchiger E.: Modifications histologiques de l'épiphyse humaine pendant l'enfance, l'âge adulte et le vieillissement. *Progr. Brain Res.*, 1965, 10, 218 - 233.
25. Wurtman R. J., Axelrod J., Barchas J. D.: Age and enzyme activity in the human pineal (letter to the editor). *J. Clin. Endocr.*, 1964, 24, 299.
26. Wurtman R. J., Axelrod J., Kelly D. E.: *The Pineal*. Academic Press, New York, London 1968, 173 - 185.
27. Vuia O.: The pineal gland and Rosenthal fibres. *Appl. Neurophysiol.*, 1975, 38, 47 - 55.

Adres autorki: Zakład Anatomii Patologicznej Instytutu Biostruktury Akademii Medycznej, ul. Chałubińskiego 5, 02-004 Warszawa

WIESŁAWA BICZYSKO, JANUSZ SZYMAŚ, PRZEMYSŁAW GABRYEL

CECHY ULTRASTRUKTURALNE GWIAZDZIAKA
PILOCYTARNEGO
(*ASTROCYTOMA PILOCYTICUM*) U DZIECI I MŁODZIEŻY

Zakład Anatomii Patologicznej Instytutu Biostruktury AM, Poznań

Gwiaździaki pilocytarne (*astrocytoma pilocyticum*, dawniej *spongio-blastoma*) można napotkać w obrębie półkul mózgowych, górnego pnia mózgu oraz mózdzku (Zülch, 1979). Brak jest zgodności poglądów co do częstości występowania gwiaździaka pilocytarnego w półkulach mózgu. Według Ringertza (1964), 11% gwiaździaków półkul mózgu ma charakter *astrocytoma pilocyticum*. A. Slooff i J. Slooff (1975) określili częstość występowania gwiaździaka pilocytarnego u dzieci na 10% glejaków nadnamiotowych. Podobny odsetek podają Koos i Miller (1971). Inni autorzy (Jänisch i wsp., 1976) podają w wątpliwość występowanie tego typu gwiaździaka poza obszarem mózdzku. W istniejących mikroskopowo-elektronowych opisach gwiaździaka pilocytarnego podanych przez Hossmanna i Wechslera (1965), Gullotę (1971) i przez Gullotę i Flidnera (1972), tylko Hossmann i Wechsler uwzględnili tę postać gwiaździaka półkuli mózgowej.

Celem naszej pracy było porównanie struktury gwiaździaków pilocytarnych mózdzku, górnego pnia mózgu oraz tych gwiaździaków półkul mózgowych, które w badaniu w mikroskopie świetlnym miały cechy gwiaździaka pilocytarnego.

MATERIAŁ I METODY

Materiał obejmuje 13 nowotworów typu *astrocytoma pilocyticum* u dzieci i młodzieży w wieku od 3 do 16 roku życia. Rozpoznanie wstępne ustalono śródoperacyjnie przy użyciu mikroskopu fazowo-kontrastowego. Dla ostatecznego rozpoznania histologicznego materiał utrwalony w 4% formalinie i zatopiony w parafinie barwiono hematoksyliną i eozyną oraz metodą PTAH. Do opracowania materiału w mikroskopie elektronowym utrwalano go według metody Karnowsky'ego i zatapiano

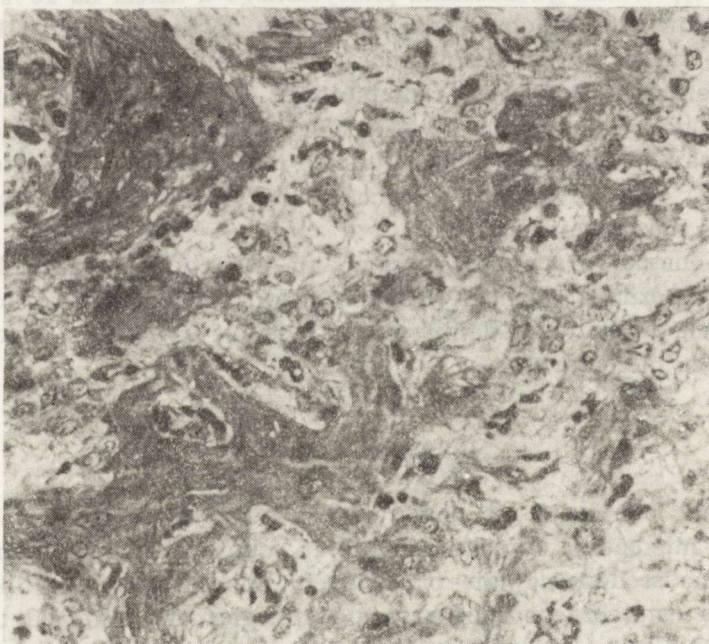
w Eponie 812. Skrawki ultracienkie skrawano na ultramikrotomie typu Om3 firmy Reichert. Materiał oglądano i fotografowano w mikroskopie elektronowym firmy Opton 10A.

WYNIKI

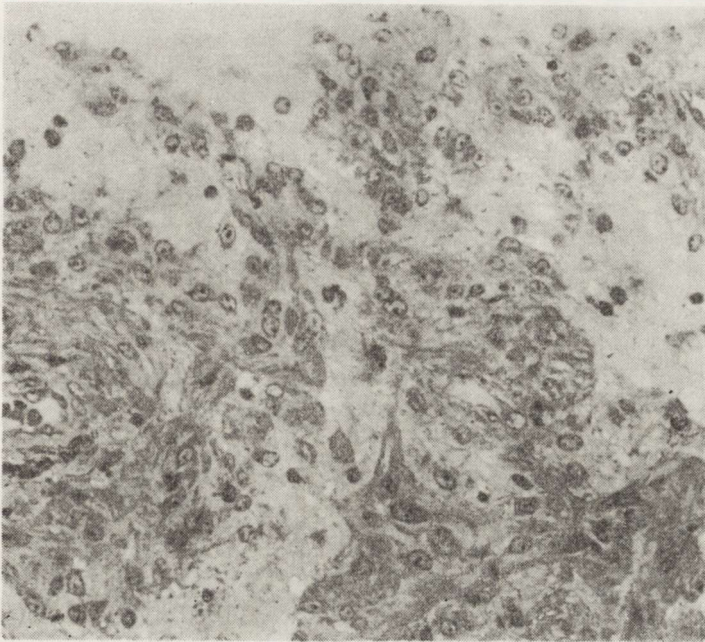
Wśród 13 opracowanych nowotworów, 9 zlokalizowanych było w półkuli mózdzku, 1 w płacie czołowym, 1 w płacie skroniowym oraz 2 w sąsiedztwie III komory. Materiał z dwóch ostatnich guzów pochodził z biopsji, pozostały z zabiegu operacyjnego.

Objawy chorobowe pojawiały się od kilku do kilkunastu miesięcy przed zabiegiem. Przejawiały się one powolnym narastaniem wykładników wzmożonego ciśnienia wewnątrzczaszkowego, zaburzeniami rozwoju ruchowego oraz zmianami zachowania się dziecka. Lokalizację nowotworu określano na drodze badania angiograficznego, tomografii komputerowej oraz podczas zabiegu operacyjnego. W odniesieniu do guzów zlokalizowanych w sąsiedztwie III komory w jednym przypadku lokalizację ustalono klinicznie i na podstawie danych z badań neuroradiologicznych, w drugim przypadku na podstawie badania sekcyjnego. Kliniczna obserwacja pooperacyjna trwała od 1 do 8 lat.

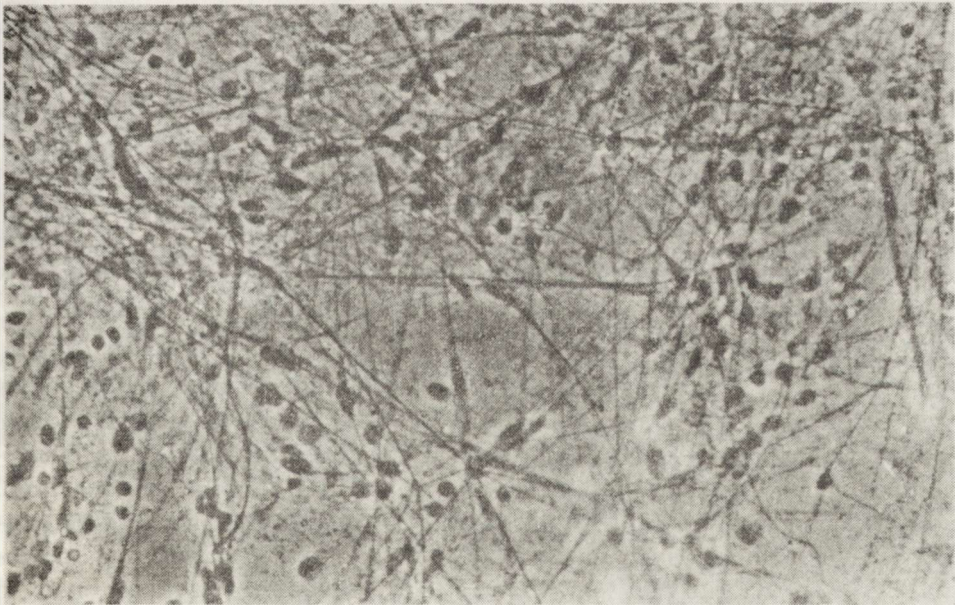
Makroskopowo guzy te były dużych rozmiarów (średnicy 4—6 cm),



Ryc. 1. Lite utkanie guza z obecnością pól złożonych z komórek przypominających astrocyty włókniste i protoplazmatyczne. Błękit toluidyny. Pow. 75 ×
 Compact tumor tissue with fields composed of fibrillary and protoplasmic astrocytes. Toluidine blue. × 75

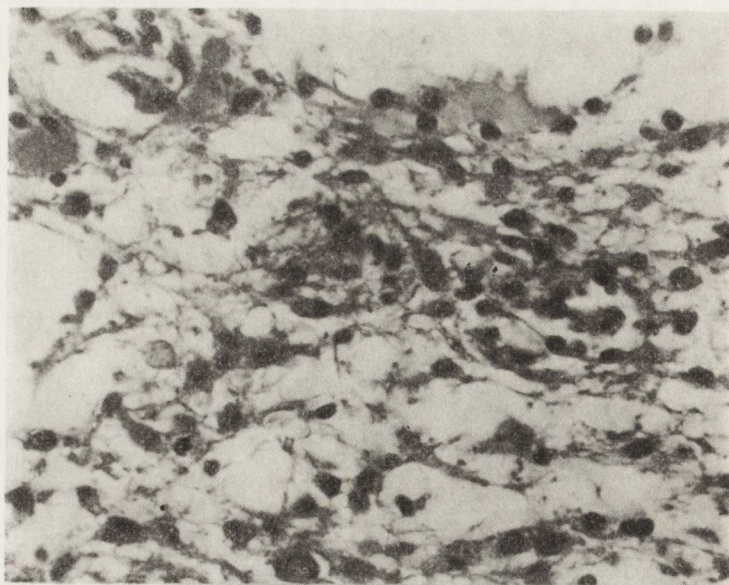


Ryc. 2. Utkanie guza z tworzeniem pseudotorbieli. Błękit toluidyny. Pow. 75 ×
Tumor tissue with microcystic degeneration. Toluidine blue. × 75



Ryc. 3. Obszar bogatokomórkowy złożony z astrocytów włóknistych formujących dwie lub więcej wypustek. Widoczne włókna Rosenthala. Mikroskop fazowo-kontrastowy. Pow. 160 ×

Highly-cellular area of a tumor, composed of fibrillary astrocytes with two or more processes. Rosenthal fibers. Phase-contrast microscopy. × 160



Ryc. 4. Obszar ubogokomórkowy. Astrocyty włókniste i protoplazmatyczne. Rozpadające się komórki z zaznaczoną pyknozą jąder. H + E. Pow. 62,5 ×
 Poor-cellular area of a tumor composed of fibrillary and protoplasmic astrocytes. Some disintegrating cells with pyknotic nuclei. H + E. × 62.5

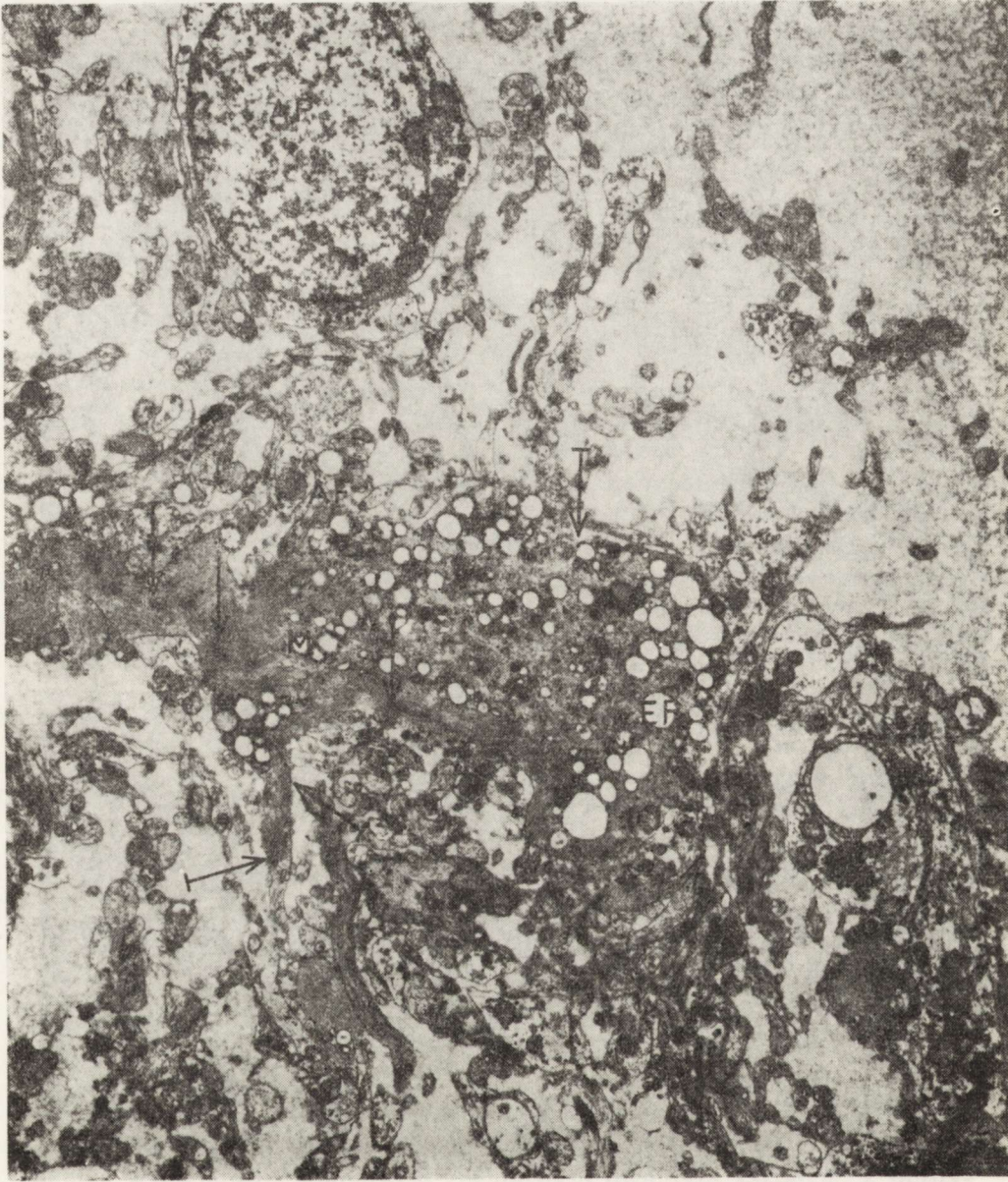
z obecnością różnej wielkości torbieli. Obrazy w mikroskopie świetlnym były bardzo podobne bez względu na lokalizację i nie nastroczały trudności diagnostycznych. W obrębie tego samego guza sąsiadowały pola o litym (ryc. 1) i torbielowatym utkaniu (ryc. 2). W obszarach litych, bogatokomórkowych, przeważały wydłużone komórki z jądrem o wydłużonym kształcie z obecnością dwu lub więcej długich wypustek (ryc. 3). Wypustki barwiły się bardzo silnie metodą PTAH i często na długich odcinkach biegly równolegle do siebie. W innych obszarach zaznaczało się znaczne rozluźnienie struktury (ryc. 4). Komórki były tu dwu- lub wielowypustkowe, tworzące siateczkowate struktury. Jądra komórkowe miały regularny okrągły kształt. Cytoplazma komórek ulegała rozrzedzeniu i wakuolizacji. Pomiędzy komórkami gromadziła się bezpostaciowa substancja, zawierająca resztki rozpadających się komórek oraz jądra pyknotyczne i w stanie kariolizy. W obszarach wakuolizacji ogniskowo występowały komórki o regularnym owalnym kształcie, z licznymi homogennymi ziarnistościami w cytoplazmie. W tych też obszarach, częściej jednak w utkaniu litym, obecne były pogrubiałe homogenne wypustki o morfologicznych cechach włókien Rosenthala. Naczynia krwionośne tworzyły miernie rozwiniętą sieć z obecnością zwykłych naczyń włosowatych, naczyń zatokowych oraz skupisk upodabniających się do kłębków naczyńowych.

W mikroskopie elektronowym guz pobrany z okolicy czołowej i skroniowej był w pełni podobny do 9 przebadanych guzów występujących



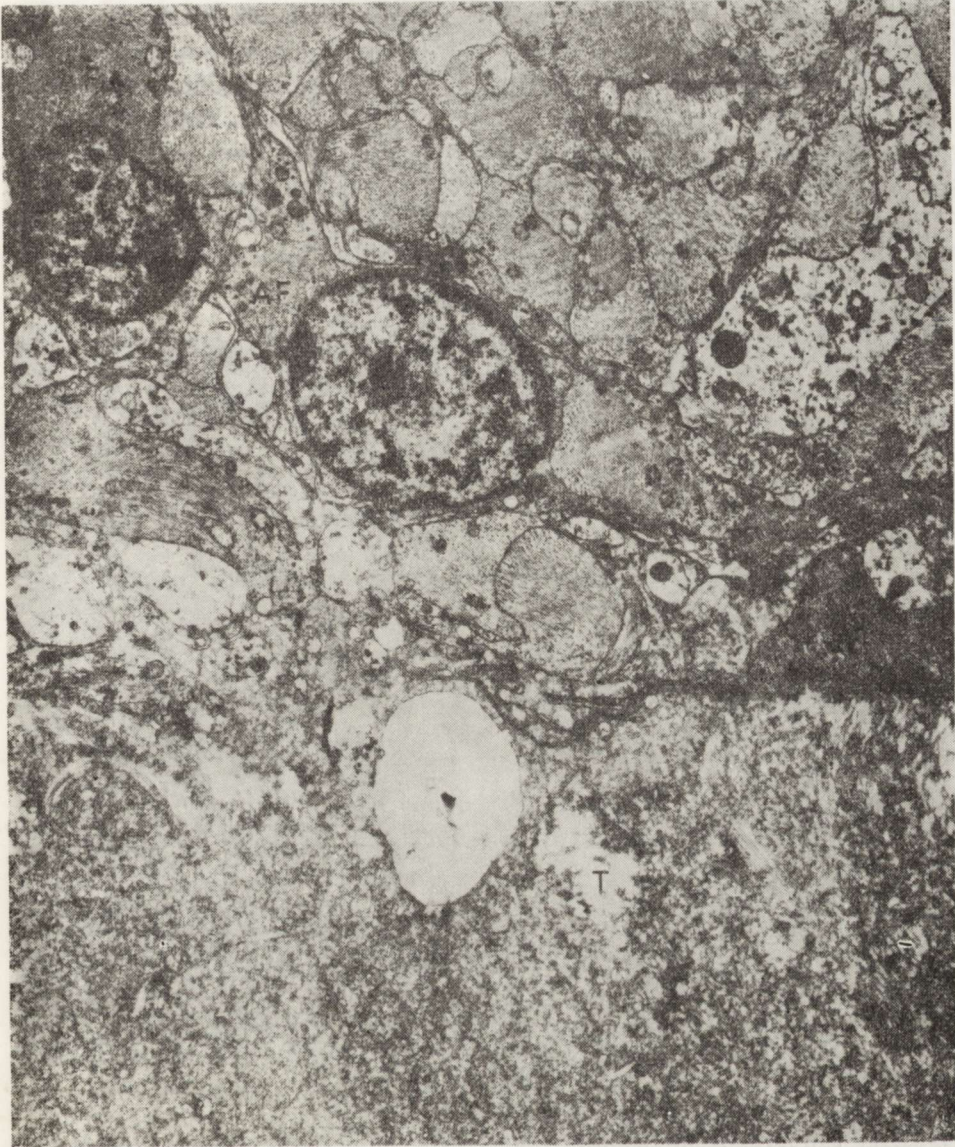
Ryc. 5. Fragment litej części guza zawiera komórki przypominające astrocyty włókniste (AF) oraz astrocyty protoplazmatyczne (AP). Pow. 2 800 ×
 Fragment of the compact area of a tumor, composed of cells resembling fibrillary (AF) and protoplasmic (AP) astrocytes. × 2 800

w obszarze podnamiotowym oraz do 2 z otoczenia III komory. Obserwowane obrazy odpowiadały całkowicie obrazom w mikroskopie świetlnym. W każdym z guzów obecne były: utkanie lite obfitokomórkowe (ryc. 5), obszary ubogokomórkowe (ryc. 6) oraz rozrzedzenie torbielkowe (ryc. 7). Utkanie guza tworzyły dwa typy komórek.



Ryc. 6. Fragment ubogokomórkowej części guza. Astrocyty włókniste (AF) i astrocyty protoplazmatyczne (AP). W znacznie poszerzonej przestrzeni międzykomórkowej widoczne przekroje wypustek oraz substancja amorficzna. Włókno Rosenthala (strzałka). Brak ciągłości błony komórkowej (strzałki z główką). Pow. 4 700 ×

Fragment of the poor-cellular area of a tumor composed of fibrillary (AF) and protoplasmic (AP) astrocytes. Largely distended intracellular space contains cellular processes and amorphous substance. Rosenthal fiber (arrows). Disruption of the cell membrane (headed arrows) × 4700

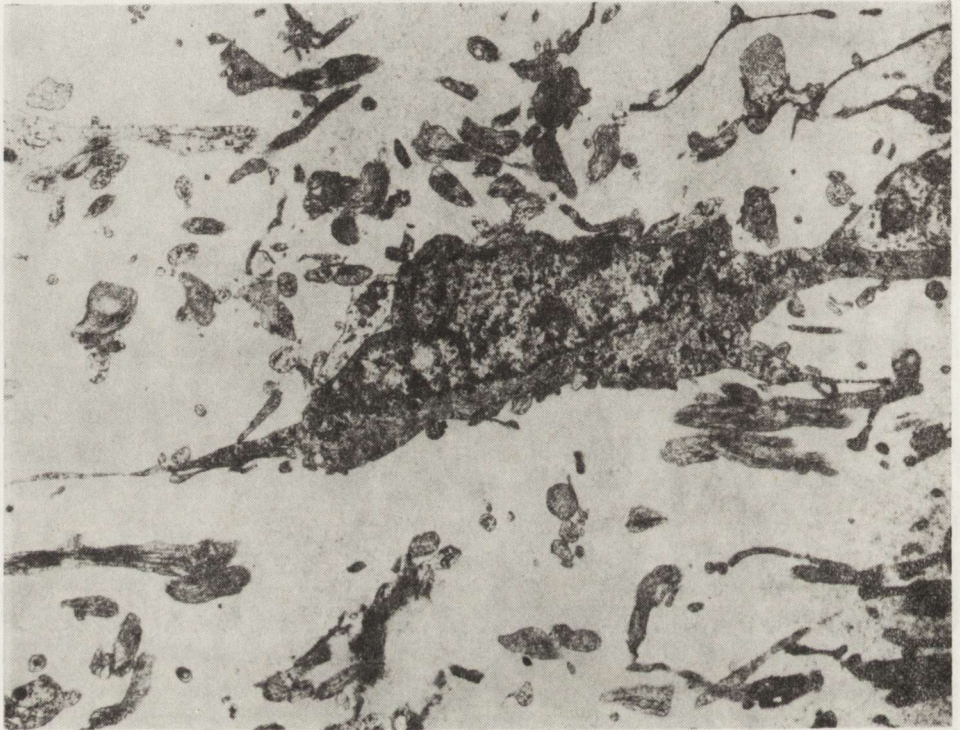


Ryc. 7. Fragment ściany pseudotorbieli (T), w otoczeniu liczne wypustki i mało astrocytów włóknistych (AF). Pow. 8 600 \times

Fragment of the pseudocyst wall, containing numerous cell processes and scanty fibrillary astrocytes (AF). \times 8 600

Pierwszy to komórki w pełni przypominające astrocyty włókniste (ryc. 8); ich kształt był wydłużony, miały dwie lub więcej długich wypustek. Jądra komórkowe owalne lub wydłużone, z pojedynczymi wpukleniami otoczki jądrowej, zawierały heterochromatynę skupioną pod otoczką w postaci miernie szerokiego pasma. Cytoplazma zawierała bardzo liczne gliofilamenty. W niektórych komórkach i ich wypustkach

gliofilamenty formowały włókna Rosenthala (ryc. 6). Liczba kanałów siatki śródplazmatycznej i polirybosomów była niewielka; leżały one w okolicy okołojądrowej. Pojedyncze kanały siatki śródplazmatycznej i polirybosomy znajdowały się również w wypustkach. Komórki te zawierały także pojedyncze lizosomy i krople lipidów oraz nieliczne mitochondria. Niewielka część tych komórek ulegała zwyrodnieniu wodniczkowemu; wyrażało się to poszerzeniem kanałów siatki śródplazmatycznej, obrzmieniem macierzy mitochondrialnej, zatarciem obrysów błony komórkowej i rozpadem cytoplazmy (ryc. 6).

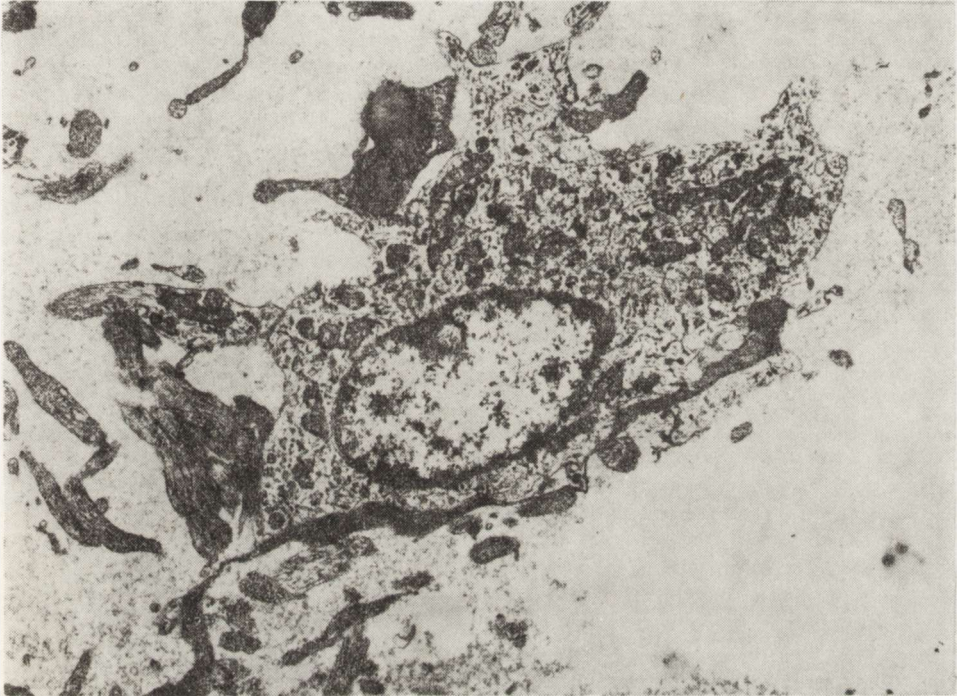


Ryc. 8. Astrocyt włóknisty w obszarze ubogokomórkowym formuje włosowate wypustki. Pow. 5 290 \times

Fibrillary astrocyte from the poor-cellular area of a tumor, forming piloid processes. \times 5290

Drugi typ komórek przypominał w pełni astrocyty protoplazmatyczne (ryc. 9), o gwiaździstym kształcie, z licznymi długimi wypustkami. Regularne pęcherzykowate jądra zawierały dużą ilość euchromatyny i tylko wąski rąbek heterochromatyny pod błoną jądrową. W cytoplazmie występowały tylko nieliczne gliofilamenty, mikrotubule, kanały siatki śródplazmatycznej, polirybosomy, pojedyncze lizosomy oraz liczne mitochondria. Duża liczba tych komórek ulegała zwyrodnieniu wodniczkowemu, czemu często towarzyszył ich rozpad. Zwyrodnienie wodniczkowe wyrażało się znacznym obrzmieniem kanałów siatki śródplazmatycznej,

znacznym rozrzedzeniem hialoplazmy oraz rozległymi licznymi ubytkami błony komórkowej (ryc. 10). Mitochondria komórek ulegających zwyrodnieniu zawierały znacznie rozrzedzoną macierz i krótkie grzebienie o częściowo zatartym rysunku błon. Część komórek, przypominających astrocyty protoplazmatyczne, zawierała duże osmofilne ziarnistości ze zbitego bezpostaciowego materiału, otoczone pojedynczą błoną (ryc. 11). W przypadku rozpadu komórek znajdowano je w przestrzeniach międzykomórkowych.



