

eqz 2

PL ISSN 0028-3894

STOWARZYSZENIE
NEUROPATOLOGÓW POLSKICH

NEUROPATOLOGIA POLSKA

TOM 21

1983

ZESZYT 2

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

<http://rcin.org.pl>

NEUROPATHOLOGIA POLSKA

KWARTALNIK

TOM 21

1983

ZESZYT 2

KOMITET REDAKCYJNY

Janusz Alwasiak, Maria Dąbska, Jerzy Dymecki, Janusz Groniowski, Józef Kałuża, Mirosław B. Kozik, Jerzy Kulczycki, Adam Kunicki, Mirosław J. Mossakowski, Mieczysław Wender, Irmina Zelman

PRZY WSPÓLPRACY

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

Wydane z pomocą finansową Polskiej Akademii Nauk

Zakład Narodowy im. Ossolińskich — Wydawnictwo. Wrocław 1983.
Nakład: 550 egz. Objętość: ark. wyd. 12, ark. druk. 10,38, ark.
A₁-14. Papier druk. sat. kl. III, 80 g, 70 × 100. Oddano do skła-
dania 31 I 1983. Podpisano do do druku 23 VI 1983. Druk ukończono
w lipcu 1983. Wrocławska Drukarnia Naukowa. Zam. 2052/83 — U-7.
Cena zł 100.—

BOŻENA ZGORZALEWICZ, VOLKER NEUHOFF, HANS GEORG ZIMMER

CHANGES IN THE PROTEIN AND GLYCOPROTEIN
COMPOSITION OF RABBIT OPTIC NERVE MYELIN
DURING EARLY POSTNATAL DEVELOPMENT *

Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin, Forschungsstelle Neurochemie,
3400 Göttingen (G.F.R.)

The optic nerve of rat or rabbit provides an excellent model for studies of various biochemical and morphological aspects of myelinogenesis (Narang, Wisniewski, 1977; Wender et al., 1979; Lane, Fagg, 1980; Tauber et al., 1980; Galas-Zgorzalewicz et al., 1982). Rabbit optic nerve has been studied less extensively than rat, especially in early stages of postnatal development. Analysis of the biochemical events occurring during myelinogenesis of the optic nerve requires sensitive micromethods for myelin isolation and protein analysis with a high degree of resolution using micro-electrophoresis in continuous polyacrylamide gradient gels.

The aim of the present studies were investigations on myelin protein composition, during the earliest developmental stages, by means of these microtechniques.

These investigations revealed significant differences in myelin protein pattern during ontogenetic development of the rabbit optic nerve.

MATERIAL AND METHODS

The myelin protein content and composition of the optic nerve was studied in Chinchilla rabbits aged 6, 7, 8, 10, 12, 16, 32, 42 and 180 days of extrauterine life. The material destined for ultrastructural examination was fixed in 25% glutaraldehyde, dehydrated and embedded in Araldite. Ultrathin sections were cut using LKB—III ultramicrotome and examined with Zeiss 10 electron microscope. Myelin fraction was prepared essentially as described by Norton and Poduslo (1973) with modifications to a microscale as outlined by Fagg et al. (1979). The

* The work was supported by a research grant of the Alexander von Humboldt — Foundation in GFR.

total protein content was determined by means of a micromethod of Neuheff et al. (1979) and the individual protein fractions were separated using micro-SDS-polyacrylamide gradient gel electrophoresis (Rüchel et al., 1974). Low molecular weight calibration kit (Pharmacia) was used for the estimation of molecular weights. Gels were stained with Coomassie-Brilliant Blue R 250 and were scanned (510 mm) using Zeiss (ZK4) gel scanner. The area under each protein peak was determined using a pen recorder with incorporated integrator (Servogor RE 544).

The glycoprotein content of the myelin protein of the optic nerve was determined by means of the fluorescence method of Lane et al. (1979) with concanavalin A as a binding agent, using glucose oxidase (D-Glucose: oxygen 1-oxidoreductase EC 1.1.3.4.) as standard. The micro-gels stained for glycoproteins were scanned using a Zeiss scanning fluorescence microscope controlled by a computer.

RESULTS

Electron microscopy

Examination of numerous sections by electron microscopy revealed in 6th day of extrauterine life in the optic nerve (Fig. 1A) an inconsiderable number of myelinating axons with an average of 10–12 myelin lamellae. On the 8th day of life (Fig. 1B) the number of myelinating fibers increased significantly as did the diameter of axons, which were surrounded by 16–18 layers of myelin sheaths.

Biochemical findings

In our present studies the process of myelination of the rabbit optic nerve was accompanied by marked changes in the protein composition (Fig. 2). Six days postnatal the high molecular weight fraction (HMW) and the Wolfram protein (WP), constitute the predominant components of the micro-gel. However, their percentage drops abruptly during the next two days and remains at this level throughout the further developmental period. The percentage of intermediate protein (DM-20) increases substantially between 6 and 10 days postnatal and then decreases slowly to about 32 days after birth. The proteolipid (PLP) level rises abruptly between the 7th and 10th day after delivery and then continues to increase gradually till the age of 42 days. The percentage of the basic protein increases markedly, beginning from the 6th day after birth till about 42 days postnatal and then rises slightly at adulthood, at which time it constitutes almost 50% of all myelin proteins. It should be stressed that during the maximum of myelin synthesis i.e. at 32 days postnatal (Fig. 3) no evident change was observed in the myelin protein pattern of the optic nerve, in spite of the still rapid increase of myelin mass. The maximum yield of myelin determined for rabbit optic nerve

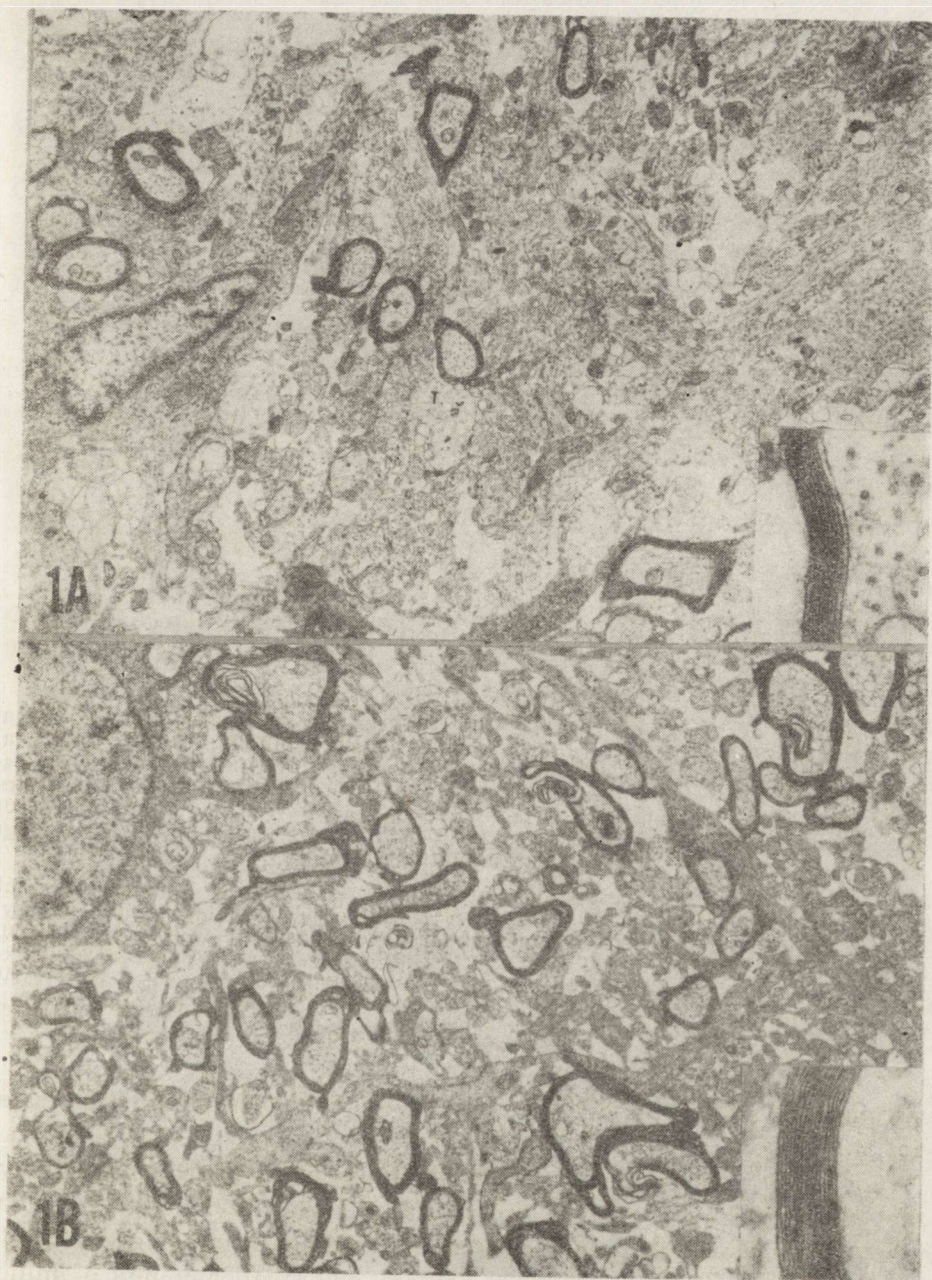


Fig. 1. Rabbit optic nerve at 6 days (A) and 8 days (B) of postnatal age. $\times 5000$,
inset $\times 51000$

Nerw wzrokowy królika w 6 dniu (A) i 8 dniu (B) po urodzeniu. Pow. $5000 \times$,
wstawka $51000 \times$

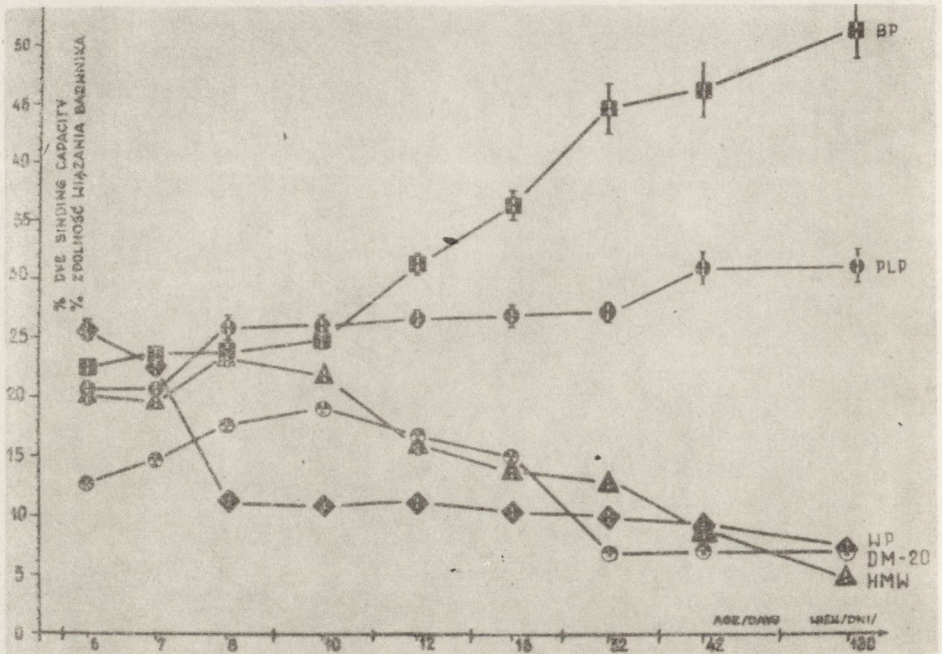


Fig. 2. Distribution of myelin proteins from rabbit optic nerve at various postnatal ages. Values are expressed as % of Coomassie Blue binding capacity of total myelin proteins. The ratios were calculated for the following proteins with estimated molecular weights in parentheses: BP basic protein (17 000), DM-20 intermediate protein (20 000), PLP proteolipid (23 500), WP Wolfgram protein (47 000), HMW high molecular weight protein (100 000). Each sign represents the average of six determinations \pm S.E.

Skład procentowy białek mieliny nerwu wzrokowego królika w różnych okresach życia pozapłodowego. Wyniki wyrażono w % zdolności wiązania błękitu kumasyiny przez białka mieliny. Współczynniki obliczono dla następujących białek z oznaczoną masą cząsteczkową w nawiasach: BP białko zasadowe (17 000), DM-20 białko pośrednie (20 000), PLP proteolipid (23 500), WP białko Wolframa (47 000), HMW białko o wysokiej masie molekularnej (100 000). Każdy znak stanowi średnią z 6 oznaczeń \pm błąd standardowy

was similar to this previously estimated for rabbit forebrain (Zgorzalewicz, 1979).

Our experiments using the direct staining of glycoproteins in polyacrylamide micro-gels with fluorescein isothiocyanate labelled concanavalin A have shown the presence of one predominant major glycoprotein of molecular weight about 110 000 daltons, and small amounts of minor glycoproteins localised in the low molecular region of the gel. The content of the major high molecular weight glycoprotein (Fig. 4) increases markedly about 3 times between the 6th and 10th day of postnatal development and then drops rapidly till the 16th day with a moderate decreasing tendency over the following developmental period.

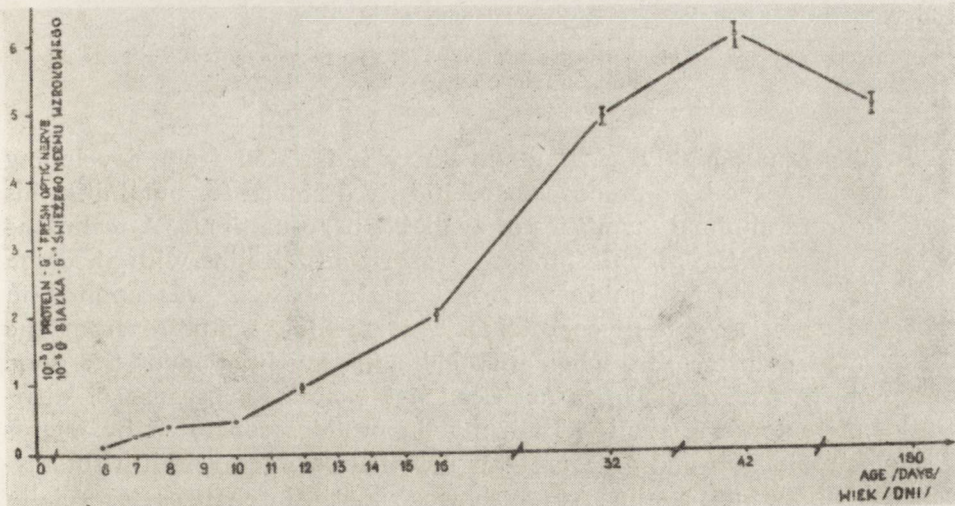


Fig. 3. Accumulation of rabbit total myelin protein from developing optic nerve at various postnatal ages. Values are expressed in mg of total myelin protein per g wet optic nerve. The data represent the means from 6 experiments \pm S.E. Stężenie białka całkowitego mieliny rozwijającego się nerwu wzrokowego w różnych okresach po urodzeniu. Wyniki wyrażono w mg całkowitego białka mieliny na g świeżego nerwu wzrokowego. Dane stanowią średnie z 6 badań \pm błąd standardowy

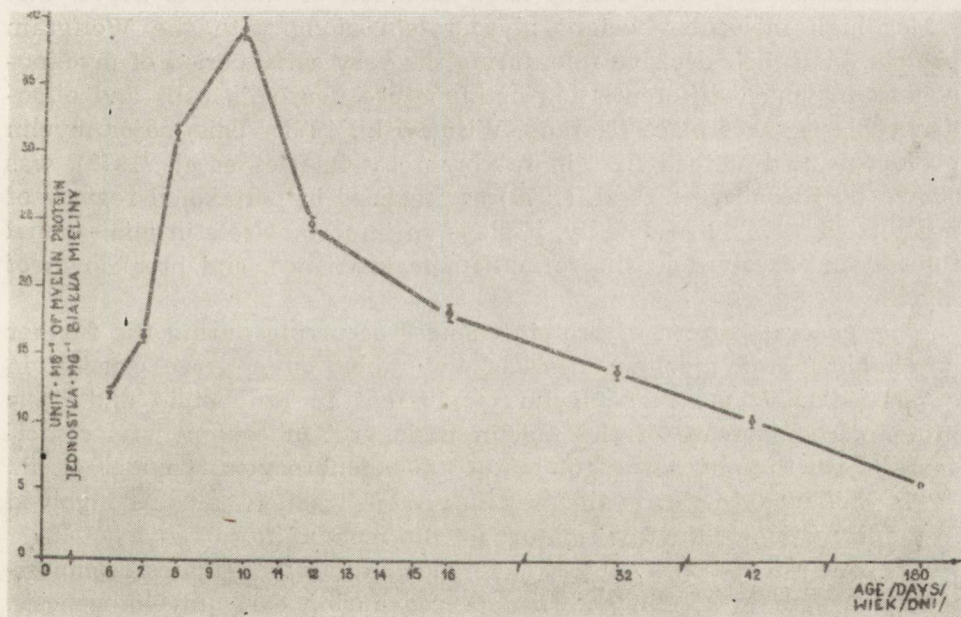


Fig. 4. High molecular weight glycoprotein in developing rabbit optic nerve. The content of this compound was expressed in units of fluorescein isothiocyanate-labelled concanavalin A bound per mg of myelin protein. Values are means \pm S.E. from 6 experiments

Glikoproteina o wysokiej masie cząsteczkowej (110 000) w rozwijającym się nerwie wzrokowym królika. Zawartość tego składnika wyrażono w jednostkach związanej konkanawaliny A znakowanej izotiocyanianem fluoresceiny na mg białka mieliny. Wyniki stanowią średnie z 6 doświadczeń \pm błąd standardowy

DISCUSSION

In this study highly purified myelin was isolated from developing rabbit optic nerve by a procedure specifically designed for obtaining this fraction from minimal quantities of available nervous tissue. A technique which combines the specific binding properties of lectins with the high resolution of polyacrylamide micro-gel electrophoresis was applied in the studies on myelin glycoproteins. This facilitates studies from the 6th day extrauterine life, when in rabbits the myelination of the optic nerve starts. This period has not been yet examined, because of difficulties of macroscale studies. Both myelin proteins separated by micro-disc electrophoresis and glycoproteins detected on microgel with fluorescein-labelled concanavalin A — showed marked changes especially between 6th and 10th day after birth. At this time high molecular weight proteins dominated in electrophorograms, but even at the very early stages of myelinogenesis the myelin fraction contained also proteolipid and basic protein. These findings point to the important role of the major glycoprotein component and the Wolfgram protein of the myelin membrane in the early stages of myelination of the optic nerve. The major high molecular weight glycoprotein along with the Wolfgram protein, play their decisive role during the very early period of myelinogenesis in which differentiation of immature neuroglia cells and oligodendroblasts takes place (Narang, Wiśniewski, 1977). This major myelin glycoprotein, described first in rat brain by Quarles et al. (1972), was shown by Sternberger et al. (1979) as localized in periaxonal regions of myelinated axons. Presumably, it plays an important role in glial-axonal interactions involved in the formation, maintenance, and breakdown of myelin.

The general pattern of protein changes occurring during the further development and myelinogenesis of the rabbit optic nerve consists in a marked enrichment of myelin membranes in proteolipid and basic protein. The increase of the myelin basic protein content was coincidental with the appearance of mature oligodendrocytes (Wender et al., 1979). This would point to this myelin protein fraction as being involved in the formation of the final mature myelin membrane.

In conclusion, these studies have shown that the greatest compositional changes in myelin sheath appeared during early myelinogenesis. It also indicates that applied microtechniques may prove very useful in studies when the material is limited.

Acknowledgement.

The authors wish to express their appreciation to Ass. Professor Mrs Anna Fidziańska for the preparation of electron microscopic photographs.

ZMIANY W SKŁADZIE BIAŁEK I GLIKOPROTEIN NERWU WZROKOWEGO
KRÓLIKA WE WCZESNYM OKRESIE ROZWOJU POZAPŁODOWEGO

Streszczenie

Badano skład białkowy i glikoproteinowy mieliny rozwijającego się nerwu wzrokowego królika, od 6 dnia po urodzeniu do 180 dnia życia zwierzęcia. W badaniach posługiwano się mikrometodami, co umożliwiło przeprowadzenie oznaczeń we wczesnych okresach mielinogenezy.

Stwierdzono, że między 6 a 10 dniem życia pozapłodowego występują największe zmiany w składzie elektroforetycznym białek osłonki mielinowej. Dotyczy to w szczególności białka o wysokiej masie cząsteczkowej i białka Wolframa, które występują w znacznych ilościach między 6 a 8 dniem po urodzeniu, kiedy rozpoczyna się mielinizacja nerwu wzrokowego u królika. W tym też czasie wzrasta zawartość wysokocząsteczkowej glikoproteiny mieliny (masa cząsteczkowa 110 000 daltonów), która w 10 dniu życia pozapłodowego osiąga wartość 3-krotnie większą niż u królika dojrzałego. Od 8 dnia życia następuje szybki przyrost proteolipidu, natomiast dopiero od 10 dnia intensywnie zwiększa się zawartość białka zasadowego, przy jednoczesnym zmniejszaniu się ilości białek o wyższej masie cząsteczkowej. Znaczenie zmian w składzie białek podczas tworzenia się osłonki mielinowej jest przedmiotem dyskusji.