Ryc. 9. Astrocyt protoplazmatyczny w utkaniu ubogokomórkowym. Pow. 7 680 \times
Protoplasmic astrocyte from the poor-cellular area of a tumor. \times 7 680

Opisane dwa typy komórek występowały w różnych proporcjach. Znajdowano: 1) pola zawierające komórki przypominające astrocyty włókniste, ułożone równolegle do siebie z wypustkami również biegnącymi równolegle; 2) pola komórek przypominających astrocyty włókniste i protoplazmatyczne przemieszane w różnych proporcjach; 3) pola o bardzo znacznie poszerzonych przestrzeniach międzykomórkowych, w których leżały pojedyncze komórki przypominające astrocyty włókniste lub protoplazmatyczne; 4) pseudotorbiele obrzeżone rozpadającymi się astrocytami protoplazmatycznymi.

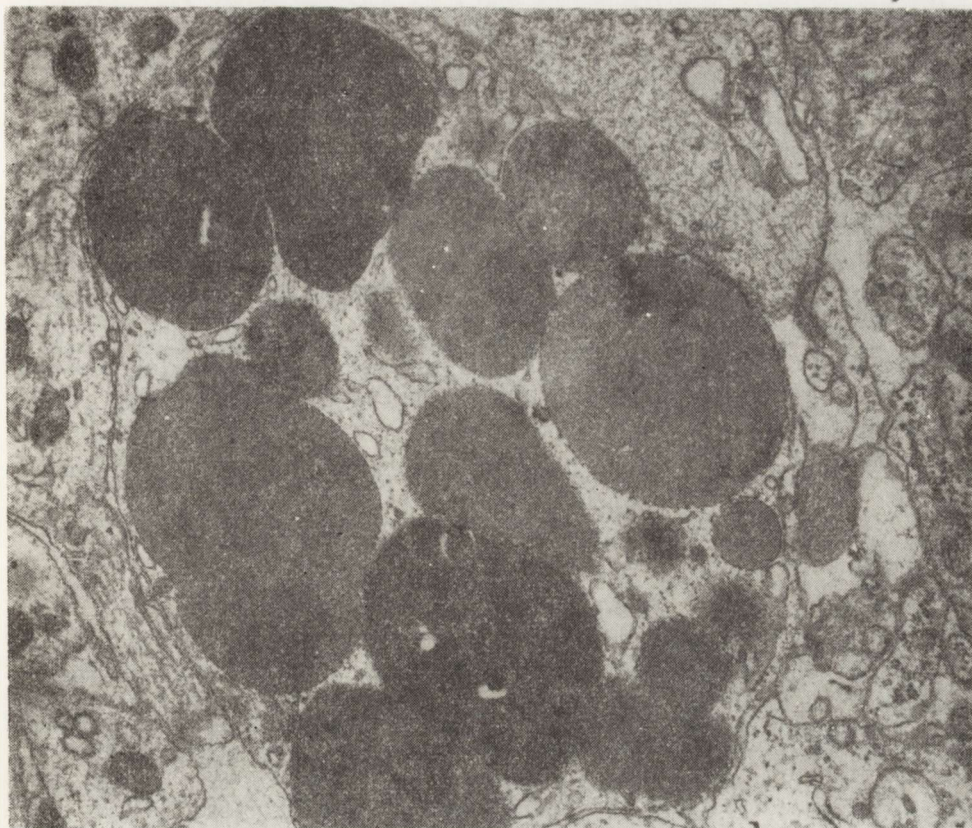
Naczynia włosowate miały nieszczelną wyściółkę śródbłonkową, w cytoplazmie komórek śródbłonkowych obecne były błony okienkowe;



Ryc. 10. Astrocyt protoplazmatyczny z jądrem (N) o cechach kariolizy, bardzo znacznie rozdęte kanały siatki śródplazmatycznej (x), brak błony komórkowej (strzałki). Pow. 8 600 ×

Protoplasmic astrocyte with karyolytic nucleus (N), and greatly distended canals of the endoplasmic reticulum (x), deficient cellular membrane (arrows). × 8 600

w poszerzonych przestrzeniach okołonaczyniowych znajdowały się liczne błony podstawne, włókna kolagenowe i perycyty. Błona podstawna śródbłonkowa i glejowa była najczęściej ciągła i równa. Naczynia takie występowały w obszarach o utkaniu litym oraz w ogniskach o rozluźnionej strukturze. Szczególną formą były skupiska naczyń przypominające kłębki naczyniowe. Zawierały one liczne proliferujące naczynia włosowate, rozmieszczone w szerokich przestrzeniach międzykomórkowych.



Ryc. 11. Ziarnistości osmofilne obrzeżone pojedynczą błoną i wypełnione materia-
łem amorficznym. Pow. 31 200 ×

Single membrane bound osmophilic granules filled with amorphous material.
× 31 200

OMÓWIENIE

Niezależnie od umiejscowienia gwiazdziaki pilocytarne zbudowane były z komórek typu wysoko zróżnicowanego astrocyta. Brak obecności figur podziałowych świadczył o niewielkiej zdolności proliferacyjnej komórek guza. W żadnym z badanych przypadków nie stwierdzono niedojrzałych form komórkowych. Utkanie guza stanowiły komórki podobne do astrocytów włóknistych i protoplazmatycznych o wysokim stopniu zróżnicowania. Wysokiej dojrzałości morfologicznej komórek *astrocytoma pilocyticum* odpowiadał przebieg kliniczny charakteryzujący się długim przeżyciem. Wspólną cechą dla *astrocytoma pilocyticum* mózdzku oraz badanych przez nas gwiazdziaków włóknienkowych jest obecność w obu grupach nowotworów włókien Rosenthala oraz ziarnistości osmofilnych. Włókna Rosenthala powstają w przebiegu różnych procesów odczynowych (Fotakis, 1961; Schlote, 1967; Herndon i wsp.,

1970; Osetowska, 1975). Ich występowanie opisano również w glejakach ośrodkowego układu nerwowego (Schlote, 1967; Głuszczyk i wsp., 1971). Osmofilne ziarnistości w komórkach astrogleju protoplazmatycznego opisał Zülch (1940), jako typowe dla *astrocytoma pilocyticum*. Proces formowania włókien Rosenthala i osmofilnych ziarnistości Hossmann i Wechsler (1965) traktują jako przejaw zwyrodnienia polegającego na odkładaniu produktów białkowych w cytoplazmie komórek. Za słuszością takiego poglądu przemawia niska aktywność enzymów oksydoredukcyjnych w cytoplazmie astrocytów formujących włókna Rosenthala w porównaniu z aktywnością tych enzymów w niezmiennych astrocytach (Gullotta, Flidner, 1972), jak i wykładniki zwyrodnienia pod postacią pyknozy jąder komórek wytwarzających włókna Rosenthala i ziarnistości osmofilne.

Podobnie wspólną cechą *astrocytoma pilocyticum* zlokalizowanego w mózdzku i półkulach mózgu jest skłonność do upłynnienia tkanki nowotworowej z powstawaniem torbieli rzekomych. Jänisch (1976) określa ten typ zwyrodnienia jako „samoistne zmiany wsteczne komórek guza”. Zmiany tego typu są dobrze udokumentowane w piśmiennictwie, ale wyłącznie na poziomie badań w mikroskopie świetlnym, brak natomiast badań na poziomie ultrastrukturalnym. Badania elektronowo-mikroskopowe pozwalały na prześledzenie dynamiki zmian prowadzących do powstania torbieli rzekomych. Okazało się, że tzw. mikrotorbielki są końcowym etapem zwyrodnienia wodniczkowego astrocytów protoplazmatycznych, z następowym rozpadem zwyrodniałych komórek. Określanie w piśmiennictwie tych zmian mianem zwyrodnienia śluzowatego nie jest więc słuszne. Astrocyty włókniste znajdowano w obrzeżu pseudotorbieli. Istnieją doniesienia (Jänisch i wsp., 1976) o uzyskaniu kilkuletniej remisji tylko po opróżnieniu torbieli. Może to być jeszcze jednym dowodem świadczącym o niskim potencjale rozrostowym komórek guza.

Pomimo wysokiego stopnia zróżnicowania komórek guza nie podzielamy poglądu Bergstranda (1937), który określił ten typ guza jako zaburzenie rozwojowe. Przeciwno niemu przemawiają: brak „wypustek ssących” regularnie umieszczonych wokół naczyń, mniejsza liczba wypustek komórek podobnych do astrocytów włóknistych niż w komórkach prawidłowych, obecność pojedynczych kanałów siatki śródplazmatycznej, polirybosomów w wypustkach, bezładny układ komórek i wypustek oraz nieprawidłowości w strukturze naczyń włosowatych.

W podsumowaniu można więc wysunąć twierdzenie, że cechy ultrastrukturalne pozwalają na rozpoznanie gwiazdziaaka pilocytarnego występującego w mózdzku, górnym pniu mózgu oraz półkulach mózgowych. Morfologiczne cechy dojrzałości komórek, jak i formy zwyrodnienia, którym te komórki podlegają, świadczą o łagodnej biologii guza; wyrazem tego jest też przebieg przy postępowaniu paliatywnym lub nawet wyleczenie w znaczeniu onkologicznym po przeprowadzonym pomyślnie zabiegu operacyjnym.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ СВОЙСТВА ПИЛОЦИТАРНОЙ АСТРОЦИТОМЫ
(*ASTROCYTOMA PILOCYTICUM*)

Резюме

Целью работы было сопоставление ультраструктурных свойств 9 пилоцитарных астроцитов локализованных в полушарии мозжечка с 2 астроцитами локализованными в мозговых долях и с 2 — в окружности III желудочка.

Проведенные исследования не проявили разниц в структуре новообразования в зависимости от его локализации. Свойством свидетельствующим о доброкачественной биологии опухоли была высокая степень дифференциации фибринозных и протоплазматических астроцитов, а также показатели дегенераций этих клеток, образование волокон Розенталя и наличие осмофильных зернистостей.

Особенное внимание было обращено на генез довольно часто наблюдаемой в этом типе опухоли псевдокистозной дегенерации, возникшей путем слияния протоплазматических астроцитов разложившихся вследствие отека.

ULTRASTRUCTURAL FEATURES OF PILOCYTIC ASTROCYTOMAS

Summary

The work aimed in comparative analysis of ultrastructural features of pilocytic astrocytomas, 9 of which were localized in cerebellar hemispheres, 2 in cerebral hemispheres and 2 in the vicinity of the III ventricle.

The study showed no ultrastructural differences, dependent on the tumor localization. High degree cellular differentiation of both fibrillary and protoplasmic astrocytes, exponents of their degeneration, Rosenthal fibers formation and presence of eosinophilic granulations were indicative of a benign nature of tumors.

Particular attention was turned to the morphogenesis of pseudo-cystic degeneration of the tumor tissue, being a very common feature in this type of tumors. It was concluded that pseudo-cysts are resulting of fusion of protoplasmic astrocytes, disintegrating due to edema.

PIŚMIENNICTWO

1. Bergstrand M.: Weiteres über sogenannte Kleinhirnaströcytome. Virchows Arch. Path. Anat., 1937, 299, 725 - 739.
2. Fotakis W. S.: Zur Histochemie der Rosenthalischen Fasern. Dtsch. Z. Nervenheilk., 1961, 182, 445 - 454.
3. Głuszczyk A., Giernat L., Habryka K., Alwasiak J., Lach B., Papierz W.: Rosenthal fibers, birefringent gliofibrillary changes and intracellular homogeneous conglomerates in tissue cultures of gliomas. Acta neuropath., (Berl.) 1971, 107, 54 - 67.
4. Gullotta F.: The ultrastructure of neoplastic astroglia with special consideration of „spongioblasts” and Rosenthal fibers. Modern aspects of neurosurgery. Excerpta Med., Amsterdam 1971.
5. Gullotta F., Fließner E.: Spongioblastomas, astrocytomas and Rosenthal fibers. Ultrastructural, tissue culture and enzyme histochemical investigations. Acta neuropath., (Berl.) 1972, 22, 68 - 78.
6. Herndon R. M., Rubinstein L. J., Freeman J. M., Mathieson G.: Light and

- electron microscopic observation on Rosenthal fibers in Alexander's disease and in multiple sclerosis. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1970, 29, 524 - 550.
7. Hossmann K. A., Wechsler W.: Zur Feinstruktur menschlicher Spongioblastome. *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, 1965, 187, 327 - 351.
 8. Jänisch W., Güthert H., Schreiber D.: Pathologie der Tumoren des Zentrallnervensystems. Fischer Verlag, Jena 1976.
 9. Koos W. T., Müller M. M.: Intracranial tumors of children. Thieme, Stuttgart 1971.
 10. Osetowska E.: Choroba Rosenthala czy glej Rosenthala. *Neuropat. Pol.*, 1975, 13, 153 - 163.
 11. Ringertz N.: Głos w dyskusji. [W:] Some remarks on the spongioblastoma of the brain. K. J. Zülch, *Acta Neurochir.*, (Wien) 1964, Suppl. 10, 134 - 135.
 12. Schlote W.: Beitrag zum Vorkommen und zu Veränderungen an intracytoplasmatischen Filamenten in Gliomen. *Acta neuropath.*, (Berl.) 1967, 8, 108 - 112.
 13. Shapiro K.: Spinal cord seeding from cerebellar astrocytoma. *Child Brain* 1976, 2, 177 - 186.
 14. Slooff A. C. J., Slooff J. L.: Supratentorial tumors in children. [W:] Handbook of clinical neurology. Vol. 18. Red. P. J. Vinken, G. W. Bruyn. North Holland Publ., Amsterdam 1975, 305 - 386.
 15. Zülch K. J.: Über das „Sogenannte“ Kleinhirnstrocytom. *Virchows Arch. Path. Anat.*, 1940, 307, 222 - 252.
 16. Zülch K. J.: Histological typing of tumours of the central nervous system. International histological classification of tumours. 1979, 21.

Adres autorów: Instytut Biostruktury AM, Zakład Anatomii Patologicznej, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań

ANDRZEJ BRZECKI, JÓZEFA DĄBROWSKA, PIOTR OLEJNICZAK

MICROGLIOMATOSIS

OPIS I OMÓWIENIE PRZYPADKU

Klinika i Katedra Neurologii Akademii Medycznej, Wrocław

Mikroglej Hortegi wywodzi się z komórek przydanki, tj. z histiocy-tów okołowłośniczkowych (Aschoff 1924; Alzheimer, 1935) zwanych rów-nież perycytami. Histiocyty te są luźno związane z siateczką włókien retykulinowych, które dają się impregnować srebrem i tworzą część układu siateczkowo-śródbłonkowego, a ściślej siateczkowo-histiocytar-nego (Dumming, Furth, 1935; Kershman, 1939). Mikroglej (mezoglej) jest ważnym ogniwem mechanizmu obronnego tkanki nerwowej, ponie-waż może ulegać zmianom przerostowym (komórki pałeczkowate Nissla) i zamieniać się w tzw. komórki żerne (Opalski, 1949), zdolne do odczynu zapalnego oraz — zapewne — do tworzenia przeciwciał (Fienberg, 1955; Hubert, 1975).

Pierwotna choroba mikrogleju, czyli *microgliomatosis*, jest rzadkim zjawiskiem o szczególnych cechach procesu ziarninującego, wytwórcze-go, podobnego do zapalenia *encephalitis granulomatosa reticulohistio-cytaria* (Cervós-Navarro i wsp., 1960), a także do *reticulo-endothélio-se cérébrale primitive* (Hertog Den i wsp., 1960). Jednakże większość ba-daczy zalicza *microgliomatosis* do nowotworów z grupy pierwotnych chłoniaków mózgu. W przeglądzie tych guzów, podanym przez Huberta (1975), napotykamy nazwy odpowiednie do szczegółów klasyfikacyjnych pierwotnego złośliwego utkania: *microglioma*, *reticulomicrogliomatosis*, *reticulohistiomicrogliomatosis* (Vuia, Mehraein, 1971), *reticulomicrogliosarcoma*, *gliosarcomatosis*. Rozróżnienie pomiędzy pierwotnym zapale-niem mózgu a pierwotnym procesem nowotworowym okazało się zawo-dne, ponieważ z reguły napotymano na pośrednie formy, których nie można było uznać za wyłącznie zapalne lub nowotworowe (Russel i wsp., 1948; Ostertag, 1965). Wyodrębnienie jednoznacznie nienowotworowego, pierwotnego schorzenia tkanki mezenchymalnej o cechach naciekające-go rozplemu mikrogleju, wielu autorów uważa za niecelowe (Troland i wsp., 1950; Adams, Jackson, 1966; Hubert, 1975).

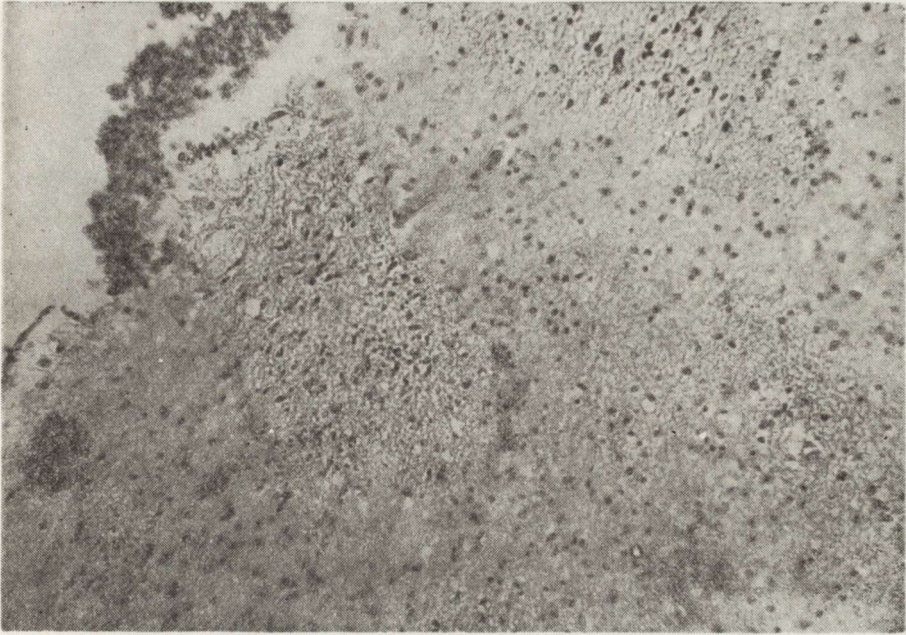
Kliniczny przebieg *microgliomatosis* jest podostry, bardzo ciężki

i kończy się zejściem śmiertelnym w okresie od kilku miesięcy do roku. Choroba występuje u mężczyzn i kobiet zazwyczaj pomiędzy 40 i 60 rokiem życia (Schaumburg i wsp., 1972). Objawy ogniskowe są różne, a wzmożone ciśnienie śródczaszkowe zwykle nie występuje. Niekiedy pojawiają się objawy oponowe, a w płynie mózgowo-rdzeniowym podwyższenie poziomu białka i pleocytoza, nasuwająca podejrzenie przewlekłej meningopatii. Wtórne krwotoki do tkanki granulomatycznej mogą być wyjątkowo przyczyną rozpoznania krwotoku podpajęczynówkowego (Schaumburg i wsp., 1972; Gilroy, Meyer, 1975). Chorobę udaje się rozpoznać przyżyciowo przy pomocy biopsji mózgu (Sakurama i wsp., 1981).

OPIS PRZYPADKU

M. Z., lat 54, kobieta, z zawodu stolarz (hist. chor. 630/80), chorowała przez ostatnie 12 lat na nadczynność tarczycy i zaburzenia rytmu serca oraz odczuwała ból okolicy krzyżowo-lędźwiowej z powodu zmian zwyrodnieniowo-wytwórczych kręgosłupa. Z powodzeniem leczona ambulatoryjnie. 13 sierpnia 1980 r., w czasie pracy (dźwiganie mebli), wystąpił ostry ból głowy, następnie prawie godzinna utrata przytomności. W następnych dniach ciągły ból głowy powoli ustępował. Chorą leczono w oddziale wewnętrznym szpitala w Oleśnicy. 3 września 1980 r. gwałtownie powrócił silny ból głowy, wystąpiły wymioty, zmęcenie świadomości, niepokój psychoruchowy oraz porażenie lewego nerwu okoruchowego. Tego samego dnia przyjęto chorą do Kliniki Neurologicznej Akademii Medycznej we Wrocławiu z rozpoznaniem krwotoku podpajęczynówkowego i podejrzeniem tętniaka śródczaszkowego. Stan chorej był ciężki, objawy oponowe mierne, granice tarcz nerwów wzrokowych nieostre, bez krwotoków, całkowite porażenie nerwu okoruchowego po stronie lewej i niedowład ośrodkowy nerwu twarzowego po prawej. Istotnych zaburzeń ruchowych w kończynach ani zmian odruchów nie było, poza obustronnie zaznaczonym objawem Babińskiego. Badania pomocnicze: OB 23/40, leukocytoza 7700, płyn mózgowo-rdzeniowy podbarwiony krwią, ksantochromiczny, białko 40 mg⁰/₀, pole widzenia usiane krwinkami czerwonymi, pleocytoza 11. Eeg (8 IX 80): ciężkie zmiany obustronne z przewagą w tylnej części lewej półkuli. Bardzo ciężki, pogarszający się stan ogólny wykluczał wykonanie badania kontrastowego. Stosowano bezskutecznie leki przeciwobrzękowe, przeciwkrwotoczne, nasercowe i antybiotyki. Chora zmarła po tygodniu, w przebiegu pogłębiającej się śpiączki, dyskretnego niedowładu połowicznego z przeciwstronnym porażeniem nerwu okoruchowego, narastającej niewydolności oddechu i krążenia. Rozpoznanie kliniczne brzmiało: krwotok podpajęczynówkowy, podejrzenie pękniętego tętniaka tętnicy łączącej tylnej mózgu po stronie lewej.

Wynik sekcji ogólnej: średniego stopnia zmiany miażdżycowe naczyń



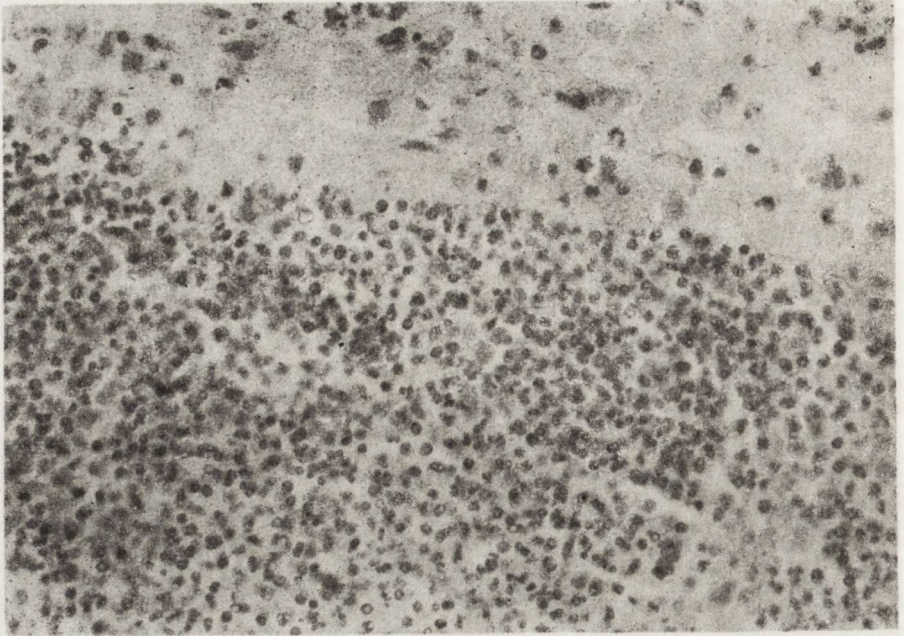
Ryc. 1. Tkanka podwyściółkowa; po lewej ziarnina histiocytopodobna, w środku i po prawej naciek komórek mikroglejopodobnych w obrzękłej tkance oraz dwa drobne krwotoczki. Fragment zachowanej wyściółki niezmieniony. H - E. Pow. 200 ×

Subependymal tissue; on the left granulomatous infiltration with histiocyte-like cells. In the center and on the right side infiltration of microglial-like cells in edematous tissue. Two small hemorrhages. Preserved ependyma unchanged. H - E. × 200

wieńcowych serca i tętnicy głównej. Rozedma płuc, przewlekły nieżyt oskrzeli (protokół nr 567/80, Zakład Anatomii Patologicznej AM Wrocław, kierownik: prof. dr hab. B. Zawirska).

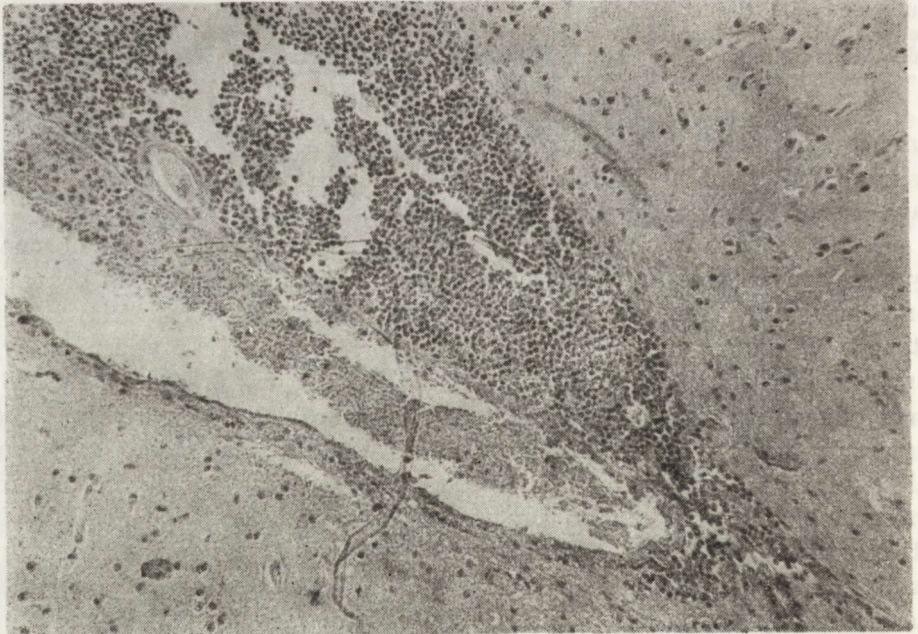
Sekcja mózgu wykazała przy ścianach komór bocznych obecność symetrycznych, zlewających się szarych ognisk, miejscami brunatno przebarwionych lub z pojedynczymi krwotoczkami, o miękkiej konsystencji. W istocie białej obu płatów ciemieniowych i potylicznych wykryto kilka drobnych, okrągłych ognisk (ok. 0,6 cm średnicy), dość dobrze odgraniczonych od otoczenia, barwy szarobiałej, przypominających przerzuty nowotworowe. Pod korą półkul stwierdzono kilka plamistych, nieregularnie obrysowanych krwotoczków o średnicy do 2 cm. W pniu mózgu ognisko podobne do przerzutu zajmowało lewy konar. Ponadto stwierdzono pojedyncze ognisko w istocie białej lewej półkuli mózdzku. Istotnych cech obrzęku mózgu nie było. W oponach stwierdzono mierne zmleczenie, a na sklepiści lewej półkuli mózgu dwa drobne ogniska krwotoku podpajęczynówkowego.

Mikroskopowo stwierdzono zmiany guzopodobne w postaci tkanki bogatokomórkowej, zajmującej ogniska widoczne gołym okiem. Tkanka



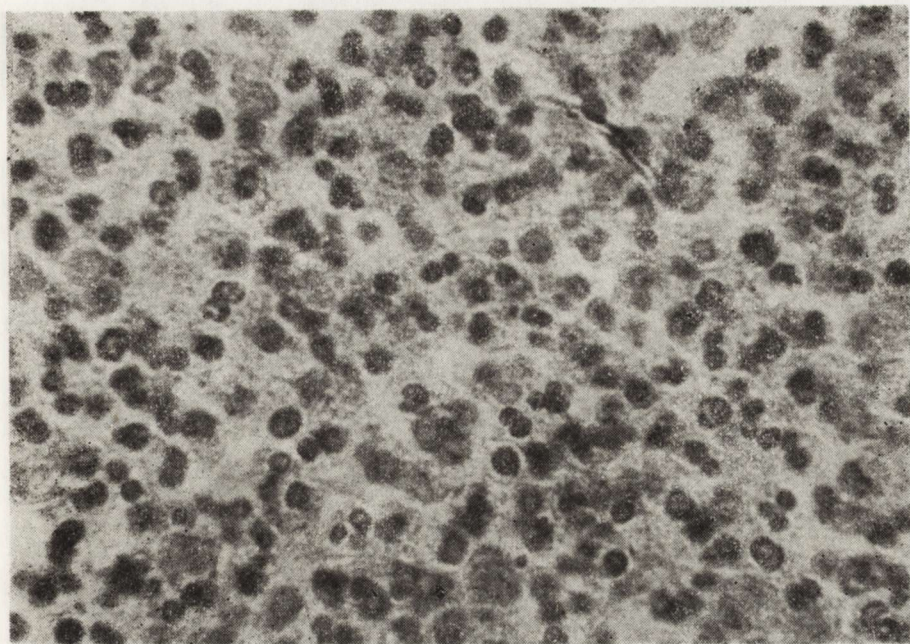
Ryc. 2. Ławicowy naciek bogatokomórkowej ziarniny histiocytarnej. H - E. Pow. 500 ×

Highly cellular granulomatous histiocyte infiltration. H - E. × 500



Ryc. 3. Przejście ziarniny przez okołonaczyniową błonę glejową do tkanki nerwowej. H - E. Pow. 200 ×

Diffusion of perivascular granulomatous infiltration into the nerve tissue. H - E. × 200

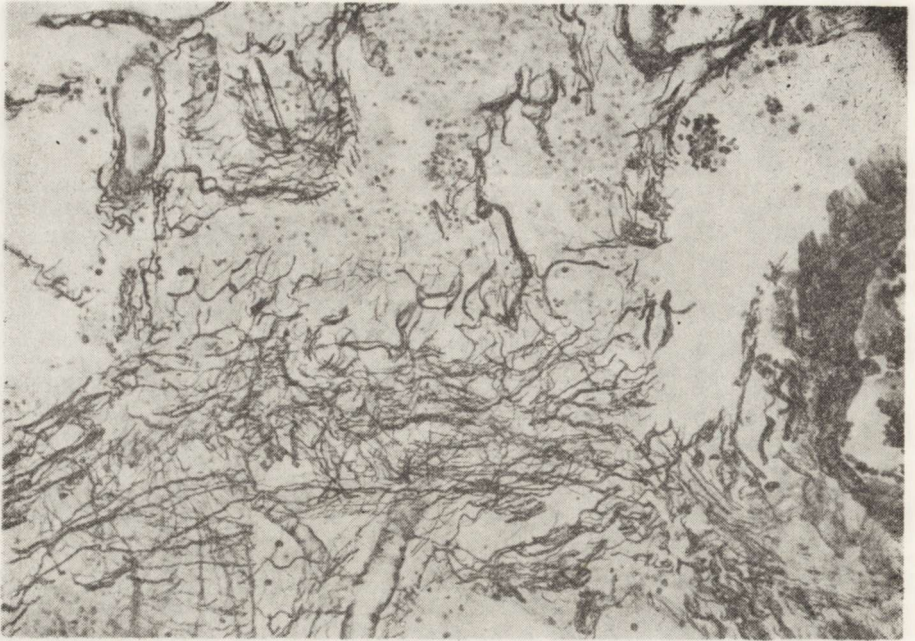


Ryc. 4. Bogatokomórkowa ziarnina złożona z pleomorficznych komórek histiocytopodobnych, wśród nich widoczne komórki plazmatyczne, monocyty i granulocyty oraz pojedyncze pobudzone astrocyty. H - E. 1250 \times

Highly cellular granulomatous infiltration composed of pleomorphic histiocyte-like cells. Plasma cells, monocytes, granulocytes and some activated astrocytes are also visible. H - E. \times 1250

umiejscowiona przy ścianie komór niszczyła na dużej przestrzeni wyściółkę. Zachowane odcinki wyściółki nie były zmienione (ryc. 1). Niezbyt liczne krwotoki najczęściej zajmowały centralne obszary nieprawidłowej tkanki. Części obwodu bogatokomórkowej ziarniny przekształcały się w ławicowe nacieki, które niezbyt dobrze odgradzały ją od otoczenia (ryc. 2). Te obfite nacieki występowały szczególnie wyraźnie pod wyściółką lewej komory bocznej, w podkorowej istocie białej lewego zakrętu środkowego i obu biegunów potylicznych. W istocie białej poza obszarem zmian ogniskowych, a często w głębi rowków mózgowych, występowały nacieki, które szczególnie szerzyły się w okołonaczyniowej oponie miękkiej, ku powierzchni półkul mózgowych, gdzie stopniowo zanikały. Naciezione były przede wszystkim przydanka i opona miękka. Z zewnętrznej ściany naczyń istoty białej często następowała inwazja ziarniny przez graniczną błonę glejową okołonaczyniową na tkankę nerwową (ryc. 3).

Wielopostaciowe komórki tkanki ziarninopodobnej składały się z różnych elementów tkanki siateczkowej. Przeważały elementy histiocytopodobne, około 2-krotnie większe od limfocytów, zawierające ciemne, okrągłe lub owalne jądra, z jednym lub kilkoma jąderkami i nieregul-



Ryc. 5. W górnej części ryciny widoczny bogatokomórkowy naciek. Poniżej siatka włókien srebrochłonnych. W jej oczkach zawarte są komórki histiocytopodobne. Z prawej strony ryciny duże naczynie z obfitymi włóknami srebrochłonnymi. Perdrau. Pow. 500 ×

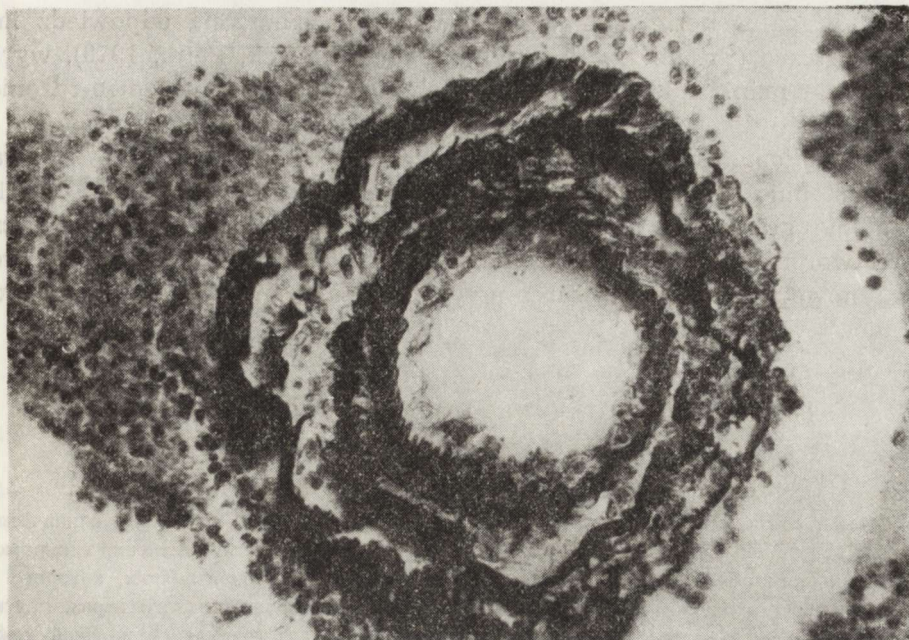
Highly cellular infiltration in the upper part of the figure. Below reticulin network with histiocyte-like cells. On the right a large vessel with rich argentophil fibers. Perdrau. × 500

larnie rozmieszczoną chromatyną (ryc. 4). Niezbyt dobrze obrysowane ciała komórek eozynofilnych i srebrochłonnych tkwiły w sieci retykulinowej (ryc. 5). Również naczynia zawierały obfite pęczki włókien srebrochłonnych (ryc. 6). Obecne były komórki pałeczkowate Nissla, komórki żerne, monocyty, komórki plazmatyczne, limfocytopodobne oraz granulocyty. Nielicznie występowały pobudzone astrocyty (ryc. 4).

OMÓWIENIE

Ostry początek choroby i objawy oponowe oraz zmiany w płynie mózgowo-rdzeniowym w pełni uzasadniały rozpoznanie krwotoku podpajęczynówkowego, którego na sekcji nie stwierdzono. Porażenie nerwu okoruchowego sugerowało obecność tętniaka, okazało się zaś następstwem ogniska ziarniny w lewym konarze mózgu. Przebieg i objawy przyżyciowe wskazały raz jeszcze na niecharakterystyczny przebieg *microgliomatosis*.

Zmiany morfologiczne w *microgliomatosis* są najczęściej zlokalizowane w okolicy przykomorowej, w dalszej kolejności w podwzgórzu (Hertog Den i wsp., 1960; Osetowska, 1966), nierzadko w innych okolicach



Ryc. 6. Przekrój poprzeczny tętniczki z obfitymi włóknami srebrochłonnyimi, przede wszystkim w przydance; w przydance i wokół naczynia naciek z komórek histiocytopodobnych. Perdrau. Pow. 500 \times

Transverse section of an arteriole with abundant reticulin fibers, particularly in the adventitia; adventitial and perivascular infiltration of histiocyte-like cells. Perdrau \times 500

mózgu. Poza guzopodobną tkanką granulomatyczną występują rozlane nacieki rzekomo zapalne wokół drobnych naczyń, głównie w istocie białej. W naszym przypadku występowały typowe zmiany w okolicach przykomorowych i nacieki okołonacyniowe. Natomiast wyjątkowe było — podobnie jak w pracy Boellarda (1971) — występowanie w mózgu rozsianych drobnych ziarniaków. Badanie mikroskopowe ujawniło, podobnie jak w opisie Gruszki i wsp. (1974), guzopodobny charakter ziarniny histiocytarnej, zawierającej komórki mikroglejo- i limfocytopodobne oraz inne. W niektórych komórkach widoczne były mitozy. Liczne i bogate nacieki okołowłósczkowe oraz szerzące się z przydanki drobnych tętniczek, obecne głęboko w mięszu, wydawały się miejscem wyjścia procesu. Podobnie w okresie embriogenezy wywodzą się z perycytów włósczkowe komórki mikrogleju (Kershman, 1939; Gereb, 1953).

Nasz opis *microgliomatosis* wskazuje na proces nowotworowy tkanki retykularnej oraz spełnia warunki rozpoznania zapalenia granulomatycznego podane przez Cervós-Navarro i wsp. (1960): 1) typowa lokalizacja i szerzenie się procesu; 2) odpowiednie utkanie tkanki ziarninowej; 3) brak podobnych zmian w innych narządach. Autor ten wymienia też brak czynnika etiologicznego choroby. Wydaje się, że należy uwzględnić nadal aktualną hipotezę zakażenia wirusowego (Hola, 1954; Pette i wsp.,

1961). W patogenezie odgrywa zapewne rolę zaburzona odpowiedź immunologiczna (Frienberg, 1955; Vuia, 1966; Schneck, Penn, 1970), wyrażająca się m.in. zmianami immunoglobulin w płynie mózgowo-rdzeniowym.

Microgliomatosis może w obrazie neuropatologicznym wykazywać różne stopnie złośliwości. Według klasyfikacji Vui i Mehraeina (1971), zapalenie granulomatyczne Cervós-Navarry być może nie jest jeszcze nowotworem. Inne postaci wykazują jednak zdecydowane cechy procesu nowotworowego. Opisany przypadek zaliczamy do jednej z tych postaci.

МИКРОГЛИОМАЗ. ОПИСАНИЕ И ОБСУЖДЕНИЕ СЛУЧАЯ

Резюме

Описан секционный случай микроглиоматоза у 54-летней женщины. В клинической картине острое начало болезни и менингеальные симптомы а также изменения спинномозговой жидкости обосновывали диагноз субарахноидального кровоизлияния, которого не констатировано в секционном исследовании. Паралич глазодвигательного нерва, подсказывающий наличие аневризмы, оказался последствием очага грануляции в левой ножке головного мозга.

Невропатологическое исследование указало на микроглиоматоз и отвечало условиям диагноза грануломатического воспаления типа Cervós-Navarro а также новообразовательного процесса ретикулярной ткани. В описанном случае авторы распознали новообразовательный процесс.

MICROGLIOMATOSIS. CASE REPORT

Summary

A fatal case of *microgliomatosis* in a 54-years-old woman is described. The clinical course with a sudden onset of symptoms, signs of meningeal irritation and CSF changes justified the diagnosis of subarachnoid hemorrhage. This was not confirmed at postmortem examination. The oculomotor paralysis was suggestive of an aneurysm on the posterior communicating artery. Neuropathological examination indicated that this was due to granulomatous infiltration of the left cerebral peduncle.

Neuropathological examination revealed the process of *microgliomatosis* fulfilling all the criteria for diagnosis of either granulomatous encephalitis (Cervós-Navarro type) or neoplastic disease was accepted

PIŚMIENICTWO

1. Adams H., Jackson M.: Intracerebral tumors of reticular tissue. The problem of microgliomatosis and reticuloendothelial sarcomas of the brain. *J. Path. Bact.*, 1966, 91, 369 - 381.
2. Alzheimer A.: według M. Bielschowsky: *Allgemeine Histologie und Histopathologie des Nervensystems*. [W:] *Anatomie, B. I., Handbuch der Neurologie*. Red. O. Bumke, Ö. Foerster, Springer, Berlin 1935, 207.

3. Aschoff L.: Das reticuloendotheliale System. *Ergeb. Inn. Med. Kinderheilkd.*, 1924, 26, 1 - 118.
4. Boellard J.: Ueber einen Fall von Granuloencephalitis mit ungewoehnlicher Lokalisation. Zugleich ein Beitrag zur Frage der Retikulose des ZNS. *Arch. Psychiatr. Nervenkr.*, 1971, 214, 17 - 32.
5. Cervós-Navarro J., Hübener G., Pachstein G., Stammler A.: Die Pathomorphologie der reticulo-histocytären granulomatösen Encephalitis. *Frankfurt. Z. Path.*, 1960, 70, 458 - 477.
6. Dunning H., Furth J.: Studies on the relation between microglia, histiocytes and monocytes. *Am. J. Path.*, 1935, 11, 895 - 913.
7. Frienberg R.: Pathergic gliomatosis. *Am. J. Path.*, 1955, 31, 829.
8. Gereb T.: Primaere Reticuloendotheliomatose des Gehirns. *Arch. Psychiatr.*, 1953, 191, 134 - 146.
9. Gilroy J., Meyer J.: *Medical Neurology*. Macmillan, New York, Collier, Toronto, Bailliere Tindall, London 1975, 555.
10. Gruszka A., Brzecki A., Hulanicka K.: Zapalenie mózgu granulomatyczne typu Cervós-Navarro a microgliomatosis. *Neuropat. Pol.*, 1974, 12, 115 - 135.
11. Hertog Den G. C., Guazzi G. C., Nunes-Vincente A.: Reticuloendothéliose cérébrale primitive (encéphalite granulomatose) et granulome infundibulotuberien. *Rev. Neurol.*, 1960, 102, 20 - 43.
12. Hola K.: Ueber Gehirnretikulosen der Tiere und des Menschen. *Zentralbl. Vet.*, 1954, 1, 115 - 135.
13. Hubert J.: Tumors of the reticuloendothelial system. [W:] *Handbook of Clinical Neurology* (t. 18). Tumors of the brain and skull. Red. P. J. Vinken, G. W. Bruyn. North-Holland, Amsterdam, Oxford. American Elsevier, New York 1975, 19, 233 - 268.
14. Kershman J.: Genesis of microglia in the human brain. *Arch. Neur. Psychiatr.*, 1939, 24, 41 - 50.
15. Opalski A.: *Histopatologia układu nerwowego*. LINW, Warszawa 1949.
16. Osetowska E.: Modalités et significations de réactions encéphaliques du type granulomateux. *J. Neurol. Sci.*, 1966, 3, 382 - 398.
17. Ostertag B.: Primary central reticulosis and microglia. *Arch. Psychiatr. Nervenkr.*, 1965, 206, 662 - 676.
18. Pette E., Mann I., Weiler K., Alacios D.: Die Visnakerkrankheit der Schafe. Beitrag zum Problem der Virusbedingten Granulomenzephalomyelitis. *Dtsch. Z. Nervenheilkd.*, 1961, 182, 635 - 639.
19. Russel D., Marshall A. H., Smith F. B.: Microgliomatosis; A form of reticulosis affecting the brain. *Brain*, 1948, 71, 1 - 14.
20. Sakurama N., Matsukado Y., Marubayashi T., Kodama T.: Granular cell tumor of the brain and its cellular identity. *Acta Neurochir.*, 1981, 56, 81 - 94.
21. Schaumburg H., Plank C., Adams R.: The reticulum cell sarcoma-microglia group of brain tumors. *Brain*, 1972, 95, 199 - 212.
22. Schneek G., Penn I.: Cerebral neoplasms associated with renal transplantation. *Arch. Neurol.*, (Chic.) 1970, 22, 226 - 233.
23. Troland C. E., Sahyoun P. F., Mandervillé F. B.: Mesenchymal tumors of the brain, so-called reticulum cell sarcoma. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1950, 9, 322 - 334.
24. Vuia O.: Das solitaere und multifokale polymorphe Granulom im Nervensystem. *Arch. Psychiatr. Nervenkr.*, 1966, 208, 309.
25. Vuia D., Mehraein P.: Primary reticulosis of the central nervous system. *J. neurol. Sci.*, 1971, 14, 469 - 482.

Adres autorów: Klinika i Katedra Neurologii AM, ul. Traugutta 118, 50 - 420 Wrocław

MARIAN MAJAK, JOLANTA KRAWCZYK, WIELISŁAW PAPIERZ

TŁUSZCZAK RDZENIA KRĘGOWEGO

Zakład Anatomii Patologicznej Instytutu Patologii AM, Łódź

Tłuszczaki ośrodkowego układu nerwowego należą do guzów bardzo rzadkich. Tłuszczaki rdzenia kręgowego, zwracające większą uwagę neurochirurgów ze względu na burzliwą niekiedy symptomatologię, stanowią według danych opartych na dużych zestawieniach, około 1% guzów śródkanałowych i występują najczęściej w drugiej i trzeciej dekadzie życia, z jednakową częstością u obojga płci (Rubinstein, 1972). Według Arendta (1977), wyróżnić można trzy szczyty największej częstości guzów przypadające na 5 rok życia oraz trzecią i piątą dekadę. Pierwszy opis tłuszczaka rdzenia kręgowego pochodzi z 1857 r. — był to guz współistniejący z zaburzeniem rozwojowym typu *spina bifida*. Od tego czasu do 1976 r. opisano około 155 przypadków (Villarejo i wsp., 1976). Kumar i wsp. (1976) opisali 6 przypadków rdzeniowego tłuszczaka we własnym materiale pochodzącym z okresu 7 lat.

Ze względu na umiejscowienie guza i jego stosunek do rdzenia kręgowego i opony twardej wyróżnia się kilka typów tłuszczaków śródkanałowych. Według Rubinsteina (1972), w większości przypadków są to zewnątrzrdzeniowe guzy wewnątrzoponowe. Tłuszczaki wewnątrzrdzeniowe stanowią grupę najrzadszą. Z opracowania Giuffré (1966) wynika, że około 1/3 tych nowotworów współistnieje z zaburzeniami rozwojowymi typu *spina bifida occulta*. W tym ostatnim przypadku mają one nierzadko umiejscowienie zewnątrzrtwardówkowe. Fakt ich częstego współistnienia z rozszczepem kręgosłupa skłania Zülcha (1958) i Rubinsteina (1972) do rozważania możliwości traktowania tłuszczaków rdzenia kręgowego jako zaburzenie rozwojowe. Najczęstszym umiejscowieniem tłuszczaków śródkanałowych jest piersiowy i lędźwiowy odcinek rdzenia kręgowego (Rubinstein, 1972; Vinken, Bruyn, 1975). Podstawowymi objawami klinicznymi guza są porażenia kończyn, zespoły bólowe oraz zaburzenia zwieraczy. Ich prawidłowe rozpoznanie nastęrcza nierzadko poważne trudności, nawet w przypadku wykonania mielografii i bada-

nia cytologicznego płynu mózgowo-rdzeniowego (Henry i wsp., 1976; Kendall, Symon, 1977).

W obrazie makroskopowym tłuszczaki rdzenia wyróżniają się dobrym odgraniczeniem od tkanki nerwowej. W obrazie mikroskopowym tkanka tłuszczowa, stanowiąca zasadniczy element ich utkania zawiera zmienną ilość włókien kolagenowych. Niekiedy w utkaniu tłuszczaków stwierdzać można komórki nerwowe i glejowe oraz włókna mięśni poprzecznie prążkowanych i gładkich.

Do opublikowania przedstawionego przypadku skłania nas jego nietypowy przebieg kliniczny oraz wewnątrzrdzeniowe umiejscowienie.

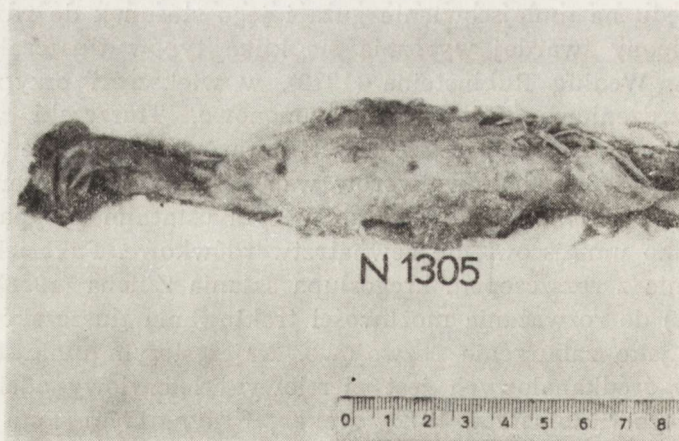
OPIS PRZYPADKU

Chora O. M., lat 53, została przyjęta do szpitala z powodu narastających objawów niewydolności krążenia. Badanie neurologiczne wykazało porażenie kończyn dolnych oraz brak reakcji na dotyk, ból i temperaturę. Z wywiadu wynikało, że przed 15 laty (w 38 roku życia) pacjentka przebywała w szpitalu z rozpoznaniem stwardnienia rozsianego pod postacią niedowładów kończyn dolnych. Przed 4 laty rozpoznano u chorej cukrzycę i nadciśnienie.

W okresie 10-dniowej hospitalizacji stan chorej ulegał pogorszeniu. W 10 dniu nastąpiło zatrzymanie akcji serca i pacjentka zmarła.

Podczas sekcji ogólnej stwierdzono zakrzepicę drobnych rozgałęzień tętnic płucnych, zastój, rozedmę i obrzęk płuc oraz ropne zapalenie tchawicy i oskrzeli, a ponadto odśrodkowy przerost mięśnia sercowego, umiarkowaną miażdżycę tętnic i wole rozlane tarczycy.

Sekcja mózgu (1305/N) poza cechami nieznacznego zaniku (1200 g)

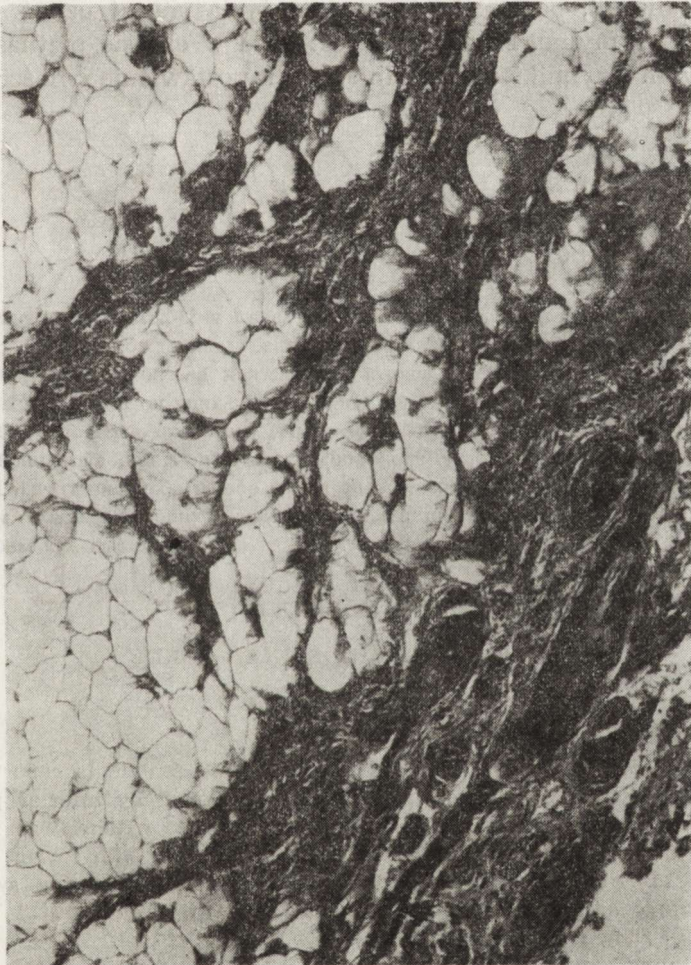


Ryc. 1. Obraz makroskopowy guza, podłużnie pogrubiającego rdzeń w odcinku lędźwiowym

Macroscopic picture of the tumor widening the lumbar spinal cord.

nie wykazała istotnych odchyżeń od stanu prawidłowego. W szczególności nie stwierdzono ognisk demielinizacji. Rdzeń kręgowy w odcinku lędźwiowym był znacznie pogrubiały (do 3 cm w najszerszym miejscu) na długości około 10 cm (ryc. 1).