ИЗМЕНЕНИЯ В СОСТАВЕ БЕЛКОВ И ГЛЮКОПРОТЕИДОВ ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА
КРОЛИКА В РАННЕМ ПЕРИОДЕ ВНЕЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

Резюме

Исследовали белковый и глюкопротеидный состав миелина развивающегося зрительного нерва кролика с 6 дня после рождения до 180 дня жизни животного. В исследованиях пользовались микрометодами, что делало возможным проведение определений в ранних периодах миелиногенеза.

Констатировано, что между 6 и 10 днем внеэмбриональной жизни выступают самые большие изменения в электрофоретическом составе белков миелиновой оболочки. Это относится особенно к белку с высокой молекулярной массой и к белку Вольфграма, которые выступают в значительных количествах между 6 и 8 днем после рождения, когда начинается миелинизация зрительного нерва у кролика. В то же время возрастает содержание высокомолекулярного глюкопротеида миелина (молекулярная масса 110 000 дальтонов), которая на десятом дню внеэмбриональной жизни достигает 3-кратно большей величины чем у взрослого кролика. С 8 дня жизни наступает скорый прирост протеолипида, зато лишь с 10 дня значительно увеличивается содержание основного белка с одновременным уменьшением количества белков с высшей молекулярной массой. Значение изменений в составе белков во время образования миелиновой оболочки является предметом обсуждения.

REFERENCES

1. Fagg G., Waehnelde T., Neuhoff V.: The preparation and analysis of myelin from small quantities of central nervous tissue: regional studies of the quaking mouse. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1978, 100, 135—145.

2. Galas-Zgorzalewicz B., Wender M., Piechowski A., Sniatała-Kamasa M.: Micro-slab gel electrophoresis. Application to studies on myelination and demyelination. *Electrophoresis Forum* 82, München 1982, pp. 102—106.
3. Lane J. D., Zimmer H. G., Neuhoff V.: The fluorescence scanning of microgels stained for glycoproteins with fluorescein isothiocyanate-labelled concanavalin A. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 1979, 360, 1405—1408.
4. Lane J. D., Fagg G. E.: Protein and glycoprotein composition of myelin subfractions from the developing rat optic nerve and tract. *J. Neurochem.*, 1980, 34, 163—171.
5. Narang H. K., Wiśniewski H. M.: The sequence of myelination in the epiretinal portion of the optic nerve in the rabbit. *Neuropath. appl. Neurobiol.*, 1977, 3, 15—27.
6. Neuhoff V., Philipp K., Zimmer H. G., Mesecke S.: A simple, versatile, sensitive and volume-independent method for quantitative protein determination which is independent of other external influences. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 1979, 360, 1657—1670.
7. Norton W. T., Poduslo S. E.: Myelination in rat brain: method of myelin isolation. *J. Neurochem.*, 1973, 21, 749—757.
8. Quarles R., Everly J., Brady R.: Demonstration of a glycoprotein which is associated with a purified myelin fraction from rat brain. *Biochem. biophys. Res. Commun.*, 1972, 47, 491—497.
9. Rüchel R., Mesecke S., Wolfrum D. I., Neuhoff V.: Micro-electrophoresis in continuous polyacrylamide gradient gels. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 1974, 355, 997—1020.
10. Sternberger N., Quarles R., Itoyama Y., Webster H.: Myelin-associated glycoprotein demonstrated immunocytochemically in myelin and myelin-forming cells of developing rat. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 1979, 76, 1510—1514.
11. Tauber H., Waehneltd T. V., Neuhoff V.: Myelination in rabbit optic nerves is accelerated by artificial eye opening. *Neurosci. Lett.*, 1980, 16, 235—238.
12. Wender M., Kozik M., Sniatała-Kamasa M., Mularek O., Pankrac J.: Neuroglia of the optic nerve in the course of myelination. *J. Hirnforsch.*, 1979, 20, 191—200.
13. Zgorzalewicz B.: *Białka mieliny w rozwoju ontogenetycznym mózgu królika*. PWN, Warszawa—Poznań 1979.

Author's adress: Department of Neurology, Medical School, 49, Przybyszewskiego Str. 60—355 Poznań, Poland

HANNA GRABOWSKA

OBRAZ MORFOLOGICZNY SZYSZYNKI LUDZKIEJ
W PRZEBIEGU NIEKTÓRYCH OGÓLNOUSTROJOWYCH
STANÓW PATOLOGICZNYCH

Zakład Anatomii Patologicznej Instytutu Biostruktury AM, Warszawa

Niewielkie zainteresowanie ludzką szyszynką sprawiło, że nieliczne prace morfologiczne dotyczące tego narządu dostarczają jedynie wrywkowych, często sprzecznych lub wątpliwych, informacji na temat jej budowy i zmian, jakim podlega w związku z wiekiem oraz ogólnoustrojowym procesem chorobowym toczącym się w ludzkim organizmie. Dotyczy to gromadzenia w jej mięszu złogów wapnia i hipotetycznego związku pomiędzy tym procesem a czynnością hormonalną szyszynki i ogólnoustrojową chorobą nowotworową (Arieti 1954; Rodin, Overall 1967; Wurtman i wsp. 1968; Tapp, Huxley 1972; Shey 1977), niejasnych okoliczności rozrostu i zwyrodnienia tkanki łącznej (Arieti 1954; Rodin, Overall 1967; Tapp, Huxley 1972) i neurogleju (Kutscherenko 1943; Hajdu i wsp. 1972; Vuia 1975) oraz mechanizmu tworzenia torbieli (Meyeri 1960).

Celem pracy była ocena morfologii szyszynki ludzi zmarłych w przebiegu przewlekłych ogólnoustrojowych procesów chorobowych.

MATERIAŁ I METODY

W trakcie sekcji rutynowych wykonanych w Zakładzie Patomorfologii Instytutu Biostruktury i Samodzielnej Pracowni Patologii Instytutu Pediatrii oraz sekcji sądowych wykonanych w Zakładzie Medycyny Sądowej Warszawskiej Akademii Medycznej w okresie od października do czerwca 1978 r. pobrano 203 szyszynki ze zwłok ludzkich w wieku od noworodkowego do starczego. Na podstawie posiadanej dokumentacji lekarskiej do badania zakwalifikowano przypadki chorych, którzy nigdy nie przebyli chorób układu dokrewnego, zabiegu operacyjnego, leczenia hormonami, antymetabolitami ani promieniami. Szyszynki ze zwłok pobierano w okresie od 6 do 30 godzin po zgonie, utrwalano w 4% formalinie przez 2 miesiące, następnie odwapniano w 5% roztworze wersenianu

przez 2 tygodnie, zatapiano w bloki parafinowe i skrawano na mikrotomie saneczkowym firmy Reichert na skrawki grubości 5 μm tak, aby przekrój objął jednocześnie szypułę i miąższ szyszynki. Preparaty barwiono hematoksyliną i eozyną, azanem, fuksyną aldehydową, trójbarwną metodą Massona i metodą Holzera. Stosowano metody impregnacyjne według Gomori'ego, Bodiana, Cajala, Massona-Fontany. Ponadto zastosowano histochemiczną metodę PAS. Preparaty oceniano w mikroskopie optycznym firmy Zeiss (Jena), w powiększeniach do 800 \times . Oceniano histologiczną budowę miąższu szyszynki i jej szypuły we wszystkich przypadkach, uwzględniając dostępne dane kliniczne i wynik badania sekcyjnego. Cały materiał podzielono na 15 grup według głównego procesu chorobowego, który doprowadził do zgonu i dokonano oceny częstości występowania rozrostu tkanki łącznej oraz glejowej, włókien Rosenthala, ziaren piasku i torbieli w miąższu szyszynki we wszystkich przypadkach należących do każdej z grup. Wyniki oceniono testem χ^2 przy $\alpha \leq 0,05$.

WYNIKI

Część opisowa

W mózgu nie utrwalonym szyszynka przedstawiała się jako owalny lub stożkowy narząd o średnicy 3—7 mm, barwy szarobeżowej, połączony szeroką kremową szypułą ze spoidłem tylnym i spoidłem uzde-

Ryc. 1. Miąższ szyszynki — widoczne włókna srebrochłonne przegród międzyzrazikowych, w cytoplazmie pinealocytów liczne ziarna fuksynofilne. Strzałkami oznaczono tzw. kule jądrowe. Gomori. Pow. 400 \times

Pineal gland. Argrophilic fibers of interlobular septa. Multiple fuchsinophilic granules in the cytoplasm of pinealocytes. The so called nuclear balls are indicated by arrows. Gomori. $\times 400$

Ryc. 2. Włókna glejowe w obrębie przegród międzyzrazikowych miąższu szyszynki. W prawym górnym rogu rozległe pole neurogleju (kobieta, lat 88, 199/77 — rak jasnokomórkowy nerki z licznymi przerzutami do narządów wewnętrznych i kości). Holzer. Pow. 100 \times

Pineal gland. Glial fibers of interlobular septa. Extensive field of neuroglia in right upper corner (woman, 88 years, 199/77 — renal clear-cell carcinoma with multiple metastases to parenchymal organs and bones). Holzer. $\times 100$

Rys. 3. Rozrost międzyzrazikowej tkanki łącznej w obrębie miąższu szyszynki — poszczególne zraziki oddzielone od siebie przez szerokie zeszkliwiałe przegrody łącznotkankowe (mężczyzna, lat 60, 984/67 — zespół serca płucnego w przebiegu wieloletniej guźlicy płuc). H—E. Pow. 160 \times

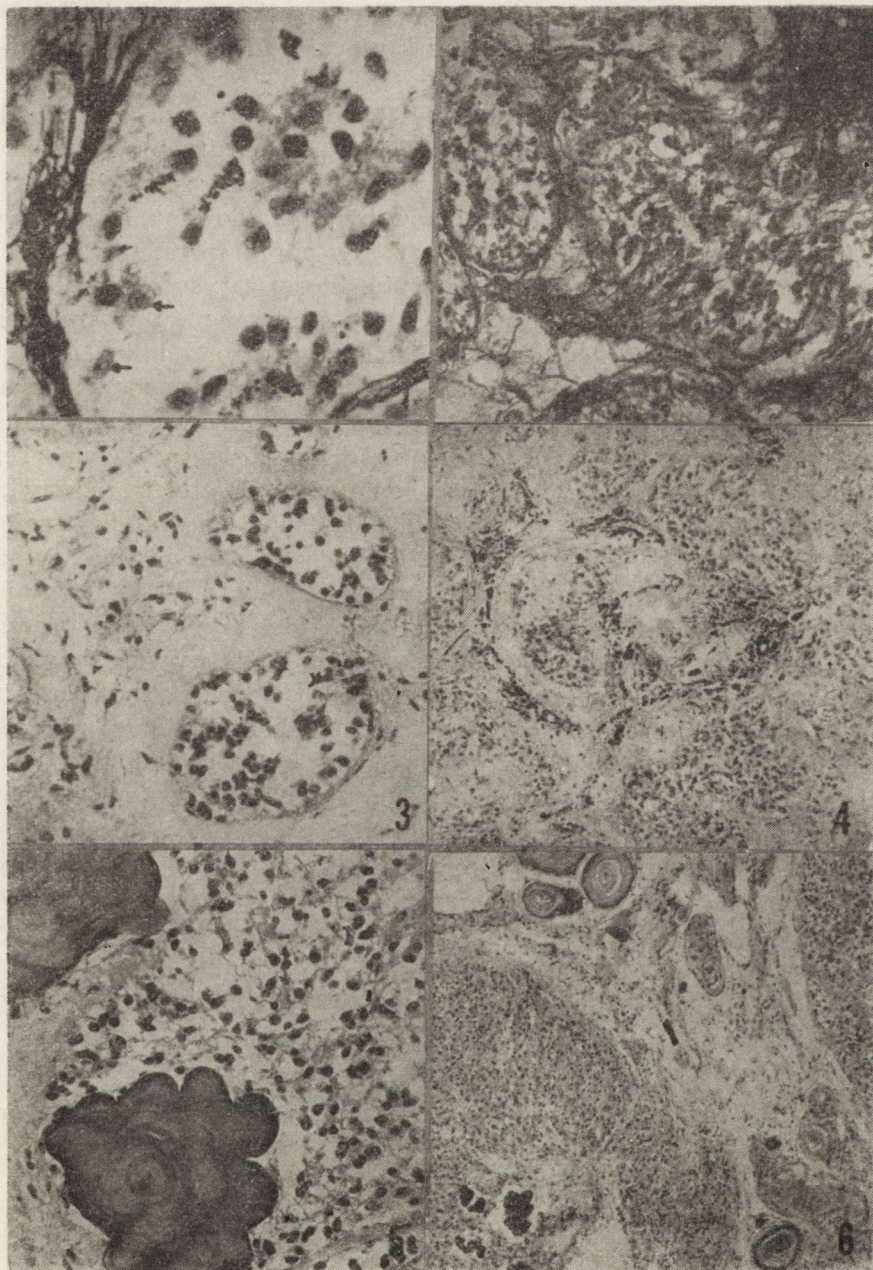
Pineal gland. Proliferation of interlobular connective tissue. Particular lobules are separated by broad hyalinized connective tissue septa (man, 60 years, 984/67 — cardiopulmonary syndrome in the course of chronic lung tuberculosis). H—E. $\times 160$

Ryc. 4. Wapnienie międzyzrazikowych przegród łącznotkankowych miąższu szyszynki (ten sam przypadek co na ryc. 3). H—E. Pow. 63 \times

Pineal gland. Calcification of interlobular connective tissue septa (the same case as in Fig. 3). H—E. $\times 63$

Ryc. 5. Ziarna piasku szyszynkowego — widoczne koncentryczne pierścienie. H—E. Pow. 160 \times

Pineal gland. Pineal psammomatous bodies with concentric rings. H—E. $\times 160$



Ryc. 6. Ziarna piasku związane z tkanką łączną wnikającą do miąższu szyszynki od strony opony miękkiej (lewy górny róg). Obok, pośród pinealocytów, ziarna piasku o budowie przypominającej owoc morwy. H—E. Pow. 63 ×

Pineal gland. Psammomatous bodies in connective tissue which penetrates the gland from pia matter (left upper corner). Nearby, among the pinealocytes the morula-like psammomatous bodies. H—E. × 63

czek nadwzgorza. Jej powierzchnia zewnętrzna pokryta była ściśle przylegającą oponą miękką. Na przekroju szyszynki widoczne były niekiedy torbiele lub żółtawe ziarna piasku.

Mikroskopowo miąższ szyszynki był zbudowany z pinealocytów, komórek charakteryzujących się słabo widoczną w rutynowych barwieniach cytoplazmą i pęcherzykowym jądrem z rozproszoną chromatyną i jąderkiem. Błona jądrowa pinealocytów była pofałdowana, często obserwowano głębokie inwaginacje cytoplazmy w obręb jądra, tzw. kule jądrowe (ryc. 1). W cytoplazmie pinealocytu, której zarysy oraz kolbowate wypustki można było uwidocznic w barwieniu azanem i w srebrzeniu według metody Gomori'ego lub Bodiana, stwierdzono kilka rodzajów ziarnistości — brunatne melaniny (H—E, impregnacja wg met. Massona-Fontany), złociste lipofuscyny (H—E) oraz ziarnistości fuksynofilne (barwienie fuksyną aldehydową, PAS, impregnacja wg met. Gomori'ego) uważane za neurosekret (ryc. 1). Barwienie czerwieni oleistą skrawków mrożonych ujawniło w cytoplazmie pinealocytów liczne krople tłuszczu. Bogato unaczyniona tkanka łączna dzieliła miąższ szyszynki na wyraźne lub niezupełnie ograniczone zraziki, czasem tworzyła siatkę oplatającą poszczególne komórki. Występowała w postaci delikatnych pasm łącznotkankowych lub bardzo szerokich ścian, składała się głównie z włókien kolagenowych, srebrochłonnych, pojedynczych sprężystych. Barwienie według metody Holzera ujawniało w obrębie przegród międzyzrazikowych miąższu szyszynki znaczny komponent włókien glejowych zwłaszcza w przypadkach, w których widoczna była rozległa hiperplazja neurogleju (ryc. 2). Zwracało uwagę bogactwo komórek makrofagowych, limfocytów, komórek plazmatycznych, tucznych, fibrocytów ułożonych wzdłuż pasm tkanki łącznej lub zgrupowanych wokół naczyń krwionośnych. W przypadkach, w których przegrody międzyzrazikowe były szczególnie szerokie, dochodziło często do rozległej hialinizacji włókien kolagenowych (ryc. 3) lub do odkładania w ich obrębie złogów wapnia

Ryc. 7. Włókna Rosenthala w polu neurogleju miąższu szyszynki (ten sam przypadek co na ryc. 2). Holzer. Pow. 250 ×

Pineal gland. Rosenthal fibers in the area of neuroglia (the same case as in Fig. 2). Holzer. × 250

Ryc. 8. Drobną torbiel położoną pośród pinealocytów — światło wypełnione płynem białkowym (dziewczynka, 3 miesiące — mukowiscidoza, biegunka toksyczna). H—E. Pow. 160 ×

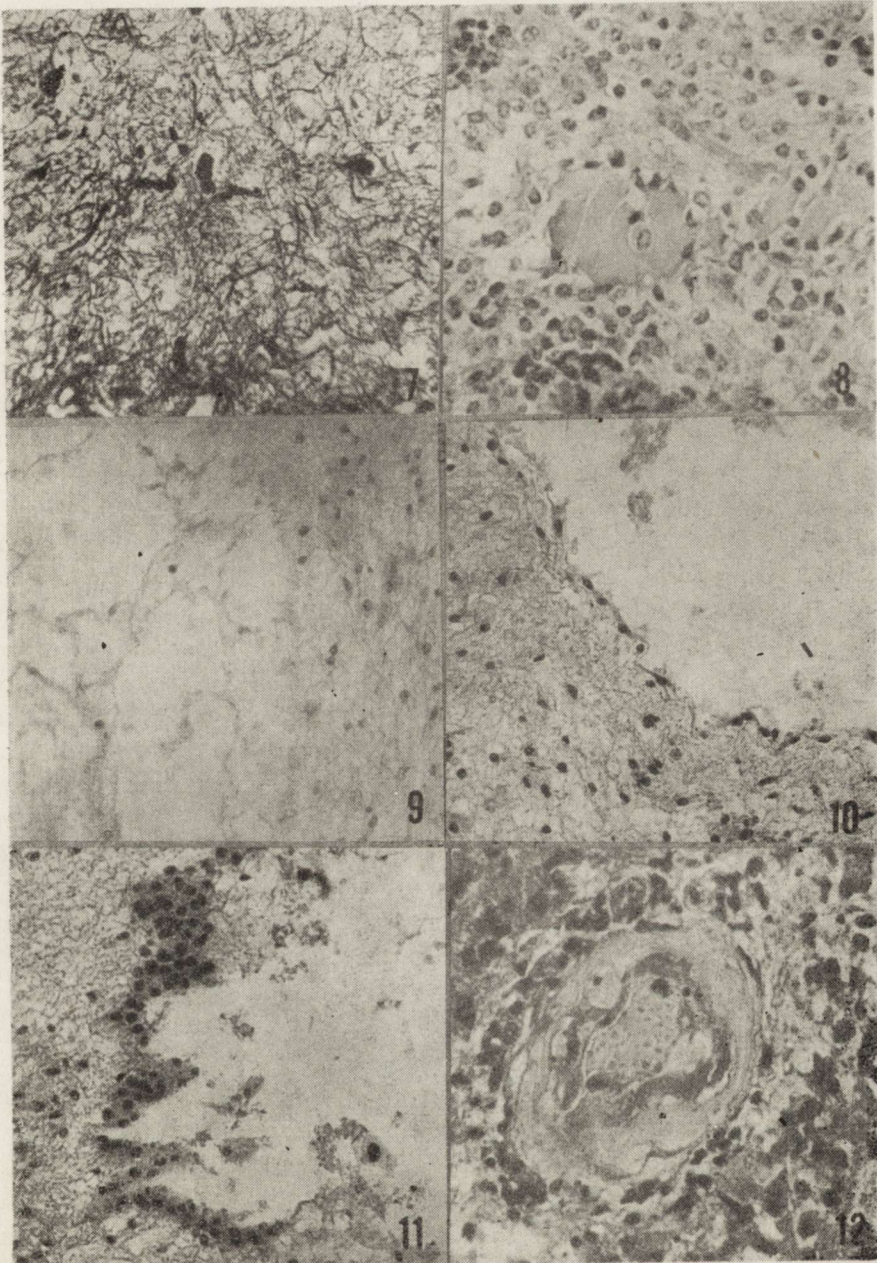
Pineal gland. Tiny protein-filled cyst situated among the pinealocytes (female, 3 months — mucoviscidosis, toxic diarrhea). H—E. × 160

Ryc. 9. Wielokomorowa torbiel w polu gleju szyszynkowego. Bouin. H—E. Pow. 100 ×

Pineal gland. Multilocular cyst in the area of neuroglia. Bouin. H—E. × 100

Ryc. 10. Torbiel w polu neurogleju miąższu szyszynki — światło wysłane pojedynczą warstwą podłużnych komórek o owalnych ciemnych jądrach. H—E. Pow. 160 ×

Pineal gland. Cyst in the area of neuroglia, lined with a single layer of elongated cells with oval dark nuclei. H—E. × 160



Ryc. 11. Torbiel w polu neurogleju mięszu szyszynki, wyściółka wielowarstwowa.
H—E. Pow. 160 ×

Pineal gland. Stratified lining of a cyst in the area of neuroglia. H—E.
× 160

Ryc. 12. Drobną tętniczką w mięszu szyszynki — pod odwarstwowym śródbłonkiem wysięk białkowy i makrofagi (kobieta, lat 80, 157/77 — miażdżycowe uszkodzenie mięśnia serca, przewlekłe nadciśnienie tętnicze). H—E. Pow. 250 ×

Pineal gland. Arteriole, protein exsudate and macrophages under detached endothelium (woman, 80 years, 157/77 — atherosclerotic myocardial damage, chronic arterial hypertension). H—E. × 250

(ryc. 4). Złogi wapnia w mięszu szyszynki występowały w kilku postaciach: opisanych uprzednio drobnych ziaren w przegrodach międzyzrazikowych, w zeszkliwiałej ścianie i wokół naczyń krwionośnych oraz większych konglomeratów widocznych nawet makroskopowo, nazywanych piaskiem szyszynkowym (ryc. 5). Ziarna piasku leżały pośród pinealocytów i pól neurogleju, kształtem przypominały owoc morwy, widać w nich było koncentryczne pierścienie. Oprócz wyżej opisanych, w mięszu szyszynki stwierdzono również owalne ziarna piasku związane z oponą miękką wnikającą w obręb gruczołu (ryc. 6). Lokalizacja ziaren piasku w mięszu szyszynki była różna — w centrum narządu lub pod jego powierzchnią. Zwracało uwagę to, że pinealocyty położone w ich bezpośrednim sąsiedztwie wykazywały prawidłowe cechy budowy oraz morfologiczne wykładniki czynności. W przebadanym materiale znacznej ilości piasku szyszynkowego towarzyszyła zawsze jego obfitość w szypule szyszynki oraz otaczających oponach miękkich.