Na przekroju poprzecznym rdzenia w zmienionym odcinku jego utkanie było zastąpione w znacznej części przez tkankę tłuszczową. W preparatach mikroskopowych tkanka tłuszczowa wypełniała prawie całkowicie przekrój rdzenia kręgowego. Gdzieś wrastała ona w resztki utkania rdzenia w sposób naciekający (ryc. 2). W innych odcinkach, zwłaszcza w okolicach podoponowych, granice nowotworu i zachowanej tkanki nerwowej były ostre i wyraźne. W utkaniu tłuszczaka



Ryc. 2. Wrastanie tłuszczaka podoponowo w resztki utkania rdzenia kręgowego.
H - E. Pow. 125 ×

Submeningeal infiltration of lipoma into the desintegrated the spinal cord. H - E.
× 125

występowały ponadto delikatne pasemka włóknistej tkanki łącznej oraz „zatopione” w nim korzenie nerwowe.

Zmiany w mózgowiu były niecharakterystyczne i miały cechy encefalopatii nadciśnieniowej.

Na podstawie obrazu makroskopowego i mikroskopowego niemożliwe jest zajęcie jednoznacznego stanowiska co do postaci tłuszczaka. Okolice, w których widoczny był kontakt nowotworu z oponami, sugerują, że mamy do czynienia z guzem zewnątrzrdzeniowym położonym śródoponowo. Całokształt jego obrazu mikroskopowego nie pozwala jednak wykluczyć odśrodkowego szerzenia się guza śródrdzeniowego. Badanie patomorfologiczne nie potwierdziło rozpoznania procesu demielinizacyjnego. Zresztą dokładna analiza wywiadów, zebranych w czasie ostatniej hospitalizacji, pozwalała jeszcze za życia chorej uznać poprzednie rozpoznanie za mylne. Powolny wzrost guza w okresie piętnastu lat był podstawowym czynnikiem utrudniającym postawienie właściwego rozpoznania.

ЛИПОМА СПИННОГО МОЗГА

Резюме

Авторы описывают случай липомы спинного мозга у 53-летней женщины. В возрасте 38 лет у нее выступали неврологические расстройства, главным образом в форме паралича нижних конечностей. Тогда установленный клинический диагноз гласил: множественный склероз. В последнее время пациентка поступила в больницу по поводу паралича нижних конечностей и расстройств чувствительности. Через несколько дней она умерла посреди симптомов острой недостаточности кровообращения и дыхания, вызванной тромбозом легочной артерии, что было подтверждено во время общей обдукции труда. Во время невропатологического исследования констатировано наличие липомы спинного мозга в люмбальной части. Не обнаружено морфологических признаков типичных для множественного склероза.

LIPOMA OF THE SPINAL CORD

Summary

A case of spinal lipoma occurring in 53 year-old female is reported. At the age of 38 she developed neurological diseases manifested by inferior paraparesis, which was diagnosed as multiple sclerosis. Recently the patient was hospitalized due to inferior paraplegia with bilateral sensory loss on both lower extremities. The patient 10 days after her admission to the hospital revealing symptoms of acute circulatory and respiratory insufficiency due to thrombosis of the pulmonary artery as shown on general autopsy.

Neuropathological examination revealed a lipoma of the lumbar portion of spinal cord. No morphological features of demyelinating process were found.

PIŚMIENICTWO

1. Arendt A.: Histologisch-diagnostischer Atlas der Geschwülste des Zentralnervensystems und seiner Anhangsgebilde. Gustav Fischer, Jena 1977, 186 - 187.
2. Giuffré R.: Intradural spinal lipomas. Review of the literature (99 cases) and report of an additional case. *Acta Neurochir.*, 1966, 14, 69 - 95.
3. Henry J. M., De Giordani V., Earle K. M.: Intradural lipomas of the spinal cord. A clinicopathological correlation. *J. Neurosurg.*, 1976, 44, 331 - 336.
4. Kendall B., Symon L.: The radiological investigations of intramedullary spinal tumours. *Zentralbl. Neurochir.*, 1977, 38, 19 - 28.
5. Kumar S., Gulat D. R., Mann K. S.: Intradural spinal lipoma. *Neurology*, (Bombay), 1976, 24, 188 - 190.
6. Rubinstein L. J.: Atlas of tumor pathology. Universities Associated for Research and Education in Pathology, INC. Bathesda, Maryland 1972.
7. Villarejo F. J., Blasquez M. G., Gutierrez Diaz J. A.: Intraspinal lipomas in children. *Child's Brain*, 1976, 2, 361 - 370.
8. Vinken P. J., Bruyn G. W.: Handbook of Clinical Neurology. North-Holland Publ. Comp., Vol. 19, Amsterdam, Oxford 1975.
9. Zülch K. J.: Geschwülste und Parasiten des Zentralnervensystems. Lehrbuch der spez. Pathol. Anatomie., Bd. III/1, Walter de Gruyter, Berlin 1958.

Adres autorów: Zakład Anatomii Patologicznej Instytutu Patologii AM, ul. Narutowicza 96, 90 - 138 Łódź

HANNA GRABOWSKA

W SPRAWIE BUDOWY SZYSZYNKI LUDZI ZMARŁYCH NA NOWOTWÓR

Zakład Patomorfologii Instytutu Biostruktury Akademii Medycznej,

W ostatnich latach opublikowano wyniki prac eksperymentalnych, morfologicznych i klinicznych, które sugerują związek pomiędzy czynnością neurosekrecyjną szyszynki a ogólnoustrojową chorobą nowotworową. Stwierdzono doświadczalnie, że podanie wyciągu szyszynki hamowało wzrost i rozprzestrzenianie niektórych nowotworów u zwierząt laboratoryjnych (Bergman, Engel, 1950), natomiast usunięcie tego gruczołu miało wpływ odwrotny (Rodin, 1963; Das Gupta, Terz, 1967; Barone i wsp., 1972). Podanie melatoniny znosiło wpływ pinealektomii na rozprzestrzenianie przeszczepialnego nowotworu (El Domeiri, Das Gupta, 1973).

Kutscherenko (1943), dokonując autopsji ludzi zmarłych na nowotwór złośliwy, stwierdził nienaturalnie duże rozmiary i masę szyszynki, czego powodem były liczne złogi wapnia, rozległe pola neurogleju i torbiele. Podobnie Hajdu i wsp. (1972) zauważyli, że u dzieci i młodych dorosłych, zmarłych w przebiegu złośliwego rozrostu układu chłonnego, szyszynka była znamienne cięższa, a w jej mięszu widoczne były torbiele o ścianie zbudowanej z neurogleju, zawierającego liczne włókna Rosenthala, czego nie obserwowano w grupie zmarłych w przebiegu innych chorób. Natomiast Rodin i Overall (1967) stwierdzili zwiększoną masę szyszynki bez odchyżeń w jej obrazie mikroskopowym u dorosłych zmarłych na nowotwór złośliwy. Tapp i Blumfield (1970) opisali zjawisko odwrotne — szyszynka ludzi zmarłych w przebiegu choroby nowotworowej była znamienne lżejsza z powodu zmniejszonej ilości złogów wapnia niż w grupie zmarłych bez nowotworu. Drexler i wsp. (1957), stwierdzili radiologicznie większe uwapnienie szyszynki u kobiet z nowotworem złośliwym niż u kobiet zdrowych. Autorzy wymienionych prac wyrażali przekonanie, iż odmienna masa i budowa szyszynki ludzi chorych na nowotwór złośliwy jest przyczyną lub skutkiem ogólnoustrojowych zaburzeń związanych z rozrostem nowotworu

i odzwierciedla zmiany w czynności neurosekrecyjnej tego gruczołu. Legait i Legait (1977) zaprzeczyli odmienności masy i obrazu histologicznego szyszynki ludzi zmarłych na nowotwór złośliwy.

Pojedyncze próby kliniczne wskazują na hamowanie procesu chorobowego oraz na poprawę stanu ogólnego ludzi chorych na różne nowotwory pod wpływem przeszczepiania szyszynki bydłowej, podania jej wyciągu lub melatoniny (Sander, Schmid, 1952; Anisimov i wsp., 1973; Ostroumova i wsp., 1976; Svet-Moldavsky i wsp., 1976). Autorzy wymienionych prac a także Cohen i Lippman (1978) sugerują, ... sugerują, że szyszynka wydziela substancję hormonalną, która przeciwdziała stymulującemu wpływowi niektórych hormonów przedniego płata przysadki mózgowej na pewne typy nowotworów.

Celem obecnej pracy było porównanie ciężaru i budowy szyszynki ludzi zmarłych z nowotworem złośliwym z szyszynką chorych, u których badaniem sekcyjnym nie stwierdzono nowotworu.

MATERIAŁ I METODY

W trakcie sekcji rutynowych wykonywanych w Zakładzie Anatomii Patologicznej Instytutu Biostruktury Warszawskiej Akademii Medycznej, w okresie od października 1976 do czerwca 1978 r., pobrano 180 szyszynek ze zwłok ludzkich. Wszystkie przypadki podzielono na dwie grupy — chorych, u których badaniem sekcyjnym stwierdzono nowotwór złośliwy (83 przypadki), chociaż nie zawsze był on bezpośrednią przyczyną zgonu, i grupę liczącą 97 przypadków, w której badanie sekcyjne nie wykazało nowotworu (grupa kontrolna). W grupie 83 nowotworów złośliwych w 78 przypadkach był nim nieoperowany rak oskrzela, żołądka, jelita grubego, pęcherzyka żółciowego i innych narządów, w pozostałych 5 przypadkach badaniem histologicznym stwierdzono nowotwór nienabłonkowy. W żadnym przypadku dokumentacja lekarska ani badanie sekcyjne nie wskazywały na stosowanie leczenia promieni X lub cytostatyków. Szyszynki pobrane świeżo ze zwłok w okresie od 6 do 30 godzin po zgonie były ważone na wadze analitycznej typu WA-33 z dokładnością do 0,001 g. Utrwalano je w 4% formalinie buforowanej przez okres około 2 miesięcy, później odwapniano przez 2 tygodnie w 5% roztworze wersenianu. Następnie postępowano w sposób typowy: zatapiano w bloki parafinowe, skrawano na mikrotomie saneczkowym firmy Reichert na skrawki grubości 5 μ m tak, aby przekrój objął jednocześnie miąższ i szypułę szyszynki. Posługiwano się następującymi metodami barwień histologicznych: hematoksyliną i eozyną, azanem, trójbarwną metodą Massona, metodą Holzera. Stosowano również metodę impregnacyjną Gomoriego oraz metodę PAS. W mikroskopie optycznym (firmy Karl Zeiss, Jena) oceniono obraz histologiczny

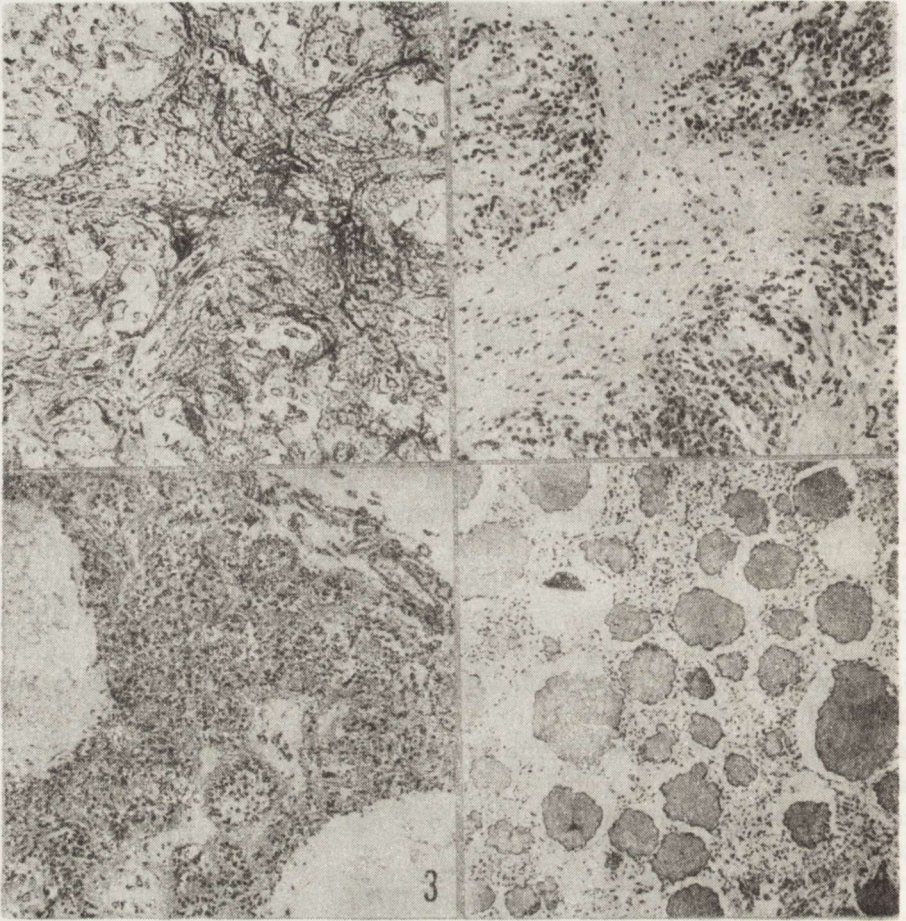
miąższu szyszynki we wszystkich przypadkach w powiększeniu do $800\times$. Za pomocą mikroskopu PZO typ MB 30 z nasadką projekcyjną, na którą naniesiono siatkę pomiarową 11×13 punktów, dokonano pomiaru wielkości pola zajmowanego przez pinealocyty, a nie przez tkankę łączną, piasek, glej, torbiele lub naczynia krwionośne w 36 przypadkach zmarłych obojga płci w kolejnych dekadach życia. Zliczano ilość punktów pomiarowych, które trafiły w zraziki szyszynki w dziesięciu przypadkowych polach złożonych ze 120 kwadratów o boku $42\ \mu\text{m}$ jednego dowolnie wybranego skrawka preparatu szyszynki.

Dokonano analizy statystycznej pomiarów: 1) masy szyszynki w zależności od płci i dekady życia w podziale na dwie grupy: zmarłych, u których badaniem sekcyjnym stwierdzono nowotwór złośliwy bez względu na to, czy stanowił on bezpośrednią przyczynę zgonu, oraz chorych, u których badaniem sekcyjnym nie stwierdzono nowotworu złośliwego; 2) wielkości powierzchni zajmowanej przez pinealocyty, a nie przez inne elementy utkania miąższu szyszynki według tych samych kryteriów; 3) częstości występowania w miąższu szyszynki rozrostu tkanki łącznej i neurogleju, ziaren piasku, włókien Rosenthala i torbiele, z uwzględnieniem głównego ogólnoustrojowego procesu chorobowego, który doprowadził do zgonu. Wyniki pomiarów wymienionych w punktach 1 i 2 oceniono metodą analizy wariancji jednoczynnikowej przy $\alpha\leq 0,05$, a pomiary wymienione w punkcie 3 oceniono testem χ^2 przy $\alpha\leq 0,05$. Wszystkie obliczenia wykonano na programowanym kalkulatorze Hewlett-Packard typ HP 9821.

WYNIKI

CZEŚĆ OPISOWA

Porównanie obrazu makroskopowego i mikroskopowego szyszynki osób zmarłych z nowotworem złośliwym i zmarłych w przebiegu innych chorób nie wykazało żadnych różnic. Szyszynka, pobrana świeżo ze zwłok, była narządem kulistym lub stożkowym barwy szarobeżowej, średnicy od 3 do 7 mm. Powierzchnia zewnętrzna była gładka lub drobnoziarnista, niekiedy widoczne były na niej torbiele wypełnione jasnym płynem. Torbiele widoczne były również na przekroju miąższu szyszynki obok jasnych, twardych, często bardzo licznych, ziaren piasku. Mikroskopowo miąższ szyszynki zbudowany był z pinealocytów o charakterystycznym pęcherzykowym jądrze, z rozproszoną chromatyną i pofałdowaną błoną jądrową oraz jasnej cytoplazmie zawierającej, często liczne, ziarna brunatnego lub żółtego barwnika. Cienkie pasma bogato unaczynionej tkanki łącznej dzieliły miąższ szyszynki na zraziki lub pseudozraziki. W wielu przypadkach w miąższu szyszynki stwierdzono rozrost tkanki łącznej w obrębie przegród międzyzrazikowych lub pomiędzy pinealocytami (ryc. 1), rozrost neurogleju w postaci wielo-



Ryc. 1. Rozrost tkanki łącznej przegród międzyzarakowych miąższu szyszynki, widoczne liczne włókna kolagenowe. Azan. Pow. 160 ×

Proliferation of septal connective tissue in the pineal gland, with abundant collagen fibers. Azan. × 160

Ryc. 2. Rozległe różnokształtne pola fibroglejozy miąższu szyszynki. H — E. Pow. 100 ×

Large irregular areas of fibrogliosis in the pineal parenchyma. H — E, × 100

Ryc. 3. Owalne torbiele położone pośród pinealocytów pod powierzchnią szyszynki (prawy górny róg). H + E. Pow. 63 ×

Oval cysts among pinealocytes in the superficial area of the gland. H — E. × 63

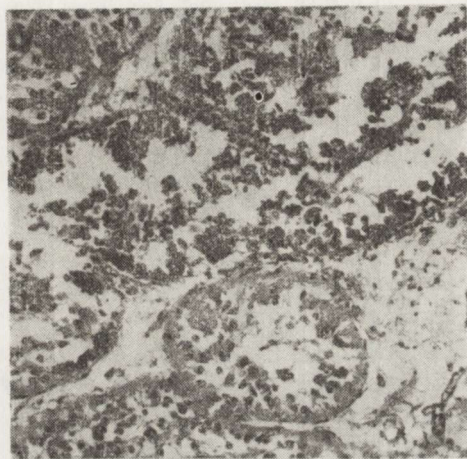
Ryc. 4. Liczne ziarna piasku w miąższu szyszynki. H + E. Pow. 63 ×

Abundant grains of pineal sand in the gland parenchyma. H — E. × 63

kształtnych pól i pasm towarzyszących tkance łącznej lub rozdzielających pinealocyty (ryc. 2). Często w polach rozległej fibroglejozy stwierdzano zwyrodnienie astrocytów włóknistych w postaci gromadzenia w ich cytoplazmie włókien Rosenthala i szczelinowate lub owalne torbiele położone pośród pinealocytów lub gleju, zawierające często płyn

białkowy (ryc. 3). W wielu przypadkach stwierdzono liczne ziarna piasku (ryc. 4).

W dwu przypadkach obserwowano przerzut nowotworu do mięszu szyszynki: u 74-letniej kobiety (A.C. 148/77) z rakiem anaplastycznym oskrzela i licznymi przerzutami do węzłów chłonnych, narządów wewnętrznych i mózgu (ryc. 5) i u 54-letniej kobiety (G.P. 511/78), która zmarła w stanie skrajnego wyniszczenia nowotworowego w przebiegu raka gruczołowego trzonu macicy.



Ryc. 5. Przerzut raka anaplastycznego oskrzela do szyszynki. H — E. Pow. 160 ×
Metastasis of an anaplastic bronchial carcinoma in the pineal gland. H — E.
× 160

CZĘŚĆ STATYSTYCZNA

Nie stwierdzono różnicy pomiędzy średnią masą szyszynki ludzi zmarłych, u których badaniem sekcijnym stwierdzono nowotwór złośliwy, a średnią masą szyszynki zmarłych w przebiegu innych chorób (tab. 1). Uwagę zwracało duże zróżnicowanie ciężaru szyszynki pomiędzy poszczególnymi przypadkami. Niejednokrotnie masa szyszynki zmarłego w przebiegu zaawansowanej choroby nowotworowej była kilkakrotnie niższa lub kilkakrotnie wyższa od masy szyszynki innego chorego tej samej płci i w tym samym wieku, zmarłego z innej przyczyny. Przykład tego zjawiska mogą stanowić 4 przypadki umieszczone w tabeli 2. W przypadkach 1 i 4 mięsz szyszynki zbudowany był ze zrazików o prawidłowym układzie pinealocytów i tkanki łącznej. Natomiast w obydwu szyszynkach (przypadki 2 i 3), o masie niemal dwukrotnie przewyższającej wartość średnie, w mięszu szyszynki stwierdzono bardzo liczne ziarna piasku, a w przypadku 3 ponadto rozrost neurogleju w postaci rozległych pól z licznymi włóknami Rosenthala i dużymi torbielami.

Tabela 1. Masa szyszynki (mg) ($\bar{x} \pm SE$)
Pineal gland weight (mg) ($\bar{x} \pm SE$)

Grupa Group	Wiek (lata)					Age (years)		
	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	90-99
Kontrolna – kobiety Control – females	222±69	×	156±29	160±17	209±65	198±21	212±22	269±52
Choroba nowotworowa, kobiety Neoplastic disease, females	×	×	×	195±39	152±24	175±21	174±18	×
Kontrolna – mężczyźni Control – males	168±47	104±34	216±46	189±25	201±21	158±18	176±32	×
Choroba nowotworowa, mężczyźni Neoplastic disease, males	×	×	167-34	135-23	166-26	172-22	152-13	×

\bar{x} – wartość średnia mean; SE – błąd standardowy średniej standard error of mean; × – nie badano not examined

Tabela 2. Przypadki o skrajnej masie szyszynki u ludzi zmarłych z nowotworem i bez nowotworu
Cases with extreme weight of pineal gland in cases with and without neoplastic disease

Choroba nowotworowa	Neoplastic disease	Choroba nienowotworowa	Not neoplastic disease
Nr, płeć i wiek (lata) Choroba podstawowa	Stosunek masy rzeczywistej szyszynki do średniej masy szyszynki dla wieku i płci	Nr, płeć i wiek (lata) Choroba podstawowa	Stosunek masy rzeczywistej szyszynki do średniej masy szyszynki dla wieku i płci
No, sex and age (years) Basic disease	Relation of real pineal weight to pineal weight averaged for age and sex	No, sex, and age (years) Basic disease	Relation of real pineal weight to pineal weight averaged for age and sex
Przypadek 1; 60/77, ♂, 52	60	Przypadek 2, 1128/76, ♂, 59	230
Rak gruczołowy odbytnicy z licznymi przerzutami do węzłów chłonnych i narządów wewnętrznych	135 ± 23	Rozlana ropowica skóry Posocznica	189 ± 25
Case 1; 60/77, ♂, 52 Rectal adenocarcinoma with multiple metastases to lymphnodes and body organs		Case 2; 1128/76, ♂, 59 Diffuse phlegmona of the skin. Sepsis	
Przypadek 3; 391/77, ♂, 74	334	Przypadek 4; 220/77, ♂, 74	65
Rak prostaty z licznymi przerzutami do węzłów chłonnych narządów wewnętrznych i kości	172 ± 22	Nasilona miażdżycza tętnic	158 ± 18
Case 3; 391/77, ♂, 74 Prostate carcinoma with multiple metastases to lymphnodes, body organs and bones		Case 4; 220/77, ♂, 74 Severe generalized atherosclerosis	

Tabela 3. Wielkość powierzchni zajmowanej przez pinealocyty (μm^2) ($\bar{x} \pm \text{SE}$)
 Area occupied by pinealocytes (μm^2) ($\bar{x} \pm \text{SE}$)

Grupa Group	Wiek (lata)				Age (years)			
	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	90-99
Kontrolna – kobiety Control – females	×	×	85,4±7,0	77,7±4,4	62,1±5,2	61,6±6,2	70,3±5,2	59,7±5,2
Choroba nowotworowa, kobiety Neoplastic disease, females	×	86,8±9,2	×	59,0±4,7	57,5±5,2	55,0±4,8	60,1±6,6	×
Kontrolna – mężczyźni Control – males	54,1±6,2	×	×	56,0±6,1	66,4±6,5	63,7±5,2	50,5±6,4	×
Choroba nowotworowa, mężczyźni Neoplastic disease, males	×	×	71,4±3,9	61,5±6,2	66,1±3,3	59,8±5,2	60,3±4,1	×

\bar{x} – wartość średnia mean; SE – błąd standardowy średniej standard error of mean; × – nie badano not examined

Tabela 4. Częstość występowania rozrostu tkanki łącznej, neurogleju, ziaren piasku, włókien Rosenthala i torbieli w mięszu szyszynki w zależności od głównego ogólnoustrojowego procesu chorobowego, który doprowadził do zgonu

Frequency of connective tissue and glial proliferation, occurrence of pineal sand, Rosenthal fibres and cysts in the pineal gland in respect of the basic disease process leading to patients death

Choroba podstawowa Basic disease	Średnia wiek Average age	Ogólna liczba przypadków Total number of cases	Rozrost tkanki łącznej Connective tissue proliferation		Rozrost neurogleju Neuroglial proliferation		Ziarna piasku Pineal sand		Włókna Rosenthala Rosenthal fibres		Torbiele Cysts	
			liczba przypadków number of cases	%	liczba przypadków number of cases	%	liczba przypadków number of cases	%	liczba przypadków number of cases	%	liczba przypadków number of cases	%
			Przewlekła niewydolność mięśnia serca Chronic circulatory insufficiency	71	104	56	53,8	44	42,3	81	77,8	53
Przewlekłe choroby płuc Chronic lung diseases	76	10	7	70,0	3	30,0	8	80,0	7	70,0	2	20,0
Przewlekłe choroby wątroby Chronic liver diseases	60	11	7	63,6	4	36,3	8	72,7	5	45,4	1	9,0
Choroba nowotworowa Neoplastic disease	59	29	13	44,9	16	55,1	24	82,8	13	44,9	6	20,7
Inne Others	62	26	15	57,6	11	42,3	19	73,0	12	46,1	8	30,7
Łącznie Total	66	180	98	54,4	78	43,3	140	77,8	90	50,0	35	19,4

Porównanie wielkości pola mięszu szyszynki zajmowanego wyłącznie przez pinealocyty w grupie chorych zmarłych na nowotwór złośliwy z grupą chorych zmarłych w przebiegu innych chorób nie wykazało różnicy zarówno pomiędzy obydwiema grupami, jak również w kolejnych dekadach życia u chorych obojga płci (tab. 3). Dokonano również oceny częstości występowania rozrostu tkanki łącznej i neurogleju, ziaren piasku, włókien Rosenthala i torbieli w mięszu szyszynki, w zależności od głównego procesu chorobowego, który doprowadził do zgonu (tab. 4). Grupę 4 stanowi 29 przypadków, w których zgon nastąpił w wyniku ogólnoustrojowych zaburzeń związanych z rozsianym procesem nowotworowym. W pozostałych 54 przypadkach nowotwór współistniał z innym przewlekłym lub ostrym procesem chorobowym, który doprowadził do zgonu — w tych przypadkach występował w postaci niewielkiego ogniska pierwotnego, najczęściej bezobjawowo za życia pacjenta. Stwierdzono, że rozrost tkanki łącznej i neurogleju, gromadzenie ziaren piasku, włókien Rosenthala i tworzenie torbieli występują w mięszu szyszynki równie często u chorych zmarłych w przebiegu choroby nowotworowej, jak i przewlekłej niewydolności mięśnia serca (miażdżycowe uszkodzenie mięśnia serca, choroba wieńcowa, nabyta wada serca), przewlekłych chorób płuc i wątroby. Do grupy 5 zaliczono pojedyncze przypadki chorych zmarłych w przebiegu przewlekłych chorób trzustki, żołądka i jelit, nerek i innych, których ze względu na małą liczebność nie oceniono statystycznie.

DYSKUSJA

Oceniając własny materiał stwierdzono, podobnie jak Legait i Legait (1977), że szyszynka ludzi zmarłych na nowotwór złośliwy nie różni się wielkością, masą ani obrazem histologicznym od szyszynki ludzi zmarłych w przebiegu innych chorób. Jest to wniosek odmienny od wniosków Kutscherenki (1943), Rodina i Overalla (1967), Tappa i Blumfielda (1970) oraz Hajdu i wsp. (1972).