W większości przypadków komórki i włókna neurogleju występowały pojedynczo w obrębie zrazików lub ich przegród (impregnacja wg met. Cajala, Bodiana, barwienie wg met. Holzera). Często jednak widywano drobne lub rozległe różnokształtne pola hiperplazji neurogleju składające się głównie z astrocytów włóknistych o charakterystycznym gęstym utkaniu grubych włókien (ryc. 2). Czasami widać było wnikanie pasm włókien glejowych pomiędzy grupy lub pojedyncze prawidłowe pinealocyty. W cytoplazmie komórek glejowych mięszu szyszynki stwierdzono ziarna fuksynofilne i lipofuscyny. Zwracała uwagę odmienna morfologia gleju, stanowiącego pola w obrębie mięszu szyszynki i gleju tworzącego jego szypułę, co uwidaczniało się w barwieniu fuksyną aldehydową — włókna gleju w obrębie pól mięszu nie barwiły się tą metodą — natomiast włókna szypuły były dobrze widoczne, grube, z „nanizanymi” na nie fioletowymi ziarnami.

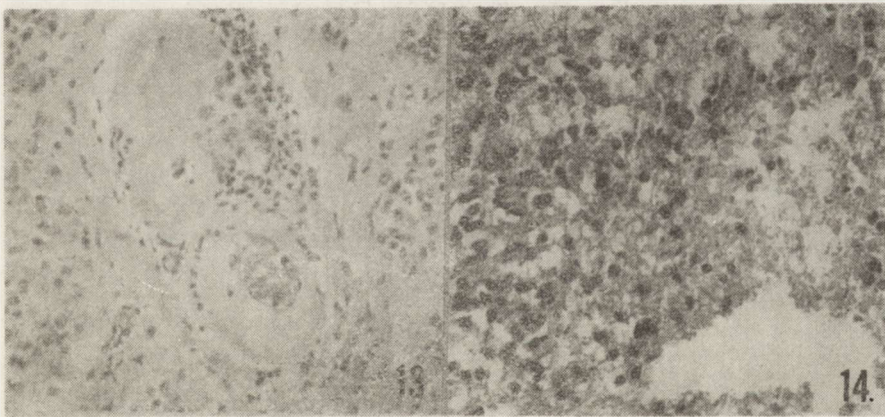
Zwracało uwagę częste występowanie w mięszu szyszynki tzw. włókien Rosenthala, postaci zwyrodnienia astrogleju włóknistego (ryc. 7). Były to długie robakowate twory o średnicy przekroju poprzecznego około 30 μm , barwiące się hematoksyliną-eozyną na różowo, według metody Holzera na fiołkowo, według metody trójbarwnej Massona na czerwono, według metody PTAH-Mallory'ego na brązowo. Występowały one najliczniej w polach hiperplazji neurogleju, rzadko w obrębie przegród międzyzrazikowych i pomiędzy pinealocytami. Włókna Rosenthala występowały również w szypule szyszynki we wszystkich przypadkach, kiedy stwierdzono je w mięszu, czasem samodzielnie.

U ludzi zmarłych po 60 roku życia obserwowano również inną postać zwyrodnienia astrogleju włóknistego — ciała amyloidowe, perłowo-fioletowe (H—E) owalne twory średnicy około 50 μm . Ciała amyloidowe (identyczne z widywanymi w mózgu) stwierdzono również w szypule

szyszynki we wszystkich przypadkach, kiedy były one widoczne w polach neurogleju, częściej samodzielnie.

Różnokształtne torbiele w mięszu szyszynki, bardzo drobne lub duże, zlokalizowane centralnie lub pod powierzchnią narządu, pośród pinealocytów, zrazików lub pól neurogleju, pojedyncze lub liczne, były zjawiskiem stosunkowo częstym. Ścianę torbieli stanowiły pinealocyty lub astrocyty o prawidłowej budowie, czasem pomiędzy nimi widoczne były ziarna hemosyderyny. W świetle wielu torbieli widoczny był płyn białkowy (ryc. 8). W jednym wypadku (szyszynkę utrwalono w płynie Bouina) światło dużej torbieli podzielone było przez cienkie pasma włókien glejowych na komory wypełnione płynem (ryc. 9). W kilku przypadkach stwierdzono odcinkowo wyściółkę z nie zidentyfikowanych komórek o wydłużonym kształcie i owalnym hiperchromatycznym jądrze, odmiennych od elementów glejowych tworzących ścianę torbieli (ryc. 10, 11).

Szkliwienie ścian drobnych tętniczek (średnicy ok. 100 μm i mniejszych) widywano często u chorych, u których badaniem sekcyjnym stwierdzono przerost mięśnia lewej komory serca oraz zaawansowaną miażdżycę tętnic, a w danych klinicznych istniała informacja o przewlekłym nadciśnieniu tętniczym. W posiadanym materiale można było prześledzić kolejne etapy tego procesu. Najpierw dochodziło do odwarstwienia śródbłonna przez wysięk białkowy z osocza. W tym okresie można było niekiedy zaobserwować w ścianie tętniczek duże komórki



Ryc. 13. Szkliwienie tętniczek przestrzeni międzyzrazikowej mięszu szyszynki. Proces obejmuje całą ścianę naczynia. Światło zwężone (przypadek ten sam co na ryc. 12). H—E. Pow. 160 \times

Pineal gland. Hyalinized arteriodes of interlobular septum. The arteriolar wall is involved on its entire thickness, lumen is narrowed (the same case as in Fig. 12). H—E. \times 160

Ryc. 14. Rozległe ognisko martwicy mięszu szyszynki, widoczne liczne komórki żerne (kobieta, lat 70, 217/77 — przewlekła choroba wieńcowa). H—E. Pow. 160 \times

Pineal gland. Extensive necrotic focus, numerous macrophages (woman, 70 years, 217/77 — chronic coronary disease). H—E. \times 160

Tabela 1. Częstość występowania rozrostu tkanki łącznej, neurogleju, ziaren piasku, włókien Rosenthala i torbiele w mięszu szyszynki z uwzględnieniem procesu chorobowego, który doprowadził do zgonu

Incidence of connective tissue and neuroglia proliferation, as well as of the occurrence of psammomatous bodies, Rosenthal fibers and cysts in reference to disease which led to death

Choroba podstawowa Basic disease	Średnia wiek Mean age	Ogólna liczba przypadków Total number of cases	Rozrost tkanki łącznej Connective tissue proliferation		Rozrost neurogleju Neuroglia proliferation		Ziarna piasku Psammomatous bodies		Włókna Rosenthala Rosenthal fibers		Torbiele Cysts	
			l. p.	%	l. p.	%	l. p.	%	l. p.	%	l. p.	%
			1. Miażdżycowe uszkodzenie mięśnia serca Atherosclerotic myocardial injury	82	52	26	50,0	20	38,4	40	77,0	20
2. Przewlekła choroba wieńcowa Chronic coronary disease	77	42	25	59,6	19	45,2	33	78,6	27	64,2	8	19,0
3. Choroba nowotworowa Neoplasm	59	29	13	44,9	16	55,1	24	82,8	13	44,9	6	20,7
4. Przewlekłe choroby płuc Chronic lung diseases	76	10	7	70,0	3	30,0	8	80,0	7	70,0	2	20,0
5. Przewlekłe choroby wątroby Chronic liver diseases	67	6	5	83,3	1	16,6	4	66,6	3	50,0	0	0
6. Alkoholizm Alcoholism	55	5	2	40,0	3	60,0	4	80,0	2	40,0	1	20,0

7. Przewlekła choroba wrzodowa Chronic gastric or duodenal ulcer	70	5	2	40,0	2	40,0	5	100	3	60,0	2	40,0
8. Przewlekłe choroby nerek Chronic renal diseases	73	4	3	75,0	3	75,0	3	75,0	4	100	0	0
9. Wada serca wrodzona Congenital heart diseases	8	3	2	66,0	1	33,3	1	33,3	0	0	0	0
10. Wada serca nabyta Acquired valvular abnormality	58	2	1	50,0	1	50,0	1	50,0	1	50,0	1	50,0
11. Zapalenia ostre Acute inflammations	56	9	6	66,6	2	22,2	5	55,5	2	22,2	1	11,1
12. Zawał mięśnia serca Myocardial infarct	68	8	4	50,0	4	50,0	7	87,5	5	62,5	2	25,0
13. Zgon okołoporodowy Perinatal death	—	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14. Zator tętnicy płucnej Embolism of pulmonary trunc	73	4	3	75,0	3	75,0	4	100	2	50,0	3	75,0
15. Zgon wypadkowy Accidental death	42	16	3	18,8	4	25,0	13	81,2	2	12,5	3	18,7
16. Inne Others	36	4	1	25,0	1	25,0	2	50,0	1	25,0	2	50,0
17. Łącznie Total	60	203	103	50,7	83	40,9	154	75,0	92	45,3	38	18,8

żerne o jasnej cytoplazmie wypełnionej drobnymi eozynofilnymi ziarnistościami (ryc. 12). Następnym etapem procesu było szkliwienie wysięku podśródbłonkowego, a później całej ściany tętniczki i zamknięcie jej światła (ryc. 13). Niekiedy w ścianie tak zmienionych naczyń widoczne były złogi wapnia. W kilku przypadkach w świetle tętnic szyszynkowych stwierdzono skrzepliny.

W wielu przypadkach (głównie u chorych z morfologicznymi wykładnikami przewlekłego nadciśnienia tętniczego) stwierdzono wylewy krwi i ogniska martwicy mięszu szyszynki (ryc. 14).

W dwu przypadkach stwierdzono przerzut nowotworu do szyszynki — były to rak anaplastyczny oskrzela i gruczolakorak trzonu macicy. W jedynym obserwowanym przypadku złośliwego rozrostu układu chłonnego (zespół ziarniniaka grzybiastego) stwierdzono wokół naczyń mięszu szyszynki nacieki nieprawidłowych limfocytów identycznych z naciekami w szpiku, węzłach chłonnych, skórze i narządach wewnętrznych.

Część statystyczna

Rozrost tkanki łącznej w mięszu szyszynki stwierdzono w 50,7%, rozrost neurogleju w 40,9%, ziarna piasku w 75,9%, włókna Rosenthala w 45,3%, a torbiele w 18,8% przypadków (tab. 1). Wszystkie wymienione elementy występowały jednakowo często u chorych zmarłych w przebiegu przewlekłych chorób serca i płuc oraz choroby nowotworowej. Natomiast grupa zmarłych nagle w wyniku wypadku różniła się znacznie niższą częstością występowania rozrostu tkanki łącznej i glejowej oraz włókien Rosenthala. Ziarna piasku i torbiele w mięszu szyszynki występowały jednakowo często zarówno u ludzi zmarłych w przebiegu wieloletnich chorób ogólnoustrojowych, jak i zmarłych w wyniku wypadku.

DYSKUSJA

Makroskopowa ocena gruczołu, jak również mikroskopowa ocena architektoniki mięszu szyszynki w materiale własnym była zgodna z piśmiennictwem (Kutscherenko 1943; Arieti 1945; Megyeri 1960; Khe-limsky 1961; Karasek 1967; Rodin, Overall 1967; Wurtman i wsp. 1968; Hajdu i wsp. 1972; Tapp, Huxley 1972; Karasek 1976).

Fibroglejoza mięszu szyszynki chorych zmarłych w przebiegu przewlekłych chorób serca i płuc, a więc przewlekłego niedotlenienia, zmarłych w wyniku zaburzeń metabolizmu związanych z rozrostem nowotworu, jak również zmarłych w przebiegu przewlekłych chorób nerek, wątroby, przewodu pokarmowego i innych narządów wydaje się wskazywać, iż proces ten jest morfologicznym wykładnikiem specyficznej

reakcji tego narządu na ogólnoustrojowy przewlekły proces chorobowy niezależnie od jego etiologii (podobną interpretację podał Arieti — 1954). Hipotezę tę wydaje się potwierdzać częste występowanie rozrostu neurogleju w szyszynce dzieci zmarłych po długotrwałej chorobie i rzadkie występowanie tego zjawiska w grupie ludzi zmarłych nagle w wyniku wypadku. Należy podkreślić, że fibroglejoza jest również jednym z morfologicznych wykładników zmian, które zachodzą w mózgu w przebiegu przewlekłych chorób serca i płuc (Osetowska 1962; Englund 1968).

Komponent mezodermalny utkania mięszu szyszynki, międzyzrakowa tkanka łączna, w tych samych ogólnoustrojowych procesach chorobowych rozrastała się i ulegała zmianom zwyrodnieniowym, podobnie jak to ma miejsce w innych narządach (np. w mięśniu serca przy jego przeroście — Kruś 1978). W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono próby oceny częstości występowania rozrostu tkanki łącznej ani powiązania występowania tego zjawiska z ogólnoustrojowym procesem chorobowym. Arieti (1954) szyszynki bogate w tkankę łączną zaszeregował do jednego z opisanych przez siebie „typów histologicznych”, a rozrost neurogleju niektórzy autorzy wiązali z pozaszyszynkową chorobą nowotworową (Kutscherenko 1943; Hajdu i wsp. 1972) lub z wiekiem (Tapp, Huxley 1972).

Należy jednak podkreślić, że ściśle oddzielenie zmian zachodzących w mięszu szyszynki pod wpływem ogólnoustrojowego procesu chorobowego od zmian związanych ze starzeniem się nie jest możliwe, ponieważ w badaniu materiału pochodzącego od ludzi trudno ustalić cechy grupy kontrolnej. W przedstawionej pracy grupę tę stanowili ludzie zmarli śmiercią gwałtowną, najczęściej w wypadku drogowym, jako przeciwieństwo pacjentów zmarłych w szpitalu w wyniku długotrwałej choroby. Jednakże losy zmarłych stanowiących materiał sądowy były najczęściej nie znane; trudno przypuścić, iż do chwili śmierci nigdy nie chorowali.

Włókna Rosenthala, postać zwyrodnienia gleju włóknistego, stwierdzono w wymienionych grupach chorobowych równie często jak rozrost tkanki łącznej i neurogleju, ale wydaje się, iż przyczyn ich tworzenia nie można wiązać wyłącznie z przewlekłym niedotlenieniem. Włókna Rosenthala stanowią w oun stosunkowo rzadkie zjawisko, najczęściej związane ze strukturami linii środkowej, do których należy szyszynka. Tak więc gromadzenie włókien Rosenthala w rozległych polach fibroglejozy w tym narządzie jest prawdopodobnie związane z właściwościami gleju włóknistego tej okolicy — podobną interpretację przedstawił Vuia (1975). Etiologia tworzenia włókien Rosenthala w mózgowiu nie jest jasna. Głuszcz (1964) i Herndon (1970) uważają je za wynik wrodzonego, a Osetowska (1975) metabolicznego błędu towarzyszącego patologii różnych etiologicznie procesów mózgowych. W materiale własnym włókna Rosenthala stwierdzono nie tylko w polach hiperplazji neurogleju,

lecz również w obrębie przegród międzyzrazikowych i samych zrazików. W dostępnym piśmiennictwie nie spotkano się z oceną częstości występowania włókien Rosenthala w mięszu szyszynki.

Częstość występowania, lokalizacja i budowa zwapnień mięszu szyszynki w materiale własnym była zgodna z piśmiennictwem (Arieti 1954; Khelimsky 1961; Wurtman i wsp. 1968; Karasek 1974; Mugondi, Poltera 1976; Legait, Legait 1977). Ziarna piasku występowały jednako-wo często w grupie przewlekle chorych jak i zmarłych nagle, stwierdzo-no je także u małych dzieci; można więc przypuszczać, że ich groma-dzenie jest raczej specyficzną cechą budowy i czynności tego narządu, a nie wykładnikiem morfologicznym zmian zależnych od starzenia się lub ogólnoustrojowego procesu chorobowego, jak sądzili Kutscherenko (1943), Drexler i wsp. (1957), Rodin i Overall (1967) oraz Tapp i Huxley (1972).

Torbiele w mięszu szyszynki występowały w materiale własnym nieco rzadziej niż u Megyeri (1960). Ich lokalizacja, budowa ścian i za-wartość oraz związek z martwicą i wylewami krwi były zgodne z wy-czerpującym opisem tego autora. Wydaje się jednak, iż w patomecha-nizmie ich tworzenia główną rolę należy przypisać zjawisku przesiąka-nia związanego z angioarchitektoniką szyszynki oraz właściwościami struktury ścian jej naczyń (naczynia typu zatokowatego), odmiennymi niż w innych okolicach oun.

Szklwienie ścian tętniczek mięszu szyszynki w przebiegu nad-ciśnienia tętniczego, nie opisane uprzednio, było identyczne jak w na-czyniach tego samego kalibru zlokalizowanych w innych narządach (Ke-renyi, Hüttner 1974). W badanym materiale stwierdzono również prze-rzuty nowotworów do mięszu szyszynki oraz nacieki komórek układu chłonnego w jego patologicznym rozroście, podobnie jak w materiale Khelimsky'ego (1960) i Schaefera i wsp. (1977).

WNIOSKI

1. Rozrost tkanki łącznej i neurogleju w mięszu szyszynki jest charakterystyczną reakcją tego narządu na długotrwałe procesy choro-bowe przebiegające z przewlekłym niedotlenieniem i zaburzeniami me-tabolizmu.

2. Ziarna piasku, włókna Rosenthala oraz torbiele są zjawiskami mor-fologicznymi charakterystycznymi dla szyszynki i wynikają z odrębno-ści strukturalnych tego narządu.

3. W szyszynce występują zmiany stanowiące charakterystyczny wy-kładnik określonych procesów chorobowych, identyczne w swej struk-turze z obrazami występującymi w innych narządach: szklwienie tę-tniczek w przebiegu nadciśnienia tętniczego, przerzuty nowotworów, na-cieki komórek układu chłonnego przy jego patologicznym rozroście.

*

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

MORFOLOGICZESKAJA KARTINA CZLOWECESKOJ SZISZKOWIDNOJ ŻELEZY
W TECZENIE NEKOTORYCH
OBSZEORGANICZESKICH PATOLOGICZESKICH SOSTOJANIJ

Резюме

Была проведена морфологическая оценка 203 шишковидных желез людей умерших в возрасте от новорожденности до старчества, в течение разных хронических общесорганических болезней, а также людей, умерших скоропостижно вследствие несчастных случаев. Констатировано, что в течение хронических общесорганических патологических процессов в паренхиме шишковидной железы приходит к разрастанию невроглии и соединительной ткани. Зерна песка, волокна Розенталя и кисты — это морфологические явления характерные для этого органа. Они не связаны с определенным общесорганическим болезненным процессом и вытекают из его специфической структуры. В паренхиме шишковидной железы выступают также изменения характерные для определенных патологических процессов, как шапализация стенок артериол в течение гипертонии, метастазы новообразований и инфильтраты неоплазматических клеток лимфатической системы.

MORPHOLOGY OF HUMAN PINEAL GLAND IN VARIOUS
EXTRACRANIAL PATHOLOGICAL DISORDERS

Summary

Two hundred three pineal glands were checked in this series. They derived from subjects in various age, from newborns up to the elderly ones, suffering from various extracranial pathological disorders as well as from those who died suddenly in accidents. The proliferation of neuroglia and connective tissue was observed in the course of chronic diseases. Psammoma bodies, Rosenthal fibers and cysts constitute the morphological phenomena typical of pineal gland and reflect its specific structure, and are not related to any pathological condition. The parenchyma of pineal gland shows also the lesions typical of certain pathological processes as e.g. arteriolar hyalinization in the course of hypertension, neoplastic metastases and infiltrations of lymphomas.

PIŚMIENICTWO

1. Arieti S.: The pineal gland in old age. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1954, 13, 482—491.
2. Drexler J., Meaney T., McCormack L. J.: The calcified pineal body and carcinoma. *Cleve. Clin. Q.*, 1957, 24, 243—247.
3. Englund G.: *Neuropathology of cardiorespiratory diseases*. W: *Pathology of the nervous system*. Red. J. Minckler, Mc Graw-Hill USA 1968, 997—1005.
4. Głuszczyk A.: Disseminate cerebral gliomatosis with fibrillary degeneration of the glia and with Rosenthal fibres. *Acta neuropath.*, (Berl.), 1964, 4, 212—217.

5. 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.
6. Herndon R. M., Rubinstein L. J., Freeman J. M., Mathieson G.: Light and electron microscopic observation of Rosenthal fibers in Alexander's disease and in multiple sclerosis. *J. Neuropath, exp. Neurol.*, 1970, 29, 524—551.
7. Karasek M.: Przyczynę do badań nad istotą tzw. kul jądrowych („Kern-kugeln”) w komórkach. *Folia Morphol.*, (Warsz.) 1967, 26, 335—341.
8. Karasek M.: Szyszynka ludzka. [W:] *Syszynka*. PZWL, Warszawa 1976, 88—105.
9. Kerenyi T., Hüttner I.: Morphological changes of small muscular-type vessels and arteriosclerosis under the influence of various injuries. [W:] *Arterial lesions and arteriosclerosis*. Red. H. Jellinek. Akademiai Kiado. Budapest 1974, 68.
10. Khelimsky A. M.: Differential diagnosis of a changes occurring in the pineal body in connection with advancing age and pathology. *Arkh. Pat.*, 1961, 23, 76—79.
11. Kruś S.: Patomorfologia ogólna mięśnia serca. [W:] *Patomorfologia serca*. Red. S. Kruś. PZWL Warszawa, 1979, 94—97.
12. Kutscherenko B.: Über die Veränderungen der Zilberdrüse (Epiphysis cerebri) bei bösartigen Geschwülsten. *Z. Krebsforsch.* 1943, 54, 189—195.
13. Legait H., Legait E.: Contribution a l'etude de la glande pineale humaine. Etude faite a l'aide de 747 glandes. *Bull. Assoc. Anat.*, (Nancy) 1977, 61 (172), 107—121.
14. Megyeri L.: Cystische Veränderungen des Corpus pineale. *Frankf. Zeitschr. Path.*, 1960, 70, 699—704.
15. 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.
16. Osetowska E.: Próba systematyzacji zmian w mózgu w przebiegu chorób serca i płuc. *Pol. Tyg. Lek.*, 1962, 17, 3—20.
17. Osetowska E.: Choroba Rosenthala czy glej Rosenthala? *Neuropat. Pol.*, 1975, 13, 153—163.
18. Rodin A. E., Overall J.: Statistical relationship of weight of the human pineal to age and malignancy. *Cancer*, 1967, 20, 1203—1214.
19. Schaefer M., Lapras C., Thamalska G., Gran H., Schober R.: Sarcoidosis of the pineal gland. *J. Neurosurg.*, 1977, 47, 630—632.
20. Schey W. L.: Intracranial calcifications in childhood. Frequency of occurrence and significance. *Am. J. Roentgenol. Radium Ther. Nucl. med.*, 1977, 122, 495—502.
21. Tapp E., Huxley M.: The weight and degree of calcification of the pineal gland. *J. Pathol.*, 1971, 105, 31—39.
22. Tapp E., Huxley M.: The histological appearance of the human pineal gland from puberty to old age. *J. Pathol.*, 1972, 108, 137—144.
23. Wurtman R. J., Axelrod J., Kelly D. E.: *The pineal*. Academi Press, New York, London 1968, 173—185.
24. 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

IRINA W. GANNUSZKINA, HALINA WEINRAUDER, INNA G. ŻIRNOWA

ZASTOSOWANIE IMMUNOFLUORESCENCJI
I IMMUNODYFUZJI DO WYKRYWANIA PRZECIWCIAŁ
ANTYMÓZGOWYCH
W SUROWICACH PACJENTÓW Z CHOROBIAMI OUN

Instytut Neurologii ANM ZSRR, Moskwa
Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej, PAN,
Warszawa

Badania immunochemiczne wykazały występowanie w układzie nerwowym szeregu antygenów o swoistości narządowej. Wśród najlepiej poznanych antygenów tego rodzaju są: białko S-100 (Moore 1965), kwaśne białko włóknikowe astrocytów (GFAP — Eng i wsp. 1971) i zasadowe białko mieliny (Kies i wsp. 1972). Przedmiotem wielu badań jest swoistość gatunkowa i lokalizacja antygenów mózgowych w różnych strukturalnych komponentach tkanki nerwowej. Wiele zainteresowania wzbudziło również wykrycie przeciwciał antymózgowych w surowicach chorych na schorzenia neurologiczne, ze względu na możliwość ich udziału w patogenezie choroby. W świetle wyników uzyskiwanych przez różnych autorów wielce prawdopodobna staje się heterogenność antymózgowych przeciwciał i najprawdopodobniej tym można wytłumaczyć niezgodność danych różnych autorów o częstości występowania przeciwciał przeciwko tkance nerwowej u pacjentów z chorobami neurologicznymi. W związku z tym wydało się celowe porównanie możliwości zastosowania różnych odczynów do wykrywania przeciwciał w surowicach chorych.

MATERIAŁ I METODY

Badania wykonano na surowicach 21 chorych na stwardnienie zanikowe boczne (ALS) i 16 chorych na stwardnienie rozsiane (MS) metodą immunofluorescencji pośredniej. W 12 przypadkach (po 6 z każdej grupy) badano surowice w odczynie immunodyfuzji w żelu agarowym.

Odczyn immunofluorescencji (IF). Stosowano pośrednią metodę immunofluorescencji według Coonsa (1958). Surowice chorych rozcieńczano

10-krotnie buforem fosforanowym. Odczyn wykonywano na skrawkach kriostatowych mózgu królika. Do badań pobierano bloki tkanki mózgowej, natychmiast po dekapitacji zwierząt, z czwartego pola kory półkul mózgowych, z dolnych odcinków mostu oraz z rdzenia kręgowego.

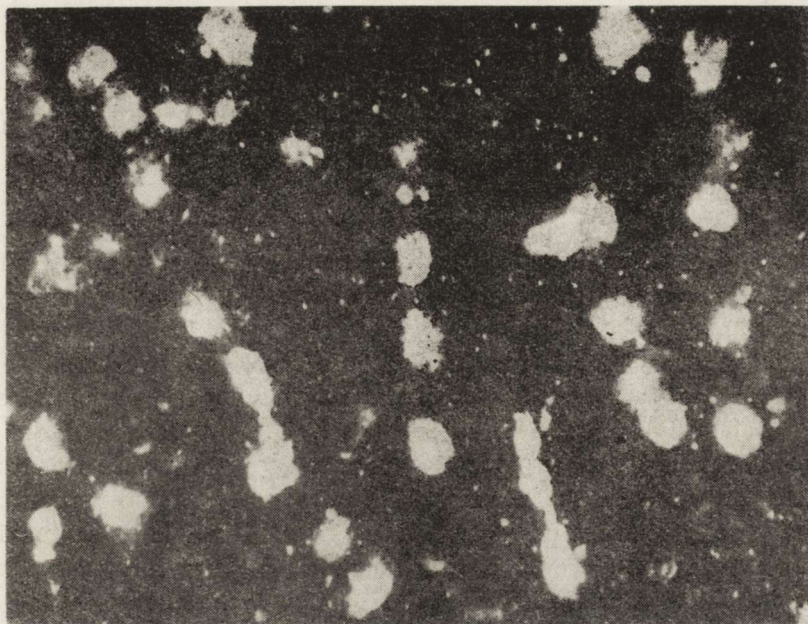
Odczyn immunodyszfuji (ID). Odczyn wykonywano w 1% żelu agarowym (Special Agar Noble, Difco) w buforze fosforanowym o pH 7,2. Płytki inkubowano w temperaturze pokojowej przez 48—72 godz., płukano w buforze fosforanowym 0,01 M i barwiono w alkoholowym roztworze czerni amidowej 10B.

Stosowano następujące antygeny: liofilizowany wyciąg z mózgu ludzkiego w stężeniu 15, 30, 40 i 60 mg/ml, wyciąg z mózgu pawiana w stężeniu około 12 mg białka w ml, wyciąg z mózgu szczura (20 mg/ml) oraz wyciąg z wątroby (24 mg/ml) i śledziony (12 mg/ml) oraz normalną surowicę małpy *Cercopithecus aethiops*.

Surowice. Surowice od pacjentów przechowywano w temperaturze -20°C do chwili wykonania odczynu. Używano je nierozcieńczone lub zagęszczone 3- i 4-krotnie w workach dializacyjnych umieszczonych w Aquacide II (Calbiochem). Dla porównania reakcji oraz potwierdzenia swoistości i aktywności używanych antygenów zastosowano dwie surowice królików immunizowanych domięśniowo homogenatem mózgu pawiana (1 ml homogenatu + 1 ml niepełnego adjuwantu Freund—Difco). Surowice pochodziły od zwierząt uodpornianych 9- i 10-krotnie (hiperimmunizacja) i nie były niczym absorbowane.

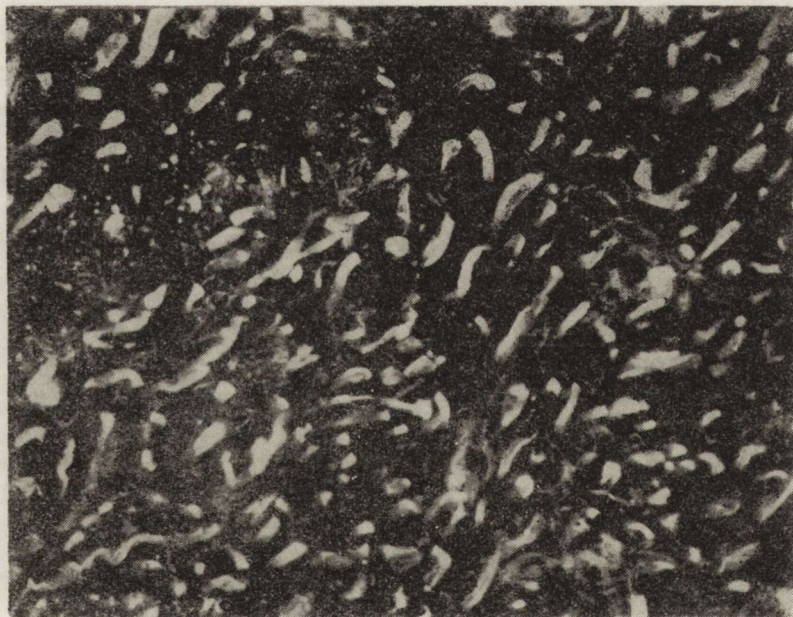
WYNIKI I OMÓWIENIE

Przy użyciu metody immunofluorescencji stwierdzono występowanie przeciwciał antymózgowych w surowicach wszystkich — z wyjątkiem jednego przypadku — chorych na stwardnienie rozsiane. Immunoglobuliny wiązały się zarówno na neuronach, jak i na komórkach glejowych. Fluorescencja w neuronach była zlokalizowana w całej cytoplazmie, a intensywność odczynu była różna w różnych komórkach. W rdzeniowej formie choroby intensywniejsze świecenie obserwowano w reakcji na skrawkach z rdzenia. Wiązanie się immunoglobulin na komórkach glejowych przejawiało się dodatnim odczynem zarówno astro- jak i oligodendrocytów, przy czym odczyn w tych ostatnich był szczególnie intensywny (ryc. 1). Fluorescencję oligodendrogleju spotyka się bardzo rzadko przy badaniu surowic chorych na inne choroby neurologiczne, o czym była mowa we wcześniejszych doniesieniach (Gannuszkina 1976; Gannuszkina i wsp. 1980). Najwidoczniej powinowactwo immunoglobulin do oligodendrocytów jest szczególną cechą surowic chorych na stwardnienie rozsiane i może być związane z występowaniem przeciwciał przeciwko antygenowi zlokalizowanemu w tych komórkach. Potwierdzają to także dane Abramsky'ego i wsp. (1977), którzy stwier-



Ryc. 1. Odczyn IF. Silne świecenie oligodendrocytów w reakcji z surowicą chorego na stwardnienie rozsiane. Pow. 320 ×

IF test. Strong fluorescence of oligodendrocytes in reaction with serum from patient with multiple sclerosis. × 320



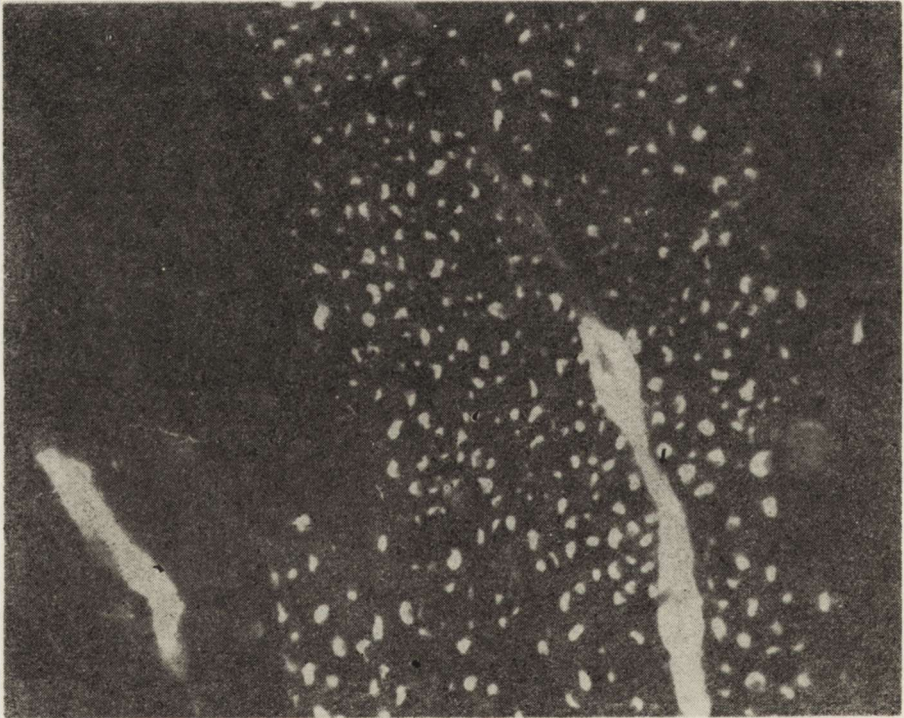
Ryc. 2. Odczyn IF. Wiązanie surowicy chorego na stwardnienie rozsiane na osłonkach mielinowych. Pow. mikroskopowe 320 ×

IF test. Binding of serum from patient with multiple sclerosis on myelin sheaths. Microscopic magn. × 320

dzili obecność przeciwciał antyoligodendroglejowych w surowicach chorych na stwardnienie rozsiane. Przeciwciała te reagowały także z frakcją izolowanych oligodendrocytów. Autorzy ci stoją na stanowisku, że występowanie przeciwciał w surowicy ma charakter swoisty, a uszkodzenie oligodendrocytów przez przeciwciała może odgrywać rolę w patogenezie stwardnienia rozsianego.

Świecenie osłonek mielinowych w reakcji z surowicami chorych na Ms było w naszym materiale bardzo intensywne (++++) wg umownej skali świecenia) i obserwowano je prawie we wszystkich przypadkach (ryc. 2).

W surowicach chorych na stwardnienie zanikowe boczne stwierdzono występowanie przeciwciał przeciwko mózgowi w 20 przypadkach na 21 badanych. Fluorescencja w neuronach była zazwyczaj umiarkowana. Poprzednio stwierdzono, że neurony ruchowe w pniu mózgu i w rdzeniu wykazują intensywniejszą reakcję IF w porównaniu z neuronami czuciowymi, w odczynie z surowicami chorych na ALS (Gannuszkina 1976). Zauważona odmienność jest najprawdopodobniej uwarunkowana dominującym uszkodzeniem szlaków ruchowych w tym schorzeniu.



Ryc. 3. Odczyn IF. Selektywne wiązanie surowicy chorego na stwardnienie zanikowe boczne na osłonkach mielinowych poszczególnych struktur mózgu. Pow. 320 ×

IF test. Selective binding of serum from patient with amyotrophic lateral sclerosis on myelin sheaths of particular brain structures. × 320

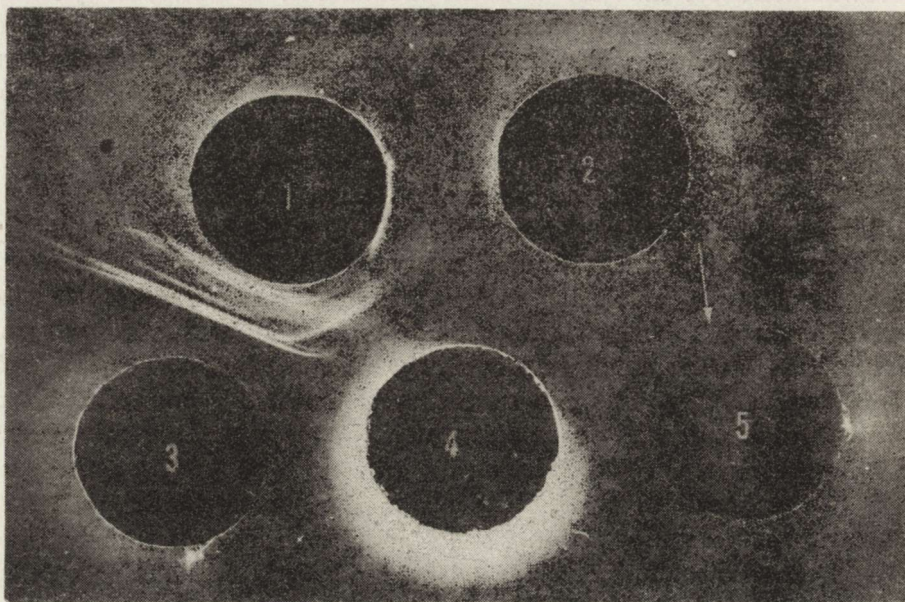
Silną fluorescencję obserwowano w cytoplazmie i wypustkach astrocytów, natomiast odczyn oligodendrocytów w reakcji z surowicami chorych z tej grupy był ujemny.

Zwracała uwagę nierównomierność świecenia osłonek mielinowych w reakcji na skrawkach z pnia mózgu i rdzenia (ryc. 3). Przyczyna tej nierównomierności nie jest w pełni zrozumiała. Możliwe, że jest ona uwarunkowana występowaniem w surowicach przeciwciał skierowanych przeciwko antygenom zlokalizowanym w mielinie niektórych tylko struktur, co znajduje potwierdzenie w danych o heterogenności antygenów mieliny (Waehneltd 1977; Fagg i wsp. 1977). Edgington i Dalessio (1970) wykazali występowanie przeciwciał antymielinowych w 88⁰/o surowic pochodzących od ludzi zdrowych, i nie obserwowali selektywności świecenia różnych włókien mielinowych. Dane te są zgodne z wcześniejszymi obserwacjami Gannuszki i Żirnowej (1972). Swoistość wiązania się immunoglobulin na mielinie jest kwestionowana przez niektórych autorów. Allerand i Yahr (1964) uważają tę reakcję za nieswoiste wiązanie się ludzkich IgG na mielinie. Podobnego zdania są Aarli i wsp. (1975), którzy wykazali, że wiązanie normalnych ludzkich gammaglobulin na tej strukturze zachodzi poprzez fragment Fc, a zatem nie jest reakcją antygen-przeciwciała. Z drugiej strony cytowani już Edgington i Dalessio (1970) wykazali, że w stwardnieniu rozsianym na mielinie wiąże się fragment Fab immunoglobuliny, zaś Lisak i wsp. (1975) poprzez blokowanie i absorpcję udowodnili, że wiązanie się ludzkich IgG na mielinie ma charakter reakcji antygen-przeciwciała. Zagadnienie to nie jest ostatecznie wyjaśnione, należy jednak podkreślić, że za swoistością reakcji immunofluorescencji obserwowanej w naszym materiale przemawia nie tylko samo świecenie mieliny, ale także różnice w intensywności, a szczególnie w lokalizacji odczynu.

W reakcji IF z surowicami od chorych na stwardnienie rozsiane i stwardnienie zanikowe boczne często obserwowano silne świecenie naczyń mózgowych — nie można się jednak wypowiedzieć ostatecznie co do swoistości tego odczynu. Poglądy różnych autorów na temat swoistości przeciwciał „antynaczyniowych” przedyskutowano we wcześniejszej pracy (Żirnowa 1974).