Stwierdzono również, że rozrost tkanki łącznej i glejowej, włókna Rosenthala, ziarna piasku i torbiele występowały w mięszu szyszynki chorych zmarłych w przebiegu choroby nowotworowej równie często, jak u pacjentów zmarłych w wyniku niewydolności krążeniowo-oddechowej w przebiegu miażdżycowego uszkodzenia mięśnia serca, przewlekłej choroby wieńcowej i przewlekłych chorób płuc. Oznacza to, że wymienione zmiany mają charakter reakcji na przewlekły ogólnoustrojowy proces chorobowy. Zaliczenie choroby nowotworowej do przewlekłych i porównanie z procesem o tak odmienną etiologię jak np. miażdżycowe uszkodzenie mięśnia serca może budzić wątpliwości, należy jednak podkreślić, że w materiale własnym przeważały przypadki nie leczonego raka pęcherzyka żółciowego, jelita grubego i żołądka, który

przy braku leczenia mógł wzrastać w organizmie nawet kilka lat, zanim doprowadził do zgonu. Jak zinterpretować identyczność reakcji mięszu szyszynki na ogólnoustrojowe zaburzenia metabolizmu związane z rozrostem nowotworu złośliwego i przewlekłe niedotlenienie w przebiegu chorób układu krążenia? Prawdopodobnie możliwości reakcji szyszynki na zaburzenia funkcji całego organizmu są do pewnego stopnia ograniczone i wyrażają się jedynie uprzednio opisanymi, uchwytnymi w badaniu morfologicznym, zmianami. W dwu przypadkach chorych z licznymi przerzutami nowotworu, zarówno do narządów wewnętrznych, jak i do ośrodkowego układu nerwowego stwierdzono przerzut również do mięszu szyszynki. Khelinsky (1969) w swoim materiale także obserwował przerzuty, natomiast Hajdu i wsp. (1972) nie stwierdzili w mięszu szyszynki nacieków anaplastycznych komórek układu chłonnego w przypadkach jego złośliwego rozrostu, a Rodin i Overall (1967) nie znaleźli przerzutów ani raka ani nowotworów nienabłonkowych.

Za opracowanie statystyczne danych liczbowych dziękuję Panu mgr inż. W. Szymkowiakowi.

СТРОЕНИЕ ШИШКОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЛЮДЕЙ УМЕРШИХ ПО ПОВОДУ НОВООБРАЗОВАНИЯ

Резюме

В статье сопоставлены масса и строение паренхимы 83 шишковидных желез людей, у которых при помощи секционного исследования констатировано злокачественную опухоль с массой и строением шишковидных желез 97 больных умерших по поводу других болезней. Не констатировано разниц между обеими группами как в массе и строении, так и в частоте выступления в паренхиме шишковидной железы гиперплазии соединительной ткани и невроглии, песчаных зерен, волокон Розенталя и кист.

STRUCTURE OF PINEAL GLAND OF PATIENTS DIED OF MALIGNANT NEOPLASMS

Summary

The weight and structure of pineal gland were checked in 83 patients suffering from neoplastic diseases and compared with those in 97 ones died of other disorders. The pineal glands of both groups failed to show any differences in weight, structure, frequency of connective tissue and neurogia proliferation, psammomatous bodies, Rosenthal fibres and cysts.

PIŚMIENICTWO

1. Anisimow B. H., Morozow B., Xabincen B. X., Dil'man V. M.: Comparison of the anti-tumor activity of extracts of the epiphysis and hypothalamus, melatonin with transplanted mammary cancer. *Vopr. Onkol.*, 1973, 19, 99-101.

2. Barone R. M., Abe R., Das Gupta T. K.: Pineal ablation in the methylcholanthrene-induced fibrosarcoma. *Surg. Forum*, 1972, 23, 115 - 116.
3. Bergmann W., Engel P.: Ueber den Einfluss von Zirbelextrakten auf Tumoren bei weissen Mäusen und bei Menschen. *Wien. Klin. Wschr.*, 1950, 62, 79 - 82.
4. Cohen M., Lippman M.: Role of pineal gland in aetiology and treatment of breast cancer. *Lancet*, 1978, 14, 814 - 816.
5. Das Gupta T. K., Terz J.: Influence of pineal gland on the growth and spread of melanoma in the hamster. *Cancer Res.*, 1967, 27, 1306 - 1311.
6. Das Gupta T. K., Terz J.: Influence of pineal body on melanoma of hamsters. *Nature*, 1967, 213, 1038 - 1040.
7. Drexler J., Meaney T., McCormack L. J.: The calcified pineal body and carcinoma. *Cleve. Clin. Q.*, 1957, 24, 242 - 247.
8. El Domeiri A. A. H., Das Gupta T. K.: Reversal by melatonin of the effect of pinealectomy on tumor growth. *Cancer*, 1973, 33, 2830.
9. Kutscherenko B.: Über die Veränderungen der Zirbeldrüse (Epiphysis cerebri) bei bösartigen Geschwülsten. *Z. Krebsforsch.*, 1943, 54, 189 - 195.
10. Hajdu S. I., Porro R. S., Lieberman P. H., Foote F.: Degeneration of the pineal gland of patients with cancer. *Cancer*, 1972, 29, 706 - 709.
11. Legait H., Legait E.: Contribution a l'étude de la glande pinéale humaine. Étude faite a l'aide de 747 glandes. *Bull. Assoc. Anat.*, (Nancy), 1977, 61, 115 - 121.
12. Ostroumowa M. N., Anisimov V. N., Syromyatnicov A. A., Dil'man V.M.: A decreased extraction of antigonadotropic factor in patients with cancer of the uterine cervix and prostatic gland. Antitumor effect of epiphyseal extract in the experiment. *Vopr. Onkol.*, 1976, 22, 39 - 43.
14. Rodin A. E.: The growth and spread of Walcer 256 carcinoma in pinealectomized rats. *Cancer Res.*, 1963, 23, 1545 - 1548.
15. Rodin A. E., Overall J.: Statistical relationship of weight of the human pineal to age and malignancy. *Cancer*, 1967, 20, 1203 - 1214.
16. Sander G., Schmid S.: Ueber die Wirkung von Epiphysenimplantationen und Epiphysen-extrakten bei menschlichen malignen Tumoren. *Wien. Klin. Wschr.*, 1952, 64, 505 - 508.
16. Svet-Moldavsky G. J., Veskova T.K., Slavina E. G., Bychkov M. B., Pervodchikova N. I., Lichynister M. R., Trapeznicov N. N., Javorsky V., Muscoedova S. N., Ravkina L. I.: An attempt of treatment of malignant melanoma with bovine pineal tissue. *Biomedicine*, 1976, 25, 7 - 10.
17. Tapp E., Blumfield M.: The weight of the pineal gland in malignancy. *Br. J. Cancer*, 1970, 24, 67 - 70.

Adres autorki: Zakład Patomorfologii Instytutu Biostruktury Akademii Medycznej, ul. Chałubińskiego 5, 02-004 Warszawa

MAGDALENA ROSSOWSKA, LEILI KHACHATRIAN

EFFECT OF HYPOXIA ON NOREPINEPHRINE UPTAKE
AND ACTIVITY OF $(\text{Na}^+ - \text{K}^+) - \text{ATPase}$ IN SYNAPTOSOMES

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

The reuptake of norepinephrine (NE) into synaptosome is known to play a major role in terminating the action of NE at synaptic functions (Malinoff, Axelrod, 1971). The mechanism by which NE is transported across the synaptosomal membrane is not yet clearly understood. The uptake of catecholamines requires physiological concentrations of Na^+ and K^+ (Colburn et al., 1968), is inhibited by metabolic inhibitors and depressed by ouabain (White et al., 1971). It has been postulated that active transport of NE depends on the structural integrity of the synaptosomal membrane (Sun, 1974) and is regulated by $(\text{Na}^+ - \text{K}^+) - \text{ATPase}$ (Logan, O'Donovan, 1976). Other results indicate that $(\text{Na}^+ - \text{K}^+) - \text{ATPase}$ is involved indirectly as the energy source for the ion gradient (Rotman, 1977).

It has been previously reported that experimental hypoxia results in structural and functional changes in membrane function (Rossowska, 1980). The present study shows the effect of experimental hypoxia on the $(\text{Na}^+ - \text{K}^+) - \text{ATPase}$ activity and the uptake of norepinephrine in isolated synaptosomes.

MATERIALS AND METHODS

Animals. Guinea pigs weighing about 250 g were used in all experiments. Animals were subjected to 60 min experimental hypoxia in a chamber with continuous flow of a gas mixture containing 5% O_2 and 95% N_2 , then decapitated and the brains were immediately removed. The control animals were decapitated and the brains were taken immediately for biochemical preparation.

Synaptosomal fraction. Synaptosomes were prepared from the cerebral cortex according to the method of Whittaker and Barker (1972).

Uptake studies. The incubation buffer was freshly prepared before each experiment and consisted of 150 mM NaCl, 3.6 mM KCl, 1.3 mM MgSO₄, 1.5 mM CaCl₂, 10 mM glucose, 20 mM Tris, and 1.5 mM KH₂PO₄ adjusted to pH 7.4 with maleic acid. The synaptosomal suspension (2 mg of protein) was then added to the buffer. The uptake was initiated by addition of the radioactive L-[7-³H] norepinephrine hydrochloride (sp. activity 9.1 Ci/nmol) at the final concentration of 1×10^{-7} and the mixture incubated at 37°C for 10 min. After incubation the synaptosomes were quickly rinsed in non labelled medium and placed on a 0.45 μm millipore filter. Specific accumulation was calculated by subtracting the values of (³H) NE uptake at 0°C from the incubation at 37°C.

(Na⁺—K⁺)—ATPase assay. To study the effect of NE and EGTA on (Na⁺—K⁺)—ATPase activity the synaptosomal fractions were preincubated for 10 min in the assay mixture in the absence of ATP-Tris solution, with or without NE (final concentration 10⁻⁷ M) and EGTA (2 mM). The final volume of the enzyme mixture was 1 ml and contained 20 mM Tris-HCl pH 7.4, 5 mM MgCl₂, 5 mM KCl, 100 mM NaCl, 5 mM ATP-Tris and 0.2 mg of fraction protein. Incubation was carried on for 15 min at 37°C. The reaction was stopped by addition of 1 ml of 10% TCA. The increment of the activity following the addition of Na⁺ and K⁺ was considered as the (Na⁺—K⁺)—ATPase activity.

Phosphate was estimated by the method of Fiske-Subbarow (1925). The enzyme activity is expressed in μmoles Pi/h/mg of protein. Protein was estimated by the method of Lowry et al. (1951).

RESULTS AND DISCUSSION

The effect of norepinephrine on (Na⁺—K⁺)—ATPase activity is shown for the synaptosomes isolated from control and hypoxic animals (Fig. 1). The stimulation of (Na⁺—K⁺)—ATPase activity in the presence of norepinephrine was observed only in control synaptosomes, but not in synaptosomes isolated from hypoxic animals. There was no further significant effect of EGTA on the activity of (Na⁺—K⁺)—ATPase in both control and hypoxic synaptosomes.

As shown in Table 1, hypoxia had no effect on the NE uptake, and similar results were observed when incubations were carried out in a nominal calcium-free medium. However, the addition of 2 mM EGTA strongly inhibited the NE uptake in both control and hypoxic synaptosomes.

It was previously reported that (Na⁺—K⁺)—ATPase activity from the brain cortex synaptosomal membranes is not affected by oxygen deprivation (Rossowska, 1979). The literature data (Godfraind et al., 1974; Logan, O'Donovan, 1976) indicate that catecholamines stimulate (Na⁺—

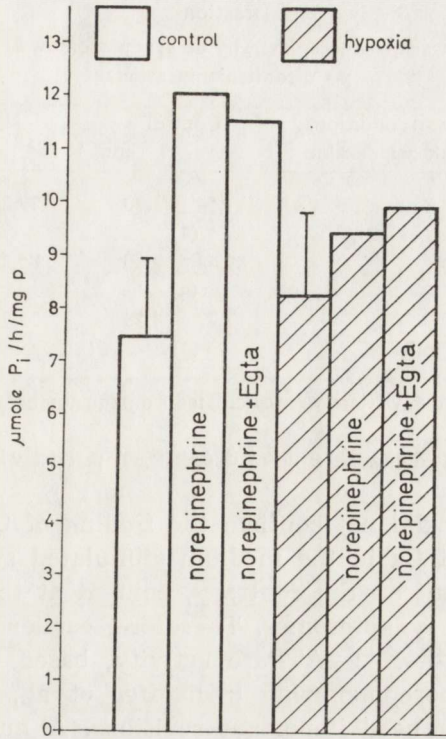


Fig. 1. Effect of norepinephrine and EGTA on the (Na^+-K^+) -ATPase activity in the control and hypoxic synaptosomal fractions

Wpływ norepinefryny i EGTA na aktywność (Na^+-K^+) -ATPazy we frakcji synaptosomalnej kontrolnej i uzyskanej po niedotlenieniu zwierząt

K^+)-ATPase. It has been proposed that catecholamines may act by chelating the divalent Ca cations (Schaeffer et al., 1974). Colburn et al. (1968) reported that the absence of calcium in the medium results in an increase of norepinephrine uptake by synaptosomes. Godfraind et al. (1974) suggested that norepinephrine stimulation of (Na^+-K^+) -ATPase in rat brain homogenate is an indirect process mediated by the stimulation of a cellular calcium sequestering mechanism. On the other hand, Logan and O'Donovan (1976), who reported the stimulatory effect of NE on cortical synaptic membrane (Na^+-K^+) -ATPase, suggested that norepinephrine is directly involved in the amine carrier.

Reported in the present paper different effects of hypoxia *in vivo* and of EGTA *in vitro* on the ATPase activity and NE uptake in synaptosomes indicate that the stimulation of (Na^+-K^+) -ATPase activity by NE does not depend on the NE uptake. This may suggest, contradictory to Logan and O'Donovan (1976), that there is no direct coupling between (Na^+-K^+) -ATPase and NE uptake.

On the other hand these data are indicative of an important role of some divalent cations in the function of norepinephrine membrane com-

Table 1. Effect of Ca^{2+} and EGTA on the NE-uptake in the control and hypoxic synaptosomal fractions

Wpływ Ca^{++} i EGTA na transport norepinefryny do synaptosomów kontrolnych oraz uzyskanych po niedotlenieniu zwierząt

Experimental conditions Warunki doświadczalne	Control cpm $\times 10^3$	Hypoxia
+ CaCl_2	77,54 \pm 13,30 (4)	79,26 \pm 15,06 (4)
- CaCl_2	89,44 \pm 19,80 (4)	85,25 \pm 19,50 (4)
- CaCl_2 + EGTA 2 mM	17,79 \pm 4,58 (4)	23,94 \pm 3,96 (4)

Means \pm the standard deviations were calculated from the number of determinations indicated in parentheses

Średnie \pm S. D. były obliczone z ilości doświadczeń przedstawionych w nawiasach

plexes. Our results did not confirm the finding of Colburn et al. (1968) that the absence of Ca in the medium stimulated synaptosomal norepinephrine uptake, but on the contrary, pointed at the importance of Ca for NE uptake by synaptosomes. Therefore, earlier explanations of the mechanism of $(\text{Na}^+ - \text{K}^+) - \text{ATPase}$ activity, based on the modification of Ca levels by norepinephrine (Schaeffer et al., 1974; Godfraind et al., 1974) obviously need important revisions. A number of alternative mechanisms may be suggested by which the amine/metal ion complex may regulate the cellular function (Coyne, 1979).

Since the mechanism of $(\text{Na}^+ - \text{K}^+) - \text{ATPase}$ stimulation by norepinephrine remains unknown, it is difficult to explain the suppression of this effect in hypoxic synaptosomes. Hypoxia obviously influences many structural and functional properties of the membrane, but further studies are required in order to ascertain how brain hypoxia modifies the interactions of synaptosomal membranes with neurotransmitters.

WPŁYW NIEDOTLENIENIA NA TRANSPORT NOREPINEFRYNY I AKTYWNOŚĆ $(\text{Na}^+ - \text{K}^+) - \text{ATPazy}$ WE FRAKCJI SYNAPTOSOMALNEJ

Streszczenie

Dane z literatury wskazują, że aktywny transport norepinefryny jest ściśle związany i regulowany przez $(\text{Na}^+ - \text{K}^+) - \text{ATPazę}$. Badania nasze wskazują, że niedotlenienie zwierząt (mieszaniną gazową zawierającą 5-6% O_2 w azocie w ciągu 1 godz) nie powoduje istotnych zmian w transporcie norepinefryny do synaptosomów uzyskanych z homogenatów kory mózgu. Norepinefryna natomiast, w przypadku synaptosomów uzyskanych od zwierząt kontrolnych, powodowała znaczny wzrost aktywności $(\text{Na}^+ - \text{K}^+) - \text{ATPazy}$; nie obserwowano natomiast tego efektu w przypadku synaptosomów uzyskanych od zwierząt niedotlenionych.

W przeciwieństwie do badań innych autorów nie stwierdzono wpływu EGTA

na aktywność (Na^+-K^+) -ATPazy, obserwowano natomiast znaczną inhibicję transportu norepinefryny zarówno do synaptosomów kontrolnych, jak i uzyskanych po niedotlenieniu zwierząt.

Badania wskazują na brak korelacji pomiędzy aktywnością (Na^+-K^+) -ATPazy a transportem norepinefryny do synaptosomów uzyskanych z homogenatu kory mózgu. Natomiast obserwowana 60% inhibicja transportu norepinefryny do synaptosomów przez EGTA świadczy o istotnej roli kationów dwuwartościowych w regulacji badanego transportu.

ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ НА ТРАНСПОРТ НОРЭПИНЕФРИНА И АКТИВНОСТЬ (Na^+-K^+) -АТФАЗЫ В СИНАПТОСОМАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ

Резюме

Данные из литературы показывают, что активный транспорт норэпинефрина тесно связан и регулируется (Na^+-K^+) -АТФазой. Исследования авторов показали, что гипоксия животных (газовой смесью содержащей 5–6% O_2 в азоте в течение 1 часа) не вызывает существенных изменений в транспорте норэпинефрина в синапсосомы полученные из гомогенатов коры головного мозга. Зато норэпинефрин, в случае синапсосом полученных от контрольных животных, вызывал значительный рост активности (Na^+-K^+) -АТФазы, но авторы не наблюдали этого эффекта в случае синапсосом полученных от недоокисленных животных.

В противоположность исследованиям других авторов не констатировано влияния EGTA на активность (Na^+-K^+) -АТФазы, авторы наблюдали значительное замедление транспорта норэпинефрина как в контрольные синапсосомы, так и в полученные после гипоксии животных.

Исследования указывают на отсутствие корреляции между активностью (Na^+-K^+) -АТФазы и транспортом норэпинефрина в синапсосомы полученные из гомогенатов коры головного мозга. Зато наблюдаемое 60% замедление транспорта норэпинефрина в синапсосомы через EGTA свидетельствует о существенной роли двухвалентных катионов в регуляции исследуемого транспорта.

REFERENCES

1. Colburn R. W., Goodwin F. K., Murphy D. L., Bunny W. E., Davis J. M.: Quantitative studies of norepinephrine uptake by synaptosomes. *Biochem. Pharmacol.*, 1968, 17, 957 - 964.
2. Coyne L. M.: Neurotransmitters as ion shuttles in regulation of neural activity. *J. Theor. Biol.*, 1979, 79, 455 - 472.
3. Fiske G. H., Subbarow J.: The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 1925, 66, 375 - 400.
4. Godfraind T., Koch M. Ch., Verbeke N.: The action of EGTA on the catecholamine stimulation of rat brain $(\text{Na}-\text{K})$ -ATPase. *Biochem. Pharmacol.*, 1974, 23, 3505 - 3511.
5. Logan J. G., O'Donovan D. J.: The effects of ouabain and the activation of neural membrane ATPase by biogenic amines. *J. Neurochem.*, 1976, 27, 185 - 189.
6. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. L.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, 193, 265 - 275.
7. Malinoff P. B., Axelrod J.: Biochemistry of catecholamines. *Ann. Rev. Biochem.*, 1971, 40, 465 - 500.

8. Rossowska M.: Studies on the glycoprotein component of $(\text{Na}^+-\text{K}^+)-\text{ATPase}$ from the brain. *Neurochem. Res.*, 1979, 4, 721 - 729.
9. Rossowska M.: Role of glycoproteins in the uptake of L-(^{14}C) leucine by synaptosomal fraction. *J. Neurosci. Res.*, 1980, 5, 265 - 270.
10. Rotman A.: The effect of phospholipase C, phospholipase A_2 and neuramidase on the uptake of [^3H] norepinephrine and [^3H] serotonin by rat brain synaptosomes. *J. Neurochem.*, 1977, 28, 1369 - 1372.
11. Schaeffer A., Seregi A., Komlos M.: Ascorbic acid-like effect of the soluble fraction of rat brain on adenosine triphosphates and its relation to catecholamines and chelating agents. *Biochem. Pharmacol.*, 1974, 23, 2257 - 2271.
12. Sun A. Y.: The effect of phospholipases on the active uptake of neorepinephrine by synaptosomes isolated from the cerebral cortex of guinea pig. *J. Neurochem.*, 1974, 22, 551 - 556.
13. White T. D., Keen P.: Effect of inhibitors of (Na^+-K^+) -dependent adenosine triphosphatase on the uptake of norepinephrine by synaptosomes. *Mol. Pharmac.*, 1971, 7, 40 - 45.
14. Whittaker V. P., Barker L. A.: The subcellular fractionation of brain tissue with special reference to the preparation of synaptosomes and their component organelles. In: *Methods in Neurochemistry*. Vol. 2. Ed. R. Fried. Marcel Dekker, New York, 1972, 1 - 52.

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

URSZULA WYSMYK-CYBULA

ZAWARTOŚĆ KWASU γ -AMINOMASŁOWEGO (GABA) W MÓZGU SZCZURA W DOŚWIADCZALNEJ ENCEFALOPATII WĄTROBOWEJ

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej
i Klinicznej PAN

Encefalopatia wątrobowa zarówno w warunkach klinicznych, jak i we wszelkich modelach doświadczalnych, jest przyczynowo związana z podwyższonym stężeniem amoniaku w surowicy krwi. Na patogenną rolę amoniaku zwracało uwagę wielu autorów (Adams, Foley, 1953; Mc Dermot, Adams, 1954; Bessman, Bessman, 1955). W warunkach normy amoniak jest szybko metabolizowany na drodze reduktywnej aminacji α -ketoglutaranu do glutaminianu, a następnie w wyniku ATP-zależnej amidacji do glutaminy (Mc Ilwain, Bachelard, 1971). W świetle znanych z literatury przesunięć w poziomie poszczególnych enzymów, substratów i produktów w cyklu syntezy glutaminy, pojawiających się w warunkach encefalopatii wątrobowej, można było założyć powstanie zaburzeń na biochemicznej odnodze tego cyklu, prowadzącej do syntezy kwasu γ -aminomasłowego (GABA). Biorąc pod uwagę właściwości GABA jako neurotransmitera hamującego, wydawało się celowe przebadanie jego poziomu w mózgu w warunkach encefalopatii wątrobowej. Aczkolwiek dotychczasowe fragmentaryczne dane nie wskazują na zmiany w globalnej zawartości tego związku, wiadomo, że w mózgu jego rozkład jest nierównomierny (Goetcheus i wsp., 1965; Hindfelt i wsp., 1977). Szlaki GABA-ergiczne związane są wybiórczo z niektórymi strukturami w mózgu. Do struktur tych należą zwłaszcza: substancja czarna, gałka biała, skorupa i podwzgórze. Kora mózgu natomiast, charakteryzuje się niewielką zawartością GABA (Fahn, 1976). Stąd w niniejszej pracy postanowiono przebadać poziom GABA oddzielnie w korze mózgowej, a oddzielnie w substancji czarnej i prądkowiu.

MATERIAŁ I METODY

Do badań używano szczurów rasy Wistar płci męskiej o masie ciała 180—220 g. Encefalopatię wątrobową wywoływano w 2 modelach doświadczalnych: chemicznego uszkodzenia wątroby i zespolenia żylnego. W modelu chemicznego uszkodzenia wątroby podawano trioacetamid w roztworze soli fizjologicznej (1g/10 ml), w dawce 250 g/kg wagi ciała (Holm i wsp. 1977; Hilgier i wsp., 1982). Związek wstrzykiwano do otrzewnowo, a następnie zwierzęta dekapitowano. Tioacetamid podawano szczurom w odstępach czasowych opisanych w tabeli 2. Zespolenie żyły wrotnej z żyłą główną dolną przeprowadzano według Lee i Fischera (1961). Materiał do badań pobierano po 10 i 21 dniach.

Oznaczanie GABA. Szczury dekapitowano, a poszczególne struktury izolowano na bibule nasączonej solą fizjologiczną i oziębioną suchym lodem. Poziom GABA oznaczano fluorometrycznie, nieznacznie zmodyfikowaną metodą Grahama i Aprisona (1964). Ekstrakcję aminokwasu prowadzono w 75% oziębionym etanolu. Ekstrakty suszono w temperaturze 50°C. Osady rozpuszczano w wodzie destylowanej. Do oznaczeń pobierano 25- μ l porcje wodnego roztworu GABA, które po odparowaniu inkubowano w medium o składzie opisywanym przez autorów metody, z wyjątkiem 5 mM zamiast 1 mM NADP. Inkubację prowadzono w temp. 35°C przez 45 min. Reakcję przerywano przez oziębienie mieszaniny w lodzie, po czym nadmiar NADP degradowano na drodze inkubacji w buforze fosforanowym o pH 11,4 przez 15 min w temp. 60°C. Powstały w reakcji enzymatycznej NADPH przeprowadzano do NADP w reakcji z 0,05% H_2O_2 w temp. 60°C. Fluorescencję produktu reakcji mierzono w spektrofluorymetrze Aminco Bowman przy długości fali wzbudzenia 365 nm i emisji 465 nm. Wyniki wyrażano w μ molach GABA na g świeżej tkanki.

WYNIKI I OMÓWIENIE

Doświadczenia wykazały, że w obu modelach encefalopatii wątrobowej dochodzi do zmian w poziomie GABA. Zmiany te dotyczyły dwu spośród trzech przebadanych struktur: kory mózgowej i prądkowia. Niezadawalająca powtarzalność oznaczeń w substancji czarnej (trudności z pobieraniem materiału) uniemożliwiła dokonanie statystycznej oceny wyników.

Jak wynika z tabeli 1, w modelu zespolenia wrotno-układowego, w 10 dniu trwania doświadczenia zaobserwowano ponad 100% wzrost stężenia GABA w korze mózgowej oraz niewielki, lecz statystycznie znaczny wzrost ilości tego związku w prądkowiu. Wszystkie te zmiany ustępowały jednak w 21 dniu od momentu zespolenia. Wyniki te wyda-

Tabela 1. Poziom GABA w mózgu szczura w następstwie zespolenia wrotno-układowego
The GABA level in the rat brain following portocaval shunt

Czas trwania zespolenia Duration of shunt	Grupa Group	Zawartość GABA (μ mole/g świeżej tkanki) GABA concentration (μ moles/g w.w.)					
		kora cortex			prążkowie striatum		
		$\bar{x} \pm$ sD	(n)	P	$\bar{x} \pm$ sD	(n)	P
10 dni (days)	Kontrolna Control	1,25 \pm 0,21	(5)	$\leq 0,01$	5,60 \pm 0,41	(6)	$< 0,05$
	Doświadczalna Experimental	2,82 \pm 0,35	(6)		6,21 \pm 0,47	(6)	
21 dni (days)	Kontrolna Control	1,93 \pm 0,29	(6)	$> 0,05$	3,30 \pm 0,41	(5)	$> 0,05$
	Doświadczalna Experimental	1,99 \pm 1,99	(5)		3,60 \pm 0,49	(6)	

n — liczba zwierząt number of animals; P — prawdopodobieństwo probability; $\bar{x} \pm$ sD — średnia arytmetyczna \pm odchylenie standardowe arithmetic mean \pm standard deviation

ły się godne uwagi na tle danych obrazujących zmiany stężeń metabolitów cyklu detoksykacji amoniaku, uzyskanych w doświadczeniach prowadzonych w tym samym modelu doświadczalnym. Udowodniono między innymi, że w trakcie trwania zespolenia po 14 dniach dochodzi do nagromadzenia się amoniaku oraz do stałego wzrostu stężenia glutaminy (Hilgier 1981), której poziom według Duffy'ego i wsp. (1974) jest wykładnikiem zawartości amoniaku i wzrasta proporcjonalnie.