Wyniki testów immunodyfuzji były ujemne, i to zarówno z surowicami natywnymi, jak i zagęszczanymi 3- i 4-krotnie. Jedynie w 2 przypadkach po zabarwieniu i wysuszeniu płytek agarowych uwidoczniło się krótkie, słabe pasmo precypitacyjne w reakcji z antygenem z mózgu pawiana. Charakter linii precypitacyjnej i jej lokalizacja nie pozwalała na bliższe określenie rodzaju reakcji. Z antygenem z mózgu ludzkiego, we wszystkich użytych stężeniach, reakcja była ujemna. Również ujemnie wypadły testy z surowicami zagęszczanymi i antygenami tkankowymi. Należy podkreślić, że używane w odczynie immunodyfuzji antygeny reagowały bardzo silnie z surowicami królików immunizowa-

nych mózgiem pawiana. W reakcji z homologicznym antygenem pojawiało się często 7—8 pasm, z których 5—6 wykazywało identyczność immunologiczną z antygenem z mózgu ludzkiego (ryc. 4). Świadczy to o swoistości odczynu i zachowanej antygenowości używanych wyciągów białkowych.



Ryc. 4. Odczyn ID. 1. Surowica królika immunizowanego homogenatem mózgu pawiana. 2. Surowica chorego na stwardnienie zanikowe boczne. 3 i 5. Antygen w mózgu pawiana (12 mg białka/ml). 4. Liofilizowany wyciąg z mózgu ludzkiego (40 mg/ml). Strzałka wskazuje pasmo precipitacyjne w reakcji surowicy chorego z antygenem z mózgu pawiana

ID test. 1. Rabbit antiserum against baboon brain homogenate. 2. Serum of patient with amyotrophic lateral sclerosis. 3 and 5. Baboon brain antigen (12 mg protein/ml). 4. Lyophilised extract from human brain (40 mg/ml). Arrow shows precipitin band in reaction of patient serum with baboon brain antigen

W odczynie immunodyfuzji nie udało się zatem wykazać obecności w surowicach chorych precipitujących przeciwciał skierowanych przeciwko antygenom narządowo- i tkankowo-swoistym. Przyczyną może być występowanie w surowicach tych chorych głównie przeciwciał nieprecypitujących. Możliwe jest także, że miano przeciwciał ujawniających się w odczynie immunofluorescencji jest niewystarczające do uzyskania dodatniej reakcji w żelu agarowym. Obserwowano już uprzednio, że nawet przy posługiwaniu się surowicami pochodzącymi od zwierząt wielokrotnie immunizowanych („hyperimmune”), odczyn dyfuzji czasami jest ujemny, podczas gdy w odczynie IF stwierdza się swoiste świecenie tkanki nerwowej (Delpech i wsp. 1976; Weinrauder, Krajewski 1979).

Przeprowadzone badania wykazały, że posługiwanie się metodą im-

munofluorescencji pośredniej pozwala na wykrycie w surowicach chorych neurologicznie przeciwciał o powinowactwie do różnych struktur tkanki nerwowej. Godne podkreślenia wydają się być niektóre odmienności w wiązaniu się immunoglobulin od chorych z różnymi schorzeniami neurologicznymi. Natomiast zastosowanie testu immunochemicznego, co miałyby duże znaczenie dla określenia immunologicznego podłoża heterogenności przeciwciał, będzie wymagało użycia odczynu czulszego niż immunodyfuzja.

ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЙ И ИММУНОДИФФУЗНЫЙ ТЕСТЫ
ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОТИВОМОЗГОВЫХ АНТИТЕЛ
У НЕВРОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Резюме

Исследовали антитела к антигенам нервной ткани у 21 больного боковым амиотрофическим склерозом (БАС) и 16 больных рассеянным склерозом (РС). Использовали методы непрямой иммунофлюоресценции и иммунодиффузии. С помощью иммунофлюоресцентного метода почти у всех больных выявлена фиксация иммуноглобулинов на антигенах нервной ткани. Сыворотки больных РС фиксировались на всех структурных компонентах, однако, особенно ярким было свечение олигодендроглии и диффузное свечение миелина. При БАС обнаружена избирательная реакция с миелиновыми оболочками отдельных структур мозга. Результаты иммунодиффузионного метода оказались отрицательными во всех случаях.

THE DETECTION OF ANTIBRAIN ANTIBODIES IN SERA OF PATIENTS WITH
NEUROLOGICAL DISEASES BY IMMUNOFLUORESCENCE
AND IMMUNODIFFUSION

Summary

The occurrence of antibodies against nervous tissue antigens in sera of 21 patients with amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and 16 patients with multiple sclerosis (MS) was studied.

Sera were examined by means of direct immunofluorescence and immunodiffusion methods. In immunofluorescence test binding of immunoglobulins to the nervous tissue antigens with sera of almost all the patients was demonstrated. In the tests with MS sera positive reaction in all structural components of nervous tissue with especially intensive fluorescence in oligodendroglia and diffusive fluorescence of myelin was observed. In tests with sera of ALS patients selective binding of immunoglobulins on myelin sheaths of particular brain structures was found. Results of immunodiffusion tests in agar gel were negative in 12 cases studied.

PIŚMIENNICTWO

1. Aarli J. A., Aparicio S. R., Lumsden C. E., Tönder O.: Binding of normal human IgG to myelin sheaths, glia and neurons. *Immunology*, 1975, 28, 171—185.

2. Abramsky O., Lisak R. P., Silberberg D. H., Pleasure D. E.: Antibodies to oligodendroglia in patients with multiple sclerosis. *New Engl. J. Med.*, 1977, 297, 1207—1211.
3. Allerand D., Yahr M. D.: Gamma-globulin affinity for normal human tissue of the central nervous system. *Science*, 1964, 144, 1141—1142.
4. Coons A. N.: Fluorescent antibody methods. [W:] *General cytochemical methods*. Red. J. F. Danielli, Acad. Press, New York 1958, 1, 394—422.
5. Delpech B., Vidard M. N., Delpech A.: Caractérisation immunochimique et immunologique d'une glycoprotéine associée au système nerveux. *Immunochimistry*, 1976, 13, 113—116.
6. Edgington T. S., Dalessio D. J.: The assessment by immunofluorescence method of humoral anti-myelin antibodies in man. *J. Immunol.*, 1970, 105, 248—255.
7. Eng L. F., Vanderhaeghen J. J., Bignami A., Gerstl B.: An acidic protein isolated from fibrous astrocytes. *Brain Res.*, 1971, 28, 351—354.
8. Fagg G. E., Waehneltd T. V., Neuhoff V.: The preparation and analysis of myelin from small quantities of central nervous tissue: regional studies of the Quaking mouse. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1977, 100, 136—147.
9. Gannuszkina I. W.: Fiksacja przeciwmózgowych syworotocznych antybiotyków człowieka w rozlicznych odciekach głównego mózga krowki. *Biul. eksper. biol.*, 1976, 82, 1138—1141.
10. Gannuszkina I. W., Żirnowa I. G.: Rezultaty sravnitel'nogo isledowanja syworotocznych przeciwmózgowych antybiotyków u donorow i niewrologiczeskich bolnych mietodom niepriamoj immunofluorescencji Kunsza. *Klin. med.*, 1972, 9, 120—123.
11. Gannuszkina I. W., Żirnowa I. G., Alijewa L. M.: O wozmożnosti ispolzowanja mietoda niepriamoj immunofluorescencji dla analiza immunoglobulinow pri niekotorych niejrogeneticzeskich zaboiewanjach. *Żurn. niewropat. psichiat.*, 1980, 80, 1297—1301.
12. Kies M. W., Martenson R. E., Deibler G. E.: Myelin basic proteins. [W:] *Functional and structural proteins of the nervous system*. *Adv. Exp. Med. Biol.* v. 32. Red. A. N. Davison, P. Mandel, I. G. Morgan. Plenum Press, New York, London 1972, 201—214.
13. Lisak R. P., Zwiman B., Norman M.: Antimyelin antibodies in neurologic diseases: immunofluorescent demonstration. *Arch. Neurol.*, 1975, 32, 163—167.
14. Moore B. W.: A soluble protein characteristic of the central nervous system. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1965, 19, 739—744.
15. Waehneltd T. V.: Protein heterogeneity in rat CNS myelin subfractions. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1977, 100, 117—135.
16. Weinrauder H., Krajewski S.: Immunofluorescencyjna lokalizacja narządowo-swoistych antygenów w mózgu przy użyciu surowic homo- i heterologicznych. *Neuropat. Pol.*, 1979, 273—285.
17. Żirnowa I. G.: Autoimmunnyje reakcji pri kriogennom powreżdienii mozga w eksperimencie i klinice. *Dissertacja kandydata nauk*. Moskwa 1974.

Adres dr H. Weinrauder: Zespół Neuropatologii, Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, ul. Dworkowa 3, 00—784 Warszawa

KRYSTYNA HONCZARENKO

KORELACJE KLINICZNO-NEUROPATOLOGICZNE STANU ZATOKOWATEGO MÓZGU O RÓŻNEJ ETIOLOGII Z WYŁĄCZENIEM TŁA MIAŻDŻYCOWEGO

Pracownia Neuropatologiczna Kliniki Neurologii Instytutu Chorób
Układu Nerwowego i Narządów Zmysłów PAM, Szczecin

Stan zatokowaty mózgu jest pojęciem zarówno klinicznym jak i neuropatologicznym (Opalski 1951), w związku z czym badania nad nim rozwijały się od dawna w dwóch kierunkach. Z jednej strony chodziło o wyjaśnienie przyczyny tego morfologicznego stanu, z drugiej starano się go powiązać z pewnymi objawami klinicznymi, które mogłyby być dla niego charakterystyczne. Po raz pierwszy opisał stan zatokowaty Durand-Fardel w 1843 r. Zatoki okołonaczyniowe spotykał on najczęściej w *striatum*, wzgórzu i istocie białej półkul. Nie był w stanie jednak podać przyczyny tych zmian. Marie (1901) u pacjentów ze stanem zatokowatym mózgu obserwował najczęściej niedowłady połowicze, chód drobnymi kroczkami, afazję, dyzartrię, zespoły opuszkowe, zaburzenia psychiczne i postępującą demencję. Spośród 114 pacjentów ze stanem zatokowatym, przeanalizowanych przez Fishera (1965a), u 88 występowały różne objawy neurologiczne. Były to najczęściej: niedowłady połowicze, zaburzenia mowy (dyzartria, afazja), zespoły rzekomoopuszkowe, zaburzenia psychiczne.

Tylko u 1 pacjenta udało się z całą pewnością ustalić korelację kliniczno-neuropatologiczną. Był to pacjent z niedowładem połowicznym prawostronnym. Neuropatologicznie stwierdzono u niego zatokę okołonaczyniową o średnicy około 7 mm, leżącą w tylnej części torebki wewnętrznej po stronie lewej.

Po ukazaniu się wyżej wspomnianej pracy Durand-Fardela (1843), wysiłki patologów były skierowane głównie w kierunku rozstrzygnięcia przyczyny powstawania zatok okołonaczyniowych. Termin „état lacunaire” — stan zatokowaty pochodzi od Marie (1901). Na podstawie analizy 50 przypadków podał on definicję morfologiczną stanu zatokowatego. Obserwowane przez niego zatoki występowały w mózgu w postaci małych jamek, o nieregularnych kształtach. Wielkość obserwowanych

zatok wahała się od rozmiarów ziarna zboża do dużego ziarna grochu. Liczba ich była zmienna, zależnie od przypadku, czasami występowały pojedynczo w jednej półkuli, niekiedy po kilka lub kilkanaście w obu półkulach mózgu. Marie (1901) w 45 przypadkach znalazł zatoki okołonaczyniowe w jądrze soczewkowatym, następnie w torebce wewnętrznej, wzgórzu i istocie białej półkul. Rzadko występowały w opuszce i mózdzku, natomiast nie stwierdzono ich w rdzeniu kręgowym. Wewnątrz zatok znajdowało się zawsze drożne naczynie krwionośne, a niejednokrotnie niewielkie pasemko tkanki łącznej spajające brzegi zatoki z tym naczyniem. Zasadniczą rolę w powstawaniu zatok okołonaczyniowych przypisywano początkowo procesom toczącym się w ścianie naczyniowej (Fisher 1965a,b; Fisher, Cole 1965; Fisher Curry 1965; Fisher 1967, 1969, 1979). Autorzy ci prześledzili ściany naczyń znajdujących się w zatokach, wykonując serie ciągle preparatów z 4 mózgów z obecnością zatok okołonaczyniowych. W większości naczyń w odcinkach leżących proksymalnie w stosunku do zatok stwierdzili zmiany w ścianie naczynia pod postacią zwężenia światła i dezorganizacji ściany. Nadal uważa się uszkodzenie naczyniowe za podstawowy patomechanizm i za główną przyczynę stanu zatokowatego mózgu (Fisher 1965a, 1979; Hughes 1965; Kulczycki 1972), i wydaje się, że w większości przypadków właśnie miażdżycą ze współistniejącym nadciśnieniem tętniczym jest jego główną przyczyną. Jednakże niejednokrotnie spotykano zatoki okołonaczyniowe o zupełnie odmiennym charakterze. Marie (1901) zwrócił uwagę na obecność zatok o gładkich ścianach z rąbkami zagęszczonego wokół nich gleju. Sądził on, że istnieje inna niż miażdżycą przyczyna stanu zatokowatego, nie mógł jednak tego udowodnić. Również Markiewicz (1966) obserwowała zatoki okołonaczyniowe o gładkich ścianach. Kulczycki (1972) uważa, że w patogenezie stanu zatokowatego oprócz tła miażdżycowego dużą rolę odgrywa zanik mózgu z rozplemem gleju włóknistego i zmianami naczyniowymi o typie zwłóknienia. Nieliczni autorzy (Frauchiger, Frankhauser 1957; Osetowska 1966) obserwowali zatoki okołonaczyniowe o gładkich ścianach u zwierząt, u których jak wiadomo prawie w ogóle nie spotyka się miażdżycy. Z przytoczonych poglądów różnych autorów (Marie 1901; Fisher 1965a, Kulczycki 1972) wynika, że mechanizm powstawania zmian tkankowych w stanie zatokowatym mózgu nie jest dotychczas wyjaśniony. Z dotychczasowych badań zdaje się wynikać, że jedynie w części przypadków stan zatokowaty rozwija się na skutek zmian naczyniowych, przy czym nie zawsze chodzi o zmiany o typie miażdżycy (Kulczycki 1972). Prawdopodobnie w innych przypadkach stan zatokowaty jest zmianą nieswoistą, towarzyszącą niekiedy różnym, rozlanym, przewlekłym procesom mózgowym. W przypadkach tych wskutek zaniku tkanki nerwowej i postępującej retrakcji gleju może dochodzić do poszerzenia przestrzeni wokół większych naczyń bez pojawiania się

zmian martwiczych. Według Kulczyckiego (1972) rozwijający się wówczas obraz kliniczny jest wynikiem tego właśnie rozlanego procesu, a nie stanu zatokowatego. Celem pracy jest sprawdzenie tej hipotezy przy pomocy badania neuropatologicznego mózgów osób młodych, u których rozwinęła się glejoza, wskutek różnych rozlanych, niemiażdżycowych procesów oraz próba wyjaśnienia patomechanizmu rozwoju zatok o gładkich ścianach.

MATERIAŁ i METODY

Do badań zakwalifikowano przypadki z różnymi, przewlekłymi schorzeniami ośrodkowego układu nerwowego. Starano się wyłączyć tło miażdżycowe, ograniczając badany materiał do osób, które nie przekroczyły 41 roku życia. Analizę kliniczną i badanie neuropatologiczne przeprowadzono na 32 mózgach pacjentów, którzy zmarli w Klinice Neurologii PAM, Oddziale Neurologicznym Szpitala Wojewódzkiego w Szczecinie i Sanatorium Neuropsychiatrii Dziecięcej w Nowym Czarnowie.

Wśród 32 opracowanych przypadków było 19 pacjentów płci męskiej i 13 żeńskiej. Wiek osobników płci męskiej wahał się od 4 miesięcy do 41 lat, płci żeńskiej od 4 do 41 lat. Pacjentów podzielono na 4 grupy kierując się rozpoznaniem klinicznym: u 8 rozpoznano podostre stwardniające zapalenie mózgu, u 7 stwardnienie rozsiane, 11 chorych wykazywało zespoły neurologiczne na tle wczesnodziecięcego uszkodzenia mózgu, 6 pacjentów chorowało na padaczkę lub zapalenie mózgu (w tym 4 osoby miały wirusowe zapalenie mózgu, 2 osoby zmarły z powodu stanu padaczkowego). Mózgi utrwalano w 10% formalinie. Do badania mikroskopowego pobierano wycinki z płatów czołowych, ciemieniowych, skroniowych, potylicznych, jąder podstawy, pnia mózgu i mózdzku. Wykonane skrawki parafinowe barwiono fioletem krezyłu, hematoksyliną-eozyną, metodą Holzera (modyfikacja parafinowa Kanzlera-Arendta) dla oceny odczynu gleju włóknistego oraz metodą van Giesona z orceiną dla oceny zmian stwardnieniowych i mażdżycowych naczyń oraz towarzyszących im zmian w tkance nerwowej. Preparaty oglądano pod lupą, oceniając topografię zatok. Pomiary zatok i średnicy naczyń dokonywano mikrometrem obiektywowym firmy Zeiss. Ilościowych ocen zmian stwardnieniowych dokonywano kierując się podziałem zmian nacyniowych stosowanym w pracach Dąbskiej i wsp. (1963). W odniesieniu do gleju włóknistego starano się rozróżnić dwa typy odczynów glejowych: glejozę okołonacyniową z pomnożeniem gleju wokół naczyń i glejozę rozlaną, przechodzącą z pogranicza tkankowo-nacyniowego na otaczającą tkankę: 1) topografię zatok o gładkich ścianach, 2) stan naczyń będących w łączności z wyżej wymienionymi zatokami, 3) morfologię zatok o gładkich ścianach, 4) typ i stopień zaawansowania glejozy, 5) korelację pomiędzy stwierdzanymi objawami klinicznymi i zmianami neuropatologicznymi.

WYNIKI

Analizę kliniczną przeprowadzono we wszystkich grupach uwzględniając wiek, płeć i czas trwania choroby, przy zwróceniu szczególnej uwagi na objawy kliniczne najbardziej charakterystyczne dla stanu zatokowatego, tj. zespoły pozapiramidowe, piramidowe, zespoły rzekomo-opuszkowe, zaburzenia psychiczne.

W grupie z rozpoznaniem podostrego stwardniającego zapalenia mózgu, w której wiek wahał się od 5 do 19 lat, czas trwania choroby wynosił od 1,5 miesiąca do 8 lat. We wszystkich przypadkach klinicznie stwierdzono zespoły pozapiramidowe, głównie połowicze, ruchy mimowolne, w 6 przypadkach istniały zespoły piramidowe. U wszystkich pacjentów rozwinął się zespół otępienny, w 4 przypadkach padaczka. W grupie z rozpoznaniem stwardnienia rozszianego wiek pacjentów wahał się od 30 do 41 lat z czasem trwania choroby od 2 miesięcy do 30 lat. U wszystkich pacjentów stwierdzono obustronny zespół piramidowy, w 5 przypadkach rzekomoopuszkowy. Trzykrotnie rozpoznano zespół otępienny. Wiek pacjentów w grupie z objawami neurologicznymi na tle wczesnodziecięcego uszkodzenia mózgu wahał się od 4 miesięcy do 20 lat. Klinicznie w 6 przypadkach stwierdzono obustronny zespół piramidowy, dwukrotnie jednostronny. U 8 pacjentów istniały zaburzenia rozwoju

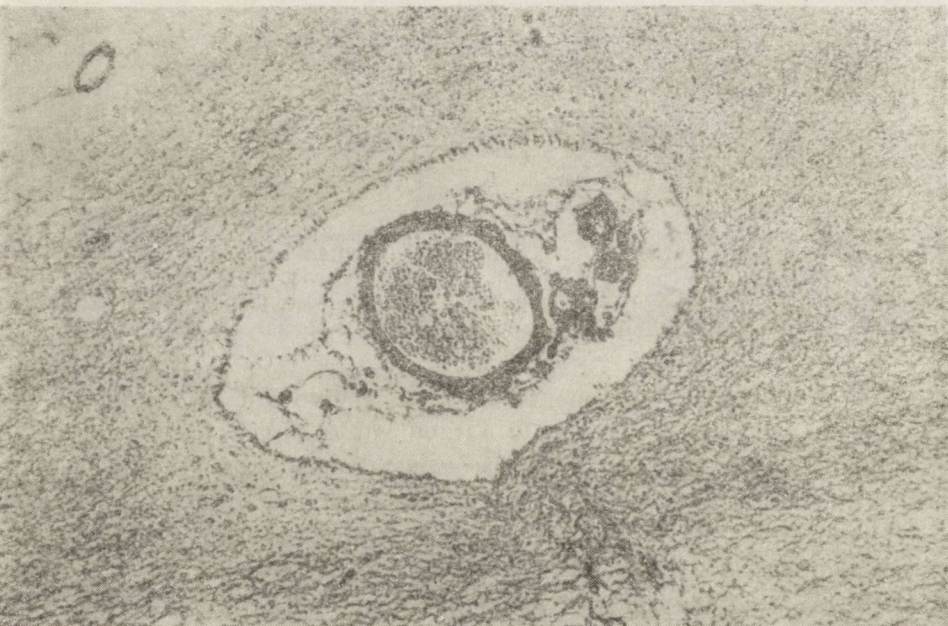


Ryc. 1. Przypadek podostrego stwardniającego zapalenia mózgu. Gładkościenna zatoka wokół naczynia o niezmiennych ścianach na terenie skorupy. H—E. Pow. 100 X

A case of subacute sclerosing encephalitis. Smooth-walled lacuna around a vessel with unchanged walls in the putamen. H—E. X 100

psychicznego, w tym u 3 chorych określane jako oligofrenia, u 3 jako ociężałość umysłowa. Grupa ostatnia obejmowała pacjentów z rozpoznaniem padaczki i zapalenia mózgu w wieku od 22 do 35 lat. Czas trwania choroby wynosił od 3 tygodni do 2 lat. Neurologicznie w jednym przypadku stwierdzono zespół piramidowo-pozapiramidowy obustronny, dwukrotnie prawostronny. U jednego pacjenta rozpoznano zespół otępienny i w jednym przypadku ostry zespół psychotyczny.

W całym przebadanym neuropatologicznie materiale, w 19 mózgach na 32, znaleziono zatoki okołonaczyniowe o gładkich ścianach, które mikroskopowo miały charakter ubytków tkankowych regularnego kształtu. Wielkość ich była różna, największe osiągały średnicę około 6 mm, natomiast dolna granica była trudna do określenia. Spotykano bardzo małe ubytki tkankowe z naczyniem krwionośnym w środku, które morfologicznie były identyczne z większymi, różniąc się od nich jedynie rozmiarami. Już w podstawowych barwieniach histologicznych (hematoksylina-eozyna, fiolet krezyłu) widoczne było wyraźne zaakcentowanie brzegów zatok (ryc. 1). Obraz ten był szczególnie charakterystyczny w preparatach barwionych metodą Holzera. Stwierdzano w nich wyraźny rąbek zagęszczenia gleju na obrzeżu (ryc. 2). Wewnątrz zatok było wi-



Ryc. 2. Przypadek stwardnienia rozsianego. Zatoka okołonaczyniowa o gładkich ścianach na terenie jądra ogoniastego. W świetle kilka niezmiennych naczyń otoczonych pasmami włóknika. W otaczającej tkance rozlana, mierna proliferacja włókien glejowych. Holzer. Pow. 100 ×

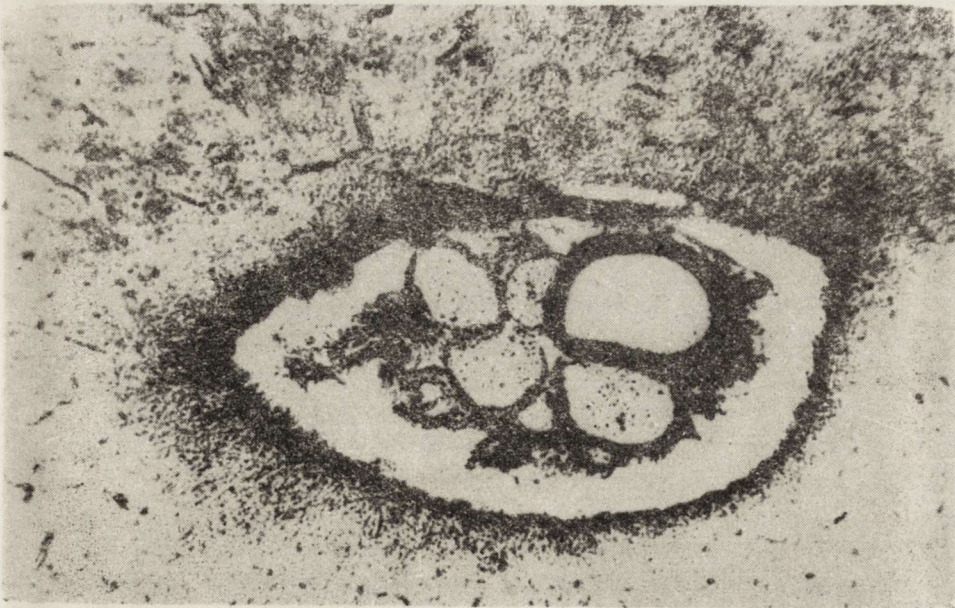
A case of disseminated sclerosis. Smooth-walled perivascular lacuna in caudate nucleus. In its lumen several unchanged vessels surrounded by fibrin fibers. In the surrounding tissue diffuse moderate proliferation of glial fibers. Holzer. × 100

doczne zawsze drożne naczynie tętnicze, które układało się najczęściej współśrodkowo, szczególnie w zatokach średniej wielkości. Wielkość naczyń wahała się od 25 do 150 mikrometrów. Rzadziej obserwowano tętniczki o średnicy powyżej 150 mikrometrów. Nie zauważono zależności pomiędzy wielkością zatok, a wielkością znajdującego się wewnątrz naczynia. Niejednokrotnie obserwowano bardzo małe tętniczki leżące wewnątrz dużych zatok (ryc. 3). W 5 spośród 19 przypadków stwierdzono



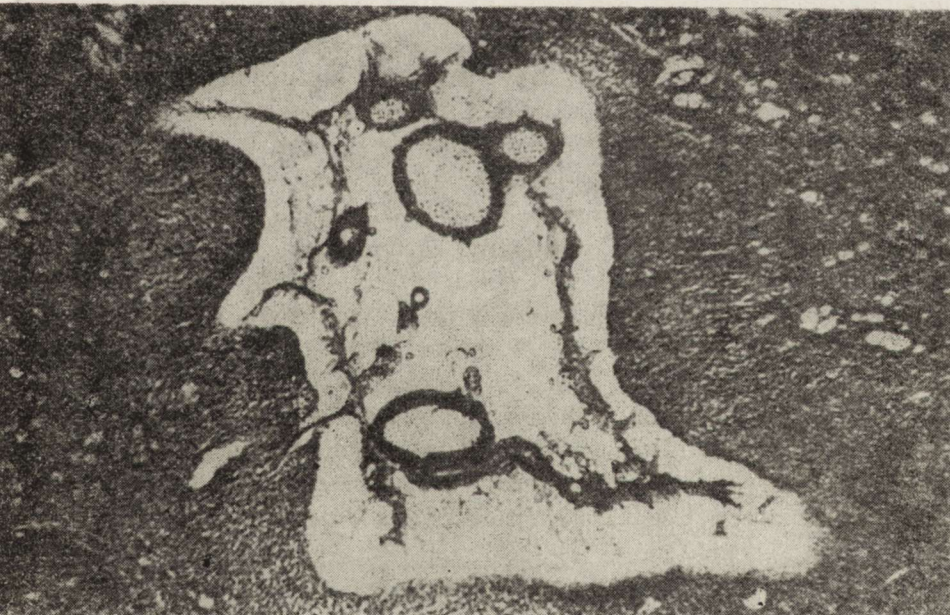
Ryc. 3. Przypadek podostrego stwardniającego zapalenia mózgu. Szeroka zatoka przykomorowa. W podścielisku duży odczyn gleyowy. Holzer. Pow. 100 X
 A case of subacute sclerosing encephalitis. Wide periventricular lacuna. Intensive glial reaction in subependymal layer. Holzer. X 100

niewielkiego stopnia zwłóknienie ściany naczyniowej. W żadnym z badanych mózgow nie znaleziono w naczyniach zmian aterosklerotycznych ani hialinizacyjnych. Siedmiokrotnie wewnątrz zatok stwierdzono obecność kilku naczyń (2—8 w jednej zatoce). Naczynia te, albo znajdowały się bardzo blisko siebie, stykając się brzegami ścian (ryc. 4), albo leżały w grupach po 2—3 i były oddalone od siebie w obrębie tej samej zatoki (ryc. 5). W części zatok, naczynie znajdujące się wewnątrz nie było w ogóle połączone z jej brzegami, w większości przypadków jednak tętnice były związane z obrzeżem zatoki za pomocą pojedynczych lub bardziej licznych włókien łącznotkankowych. Na tych mostkach tkankowych znajdowały się niekiedy skąpe nacieki, złożone głównie z komórek pochodzenia limfoidalnego. Na brzegach opisywanych zatok gładkościennych, w barwieniu metodą Holzera, stwierdzono rozrost gleju włókni-



Ryc. 4. Przypadek wczesnodziecięcego uszkodzenia mózgu (wiek 9 miesięcy). Gładkościenna zatoka w istocie białej półkuli mózgu zawierająca „kłębek naczyniowy”, przypominająca obrazy widywane w atroficznych mózgach starych. Holzer. Pow. 100 ×

A case of an early-childhood brain lesion (9 months old). Smooth-walled lacuna in the white matter of cerebral hemisphere containing a vascular „glomerules”, feration in the lacunar borders. Holzer. × 100



Ryc. 5. Przypadek ten sam co na ryc. 4. Szeroka zatoka na terenie skorupy. Duża glejoza i zrzesotnienie podścieliska. Holzer. Pow. 100 ×

The same case as in Fig. 4. Wide lacuna in the putamen. Severe gliosis and subependymal tissue rarefaction. Holzer. × 100



Ryc. 6. Przypadek podostrego stwardniającego zapalenia mózgu. Zatoka w skorupie. Na brzegach zatoki widoczne duże zgęszczenie gleju. Holzer. Pow. 100 ×
 A case of subacute sclerosing encephalitis. Lacuna in the putamen. Glial proliferation in the lacunar borders. Holzer × 100

stego w postaci wału o dobrze wybarwionych włóknach. W 5 przypadkach obserwowano rozprzestrzenianie się glejozy pomiędzy zatokami na dalej leżącą tkankę nerwową (ryc. 6). W 12 przypadkach zagęszczenie gleju ograniczało się w mniejszym lub większym stopniu do rozplemu na brzegach zatok. W tych przypadkach obok zatok o gładkich ścianach spotykano zatoki typu rozmięknieniowego i cechy obrzęku tkanki nerwowej. We wszystkich 19 przypadkach stwierdzono znaczne poszerzenie gleju brzeżnego. Było ono szczególnie zaznaczone w przypadkach rozlanej glejozy tkanki nerwowej. Obok zmian zanikowych tkanki nerwowej z towarzyszącą rozlaną glejozą (5 przypadków), rozplemem gleju brzeżnego (12 przypadków), w 7 przypadkach stwierdzono obkurczenie komórek nerwowych.

Poza wymienionymi zmianami neuropatologicznymi opisane przypadki przedstawiały obrazy typowe histologicznie dla podostrego stwardniającego zapalenia mózgu, stwardnienia rozsianego, wczesnodziecięcego uszkodzenia mózgu, padaczki i wirusowego zapalenia mózgu.

OMÓWIENIE

Patomechanizm powstawania zatok okołonaczyniowych na tle miażdżycy jest dobrze poznany. Wielu autorów (Durand-Fardel 1843; Marie 1901; Ferrand 1902; Fisher 1965a; Kulczycki 1972; Haenlein i wsp. 1975),

k którzy zajmowali się tym problemem, tłumaczyło powstawanie tych zmian patologiczną przepuszczalnością miażdżycowo zmienionych naczyń. Stan ten odbijał się niekorzystnie na otaczającej tkance nerwowej, powodując jej niedotlenienie, gromadzenie się wokół płynu przesiękowego, pojawianie się odczynu komórkowego. Konsekwencją tych zmian było rozrzedzenie i rozpad tkanki nerwowej, która otaczała zmienione naczynie. Wokół naczynia powstawała martwica, a następnie zatoka o postrzępionych ścianach. Badania Kulczyckiego (1972) zwracają uwagę na drugą, oprócz miażdżycy, przyczynę powstawania zatok okołonaczyniowych. Jest nią starczy zanik mózgu i rozplem gleju włóknistego. W naszym materiale, mimo że pochodził on od osób młodych, w 9 na 19 przypadków z obecnością zatok znaleziono tzw. kłębki naczyniowe, które są uważane za zmianę występującą w mózgu starczym. Powstawanie tych tworów tłumaczone jest procesem zanikowym mózgu, zarówno pod postacią zwężenia kory, zubożenia ilościowego istoty białej, jak i obserwowanych mikroskopowo zaników komórek nerwowych, doprowadzającym do wydłużenia, sfalowania oraz zawijania się naczyń i ich pozornego zagęszczania. Zjawisko to jest przyczyną pojawiania się na jednym przekroju kilku leżących obok siebie naczyń krwionośnych. Ponieważ mają one zwykle nieco zbliżoną średnicę, można przypuszczać, że są to przekroje pętli tego samego naczynia (Tarnowska-Dziduszko 1970). Jeżeli przedstawiona wyżej teoria powstawania kłębków naczyniowych jest słuszna, należy przyjąć, że w naszych przypadkach miał miejsce rozlany zanik mózgu. Zwraca uwagę korelacja pomiędzy stopniem zaawansowania glejozy a ilością zatok gładkościennych. W przypadkach gdzie stwierdzono bardzo intensywną, rozlaną glejozę tkanki nerwowej ilość zatok o gładkich ścianach była największa. Wśród 19 przypadków ze stanem zatokowatym, najczęściej bo w 13, stwierdzono zatoki gładkościenne w moście, w 12 w okolicy podwyściółkowej, w 11 w istocie białej półkul, w 10 w skorupie, w 4 w mózdzku i jądrze ogoniastym oraz w 2 przypadkach we wzgórzu. Topografia ta pokrywa się z powszechnie przyjętą topografią zatok o charakterze rozmięknieniowym (Fisher 1965a; Kulczycki 1972).

Z naszych obserwacji wynika, że możliwe jest rozróżnienie dwu rodzajów zatok okołonaczyniowych. Pierwszy, opisywany od dawna, jest nierozdzielnie związany z miażdżycą i często współistniejącym nadciśnieniem tętniczym. Zatoki tego typu mają nieregularny kształt, nieostre brzegi, a znajdujące się w ich wnętrzu naczynia mają najczęściej zmienione miażdżycowo ściany.

Drugi typ zatok, na który zwrócono uwagę w niniejszej pracy, cechuje się gładkim, regularnym kształtem ściany, z leżącym wewnątrz jednym lub kilkoma niezmiennymi naczyniami krwionośnymi. Obrzeże tego typu zatok było otoczone rąbkami gleju włóknistego, który w części przypadków rozprzestrzenił się na otaczającą tkankę nerwową. Ana-

liza materiału pod kątem korelacji pomiędzy objawami klinicznymi i obecnością stanu zatokowatego jest bardzo trudna. W żadnym z 19 przypadków z obecnością zatok o gładkich ścianach zespół objawów klinicznych nie przedstawiał obrazu, który jest powszechnie uważany za charakterystyczny dla stanu zatokowatego mózgu. Wszystkie przypadki przedstawiały zespoły objawów charakterystyczne dla schorzenia podstawowego. Być może dominacja niektórych objawów w poszczególnych schorzeniach, np. objawy rdzeniowe w stwardnieniu rozsianym, może maskować zespoły wywołane istnieniem zatok okołonaczyniowych. Wydaje się więc, że obserwowane zespoły objawów klinicznych są raczej wywołane zanikiem tkanki nerwowej, a nie obecnością gładkościennych zatok okołonaczyniowych. Wśród licznych, ogniskowych lub związanych z rozlanym uszkodzeniem ośrodkowego układu nerwowego, objawów neurologicznych nie stwierdzono w żadnym przypadku klinicznej reperkusji istniejących zatok okołonaczyniowych.

WNIOSKI

1. W przypadkach bez miażdżycy i bez zmian naczyniowych o innym charakterze mogą występować w mózgu okołonaczyniowe zatoki gładkościenne. Ich obecność kojarzy się z rozlaną lub okołonaczyniową glezją i zanikiem tkanki nerwowej.

2. Topografia zatok o gładkich ścianach pokrywa się z topografią zatok typu rozmięknieniowego. Zatoki występują w niektórych predylekcyjnych miejscach. Niewielkie różnice są spowodowane nasileniem się glejy pewnych okolic mózgu.

3. Glejzie włóknistej towarzyszy niekiedy występowanie zatok o gładkich ścianach.

4. W badanym materiale nie stwierdzono uchwytnej korelacji pomiędzy występowaniem zatok gładkościennych a objawami klinicznymi.

КЛИНИКО-НЕВРОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ ЛАКУНАРНОГО СОСТОЯНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА С РАЗНОЙ ЭТИОЛОГИЕЙ С ИСКЛЮЧЕНИЕМ АТЕРОМАТОЗНОГО ФОНА

Резюме

Были обследованы клинически и невропатологически 32 случая пациентов умерших по поводу разных заболеваний центральной нервной системы: подострого склеротизирующего энцефалита, множественного склероза, повреждения головного мозга в раннем детстве, эпилепсии, вирусного энцефалита. С целью исключения атероматозного фона ограничено возраст пациентов до 41 года жизни. Из 32 проанализированных случаев в 19 констатировано наличие пазух с гладкими стенками, с регулярной формой, с неизменным кровеносным сосудом внутри каждой пазухи. Края пазух были акцентированы каймой разрастающейся глии. Топография гладкостенных пазух покрывалась с топографией пазух с малициозным характером. Пазухи с гладкими стенками встречались прежде всего в областях, где степень развития глиоза была значительна. Обращено внимание на второй, наряду с ате-

оматозом, фактор, который вызывает образование периваскулярных пазух: это глиоз нервной ткани. Не констатировано заметной корреляции между выступлением гладкостеночных пазух и клиническими симптомами.

CLINICAL-NEUROPATHOLOGICAL CORRELATION
OF THE CEREBRAL LACUNAR STATE OF DIFFERENT ETIOLOGY,
WITH EXCEPTION OF ATHEROMATOUS BACKGROUND

Summary

The clinical and neuropathological investigations concerned 32 cases of patients who died due to various diseases of the central nervous system, those included subacute sclerosing encephalitis, disseminated sclerosis, early-childhood brain lesions, epilepsy and viral encephalitis. In order to eliminate atheromatous background of lesions the age of patients was limited to 41st year of life. In 19 out of 32 analysed cases lacunae were shown to be confined by smooth walls of regular shape and to contain unchanged blood vessel. The borders of lacunae were demarkated by a rim of proliferating glia. The topography of smooth-walled lacunae was the same as that of lacunae of softening nature. The smooth-walled lacunae were noticed first of all in the regions where the gliosis was most advanced. It was concluded that the brain tissue gliosis may be the second factor beside atheromatosis, leading to perivascular lacunae formation. No correlation between the appearance of smooth-walled lacunae and the clinical symptomatology was disclosed.

PIŚMIENICTWO

1. Alzheimer A.: Über perivasculäre Gliose. *Allg. Z. Psychiat.*, 1897, 53, 863—865.
2. Dąbmska M., Iwanowski L., Kraśnicka Z., Majdecki T., Mandybur T., Mossakowski M. J., Wiśniewski H.: Badania nad miażdżycą naczyń mózgowych. *Neuropat. Pol.*, 1963, 1, 49—99.
3. Durand-Fardel M.: cyt. za 8 poz. piśm.
4. Ferrand J.: *Essai sur l'hémiplégie des vieillards. Les lacunes de désintégration cérébrale.* Paris 1902.
5. Fisher C. M.: Lacunes: small, deep cerebral infarcts. *Neurology*, (Minneap.) 1965a, 15, 774—784.
6. Fisher C. M.: Pure sensory stroke involving face, arm and leg. *Neurology*, (Minneap.) 1965b, 15, 76—80.
7. Fisher C. M., Cole M.: Homolateral ataxia and crural paresis: a vascular syndrome. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 1965, 28, 48—55.
8. Fisher C. M., Curry H. B.: Pure motor hemiplegia of vascular origin. *Arch. Neurol.*, (Chic.) 1965, 13, 130—140.
9. Fisher C. M.: A lacunar stroke: the dysarthria clumsy hand syndrome. *Neurology*, (Minneap.) 1967, 17, 67—80.
10. Fisher C. M.: The arterial lesions underlying lacunes. *Acta neuropath.*, (Berl.) 1969, 12, 1—15.
11. Fisher C. M.: Capsular infarcts: The underlying vascular lesions. *Arch. Neurol.*, 1979, 36, 65—73.
12. Frauchiger E., Frankhauser R.: *Vergleichende Neuropathologie des Menschen und der Tiere.* Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1957, 277—279.

13. Haenlein P., Regli F., Haferkamp G.: Der Lacunäre Hirninfarkt. Schweiz Med. Wschr., 1975, 105, 705—708.
14. Hughes W.: Origin of lacunes. Lancet, 1965, 2, 19—21.
15. Kulczycki J.: Correlation of vascular changes and morphology of lacunae in the so-called lacunar cerebral state. Szczecińskie Towarzystwo Naukowe. Wyd. Nauk Lek., Warszawa, Poznań 1972, 17, 1.
16. Marie P.: Des foyers lacunaires de desintégration et de différentes autres états cavitaires du cerveau. Rev. Méd., 1901, 21, 281—298.
17. Markiewicz D.: Badania porównawcze nad stopniem zaawansowania zmian miażdżycowych i stwardnieniowych w naczyniach krwionośnych zwojów podstawy mózgu ze szczególnym uwzględnieniem gałki bladej. Neuropat. Pol., 1966, 4, 1—22.
18. Opalski A.: Choroby ośrodkowego układu nerwowego pochodzenia naczyniowego i choroby starcze. PZWL, Warszawa 1951.
19. Osetowska E.: Zmiany morfologiczne w mózgach starczych psów. Neuropat. Pol., 1966, 4, 97—110.
20. Tarnowska-Dziduszko E.: Badania nad strukturą, topografią i patologią kłębków naczyniowych w procesie starzenia się mózgu. Neurol. Neurochir. Pol., 1970, 4, 15—22.