Biorąc pod uwagę powyższe dane można przypuszczać, że w początkowym okresie pozawątrobowego przepływu krwi wrotnej, gromadząca się na skutek wzmożonego dopływu amoniaku glutamina zasila szybko metabolizującą się małą pulę glutamianu, zużywaną następnie do syntezy GABA. Koncepcja ta znajduje swoje potwierdzenie w obserwacji Hilgiera (1980), że encefalopatii towarzyszy niezmienny poziom glutamianu. Brak zmian w poziomie GABA w późniejszym okresie może pozostawać w związku przyczynowym ze zwiększonym poziomem amoniaku oraz glutaminy (Hilgier 1981). Przypuszczalnie amoniak obciąża częściowo pulę glutamianu, biorąc udział w syntezie GABA. Na poziom GABA w obu okresach mogą wpłynąć zmiany w szybkości jego rozkładu w reakcji katalizowanej przez GABA-aminotransferazę, zachodzącej, według niektórych autorów, w zakończeniach synaptycznych neuronów GABA-ergicznym. Natomiast jak wynika z pracy Sellströma i wsp. (1975), reakcja ta związana jest z frakcją astroglejową. Zagadnienie metabolizmu GABA w komórkach astrogleju stanowi przedmiot odrębnych badań.

Chemiczne uszkodzenie wątroby tioacetamidem powoduje po 24 godz. od podania związku 21% spadek stężenia GABA w korze przy braku sta-

Tabela 2. Poziom GABA w mózgu szczura po podaniu tioacetamidu (TAA).
The GABA level in the rat brain following thioacetamide (TAA) administration

Grupa Group	Związek Compound	Zawartość GABA (μ mole/g świeżej tkanki) GABA concentration (μ moles/g w.w.)					
		kora cortex		P	prążkowie striatum		P
		$\bar{x} \pm sD$	(n)		$\bar{x} \pm sD$	(n)	
I	Sól fizjologiczna Saline	1,27 \pm 0,13	(5)	< 0,05	2,06 \pm 0,22	(5)	> 0,05
	TAA	1,00 \pm 0,16	(6)		1,77 \pm 0,33	(5)	
II	Sól fizjologiczna Saline	1,24 \pm 0,06	(5)	< 0,01	2,43 \pm 0,24	(5)	< 0,05
	TAA	1,46 \pm 0,10	(6)		2,89 \pm 0,38	(6)	
III	Sól fizjologiczna Saline	1,71 \pm 0,12	(5)	> 0,05	3,10 \pm 0,33	(5)	> 0,05
	TAA	1,80 \pm 0,11	(4)		4,08 \pm 0,60	(4)	

Grupa I Jednorazowe podanie, 24 godziny przed dekapitacją

Group I One administration 24h before decapitation

Grupa II Dwa podania z 24 godzinną przerwą i dekapitacja po następnych 24 godzinach

Group II Two administrations, 24h interval, decapitation after next 24h

Grupa III Podawanie jak w grupie II, dekapitacja po tygodniu

Group III Administrations as in Group II, decapitation after one week

$\bar{x} \pm sD$ — średnia arytmetyczna \pm odchylenie standardowe

arithmetic mean \pm standard deviation

n — liczba zwierząt

number of animals

P — prawdopodobieństwo

probability

tystycznie znamiennych zmian w prążkowie. Dwukrotne podanie tioacetamidu prowadzi do niewielkiego (ok. 18%) wzrostu poziomu w korze i w prążkowie (tab. 2). Wzrost zawartości GABA jest zbliżony w czasie z maksymalną aktywnością dehydrogenazy kwasu glutaminowego oraz syntetazy glutaminy (Hilgier i wsp. 1983), co pozwala sądzić, że mechanizm nagromadzania się GABA powyżej wartości kontrolnych jest w tym modelu podobny do stwierdzonego w przypadku zespolenia wrotno-układowego. W III grupie zwierząt nie zaobserwowano zmian statystycznie znamiennych w żadnej z omawianych struktur. Należy jednak podkreślić, że w modelu chemicznym zmiany w poziomie GABA są bardzo niewielkie w porównaniu np. ze zmianami aktywności enzymów cyklu detoksykacji amoniaku, co wskazywałoby na niewielką rolę tego aminokwasu w patomechanizmie encefalopatii wątrobowej. Uzyskane wyniki nie wykluczają jednak możliwości występowania przesunięć w rozmieszczeniu GABA w jego poszczególnych pulach. Badania nad

zawartością GABA odpowiednio w puli synaptosomalnej i astroglejowej, na istnienie których zwrócili uwagę Sellström i wsp. (1975) oraz Sarhan i Seiler (1979), są w toku.

Autorka składa podziękowanie Panu dr. hab. Janowi Albrechtowi za cenne uwagi i pomoc przy przygotowaniu pracy.

СОДЕРЖАНИЕ γ -АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ (GABA) В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫСЫ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ

Резюме

Сопоставлено влияние экспериментальной печеночной энцефалопатии вызванной в двух моделях (воротной-системного анастомоза и повреждения печени тиоацетамидом) на содержание GABA в областях головного мозга, которых функция связана с этим невромедиатором: в коре, полосатом теле и черном веществе. Констатировано свыше двукратный рост уровня этой аминокислоты в коре и менее значительный рост в полосатом теле в раннем (10 дней) периоде после произведения анастомоза, т. з. в фазе наиболее сильного возбуждения синтеза глутамина, являющегося прекурсором т. наз. малого резерва глутаминовой кислоты — субстрата GABA. Эти изменения в более поздней фазе отступали и доходили до контрольного уровня. В модели химического повреждения печени небольшой (ок. 20%), но достоверный рост уровня GABA выступал параллельно с самой большой интенсивностью изменений в активности ферментов регулирующих уровень глутамина. Обсуждено механизм лежащий в основании изменений в уровне невротрансмиттеров и их роль в патомеханизме печеночной энцефалопатии.

THE γ -AMINOBUTYRIC ACID (GABA) CONTENT IN THE RAT BRAIN IN EXPERIMENTAL HEPATIC ENCEPHALOPATHY

Summary

The influence of experimental encephalopathy produced in two models: the portocaval shunt and the chemical damage of the liver by thioacetamide, on the GABA content was compared in the brain regions of which the activities are related to this neurotransmitter: cortex, striatum and substantia nigra. A more than twofold increase of the amino acid level in the cortex and a less considerable increase in striatum was noted in the early period (10 days) after application of the shunt i. e. at the stage of the most significant increase of the glutamine synthetase activity. This enzyme promotes the synthesis of glutamine — the precursor of the small compartment of glutamine acid — a substrate for GABA synthesis. These changes retreated to the control level at later stages. In the thioacetamide model small (ca 20%) but statistically significant increase of GABA level coincided with the most intense changes in the activities of enzymes controlling the glutamine level. The possible mechanism underlying the changes in the neurotransmitter level and their role in the pathomechanism of hepatic encephalopathy were discussed.

PIŚMIENNICTWO

1. Adams R. D., Foley J. M.: The neurological changes associated with liver disease. Res. Publ. Assoc. Nerv. Ment. Dis., 1953, 32, 198 - 237.
2. Bessman S. P., Bessman A. N.: Cerebral and peripheral uptake of ammonia

- in liver disease with hypothesis for mechanisms of hepatic coma. *J. Clin. Inv.*, 1955, 36, 622 - 628.
3. Duffy T. E., Vegara F., Plum F.: Alfaketoglutaramate in hepatic encephalopathy. [W:] Brain dysfunction in metabolic disorders. Red. F. Plum, Res. Publ. Assoc. Nerv. Ment. Dis., vol. 53, Raven Press, New York 1974, 39 - 52.
 4. Fahn S.: Regional distribution studies of GABA and other putative neurotransmitters and their enzymes. [W:] GABA in nervous system function. Red. E. Roberts, T. N. Chase, D. B. Tower, Raven Press, New York 1976, 169 - 186.
 5. Graham L. T., Aprison M. H.: Fluorometric determination of aspartate, glutamate and γ -aminobutyrate in nerve tissue using enzymic methods. *Anal. Biochem.*, 1966, 15, 487 - 497.
 6. Goetcheus J. S., Leslie T., Webster J. R.: γ -aminobutyrate and hepatic coma *J. Lab. Clin. Med.*, 1965, 65, 257 - 267.
 7. Hilgier W.: Zawartość α -ketoglutaranu i glutaminianu w mózgu szczurów w doświadczalnej encefalopatii wątrobowej. *Neuropat. Pol.*, 1980, 18, 121 - 126.
 8. Hilgier W.: Zawartość amoniaku oraz aktywność syntetazy glutaminy i glutaminazy w mózgu w doświadczalnej encefalopatii wątrobowej. *Neuropat. Pol.*, 1981, 19, 351 - 358.
 9. Hilgier W., Kraśnicka Z., Albrecht J.: Thioacetamide-induced hepatic encephalopathy. I. Preliminary biochemical and morfological characterization of the model. 1983 (w druku).
 10. Hindfelt B., Plum F., Duffy T. E.: Effect of acute ammonia intoxication on cerebral metabolism in rats with portocaval shunts. *J. Clin. Inv.*, 1977, 59, 386 - 395.
 11. Holm E., Striebel J. P., Münzenmaier R., Kattermann R.: Pathogenese der hepatischen Enzephalopathie. *Leber Magen Darm.*, 1977, 7, 241 - 254.
 12. Lee S. H., Fischer B.: Portocaval shunt in the rat. *Surgery*, 1961, 50, 668 - 672.
 13. Mc Dermot W. v., Adams R. B.: Episodic stupor associated with an Eck fistula in the human with particular reference to the metabolism of ammonia. *J. Clin. Inv.*, 1954, 33, 1 - 9.
 14. Mc Ilwain H., Bachelard H. S.: Biochemistry and the nervous system. Williams, Wilkins, Baltimore 1971.
 15. Sarhan S., Seiler N.: Metabolic inhibitors and subcellular distribution of GABA. *J. Neurosci. Res.*, 1979, 4, 399 - 421.
 16. Sellström A., Sjöberg L. B., Hamberger A.: Neuronal and glial system for γ -aminobutyric acid metabolism. *J. Neurochem.*, 1975, 25, 393 - 398.

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

MIROŚLAW B. KOZIK, MAREK PIETRZAK

WPLYW WINKRYSTYNY NA CZYNNOŚĆ NEUROSEKRECYJNĄ PODWZGÓRZA *

Zakład Neuropatologii, Instytut Chorób Układu
Nerwowego i Narządów Zmysłów AM, Poznań

Cytostatyki hamujące syntezę DNA wpływają na cytofizjologię zarówno komórek znajdujących się w cyklu podziałowym, jak i komórek w fazie międzymitotycznej. Szczególne zainteresowanie wywołuje wpływ środków antymitotycznych na komórki nie dzielące się w życiu poza-
płodowym, jakimi są neurocyty. Z wyników dotychczasowych badań znany jest efekt neurotoksyczny niektórych cytostatyków, jak np. winkrystyny (Rosenthal, Kaufman, 1974; Todd i wsp., 1979). Wiadomo również, że stosowanie siarczanu winkrystyny powoduje zaburzenia w gospodarce wodnej ustroju (Jackson i wsp., 1980). Mechanizm patogenetyczny tego zjawiska nie jest dotąd w pełni wyjaśniony. Nie spotkano również w piśmiennictwie szerszego opisu zmian morfologicznych i histochemicznych zachodzących w jądrach neurosekrecyjnych podwzgórza pod wpływem winkrystyny. Dlatego podjęto próbę prześledzenia wpływu tego alkaloidu na komórki o właściwościach zarówno gruczołowych, jak i nerwowych, jakimi są komórki jądra nadwzrokowego i przykomorowego.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na dojrzałych płciowo szczurach rasy Wistar, o ciężarze ciała wynoszącym od 180 do 200 g. Zwierzętom tym wprowadzono dwunastokrotnie, dootrzewnowo, winkrystynę w dawkach po 0,03 mg na kg ciężaru ciała, podawanych co drugi dzień. Grupę kontrolną stanowiło 6 szczurów, którym wprowadzano co drugi dzień dootrzewnowo po 1 ml soli fizjologicznej. Następnie szczury doświadczalne i kontrolne uśmiercano w narkozie eterowej przez przecięcie serca i wy-

* Praca finansowana w ramach problemu węzłowego 10.4.05.3.3

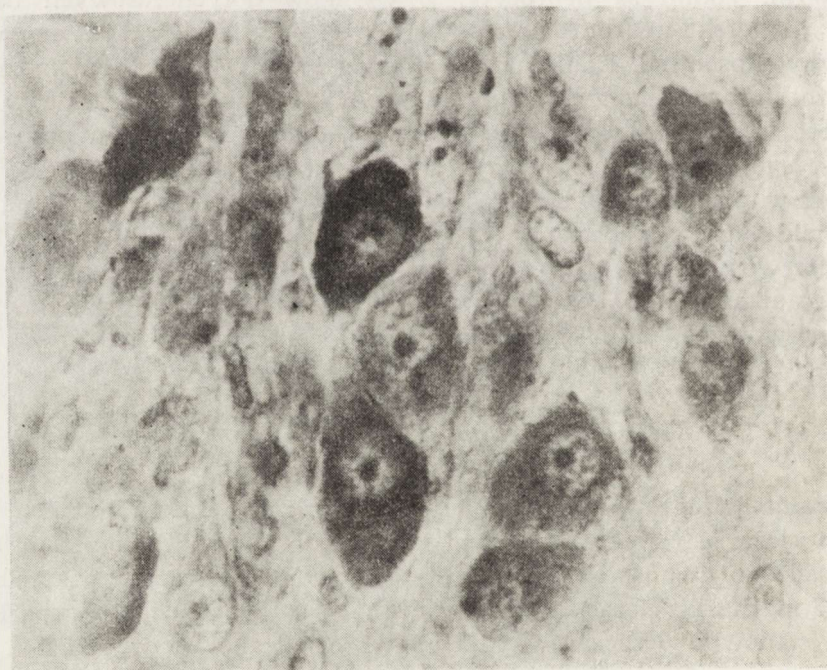
krwawienie. Pobierano mózgowie i przysadkę mózgową, które utrwalano w płynie Zenkera z formaliną oraz zatapiano w parafinie. Skrawki barwiono met. Gomoriego dla wykazania neurosekreту oraz fioletem krezyłu. Wykonywano ponadto reakcję PAS oraz dokonywano pomiarów kariometrycznych neurocytów jądra nadwzrokowego i przykomorowego.

WYNIKI

Jądro nadwzrokowe

Metoda Gomoriego

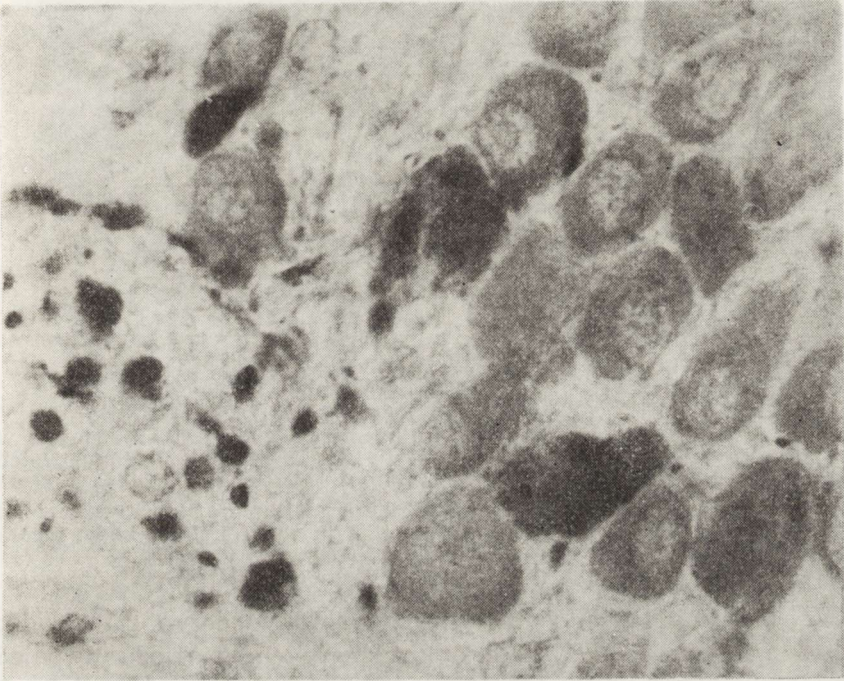
Grupa kontrolna. Komórki tego jądra u zwierząt prawidłowych charakteryzują się umiarkowaną zawartością neurosekreту w cytoplazmie, występującego w postaci drobnego pyłku i ziaren (ryc. 1). Ziarnistości wybarwiającej się metodą Gomoriego zlokalizowane są przeważnie na obwodzie ciała neuronu, często w kształcie pierścieni lub półksiężyców. Niekiedy neurosekreт rozmieszczony jest na dwóch przeciwstawnych biegunach komórki. Część komórek pozbawiona jest całkowicie neurowydzieliny, a niewielka ich liczba ma całą cytoplazmę wypełnioną substancją Gomoriego (ryc. 1).



Ryc. 1. Jądro nadwzrokowe. Grupa kontrolna. Zróżnicowana zawartość neurosekreту w cytoplazmie poszczególnych komórek nerwowych. Gomori. Pow. 1200 \times

Supraoptic nucleus in a control animal. Varying content of neurosecretory substance in the cytoplasm of nerve cells. Gomori. \times 1200

Grupa doświadczalna. Tylko niektóre neurocyty jądra nadwzrokowego zawierają neurosekret w postaci drobnych ziarenek rozsianych w cytoplazmie. Obserwuje się natomiast dość znaczną obecność neurowydzieliny w wypustkach neuronalnych, szczególnie w początkowych odcinkach drogi nadwzrokowo-przysadkowej (ryc. 2). Niekiedy obserwuje się pojedyncze neurocyty, których cytoplazma jest całkowicie wypełniona neurosekretem (ryc. 2).



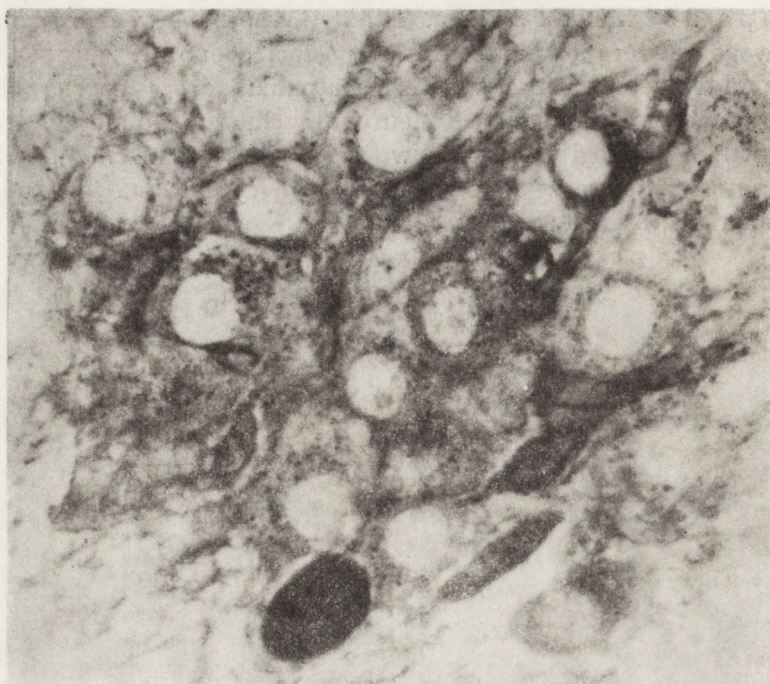
Ryc. 2. Jądro nadwzrokowe. Grupa doświadczalna. Przeważająca liczba neurocytów pozbawiona neurowydzieliny. Nagromadzenie substancji Gomoriego w wypustkach neuronalnych stanowiących początkowy odcinek drogi nadwzrokowo-przysadkowej. Gomori. Pow. 1200 \times

Supraoptic nucleus in an experimental animal. Most of the nerve cells depleted of secretory substance. Gomori-positive substance accumulated in the nerve processes forming the proximal portion of the supraoptic-hypophysial tract. Gomori. \times 1200

Reakcja PAS

Grupa kontrolna. W cytoplazmie większości neurocytów odczyn PAS występuje w postaci drobnych ziaren, zlokalizowanych w pobliżu błony jądrowej (ryc. 3). Ziarna PAS-dodatnie skupione są często po jednej stronie jądra komórkowego w postaci półksiężyca. Reakcja PAS widoczna jest ponadto w wypustkach neuronalnych w postaci różnej wielkości kul (ryc. 3) i nieregularnych skupień.

Grupa doświadczalna. Znaczna liczba neurocytów pozbawio-



Ryc. 3. Jądro nadwzrokowe. Grupa kontrolna. Drobne ziarna PAS-dodatnie w cytoplazmie oraz intensywna reakcja PAS w kuli Herringa. McManus-Hotchkiss. Pow. 1200 ×

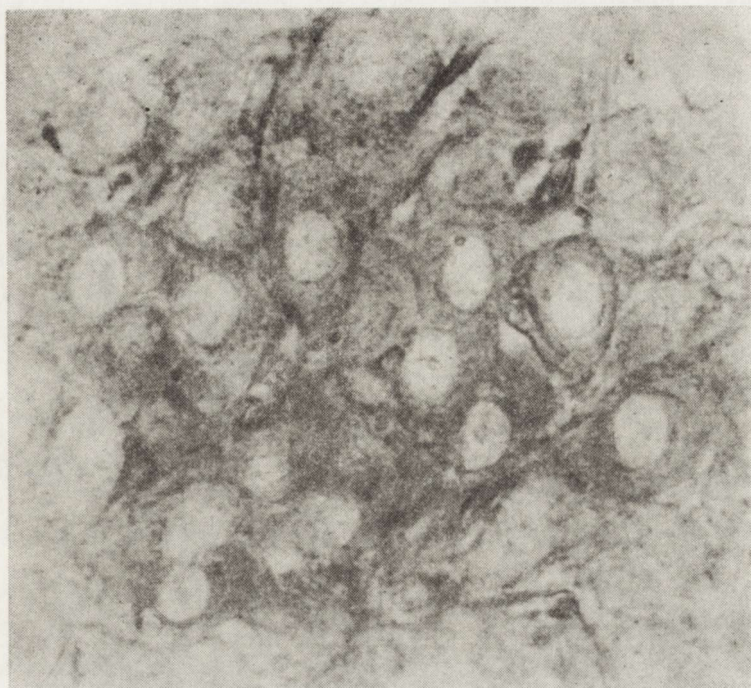
Supraoptic nucleus in a control animal. Fine granular PAS-positive material in the neuronal cytoplasm. Intensive PAS reaction in the Herring's body. McManus-Hotchkiss. × 1200

na jest substancji PAS-dodatniej (ryc. 4). Silny odczyn PAS widoczny jest natomiast w ścianach naczyń krwionośnych. Niekiedy w pojedynczych obkurczonych neurocytach występuje intensywna reakcja PAS w postaci homogennej. W porównaniu z grupą kontrolną obserwuje się znaczny ubytek substancji PAS w wypustkach komórek nerwowych (ryc. 3, 4).

Barwienie fioletem krezyłu

Grupa kontrolna. Substancja Nissla w neurocytach jądra nadwzrokowego występuje głównie na obwodzie ciała neuronu w postaci drobnego pyłku. W części neuronów substancja Nissla zgromadzona jest na dwóch przeciwległych biegunach komórki. Ponadto intensywne zabarwienie fioletem krezyłu przejawia jąderko.

Grupa doświadczalna. Po 12-krotnym wprowadzeniu winykrystyny zawartość substancji Nissla w zasadzie nie ulega zmianie. W tych warunkach doświadczalnych pojawiają się natomiast pojedyncze neurony, wykazujące zmiany zwyrodnieniowe o cechach schorzenia przewlekłego Nissla. Zmianom tym towarzyszy rozrost oligodendroglu.



Ryc. 4. Jądro nadwzrokowe. Grupa doświadczalna. Ubytek substancji PAS w perikarionach i wyraźna reakcja PAS-dodatnia w ścianach naczyń krwionośnych. McManus-Hotchkiss. Pow. 1200 X

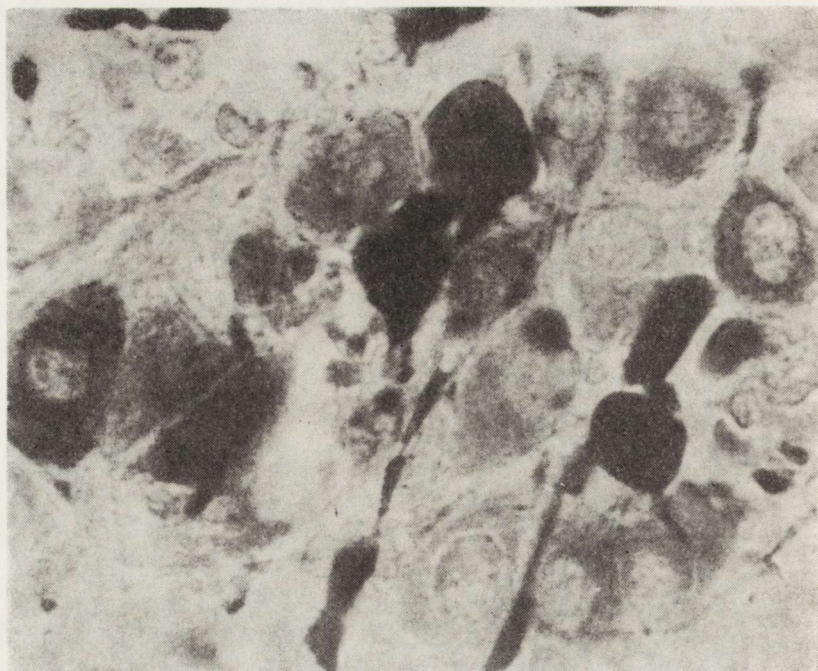
Supraoptic nerve in an experimental animal. Deficient PAS reaction in the neuronal perikarya. Strong PAS reaction in the wall of the blood vessels. McManus-Hotchkiss. X 1200

Jądro przykomorowe

Metoda Gomoriego

Grupa kontrolna. Zawartość neurosekreту w cytoplazmie komórek jądra przykomorowego jest zróżnicowana (ryc. 5). Obok neurocytów zawierających liczne ziarnistości barwiące się metodą Gomoriego spotyka się neurony z niewielką ilością neurowydzieliny oraz komórki pozbawione neurosekreту. W wypustkach neuronalnych jądra przykomorowego widoczna jest dość obfita zawartość neurosekreту w postaci ziaren, grudek, kul i nieregularnych skupień (ryc. 5).

Grupa doświadczalna. Stosowanie winkrystyny prowadzi do znacznego ubytku neurosekreту w cytoplazmie komórek jądra przykomorowego (ryc. 6). Większość neurocytów pozbawiona jest neurowydzieliny, a w niewielkiej tylko liczbie komórek można zaobserwować drobne ziarenka neurosekreту rozmieszczone na obwodzie cytoplazmy. Natomiast w wypustkach neuronalnych zawartość neurosekreту nie ulega zmianie w porównaniu z grupą kontrolną (ryc. 6).



Ryc. 5. Jądro przykomorowe. Grupa kontrolna. Zróżnicowana zawartość neurosekretu w cytoplazmie i w wypustkach neuronalnych. Gomori. Pow. 1200 \times
 Paraventricular nucleus in a control animal. Differences in the contents of neurosecretory substance in neuronal perikarya and processes. Gomori. \times 1200

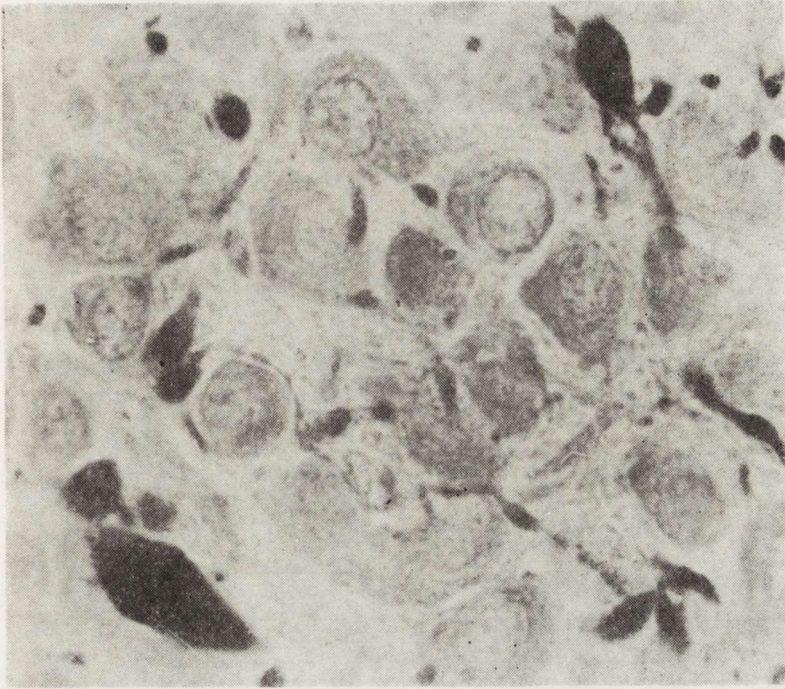
Reakcja PAS

Grupa kontrolna. W niewielkiej liczbie neuronów udaje się zaobserwować skąpe ziarnistości PAS-dodatnie skupione w pobliżu błony jądrowej lub rozmieszczone w całej cytoplazmie. Natomiast w wypustkach neuronalnych odczyn PAS jest ujemny.

Grupa doświadczalna. Po dwunastokrotnej iniekcji winkrystyny praktycznie zanika odczyn PAS w niezmienionych komórkach nerwowych jądra przykomorowego. Gdziekolwiek tylko udaje się dostrzec kilka drobnych ziaren w cytoplazmie, dających reakcję z odczynnikiem Schiffa. W przeciwieństwie do neurocytów morfologicznie niezmienionych, komórki wykazujące cechy zwyrodnienia w postaci schorzenia przewlekłego Nissla cechują się intensywną homogeną reakcją PAS w obrębie całej cytoplazmy. Podobnie jak u szczurów kontrolnych wypustki neuronalne tego jądra pozbawione są substancji PAS.

Barwienie fioletem krezyłu

Grupa kontrolna. Podobnie jak w jądrze nadwzrokowym substancja Nissla w neurocytach jądra przykomorowego skupiona jest głównie na obwodzie cytoplazmy w postaci homogennej lub w postaci



Ryc. 6. Jądro przykomorowe. Grupa doświadczalna. Znaczny ubytek neurosekretu w cytoplazmie komórek nerwowych z wyraźną obecnością neurowydzieliny w wypustkach. Gomori. Pow. 1200 \times

Paraventricular nucleus in an experimental animal. Depletion of neurosecretory substance in the perikaryal cytoplasm of nerve cells and its accumulation in the processes. Gomori. \times 1200

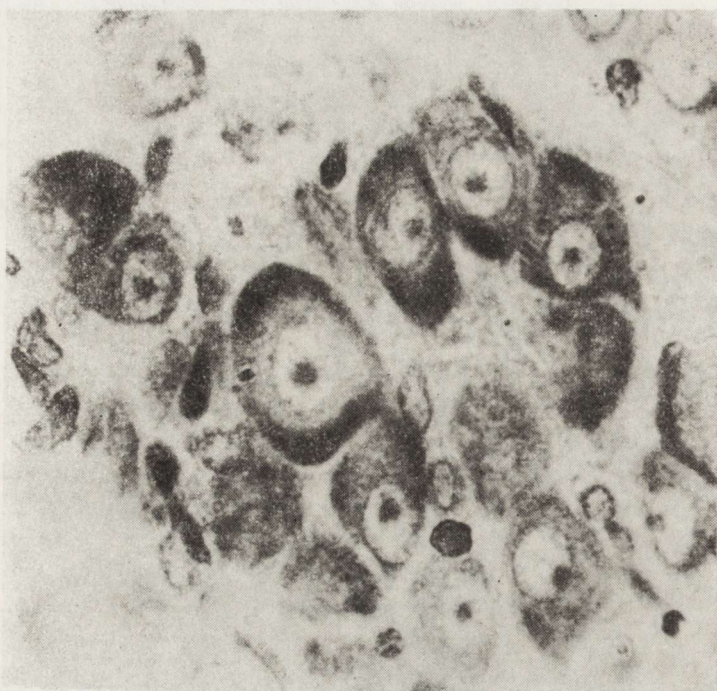
drobnych ziaren (ryc. 7). Obszar cytoplazmy bezpośrednio sąsiadujący z jądrem komórkowym pozbawiony jest zwykle tigroidu.

Grupa doświadczalna. Wprowadzenie winkrystyny nie powoduje zmian w zawartości i rozmieszczeniu substancji Nissla, dochodzi natomiast do pojawienia się w niewielkiej liczbie neuronów zmian zwyrodnieniowych w postaci obkurczenia ciała neuronu (ryc. 8). Wokół tak zmienionych neurocytów ma miejsce wyraźny rozrost oligodendrogleju.

Nerwowa część przysadki mózgowej

Grupa kontrolna. W stanach prawidłowych zawartość neurosekretu w nerwowej części przysadki jest dość obfita. Neurowydzielina widoczna jest tu w postaci licznych ziaren, grudek i kulistych lub nieregularnych skupień nagromadzonych często w pobliżu ścian naczyń. Część substancji barwiącej się metodą Gomoriego wykazuje także wyraźną reakcję PAS.

Grupa doświadczalna. Podobnie jak u szczurów grupy kontrolnej, neurosekret u zwierząt doświadczalnych widoczny jest w ner-



Ryc. 7. Jądro przykomorowe. Grupa kontrolna. Obwodowe rozmieszczenie substancji Nissla w postaci homogennych skupień. Fiolet krezyłu. Pow. 1200 ×
 Paraventricular nucleus in a control animal. Peripheral distribution of the tigroid in the form of homogeneous accumulation. Cresyl violet. × 1200

wowej części przysadki w postaci ziaren, grudek i kulistych lub nieregularnych skupień. Zwraca jednak uwagę wyraźny ubytek neurosekretu po iniekcjach winkrystyny.

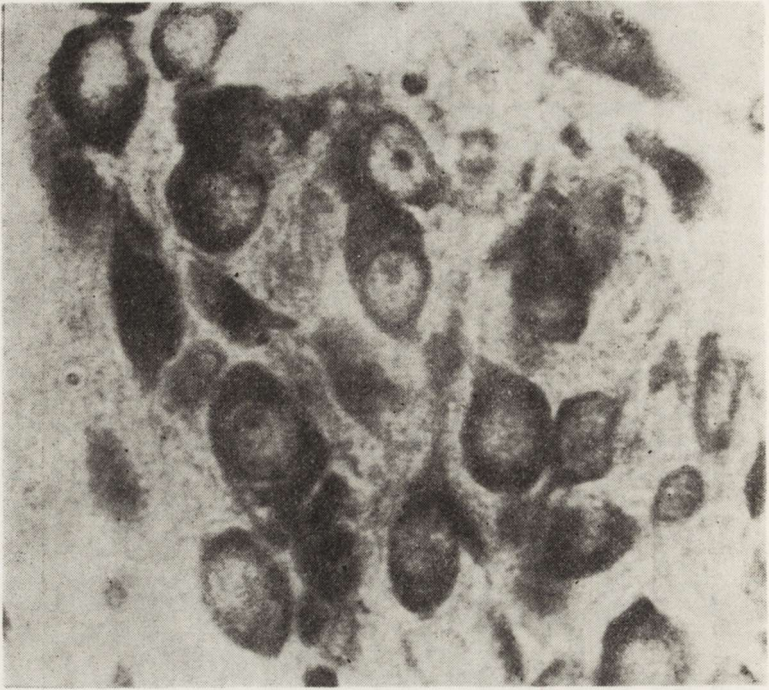
Pomiary morfometryczne

Grupa kontrolna. Średnia arytmetyczna powierzchni przekroju jądra komórkowego w neurocytach jądra nadwzrokowego wynosi 50,53 μm^2 , zaś w jądrze przykomorowym 43,99 μm^2 (tabela 1). Powierzchnia przekroju całego neuronu w jądrze nadwzrokowym wynosi średnio 167,31 μm^2 , a w jądrze przykomorowym 137,86 μm^2 .

Grupa doświadczalna. W wyniku stosowania winkrystyny dochodzi do znacznego zmniejszenia powierzchni przekroju neurocytów jądra nadwzrokowego (średnia arytmetyczna 39,35 μm^2) oraz jądra komórkowego w jądrze przykomorowym (średnia arytmetyczna 40,16 μm^2). Zmniejsza się także w warunkach doświadczalnych powierzchnia perykarionu jądra nadwzrokowego o 20,95 μm^2 i jądra przykomorowego o 28,57 μm^2 (tabela 1).

Tabela 1. Pomiaru morfometryczne neuronów jądra nadwzrokowego i jądra przykomorowego
Morphometric measurements of neurons in supraoptic and paraventricular nuclei

Pomiary Measurements	Jądro nadwzrokowe Supraoptic nucleus				Jądro przykomorowe Paraventricular nucleus			
	ciała neuronów neuronal perikarya		jądra komórkowe cell nuclei		ciała neuronów neuronal perikarya		jądra komórkowe cell nuclei	
	grupa kontrolna control group	grupa doświadczalna experimental group	grupa kontrolna control group	grupa doświadczalna experimental group	grupa kontrolna control group	grupa doświadczalna experimental group	grupa kontrolna control group	grupa doświadczalna experimental group
Liczba pomiarów Number of measurements	168	155	168	155	164	158	164	158
Średnia arytmetyczna powierzchni przekroju (μm^2) Arithmetic mean of cross section area (μm^2)	167,31	146,36	50,53	39,35	137,86	129,29	43,99	40,16
Błąd standardowy średniej Standard error of mean	3,55	2,35	0,96	0,69	3,03	2,46	0,65	0,54
Różnice średnich (μm^2) Differences of means (μm^2)		20,95		11,18		28,57		3,83
Błąd standardowy różnicy średnich Standard error of difference of means		4,26		1,18		3,90		0,86



Ryc. 8. Jądro przykomorowe. Grupa doświadczalna. Zmiany zwyrodnieniowe w pojedynczych neurocytach. Zawartość substancji Nissla nie ulega zmianie w porównaniu z kontrolą. Fiolet krezyłu. Pow. 1200 ×

Paraventricular nucleus in an experimental animal. Degeneration of some nerve cells. Tigroid content in most of them the same as in control animals. Cresyl violet. × 1200

OMÓWIENIE WYNIKÓW

W świetle przeprowadzonych badań wydaje się, że neurotoksyczne działanie winkrystyny dotyka jądra neurosekrecyjne podwzgórza w większym stopniu niż inne okolice mózgu. Dochodzi tutaj bowiem nie tylko do zmniejszenia powierzchni jądra komórkowego, ale także do wyraźnych zaburzeń czynnościowych w cytoplazmie. Wyrazem dotknięcia cytoplazmy jest nie tylko zmniejszenie powierzchni przekroju perykaryonu, ale także ubytek neurosekretu i substancji PAS. Zmiany te obejmują zarówno jądro nadwzrokowe, jak i przykomorowe. Stąd być może, obserwowane przez innych autorów (Todd i wsp., 1979; Jackson i wsp., 1980), zaburzenia w gospodarce wodnej w przebiegu leczenia winkrystyną, spowodowane są zakłóceniami w wytwarzaniu i uwalnianiu hormonu antydiuretycznego. Mała zawartość neurosekretu w cytoplazmie neurocytów jądra nadwzrokowego i przykomorowego oraz w nerwowej części przysadki mózgowej, przy jednoczesnym zachowaniu neurowydzieliny w wypustkach nerwowych drogi podwzgorzowo-przy-

sadkowej, może przemawiać za tym, że wielokrotne podawanie winkrystyny powoduje zmniejszone wytwarzanie neurosekretu i szybkie uwalnianie hormonu antydiuretycznego. Natomiast mało zmieniona zawartość neurowydzieliny w wypustkach neuronalnych być może spowodowana jest niezmienną szybkością transportu ADH z podwzgórza do nerwowej części przysadki mózgowej. Zjawisko to mogłoby potwierdzać wyrażony już wcześniej pogląd, że neurosekret ulega „dojrzywaniu” w swojej drodze z podwzgórza do przysadki (Miętkiewski, Kozik, 1959, 1961).

Na oddzielną uwagę zasługuje zachowanie się substancji Nissla w omawianych warunkach doświadczalnych. Zdaniem niektórych autorów (Scharrer, Scharrer, 1954; Grzycki 1955) zawartość substancji Nissla w jądrach neurosekrecyjnych podwzgórza jest odwrotnie proporcjonalna do zawartości neurosekretu. Poglądu takiego nie da się utrzymać w świetle wyników niniejszych badań i spostrzeżeń poczynionych wcześniej (Kozik i wsp., 1978; Miętkiewski, Kozik, 1963). Również Stahl i wsp., (1965) oraz Picard i Stahe (1966) uważają, że nie ma wyraźnej korelacji między zawartością substancji Nissla a czynnością neurosekrecyjną. Mimo braku uchwytnych różnic w zawartości substancji Nissla pomiędzy grupą kontrolną i doświadczalną trzeba przyjąć, że synteza białka w części neuronów jest wyraźnie zakłócona. Przejawem tych zaburzeń są zmiany zwyrodnieniowe pojedynczych neuronów obu badanych jąder w postaci tzw. schorzenia przewlekłego Nissla. Warto również podkreślić, że charakter obserwowanych zmian w układzie podwzgórzowo-przysadkowym jest nieswoisty i spotykany również w innych encefalopatiach toksycznych (Kozik i Gramza, 1980; Kozik i wsp. 1981).

WNIOSKI

1. Dwunastokrotne wprowadzanie szczurom winkrystyny w dawkach terapeutycznych prowadzi do ubytku neurosekretu w neurocytach jądra nadwzrokowego i przykomorowego oraz w nerwowej części przysadki mózgowej.

2. W omawianych warunkach doświadczalnych zmniejsza się również intensywność odczynu PAS w obu jądrach podwzgórza.

3. Zawartość substancji Nissla nie ulega zmianie pod wpływem winkrystyny. Pojawiają się natomiast pod wpływem tego cytostatyku zmiany zwyrodnieniowe pojedynczych neuronów podwzgórza.

4. Pomiary morfometryczne łącznie z obrazem morfologicznym i histochemicznym wskazują, że winkrystyna podawana przez dwanaście dni powoduje u szczurów zmniejszenie wytwarzania neurosekretu i szybsze uwalnianie hormonu antydiuretycznego.

ВЛИЯНИЕ ВИНКРИСТИНА НА НЕВРОСЕКРЕЦИОННУЮ ФУНКЦИЮ ГИПОТАЛАМУСА

Резюме

С целью более близкого разъяснения патогенетического механизма нарушений водного обмена организма во время применения винкристина авторы провели исследования влияния этого алкалоида на невросекреционную гипоталамо-гипофизарную систему. Исследования были проведены на крысах, которым вводили двенадцатикратно винкристин внутривентрикулярно в дозах по 0,03 мг/кг веса тела.

В результате проведенных исследований авторы наблюдали, что винкристин в терапевтических дозах приводит к убыли невросекрета и субстанции PAS в нейронах, как надзрительного, так и околожелудочкового ядра. Проведенные морфометрические измерения указывают на существенное статистически уменьшение поверхности как перикариона, так и клеточного ядра в обоих обследованных неврональных синдромах.

Полученные результаты исследований позволяют предполагать, что в основе нарушений водного обмена организма во время применения винкристина имеет место более быстрое освобождение антидиуретического гормона, несмотря на уменьшение его производства.

VINCRIStINE INFLUENCE ON THE HYPOTHALAMIC NEUROSECRETORY FUNCTION

Summary

Aiming in elucidation of the pathogenic mechanism of water metabolism disturbances resulting from vincristine administration, the experimental studies on its influence on the neurosecretory hypothalamic system were undertaken. Experiments were carried out on rats, which received twelve intraperitoneal injections of vincristine in a dosis of 0.03 mg/kg body weight each.

It was found that vincristine administered in therapeutic doses leads in rats to significant depletion of neurosecretory substance and PAS-positive substances in the neurons of both supraoptic and paraventricular nuclei. Morphometric measurements revealed statistically significant decrease of the cut perikaryal and nuclear surface dimensions in the nerve cells of both neuronal complexes.

The presented results suggest that increased antidiuretic hormone transport and/or secretion with its reduced production may be the basic factor of the disturbances in the body water metabolism during vincristine administration.

PIŚMIENNICTWO

1. Grzycki S.: Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska 1955, Sec. D., 10, 175
2. Jackson D. V. (Jr), Castle M. C., Poplack D. G., Bender R. A.: Pharmacokinetics of Vincristine in the cerebrospinal fluid of subhuman primates. Cancer Res., 1980, 40, 722 - 724.
3. Kozik M. B., Wigowska-Sowińska J., Pietrzak M.: Morfologia jąder neurosekrecyjnych podwzgórza i części nerwowej przysadki mózgowej w przebiegu zatrucia octanem fenylortęciowym. Endokrynol. Pol., 1978, 29, 321 - 337.
4. Kozik M. B., Gramza G.: Histochemische Veränderungen in den neurosekreto-

rischen Hypothalamuskernen als Folge einer Intoxikation mit Quecksilberverbindungen. *Acta Histochem.*, 1980, 22, 367 - 380.

5. Kozik M. B., Gramza G., Pietrzak M.: Neurosecretion of the hypothalamo-hypophyseal system after intragastric administration of zink oxide. *Folia Histochem. Cytochem.*, 1981, 19, 115-122.
6. Miętkiewski K., Kozik M.: Badania histochemiczne nad jądrem nadwzrokowym i przykomorowym u kota. *Endokrynol. Pol.*, 1959, 10, 1 - 6.
7. Miętkiewski K., Kozik M.: Histochemia neurosekretu w układzie podwzgórzowo-przysadkowym u świnki morskiej. *Endokrynol. Pol.*, 1961, 12, 1 - 18.
8. Miętkiewski K., Kozik M.: The effect of alpha-tocopherol acetate on neurosecretion in the hypothalamo-pituitary system in the guinea pig. *Acta Med. Pol.*, 1963, 4, 243 - 268.
9. Picard D., Stahl A.: La cellule neurosecrétrice chez les vertébrés. *C. R. Assoc. Anat.*, 1966, No 130 bis, 3 - 58.
10. Scharrer E., Scharrer B.: Die Neurosekretion. [W:] *Handbuch der Mikroskopischen Anatomie des Menschen*. Red. W. v. Möllendorff, vol. 6, Springer Verlag, Berlin 1954.
11. Rosenthal S., Kaufman S.: Vincristine neurotoxicity. *Ann. Int. Med.*, 1974, 80, 733 - 737.
12. Stahl A., Cotte G., Seite R.: Modifications cytologiques et cytochimiques des cellules neurosecrétoires de l'hypothalamus après perturbation expérimentale du métabolisme hydrique. *C. R. Assoc. Anat.*, 1955, 85, 455 - 464.
13. Todd G. C., Gritting W. J., Gibson W. R., Morton D. M.: Animal models for the comparative assessment of neurotoxicity following repeated administration of Vinca alkaloids. *Cancer Treat. Rep.*, 1979, 63, 35 - 41.

Adres autora: Zakład Neuropatologii AM, ul. Przybyszewskiego 49, 60 - 355 Poznań

ANNA PASTUSZKO

SYNAPTOSOMY—METABOLIZM W WARUNKACH PRAWIDŁOWYCH, NARKOZIE I NIEDOTLENIENIU

STRESZCZENIE PRACY HABILITACYJNEJ

Zespół Neurochemii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
PAN, Warszawa

Badania biochemiczne, fizjologiczne i morfologiczne prowadzone na frakcji izolowanych zakończeń nerwowych (frakcji synaptosomów) dostarczają wielu dowodów na to, że frakcja ta może zachowywać funkcje metaboliczne zakończeń nerwowych *in vivo*. Stopień czystości frakcji synaptosomalnej oraz jej aktywność metaboliczna zależą w dużym stopniu od metody izolacji synaptosomów z mózgu. Obecnie za najlepszą metodę izolacji zakończeń nerwowych uznano flotacyjną metodę Bootha i Clarka (1978), polegającą na oczyszczaniu synaptosomów na gradiencie Ficollu. Frakcja synaptosomalna otrzymana tą metodą zawiera 72% nieuszkodzonych synaptosomów, wypełnionych pęcherzykami synaptycznymi (Deutsch i wsp., 1981). Charakteryzuje się ona również wartością wolnej energii pomiędzy reakcjami utleniania i redukcji łańcucha oddechowego i stanu fosforylacji nukleotydów adeninowych bliską równowagi, jak w przypadku całych nienaruszonych komórek (Rafałowska i wsp., 1980). Potencjał błonowy tej frakcji jest zbliżony do potencjału neuronu i wynosi -87 ± 10 mV (Deutsch, Rafałowska, 1980; Scott, Nichols, 1980). Izolowana frakcja synaptosomalna posiada komplet enzymów niezbędnych do syntezy i degradacji neuroprzekazników, odpowiednie mechanizmy dla ich pobierania i uwalniania oraz receptory dla wiązania tych związków (Bogdański, 1976; Peroutka, Snyder, 1981). Charakter i mechanizmy szeregu procesów zachodzących w synaptosomach, takich jak np. transport neuroprzekazników (Levi, Raiteri, 1974), transport jonów (Baldessarini, 1975), charakterystyka nośników (Raiteri i wsp., 1977) oraz działanie czynników patologicznych i leków, mogą więc być niejednokrotnie odzwierciedleniem procesów zachodzących w danych warunkach w nieuszkodzonym neuronie.

Mimo bardzo wielu prac poświęconych zagadnieniu neurotransmisji

dotychczasowe wyniki badań funkcji zakończeń nerwowych były często kontrowersyjne. Wynikało to prawdopodobnie ze stosowania różnych metod otrzymywania frakcji synaptosomalnej, co dawało preparaty o różnym, często bardzo wysokim, zanieczyszczeniu innymi frakcjami subkomórkowymi i z różną aktywnością metaboliczną.

W niniejszej pracy, używając do badań czystej i metabolicznie niezmienionej w stosunku do stanu *in vivo* frakcji synaptosomalnej mózgu, przeprowadzono analizę szeregu podstawowych biochemicznych i biofizycznych właściwości zakończeń nerwowych, takich jak: transport i stężenie jonów potasu, aktywność oddechowa, metabolizm neuroprzekaźników, metabolizm wapnia, karboksymetylacja białek. Biorąc również pod uwagę bardzo dużą wrażliwość centralnego układu nerwowego na warunki patologiczne, takie jak niedotlenienie i narkoza, postanowiono ocenić wpływ tych czynników na zmiany struktury błon synaptosomalnych, przemian neuroprzekaźników, metabolizm jonów — potasu i wapnia.

Zagadnienie wpływu narkozy i niedotlenienia na ośrodkowy układ nerwowy jest jednym z podstawowych problemów współczesnej neurologii. Wydawało się zatem celowe dostarczenie doświadczalnych danych, które mogłyby poszerzyć wiadomości dotyczące biochemicznych mechanizmów reakcji wywołanych przez te czynniki patologiczne.

Celem prowadzonych badań było:

1) Określenie stężenia potasu i charakteru regulacji transportu tego jonu we frakcji synaptosomalnej mózgu. W badaniach uwzględniono wpływ tych czynników, które mogą ulegać zmianie w warunkach niedotlenienia (substrat oddechowy, stężenie jonów wodorowych, depolaryzacja błony).

2) Ocena mechanizmów regulujących przemianę neuroprzekaźników w warunkach prawidłowych i w warunkach niedoboru tlenu (hipoksja *in vitro*, niedotlenienie hipoksyjne i niedokrwienie). Szczegółowej analizie poddano proces pobierania i uwalniania neuroprzekaźników, poziom tych związków, a także właściwości receptorów.

3) Określenie mechanizmu działania związków anestetycznych na strukturę błon synaptosomalnych i metabolizm wapnia.

MATERIAŁ I METODY

Warunki doświadczeń

Badania prowadzono na szczurach rasy Wistar lub Sprague-Dawley, samcach, o ciężarze ciała 220—300 g. Stosowano trzy modele niedotlenienia:

1) Niedotlenienie hipoksyjne wywoływano przetrzymując zwierzęta w komorze ze stałym przepływem 7 lub 5% O₂ w N₂ przez okres 30 min. Jest to model niedotlenienia scharakteryzowany przez Lewisa i wsp. (1973) oraz Domańską i Zalewską (1979).

2) Niedokrwienie tkanki mózgowej było wywoływane przez zaciśnięcie na szyi zwierzęcia mankietu wodnego (Siemkowicz, Hansen, 1978). Zwierzęta oddychały przez wprowadzoną do tchawicy rurkę tracheotomiczną. W modelu tym korowe PO_2 mierzone przy użyciu elektrody tlenowej wynosiło zero, zewnątrzkomórkowy poziom potasu (pomiar wykonywano przy użyciu mikroelektrody potasowej) osiągał wartość 20 mM, mózgowy przepływ krwi był mniejszy niż 0,12 ml/mg/min. Niedokrwienie mózgu utrzymywano przez okres 30 min. Zwierzęta dekapitowano bezpośrednio po niedokrwieniu, bądź w różnym czasie po jego zakończeniu (od 10 min do 10 godz.).

3) Niedotlenienie frakcji synaptosomalnej *in vitro* przeprowadzano przez jej inkubację w warunkach beztlenowych przez okres od 20 do 40 minut. Aktywność oddechową synaptosomów oraz poziom tlenu w środowisku inkubacyjnym mierzono przy użyciu elektrody tlenowej typu Clarka.

Narkozę wywoływano wstrzykując zwierzętom dootrzewnowo nembutal (40—60 mg/kg masy ciała), brietal (60 mg/kg masy) i tiopental (60—100 mg/kg masy).

Preparatyka frakcji subkomórkowych

Frakcję synaptosomalną otrzymywano w oparciu o metodę flotacyjną Bootha i Clarka (1978) i metodę Whittakera i wsp. (1964). Frakcję błon synaptosomalnych (lub błon z homogenatu mózgu) otrzymywano po homogenizacji subfrakcji w 50 mM buforze Tris-HCl lub na gradiente sacharozy według metody Gurda i wsp. (1974). Standardowym medium, w którym przeprowadzano inkubację frakcji synaptosomalnej był bufor Krebs-Henseleit (120 mM NaCl, 5 mM KCl, 5 mM $NaHCO_3$, 1,3 mM $MgSO_4$, 1 mM Pi, 2,5 mM $CaCl_2$, 10 mM Tris-Hepes pH 7,4).

Oznaczanie stężenia jonów potasu, sodu i wapnia

Wewnątrzsynaptosomalne stężenie $[K^+]$, $[Na^+]$ i $[Ca^{+2}]$ oznaczano przy użyciu spektrometru absorpcji atomowej po uprzednim strawieniu frakcji kwasem azotowym lub kwasem trójchlorooctowym.