Adres autorki: Klinika Neurologii PAM, ul. Unii Lubelskiej 1, 71—344 Szczecin

BARBARA GAJKOWSKA, ZUZANNA KRAŚNICKA, MIECZYŚLAW SMIAŁEK

WPLYW JONÓW MANGANAWYCH (Mn^{++}) NA OBRAZ MORFOLOGICZNY HODOWANEJ TKANKI NERWOWEJ

Pracownia Ultrastruktury Układu Nerwowego i Zespół Neuropatologii
Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

Zatrucia przemysłowe związkami manganu u ludzi, znane są od dawna i objawiają się przede wszystkim zmianami o charakterze zespołu pozapiramidowego jako tzw. parkinsonizm manganowy (Bernheimer, Hornykiewicz 1964; Mena i wsp. 1967; Cotzias i wsp. 1971). Badania neuropatologiczne wykazały uszkodzenie zwojów podstawy, odpowiedzialne za cechy zespołu pozapiramidowego (Meyer 1963).

Toksyczne działanie związków manganu wykazano u zwierząt w licznych pracach doświadczalnych (Jonderko 1970; Hietanen i wsp. 1981; Smiałek, Mossakowski 1981; Mossakowski i wsp. 1982). Łącznie z uszkodzeniem morfologicznym układu pozapiramidowego stwierdzono zaburzenia w neuroprzeźnaczności, w tym również układu acetylocholinergicznego (Jonderko 1970). Zmiany dotyczyły nie tylko uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego, lecz również narządów mięsaszowych takich jak wątroba i nerki. Nie wyjaśniono dotychczas czy obserwowane zmiany w układzie nerwowym zależą bezpośrednio od zatrucia związkami manganu, czy jest to proces wtórny zależny od pierwotnego uszkodzenia innych narządów, podobnie jak w zwyrodnieniu wątrobowo-soczewkowym (Pentschew 1964, 1964).

Bezpośrednim celem pracy było przebadanie obrazu morfologicznego prądkowia z uwzględnieniem odczynów histochemicznych niektórych enzymów oddechowych oraz esterazy acetylocholinowej w następstwie działania $MnCl_2$ na hodowlę tkankową.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 3-tygodniowych hodowlach prądkowia mózgu noworodków szczurzych rasy Wistar. Hodowle prowadzono według metody stosowanej rutynowo w naszej pracowni (Kraśnicka, Mossakowski 1965). Wyselekcjonowane hodowle poddano działaniu chlorku manganawego ($MnCl_2$) na okres 3 dni. Doświadczenie wykonano z dwie-

ma dawkami $MnCl_2$: 12,5 i 25 $mg^0/0$. Grupę kontrolną stanowiły hodowle prowadzone równolegle w środowisku prawidłowym bez dodatku jonów manganawych.

Obserwacje w mikroskopie świetlnym przeprowadzono na hodowlach utrwalonych i barwionych metodami histologicznymi (hematoksylina-eozyna, Nissl). Na hodowlach nieutrwalonych wykonano odczyny histochemiczne dla wykazania aktywności enzymów oddechowych (dehydrogenazy glutaminianowej — GDH i dehydrogenazy bursztynianowej — SDH oraz dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej — G-6-PDH) oraz zbadano aktywność esterazy acetylocholinowej (AChE).

Wykonano również badania mikroskopowo-elektronowe na siostrzanych hodowlach z każdej grupy doświadczalnej oraz na hodowlach z wykonanymi odczynami na aktywność esterazy acetylocholinowej. Materiał przygotowano w sposób standardowy i zatapiano w Eponie 812. Ultra cienkie skrawki dobarwiano na siateczkach octanem uranylu i odczynikiem Reynoldsa. Zdjęcia wykonywano przy użyciu mikroskopu elektronowego JEM 7 A na kliszach ORWO EU 2.

WYNIKI

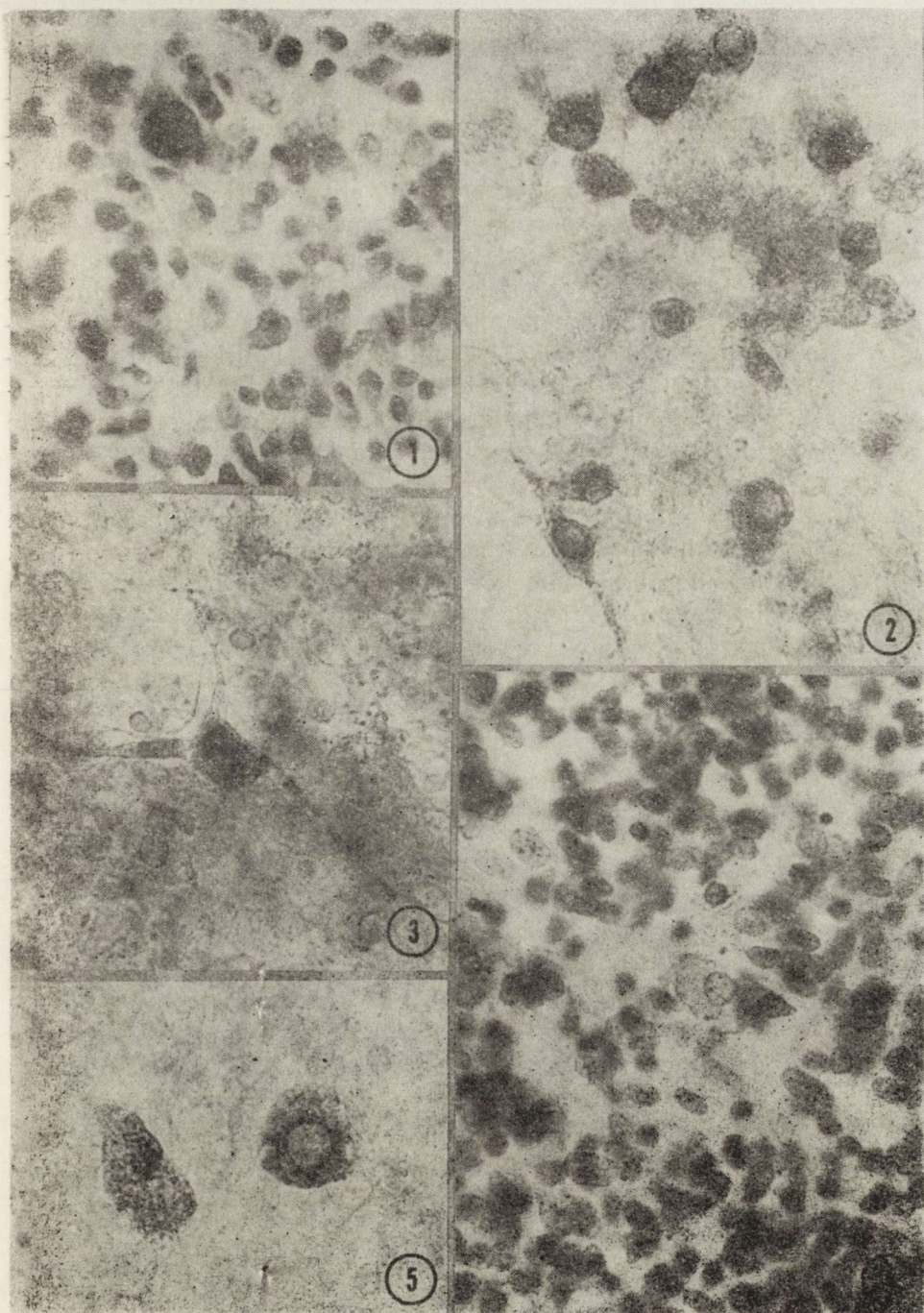
Badania w mikroskopie świetlnym

Grupa I. Hodowle tkanki nerwowej poddane działaniu $MnCl_2$ w dawce 12,5 $mg^0/0$ wykazują nieznaczne odchylenia w porównaniu z hodowlami kontrolnymi. Typową strukturę anatomiczną odpowiadającą *neostriatum* (łupina + jądro ogoniaste) obserwowano we wszystkich hodowlach, zaś tylko w części hodowli stwierdzono obecność fragmentów *paleostriatum* (gałka błada). W barwieniach przeglądowych (Nissl i HE) komórki nerwowe małe, jak również większość dużych neuronów nie wykazywały zmian morfologicznych (ryc. 1). Objawy tigrolizy w początkowym stadium obserwowano jedynie w pojedynczych dużych neuronach łupiny i jądra ogoniastego. Zmiany morfologiczne komórek glejowych były bardzo dyskretne i dotyczyły tylko nielicznych postaci astrogleju w strefie wzrostu hodowli. Zmiany te polegały na obrzmieniu cytoplazmy, w której niekiedy występowały drobne wodniczki.

Ryc. 1. Grupa I. Nieznaczne uszkodzenie neuronów prążkowiec. H—E. Pow. 400 ×
First group. Slight damage in the striatal neurons. H—E. × 400

Ryc. 2. Kontrola. Wysoka aktywność esterazy acetylocholinowej (AChE) w komórkach nerwowych prążkowiec. Pow. 400 ×
Control. High activity of acetylcholinesterase (AChE) in the neurons in the striatum. × 400

Ryc. 3. Grupa I. Wysoka aktywność AChE w dużym neuronie prążkowiec. Pozostałe komórki wykazują śladową aktywność. Pow. 400 ×
First group. High activity of AChE in a large neuron in the striatum. Remaining neurons demonstrate the residual activity of the enzyme. × 400



Ryc. 4. Grupa II. Wyraźna tigroliza w neuronach dużych prążkowie. H—E. Pow. 400 X

Second group. Marked tigrolysis in large neurons in the striatum. H—E. X 400

Ryc. 5. Grupa II. W pojedynczych dużych neuronach prążkowie zachowana aktywność AChE. Pow. 400 X

Second group. Preserved activity of AChE in single large neurons in the striatum. X 400

Badania histochemiczne ujawniające aktywność enzymów oddechowych (SDH, GDH i G-6-PDH) nie wykazywały różnic w intensywności odczynów w porównaniu z grupą hodowli kontrolnych. Pewne odrębności w tej grupie doświadczalnej dotyczyły aktywności esterazy acetylocholinowej. W hodowlach kontrolnych duże neurony i większość małych neuronów kojarzeniowych *neostriatum* oraz neurony *paleostriatum* charakteryzują się wysoką aktywnością tego enzymu (ryc. 2). W hodowlach poddanych działaniu chlorku manganawego aktywność esterazy w małych komórkach nerwowych jądra ogoniastego jest niska. Duże zaś komórki nerwowe łupiny i gałki bladej zachowują aktywność tego enzymu, przy czym nasilenie reakcji histochemicznej w tych komórkach nie odbiega od wzorca z hodowli kontrolnych (ryc. 3).

Grupa II. W hodowlach prądkowia potraktowanych większą dawką jonów manganawych ($MnCl_2$ — 25 mg^{0/0}) stwierdzono nasilenie zmian morfologicznych i histochemicznych. W barwieniach przeglądowych (Nissl i HE) obserwowano obrzmienie komórek nerwowych, zwłaszcza dużych neuronów łupiny oraz ich tigrolizę (ryc. 4). Komórki glejowe w strefie wzrostu hodowli także wykazywały nasilone zmiany zwyrodnieniowe. Obrzmienie astrocytów z wakuolizacją ich cytoplazmy było zjawiskiem pospolitym. Wśród nielicznych mitoz w populacji komórek glejowych spotykano mitozy patologiczne.

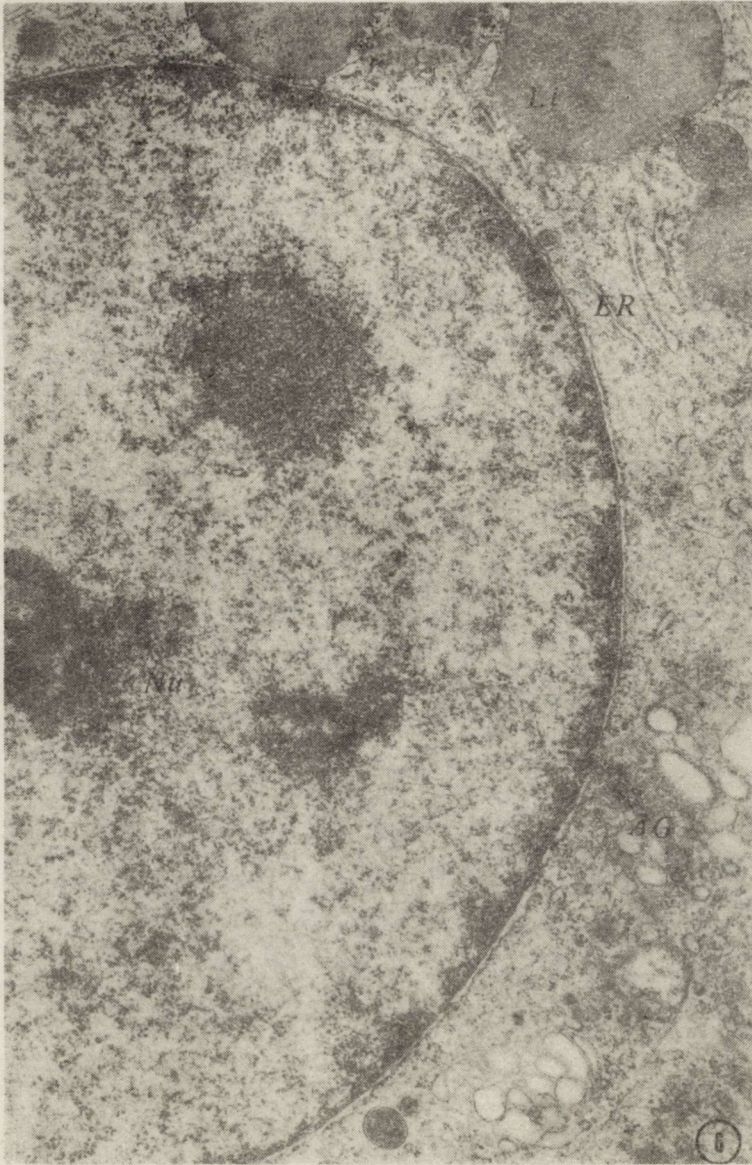
Badania enzymatyczne wykazały znaczne osłabienie odczynów wszystkich obserwowanych dehydrogenaz. Najwyższy spadek aktywności stwierdzano w komórkach glejowych w strefie wzrostu hodowli. Nasilenie aktywności w komórkach eksplantatu także było niższe niż w analogicznych komórkach hodowli kontrolnych.

We wszystkich hodowlach tej grupy doświadczalnej obserwowano również znaczne osłabienie odczynu na esterazę acetylocholinową. Nieznaczny odczyn obserwowano jedynie w dużych neuronach łupiny (ryc. 5) oraz w neuronach gałki bladej.

Badania w mikroskopie elektronowym

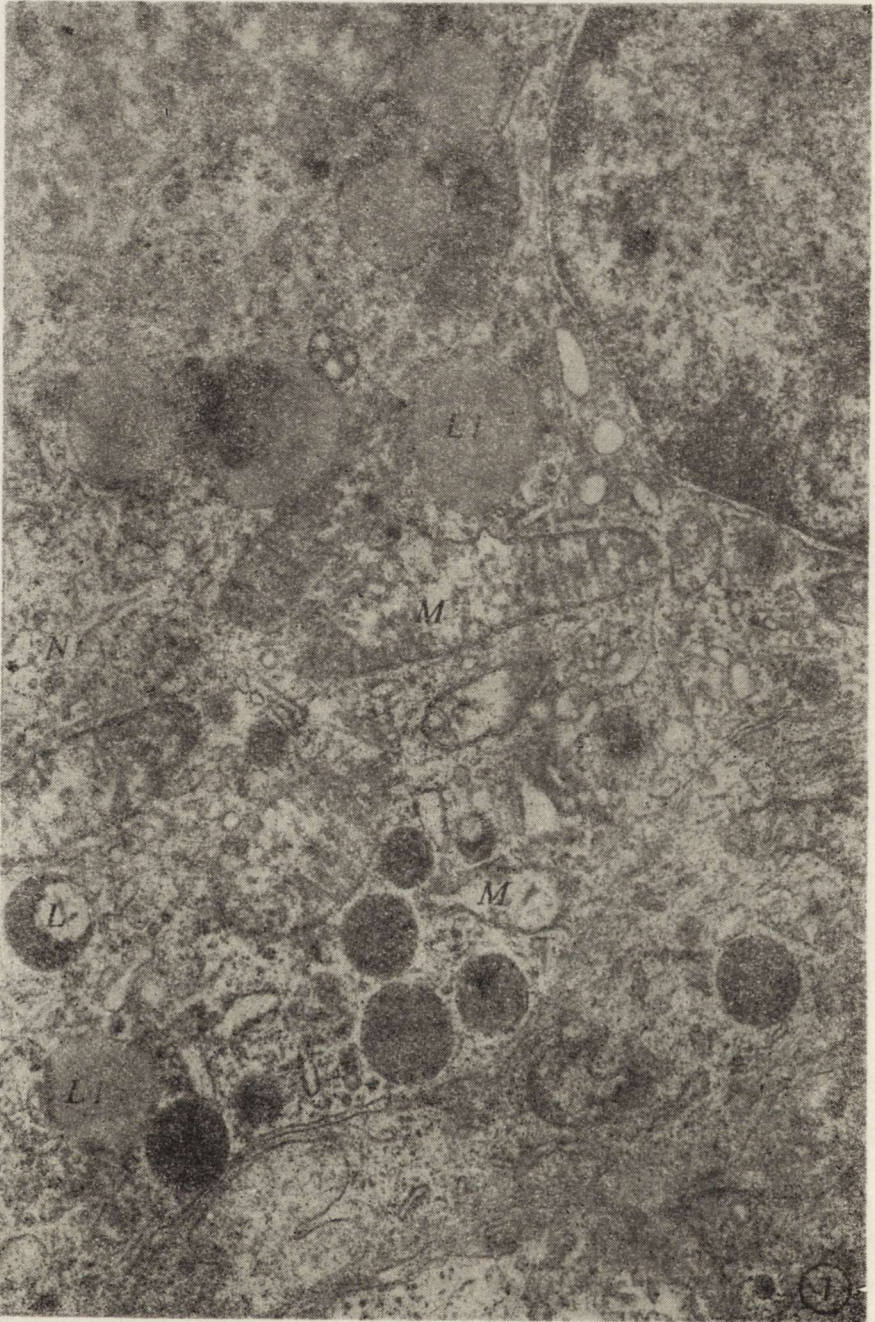
W hodowlach 3-tygodniowych poddanych działaniu $MnCl_2$ w dawce 12,5 mg^{0/0} zaobserwowano, w porównaniu z kontrolą, znaczne zmiany morfologiczne w budowie ultrastrukturalnej wszystkich elementów tkanki prądkowia. Nasilenie zmian było różne w różnych elementach tkanki, największe w komórkach glejowych, nieznaczne w komórkach nerwowych.