Badanie metabolizmu neuroprzekaźników

Pobieranie neuroprzekaźników mierzono po różnym czasie inkubacji frakcji synaptosomalnej z radioaktywnymi związkami: ^{14}C -GABA, 3H -serotonina, 3H -noradrenalina, 3H -dopamina. Uwalnianie neuroprzekaźników określano po 6 minutowej inkubacji frakcji synaptosomalnej z radioaktywnymi neuroprzekaźnikami, a następnie po 10-krotnym rozcieńczeniu prób w roztworze Krebsa-Henseleita i ich odwirowaniu w mikrowirówce Beckmana. Mierzono radioaktywność uwolnioną do nadsącza i pozostającą w osadzie synaptosomów. Poziom neurotransmiterów mierzono przy pomocy metody chromatografii wysoko-

ciśnieniowej (HPLC) po strawieniu frakcji synaptosomalnej kwasem trójchlorooctowym. Wewnątrzsynaptosomalne stężenie GABA określano przy użyciu analizatora aminokwasów Parkin-Elmara. Maksymalną ilość receptorów dopaminergicznych i serotoninoergicznych, jak również stałą wiązania, wyznaczano przy pomocy izotopowych antagonistów ^3H -spiroperidolu i ^3H -LSD.

Badanie metabolizmu wapnia

Oznaczanie nagromadzenia wapnia we frakcji synaptosomalnej prowadzono przy użyciu $^{45}\text{CaCl}$. Wiązanie wapnia przez błony synaptosomalne i wpływ anestetyków na ten proces był monitorowany przez badanie widma fluorescencji kompleksu chlorotetracykliny-Ca.

Oznaczanie aktywności enzymów

Aktywność karboksymetylasy białkowej oznaczano metodą izotopową według Diliberto i Axelroda (1976), używając S-adenozyl-L-[metyl ^3H] metioniny jako donora grup metylowych. Aktywności acetylocholinoesterazy, monoaminooksydazy i (Na^+ i K^+)-zależnej ATPazy oznaczano metodami spektrofotometrycznymi.

WYNIKI I OMÓWIENIE

1. Metabolizm frakcji synaptosomalnej w warunkach prawidłowych

Otrzymana na gradiencie Ficollu frakcja synaptosomalna charakteryzuje się stężeniami ATP i ADP równymi odpowiednio 3,5 i 0,5 $\mu\text{mola/ml}$ wewnątrzsynaptosomalnej wody. Poziom wewnątrzsynaptosomalny potasu jest zależny od stężenia tego jonu w środowisku inkubacyjnym. Przy 5 mM zewnętrznym stężeniu potasu, wewnętrzne stężenie wynosi 280—320 nmoli/mg białka, co w przeliczeniu na 4 μl wewnątrzsynaptosomalnej wody/mg białka daje wartość równą 78—80 mM.

Bardzo zbliżoną wartość oznaczył Somjen (1979) w nieuszkodzonym neuronie. Wartości dotychczas prezentowane w piśmiennictwie, uzyskane na frakcji synaptosomalnej, były o około połowę niższe w porównaniu do przedstawionych w niniejszej pracy.

Transport jonów potasu (uwalnianie i pobieranie) przez błonę synaptosomalną jest regulowany przez stan energetyczny komórki, funkcjonowanie pompy sodowej, stężenie jonów wodoru i wapnia (Pastuszko i wsp. 1981 a). Czynniki te są również regulatorami przemiany neuroprzekazników we frakcji synaptosomalnej.

Frakcja synaptosomalna wykazuje zależne od sodu i wrażliwe na depolaryzację pobieranie amin katecholowych, serotoniny i GABA. Stałe kinetyczne pobierania tych neuroprzekazników wskazują, że proces ten ma charakter transportu o wysokim powinowactwie (Pastuszko i wsp. 1982 c).

W przypadku pobierania GABA mechanizm pobierania netto neuroprzekazników (net uptake) odgrywa rolę decydującą, natomiast wymiana tego związku stanowi jedynie około 10% całkowitego transportu (Pastuszko i wsp., 1981 b). Źródłem energii dla transportu GABA jest potencjał błonowy i gradient stężeń sodu (Pastuszko i wsp., 1982 a).

Aktywne pobieranie neuroprzekazników może być regulowane także przez proces peroksydacji kwasów tłuszczowych (aktywuje pobieranie dopaminy — Pastuszko i wsp., 1983 d) i karboksymetylację białek synaptosomalnych (obniżenie tego procesu inhibuje pobieranie neuroprzekazników — Rafałowska, Pastuszko 1982).

2. Metabolizm wapnia i zmiany strukturalne błon synaptosomalnych w warunkach narkozy

Liczne badania nad wpływem narkozy na strukturę i funkcję mózgu wykazały, że anestetyki oddziałują swoiście na procesy transmisji neuronalnej i obniżają aktywność bioelektryczną centralnego układu nerwowego (Richards, 1972; Ho, 1981). Podłożem tych procesów są zmiany strukturalne i funkcjonalne w błonach. Badania z zastosowaniem elektronowego rezonansu paramagnetycznego wykazały, że anestetyki powodują wzrost nieuporządkowania i płynność błon synaptosomalnych (Lenaz i wsp., 1979). Te zmiany w fizycznym stanie lipidów mogą być w konsekwencji przyczyną zmian w specyficznych funkcjach białek błonowych. Enzymy błonowe, acetylocholinoesteraza i (Na^+ i K^+)-zależna ATPaza, które mogą być użyte jako swoiste „sondy allosteryczne”, rejestrują nawet niewielkie zmiany strukturalne w błonach, zmieniają szereg swoich właściwości (K_m , temperaturowy punkt przegięcia, energię aktywacji) pod wpływem anestetyków (Pastuszko, 1980; Pastuszko i wsp., 1979). Potwierdza to hipotezę, że anestetyki poprzez zmiany w fizycznym stanie lipidów zaburzają współdziałanie lipid-białko w błonach, co może indukować serię konformacyjnych zmian w białkach błonowych.

Badany transport potasu przez błony synaptosomalne, jak również wewnątrzsynaptosomalne stężenie tego jonu, w warunkach anestezji, pozostają na poziomie wartości kontrolnych.

Obserwuje się natomiast w warunkach anestezji barbituranowej wzrost fluorescencji kompleksu CTC-Ca, co jest spowodowane wzrostem wiązania wapnia przez błony synaptosomalne (Łazarewicz i wsp., 1981). Zjawisko to jest wynikiem omówionych wcześniej zmian w stanie fizycznym lipidów błonowych. Barbiturany zwiększają prawdopodobnie dostępność polarnych grup fosfolipidów dla jonów Ca^{+2} .

3. Zaburzenia metabolizmu izolowanych zakończeń nerwowych w warunkach niedoboru tlenowego

3.1. Transport potasu i metabolizm neuroprzekaźników w warunkach niedotlenienia *in vitro*

Anaerobioza 20-minutowa powoduje znaczne uwolnienie potasu z synaptosomów mózgu. Sugeruje to, że produkcja energii w warunkach beztlenowej glikolizy nie jest wystarczająca do zapewnienia prawidłowej równowagi jonowej komórki (zjawisko to występuje również w obecności wysokiego stężenia glukozy w medium inkubacyjnym). Przywrócenie warunków tlenowych powoduje ponowne nagromadzenie uwolnionego potasu. Nagromadzanie potasu jest znacznie wolniejsze przy wzrastającym stężeniu jonów wodorowych w środowisku (Pastuszko i wsp., 1981 a). Wydaje się, że kwasica nakładając się dodatkowo na niedotlenienie, znacznie przedłuża czas powrotu do normy (recovery) właściwości tkanki nerwowej. Utrzymanie zdolności synaptosomów do ponownej akumulacji K^+ po 20 min niedotlenienia w obu pH 6.1 i 7.4 jest zgodne z obserwacjami Hansena (1980), w doświadczeniach prowadzonych *in vivo* na całym mózgu. Jednocześnie badacz ten stwierdził, że pomimo powrotu do normy wewnątrzkomórkowego bilansu energetycznego, część zwierząt po niedotlenieniu wykazywała nieodwracalne uszkodzenie mózgu i po pewnym czasie ginęła. Sugeruje to, że przywrócenie wewnątrzkomórkowego stężenia potasu i $[ATP]/[ADP]$ $[Pi]$ do wartości kontrolnych, nie może być traktowane jako gwarancja pełnego powrotu do normy wszystkich funkcji neuronu.

Inkubacja synaptosomów w warunkach beztlenowych powoduje również zmiany w przemianie neuroprzekaźników (Pastuszko i wsp., 1982 c). Obserwuje się obniżenie aktywnego pobierania neuroprzekaźników, którego stopień zależy od okresu trwania niedotlenienia, stężenia jonów wodorowych, rodzaju neuroprzekaźnika. Najbardziej wrażliwy na niedotlenienie i zakwaszenie środowiska jest system pobierania dopaminy. Przywrócenie warunków prawidłowych nie daje całkowitego powrotu do normy pobierania dopaminy. Ta selektywność uszkodzeń w systemie pobierania poszczególnych neuroprzekaźników wskazuje, że transport tych związków może być zależny od indywidualnych mechanizmów. Obserwowany w warunkach beztlenowych wzrost poziomu dopaminy i brak zmian w uwalnianiu tego neuroprzekaźnika sugeruje istnienie zaburzeń w równowadze pomiędzy syntezą i degradacją tego związku.

3.2. Metabolizm neuroprzekaźników w warunkach niedotlenienia hipoksyjnego

Pobieranie GABA, amin katecholowych i serotoniny przez frakcję synaptosomalną, izolowaną z kory mózgu zwierząt poddanych niedotlenieniu hipoksyjnemu (5% O_2 i 7% O_2), nie różni się zasadniczo od po-

bierania tych neuroprzekaźników u zwierząt w warunkach prawidłowych (Silver i wsp., 1982). Można więc sądzić, że w tych warunkach nie występują zaburzenia w transporcie neuroprzekaźników. Wykazano natomiast wzrost poziomu dopaminy, który prawdopodobnie nie jest związany ze zwiększeniem jej syntezy, a raczej z obniżeniem wydzielania i/lub degradacji. Brak zmian w poziomie pozostałych badanych neuroprzekaźników w stosowanym modelu niedotlenienia, może wskazywać na niewielkie zmiany w ich metabolizmie lub na to, że procesy degradacji i syntezy tych związków są zaburzone w jednakowym stopniu. Wyniki badań Zaleskiej (1979) skłaniają do przyjęcia ostatniej z proponowanych sugestii.

3.3. Zaburzenie metabolizmu neuroprzekaźników w warunkach niedokrwienia i w różnych fazach okresu poniedokrwiennego

Niedokrwienie ośrodkowego układu nerwowego u zwierząt normoglikemicznych powoduje spadek poziomu neuroprzekaźników, głównie dopaminy, w korze, prążkowie i hipokampie (Pastuszko i wsp., 1982 b). Może to być odzwierciedleniem szybkiego uwalniania neuroprzekaźników w następstwie zaburzeń energetycznych (Lust i wsp., 1975). Może być również związane z wykazanim zmniejszonym transportem neuroprzekaźników (Silver i wsp., 1982), a także zaburzeniami w ich syntezie i degradacji.

Po przywróceniu warunków tlenowych, poziom dopaminy powracał do wartości kontrolnych (Pastuszko i wsp., 1982 b). Spowodowane jest to obserwowanym zwiększeniem pobierania dopaminy i wzrostem jej syntezy. Nie wykazano istotnych różnic w stałej dysocjacji i w ilości miejsc receptorowych dopaminergicznych i serotoninoergicznych w warunkach niedokrwienia. Jedynie w przypadku wiązania ^3H spiroperidolu przez błony izolowane z prążkowiec wykazano, że ilość miejsc receptorowych w warunkach niedokrwienia zmniejsza się; wartość ta powraca do poziomu kontrolnego po 2 godz. „recovery”. U szczurów hiperglikemicznych, w tych samych warunkach niedokrwienia nie występują zmiany w poziomie neuroprzekaźników. Wydaje się, że zwiększona ilość glukozy, która dostaje się do mózgu przy niewielkim przepływie krwi, może być wystarczająca do utrzymania poziomu ATP, który zapobiega, bądź też znacznie zmniejsza wpływ wewnątrzkomórkowego potasu, depolaryzację błony i uwalnianie neuroprzekaźników. Pomiar wypływu potasu do przestrzeni międzykomórkowej (przy użyciu mikroelektrody potasowej), w warunkach niedokrwienia mózgu potwierdził powyższe sugestie. W tych warunkach patologicznych, wpływ potasu u zwierząt hiperglikemicznych był całkowicie zniesiony lub bardzo znacznie zredukowany w porównaniu do zwierząt normoglikemicznych.

WNIOSKI

1. Metabolizm energetyczny, stężenie jonów potasu, ich gradient oraz elektryczny potencjał błonowy frakcji synaptosomalnej nie różnią się zasadniczo od odpowiednich wartości tych parametrów w całym nieuszkodzonym neuronie. Frakcja ta jest więc prawidłowym i dogodnym modelem do badań metabolizmu zakończeń nerwowych.

2. Regulacja transportu jonów potasu przez błony synaptosomalne i metabolizm neuroprzekaźników jest zależna od stanu energetycznego komórki, aktywności pompy sodowo-potasowej, stężenia jonów $[H^+]$ i $[Ca^{+2}]$.

3. Narkoza prowadzi do zmian w fizycznym stanie lipidów, do zaburzenia interakcji lipid-białko i w konsekwencji do konformacyjnych zmian w białkach błonowych synaptosomów.

4. Obserwowane zmiany w strukturze błon synaptosomalnych w warunkach narkozy pociągają za sobą zaburzenie specyficznych funkcji błon manifestujące się m.in. zaburzeniami metabolizmu wapnia.

5. Inkubacja frakcji synaptosomalnej w warunkach beztlenowych wywołuje selektywne obniżenie pobierania neuroprzekaźników. Szlaki metaboliczne poszczególnych neuroprzekaźników różnią się stopniem wrażliwości na niedobór tlenu.

6. Stosowane niedotlenienie hipoksyjne, nie wywołujące istotnych zmian w stanie energetycznym komórki, prowadzi jednakże do zaburzeń w metabolizmie dopaminy.

7. W warunkach niedokrwienia dochodzi do zaburzeń w pobieraniu neuroprzekaźników przez frakcję synaptosomalną, w ich poziomie i syntezie. Zróznicowanie charakteru tych zmian jest prawdopodobnie związane z wybiórczą wrażliwością przemiany neuroprzekaźników na określone warunki patologiczne.

PIŚMIENNICTWO

1. Baldassarini R. J.: Reviews on synaptosomal properties as a model system to investigate presynaptic events. [W:] Handbook of psychopharmacology. Red. L. L. Iversen, S. D. Iversen, S. H. Snyder, Plenum Press, 1975, 10, 37 - 137.
2. Bogdański D. F.: Mechanism of transport for the uptake and release of biogenic amines in nerve endings. Adv. Expt. Biol. Med., 1976, 69, 291 - 305.
3. Booth R. F., Clark J. B.: A rapid method for the preparation of relatively pure, metabolically competent synaptosomes from rat brain. Biochem. J., 1978, 176, 365 - 370.
4. Deutsch C., Drown C., Rafałowska U., Silver I. A.: Synaptosomes from rat brain: morphology, compartmentation and transmembrane pH and electrical gradients. J. Neurochem., 1981, 36, 2063 - 2072.
5. Deutsch C., Rafałowska U.: Transmembrane electrical potential measurements in rat brain synaptosomes. FEBS Lett., 1979, 108, 274 - 278.
6. Diliberto E. J., Axelrod J.: Regional and subcellular distribution of protein

- carboxymethylase in brain and other tissue. *J. Neurochem.*, 1976, 26, 1159 - 1165.
7. Domańska-Janik K., Zalewska T.: Arterial acid-base changes and brain energy metabolism in unanaesthetized rats in mild hypoxia. *Resuscitation*, 1979, 7, 207 - 214.
 8. Gurd J. W., Jones L. R., Mahler H. R., Moore W. J.: Isolation and partial characterization of rat brain synaptic plasma membranes. *J. Neurochem.*, 1974, 22, 281 - 290.
 9. Hansen A. J.: Recovery following cerebral ischemia in hypo-normo- and hyperglycemic rats. [W:] *Acute cerebrovascular diseases*. Red. M. Baldy Moulinier, CRC Press, Boce Raton, Florida, 1980.
 10. Ho I. K.: Mechanism of action of barbiturates. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1981, 21, 83 - 111.
 11. Lenaz G., Curatola G., Mazzanti L., Bertoli E., Pastuszko A.: Spin label studies on the effect of anesthetics in synaptic membranes. *J. Neurochem.* 1979, 32, 1689 - 1695.
 12. Levi G., Raiteri M.: Exchange of neurotransmitter amino acids at nerve endings can simulate high affinity uptake. *Nature*, (Lond.) 1974, 250, 735 - 737.
 13. Lewis L. D., Pouten U., Siesjö B. K.: Arterial acid base changes in unanaesthetized rats in acute hypoxia. *Resp. Physiol.*, 1973, 19, 312 - 321.
 14. Lust D., Mirsulja B. B., Passoneau J. V., Klatzo I.: Putative neurotransmitters and cyclic nucleotides in prolonged ischemia of cerebral cortex. *Brain Res.*, 1975, 98, 349 - 399.
 15. Łazarewicz J. W., Pastuszko A., Noremberg K., Bertoli E., Lewandowski W.: Effect of barbiturates on calcium metabolism in rat brain synaptosomes visualized by chlorotetracycline as a fluorescent chelate probe. *Cell. Molec. Biol.*, 1981, 27, 325 - 332.
 16. Pastuszko A., Curatola G., Mazzanti L., Lenaz G.: Effect of general anesthetics on the kinetics of synaptosomal $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase}$. *Bull. Molec. Biol. Med.*, 1979, 4, 225 - 231.
 17. Pastuszko A.: Action of barbiturates on activity of acetylcholinesterase from synaptosomal membranes. *Neurochem. Res.*, 1980, 5, 769 - 776.
 18. Pastuszko A., Wilson D. F., Erecińska M., Silver I. A.: Effects of in vitro hypoxia and lowered pH on potassium fluxes and energy metabolism in rat brain synaptosomes. *J. Neurochem.*, 1981 a, 36, 116 - 123.
 19. Pastuszko A., Wilson D. F., Erecińska M.: Net uptake of γ -amino-butyric acid by a high-affinity system of rat brain synaptosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1981b, 78, 1242 - 1244.
 20. Pastuszko A., Wilson D. F., Erecińska M.: Energetics of γ -amino-butyrate transport in rat brain synaptosomes. *J. Biol. Chem.*, 1982 a, 257, 7514 - 7519.
 21. Pastuszko A., Erecińska M., Wilson D. F., Silver I. A., Nelson D.: Some effects of ischemia and hyperglycemia on neurotransmitter metabolism in rat brain. *J. Neurochem.*, 1982b, (przesłana do druku).
 22. Pastuszko A., Wilson D. F., Erecińska M.: Neurotransmitter metabolism in rat brain synaptosomes. The effect of anoxia and pH. *J. Neurochem.*, 1982 c, 38, 1657 - 1667.
 23. Pastuszko A., Gordon-Majszak W., Dąbrowiecki Z.: Dopamine uptake in striatal synaptosomes exposed to peroxidation "in vitro". *Biochem. Pharmacol.*, 1983, 32, 141 - 146.
 24. Peroutka S. J., Snyder S. H.: Two distinct serotonin receptors: regional variations in receptor binding in mammalian brain. *Brain Res.*, 1981, 208, 339 - 347.

25. Rafałowska U., Erecińska M., Wilson D. F.: Energy metabolism in rat brain synaptosomes from nembotal anesthetized and non-anesthetized animals. *J. Neurochem.*, 1980, 35, 1380 - 1386.
26. Rafałowska U., Pastuszko A.: Protein carboxymethylation in brain synaptosomal fraction. Possible role in neuronal function. Fourth Meeting of the European Society for Neurochemistry, 1982, Catania, Italy.
27. Raiteri M., del Carmine R., Bertoleini A., Levi G.: Effect of desmethylmopramine on the release of ^3H norepinephrine induced by various agents in hypothalamic synaptosomes. *Molec. Pharmacol.*, 1977, 13, 746 - 758.
28. Richards C. D.: On the mechanism of barbiturate anesthesia. *J. Physiol.*, 1972, 227, 749 - 767.
29. Scott J. D., Nicholls D. G.: Influence of plasma membrane depolarization on the respiration and membrane potential of internal mitochondria determined in situ. *Biochem. J.*, 1980, 186, 21 - 33.
30. Siemkiewicz E., Hansen A. J.: Clinical restitution following cerebral ischemia in hypo-, normo- and hyperglycemic rats. *Acta Neurol. Scand.*, 1978, 58, 1 - 8.
31. Silver I. A., Erecińska M., Pastuszko A., Wilson D. F.: The effects of in vivo anoxia and ischaemia on neurotransmitter metabolism in isolated rat brain synaptosomes. *Brit. J., Path.*, 1982, (przyjęta do druku).
32. Somjen G. G.: Extracellular potassium in mammalian central nervous system. *Ann. Rev. Physiol.*, 1979, 41, 159 - 177.
33. Whittaker V. P., Michaelson I. A., Kirkland R. J. A.: The separation of synaptic vesicles from nerve ending particles (synaptosomes). *Biochem. J.*, 1964, 90, 293 - 303.
34. Zaleska M.: The effect of mild hypoxia on catecholamine metabolism in different areas of rat brain. *Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol.*, 1979, 27, 237 - 244.

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

Agnieszka Jędrzejewska: On age dependent modification of the neuropathology of viral encephalitides	55
Hanna Grabowska: Are-related lesions in human pineal gland	67
Wiesława Biczysko, Janusz Szymaś, Przemysław Gabryel: Ultrastructural features of pilocytic astrocytomas	81
Andrzej Brzecki, Józefa Dąbrowska, Piotr Olejniczak: Microglomatosis (Case report)	95
Marian Majak, Jolanta Krawczyk, Wiesław Papierz: Lipoma of the spinal cord	105
Hanna Grabowska: Structure of pineal gland of patients died of malignant neoplasms	111
Magdalena Rossowska, Leili Khachatryan: Effect of hypoxia on nore-pinephrine uptake and activity of $(Na^+ - K^+) - ATPase$ in synaptosomes	123
Urszula Wysmyk-Cybula: The γ -aminobutyric acid (GABA) content in the rat brain in experimental hepatic encephalopathy	129
Mirosław B. Kozik, Marek Pietrzak: Vincristine influence on the hypothalamic neurosecretory function	135
Anna Pastuszko: Synaptosomes - metabolism in normal conditions, anesthesia and hypoxia Sumary of Ph. D. thesis	149

СОДЕРЖАНИЕ

Мирослав Я. Моссаковски: Влияние возраста на морфологическую картину патологических процессов в центральной нервной системе	1
Мечислав Вендер, Веслава Бичиско, Анджей Пеховски, Уршула Хмелевска: Сульфогидролаза арилсульфатов С центрального миелина во время онтогенетического развития крысы. Биохимические и ультраструктурные исследования	17
Маря Домбска, Божена Згожалевич: Морфологическое и биохимическое созревание миелиновых оболочек в выбранных структурах полушарий головного мозга кролика	27
Мечислав Вендер, Зофя Адамчевска-Гонцеевич, Ядвига Панкрац, Данута Талковска: Влияние недостаточности жирных кислот в диете на липиды миелина развивающегося головного мозга крысы	35
Маря Домбска, Миллена Ляуре-Камионовска, Пиотр Б. Козловски: Менингоэнцефалиты как причина повреждений нервной системы в периоде развития	45
Агнешка Енджеевска: К вопросу о модификации невропатологической картины вирусных воспалений головного мозга в пожилом возрасте	55
Ханна Грабовска: Старческие изменения в человеческой шишковидной железе	67
Веслава Бичиско, Януш Шимась, Пшемислав Габрыель: Ультраструктурные свойства пилочитарной астроцитомы (<i>Astrocytoma pilocyticum</i>)	81
Анджей Бжецки, Юзефа Домбровска, Пиотр Олейничак: Микроглиоматоз (описание и обсуждение случая)	95
Марян Маяк, И. Кравчик, Веслав Папеж: Липома спинного мозга	105
Ханна Грабовска: Строение шишковидной железы людей умерших по поводу новообразования	111
Магдалена Россовска, Л. Хачатрян: Влияние гипоксии на транспорт норэпинефрина и активность $(Na^+ - K^+) - АТФазы$ в синапсомальной фракции	123
Уршила Высмык-Цыбуля: Содержание γ -аминомасляной кислоты (GABA) в головном мозге крысы в экспериментальной печеночной энцефалопатии	129
Мирослав Б. Козик, Marek Петшак: Влияние винкристина на невросекреционную функцию гипоталамуса	135
Анна Пастушко: Синапсомы — метаболизм в нормальных условиях, в наркозе и ишемии. Резюме докторской диссертации	149

SPIS TREŚCI

Mirosław J. Mossakowski: Wpływ wieku na obraz morfologiczny procesów patologicznych w ośrodkowym układzie nerwowym	1
Mieczysław Wender, Wiesława Biczysko, Andrzej Piechowski, Urszula Chmielewska: Sulfohydrolaza siarczanów arylowych C ośrodkowej mieliny podczas rozwoju ontogenetycznego szczura	17
Maria Dąmbska, Bożena Zgorzalewicz: Morfologiczne i biochemiczne dojrzewanie osłonek mielinowych w wybranych strukturach półkul mózgu królika	27
Mieczysław Wender, Zofia Adamczewska-Gonczewicz, Jadwiga Pankrac, Danuta Talkowska: Wpływ niedoboru kwasów tłuszczowych w diecie na lipidy mieliny rozwijającego się mózgu szczura	35
Maria Dąmbska, Milena Laure-Kamionowska, Piotr B. Kozłowski: Zapalenia oponowo-mózgowe jako przyczyna uszkodzeń układu nerwowego w okresie rozwoju	45
Agnieszka Jędrzejewska: W sprawie modyfikacji obrazu neuropatologicznego wirusowych zapaleń mózgu w wieku podeszłym	55
Hanna Grabowska: Zmiany starcze w szyszynce ludzkiej	67
Wiesława Biczysko, Janusz Szymaś, Przemysław Gabryel: Cechy ultrastrukturalne gwiazdkiaka pilocytarnego (<i>Astrocytoma pilocyticum</i>) u dzieci i młodzieży	81
Andrzej Brzecki, Józefa Dąbrowska, Piotr Olejniczak: <i>Microgliomatosis</i> (Opis i omówienie przypadku)	95
Marian Majak, Jolanta Krawczyk, Wiesław Papierz: Tuszczak rdzenia kręgowego	105
Hanna Grabowska: W sprawie budowy szyszynki ludzi zmarłych na nowotwór	111
Magdalena Rossowska, Leili Khachatryan: Wpływ niedotlenienia na transport norepinefryny i aktywność ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$)—ATP—azy we frakcji synaptozomalnej	123
Urszula Wymyk-Cybula: Zawartość kwasu γ -aminomasłowego (GABA) w mózgu szczura w doświadczalnej encefalopatii wątrobowej	129
Mirosław Kozik, Marek Pietrzak: Wpływ winkrystyny na czynność neurosekrecyjną podwzgórza	135
Anna Pastuszko: Synaptosomy - metabolizm w warunkach prawidłowych, narcozie i niedotlenieniu. Streszczenie pracy habilitacyjnej	149

CONTENS

Mirosław J. Mossakowski: Age dependence of the pathomorphology of disease processes involving the central nervous system	1
Mieczysław Wender, Zofia Adamczewska-Gonczewicz, Jadwiga Pankrac, Danuta Talkowska: The effect of a fatty acids deficient diet on myelin lipids of the developing rat brain	35
Maria Dąmbska, Milena Laure-Kamionowska, Piotr B. Kozłowski: Meningoencephalitis in newborns and infants as the cause of the central nervous system injury during its development	45
Mieczysław Wender, Wiesława Biczysko, Andrzej Piechowski, Urszula Chmielewska: Arylsulfate sulfohydrolase C of the central myelin during ontogenic development of the rat	17
Maria Dąmbska, Bożena Zgorzalewicz: Morphological and biochemical maturation of myelin sheaths in some structures of the rabbit cerebral hemispheres	27