W większości obserwowanych dużych neuronów prądkowia obraz ultrastrukturalny nie odbiegał od kontroli (ryc. 6). Neurony miały duże, bogatochromatynowe jądra komórkowe z dwoma lub trzema jąderkami o prawidłowej budowie. W pobliżu jądra znajdował się dobrze rozwinięty aparat Golgiego z dużą ilością drobnych, pustych lub



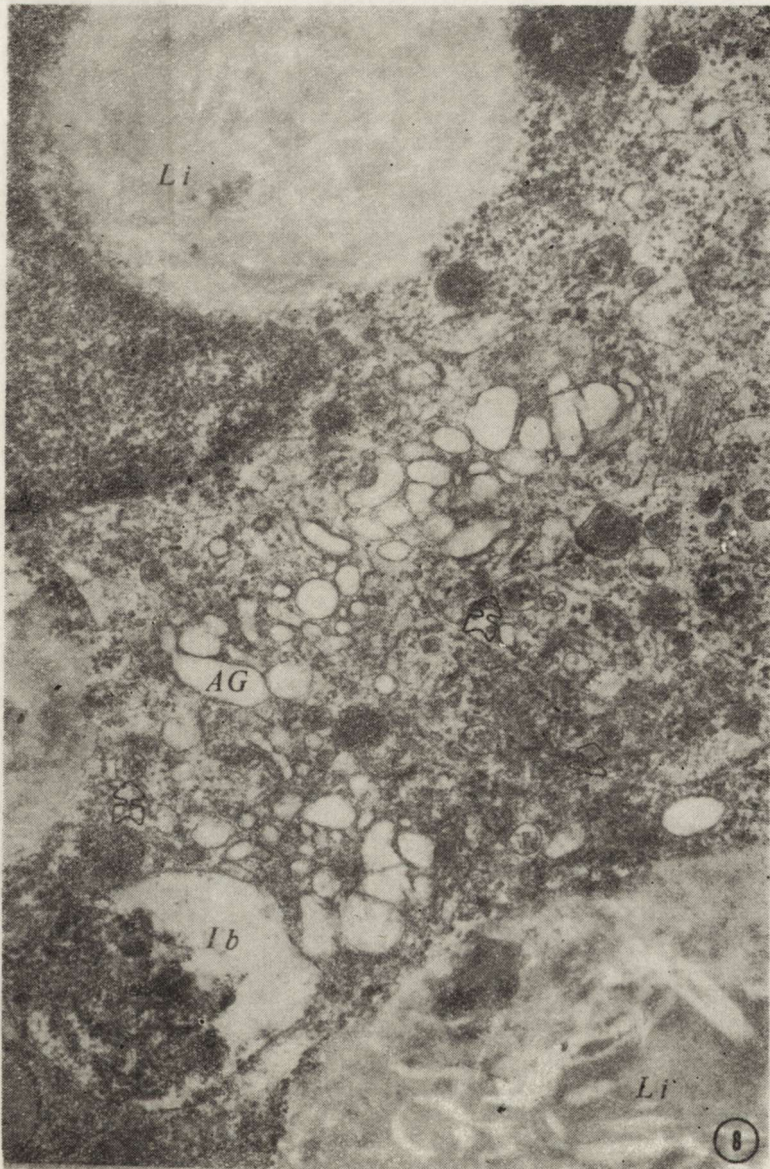
Ryc. 6. Grupa I. Neuron duży prążkowiec. Widoczny duży fragment bogato chromatinowego jądra komórkowego z jąderkami (Nu). W cytoplazmie w pobliżu jądra aparat Golgiego (AG) zbudowany z licznych wakuoli i drobnych pustych lub ziarnistych pęcherzyków oraz fragmenty siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (ER) i kuliste ciała tłuszczowe (Li). Pow. 13.350 X

First group. Large neuron of the striatum. A visible large fragment of a chromatin rich nucleus with nucleoles (Nu). Golgi apparatus (AG) constructed with numerous vacuoles and small, empty or granular vesicles and fragments of a rough endoplasmic reticulum (ER) and round lipid bodies (Li) present in cytoplasm close to the nucleus. X 13 350



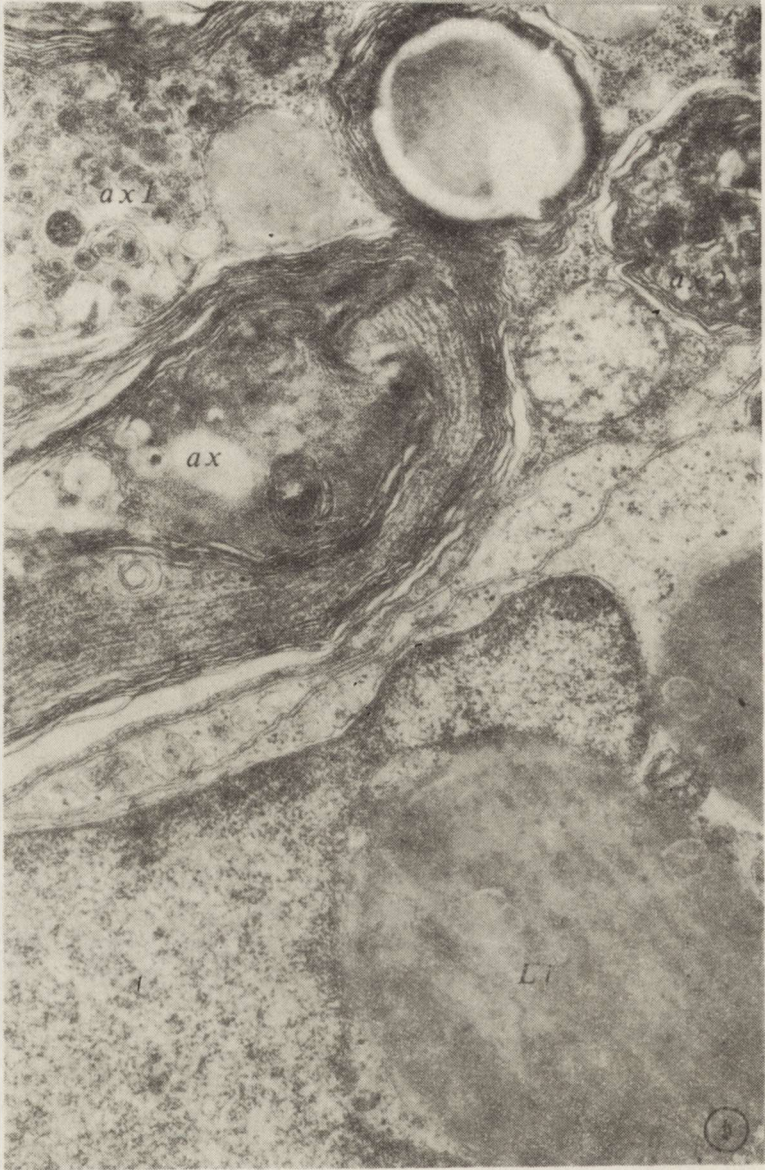
Ryc. 7. Grupa I. Neuron duży prążkowiec. W cytoplazmie liczne neurotubule (Nt), mitochondria (M), niektóre o przejaśnionej macierzy, ciała tłuszczowe (Li), lizosomy (L) i ciała gęste. Pow. 13.350 X

First group. Large neuron of the striatum. Numerous neurotubules (Nt), mitochondria (M), some of them with cleared matrix, lipid bodies (Li), lysosomes (L) and dense bodies in cytoplasm. X 13 350



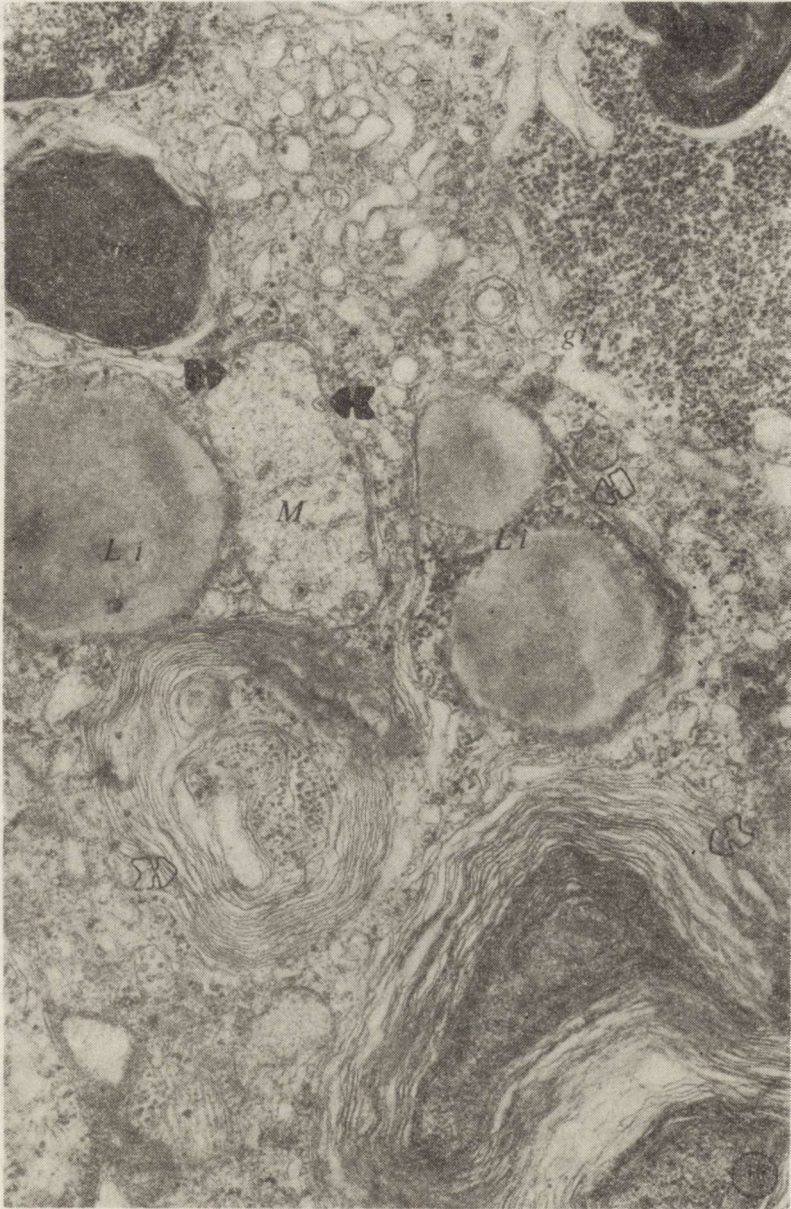
Ryc. 8. Grupa I. Neuron mały prążkowiec. W cytoplazmie obecne olbrzymie ciała tłuszczowe (Li) o spękanej tafłowanej powierzchni oraz dobrze rozwinięty pęcherzykowy aparat Golgiego (AG) i duże ciała wtętowe (Ib), otoczone błoną zawierającą materiał ziarnisty o dużej gęstości elektronowej oraz znaczna ilość pęcherzyków o różnych wymiarach, otoczonych pojedynczą błoną, wypełnionych materiałem ziarnistym lub homogennym o różnej gęstości elektronowej (strzałka).
Pow. 13.350 X

First group. Small neuron of the striatum. Giant lipid bodies (Li) with plate bursts on a surface and well developed vesicular Golgi apparatus (AG), large inclusion bodies (Ib), surrounded with membrane containing granular material with high electron density and many vesicles of different diameter with single membrane filled with granular or homogeneous material of different electron density (arrow) present in cytoplasm. X 13 350



Ryc. 9. Grupa I. Pęczek zmienionych włókien aksonalnych (ax, ax₁, ax₂), oraz fragment oligodendrocyta z olbrzymim ciałem tłuszczowym (Li). Przekrój włókna (ax) wykazuje ziarnistą aksoplazmę i figurę mielinową oraz brak regularności w układzie blaszek mielinowych, które rozwarstwiają się, a w przestrzeniach tych znajduje się niezmienniona aksoplazma. Inne przekroje poprzeczne włókien (ax₁, ax₂) wykazują znaczny stopień degeneracji. W ich cytoplazmie znajdują się tylko liczne figury mielinowe i drobne ciała wtrętowe. Pow. 13.350 ×

First group. Bundle of damaged axonal fibres (ax, ax₁, ax₂) and a fragment of oligodendrocyte with giant lipid body (Li). A cross-section of the fibre shows a granular axoplasm and myelin figure and a picture of irregularly disjuncted myelin lamellae with unchanged axoplasm among them. Other cross-sections of the fibres (ax, ax₁, ax₂) demonstrate its marked degeneration with numerous myelin figures and small inclusion bodies present in cytoplasm. × 13 350



Ryc. 10. Grupa I. Astrocyt. W cytoplazmie duże złoży glikogenu (gl), figury mielinowe (my) i ciała tłuszczowe (Li). Obserwuje się również duże fragmenty cytoplazmy z organellami, otoczone błonami układającymi się koncentrycznie i luźno (strzałka). Obecne są także pojedyncze duże mitochondria (M) o przejaśnionej macierzy, skróconych i pęcherzykowatych grzebianich zawierające osmofilne wtręty (strzałka czarna). Pow. 13 350 ×

First group. Astrocyte. In cytoplasm present: large glycogen deposits. (gl), myelin figures (my) and lipid bodies (Li); large fragments of cytoplasm with organelles surrounded with concentric and inherent structures of membranes (arrow), single large mitochondria (M) with cleared matrix, shortened vesicular cristae with osmophilic inclusions (black arrow). × 13 350

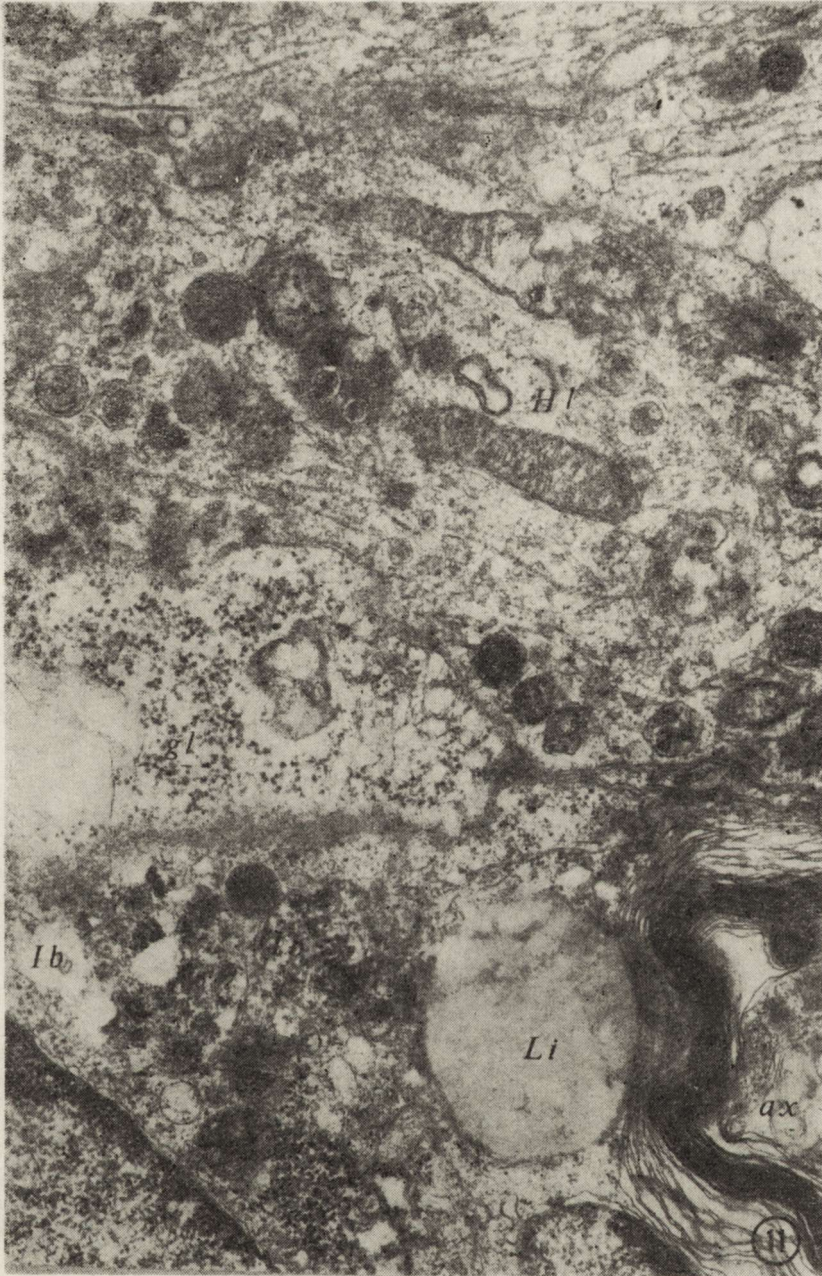
ziarnistych pęcherzyków o różnej wielkości. Obfita siateczka śródplazmatyczna szorstka występowała w postaci licznych długich, pokrytych rybosomami lub krótkich fragmentarycznych kanałów. Między kanałami obecne były rybosomy i polirybosomy oraz liczne drobne mitochondria o prawidłowej budowie ultrastrukturalnej, nieliczne tylko posiadały przejaśnioną macierz i skrócone grzebienie mitochondrialne. Jedyną nieprawidłowością była nieco większa w porównaniu z kontrolą zawartość kulistych ciał tłuszczowych oraz neurotubuli (ryc. 7).

Natomiast w małych neuronach prądkowia, aczkolwiek rzadko, obserwowano dosyć znaczne zmiany w budowie ultrastrukturalnej (ryc. 8). W ich cytoplazmie znajdowały się monstrualnej wielkości kule tłuszczowe, przeważnie pojedyncze, decydujące niekiedy o kształcie jądra komórkowego. W cytoplazmie w okolicy dobrze rozwiniętego aparatu Golgiego stwierdzano obecność znacznej ilości pęcherzyków rozmaitej wielkości (180—400 m μ), otoczonych pojedynczą błoną, wypełnionych materiałem drobnoziarnistym lub homogennym o dużej gęstości elektronewej oraz typowe, dość duże, pojedyncze ciała wtrętowe. Pozostałe organelle komórkowe nie wykazywały odchyżeń od normy.

Natomiast w większości obserwowanych włókien aksonalnych spostrzegane były duże zmiany degeneracyjne (ryc. 9). Tylko nieliczne włókna miały aksoplazmę i otoczkę mielinową o prawidłowej budowie ultrastrukturalnej. W aksoplazmie znajdowała się zwykle znaczna ilość figur mielinowych, drobne ciała wtrętowe i osmofilne ziarnistości otoczone pojedynczą lub wielowarstwową błoną. Również otoczka mielinowa wykazywała duże zaburzenia w regularnym układzie błon, które ulegały sklejeniu lub częściej nadmiernemu rozwarstwieniu, tworząc zbyt luźne układy, o zanikającej koncentryczności.

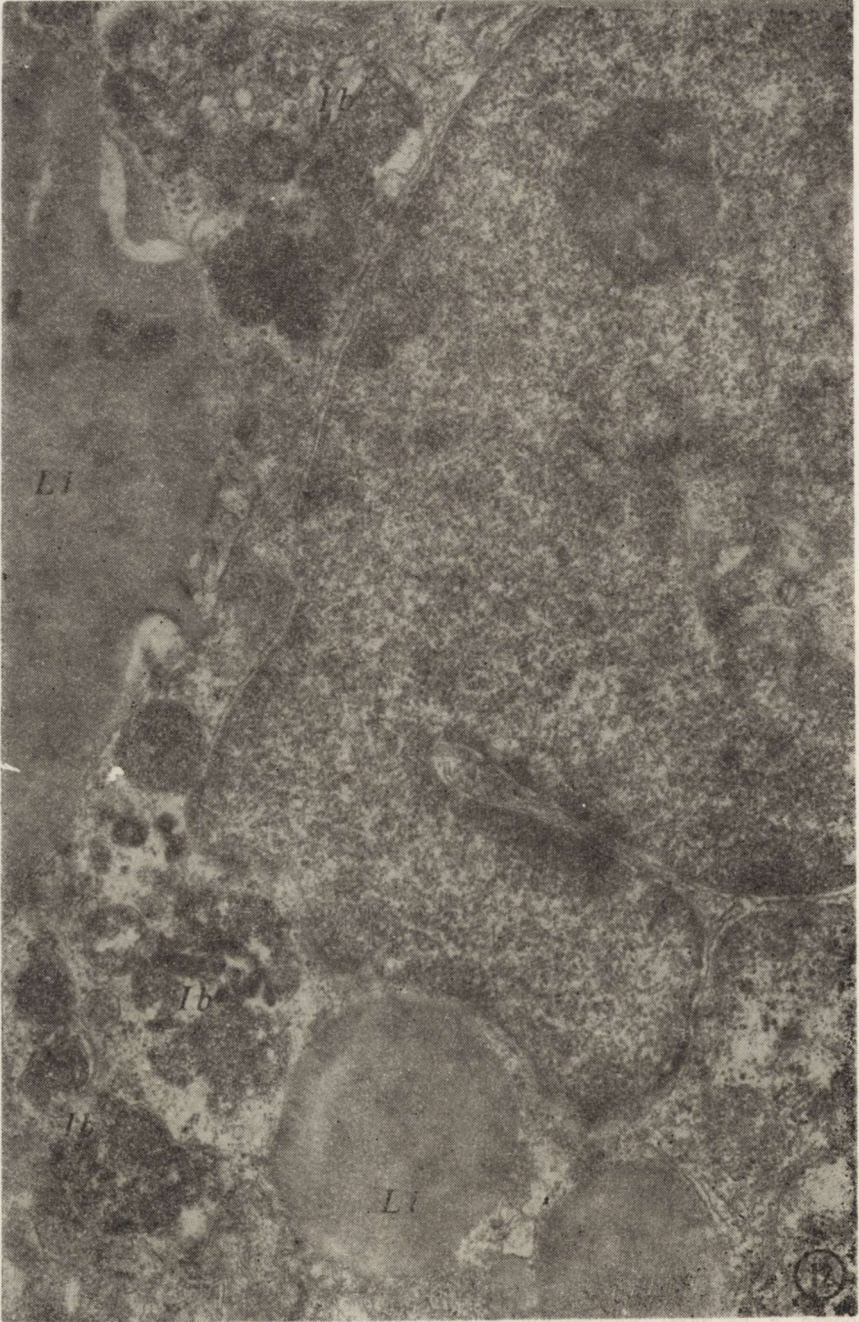
Obok astrocytów o prawidłowej budowie ultrastrukturalnej, wiele komórek wykazywało również duże nieprawidłowości (ryc. 10). Najbardziej charakterystyczne i częste były olbrzymie agregaty ziarnistości glikogenowych i kulistych ciał tłuszczowych. Obserwowano również małe fragmenty cytoplazmy lub ciała tłuszczowe otaczające się koncentrycznie błonami o luźnym układzie. W astrocytach tych aparat Golgiego był zbudowany prawidłowo, wiele mitochondriów wykazywało cechy obrzmienia, a w niektórych znajdowały się osmofilne wtręty. Wypustki astrocytów wykazywały nieznaczne cechy obrzmienia oraz duże w porównaniu z kontrolą ilości ziarnistości glikogenowych (ryc. 11).

Prawie wszystkie obserwowane oligodendrocyty wykazywały znaczne nieprawidłowości w budowie ultrastrukturalnej (ryc. 11, 12). Ich bogato chromatynowe jądra komórkowe posiadały głębokie inwaginacje otoczki jądrowej i były często spychane na obwód komórki przez olbrzymie ciała tłuszczowe. W cytoplazmie znajdowała się znaczna ilość ciał wtrętowych zwykle otoczonych pojedynczą błoną i zawierających materiał ziarnisty lub homogenny o dużej gęstości elektronewej. Ciała wtrętowe

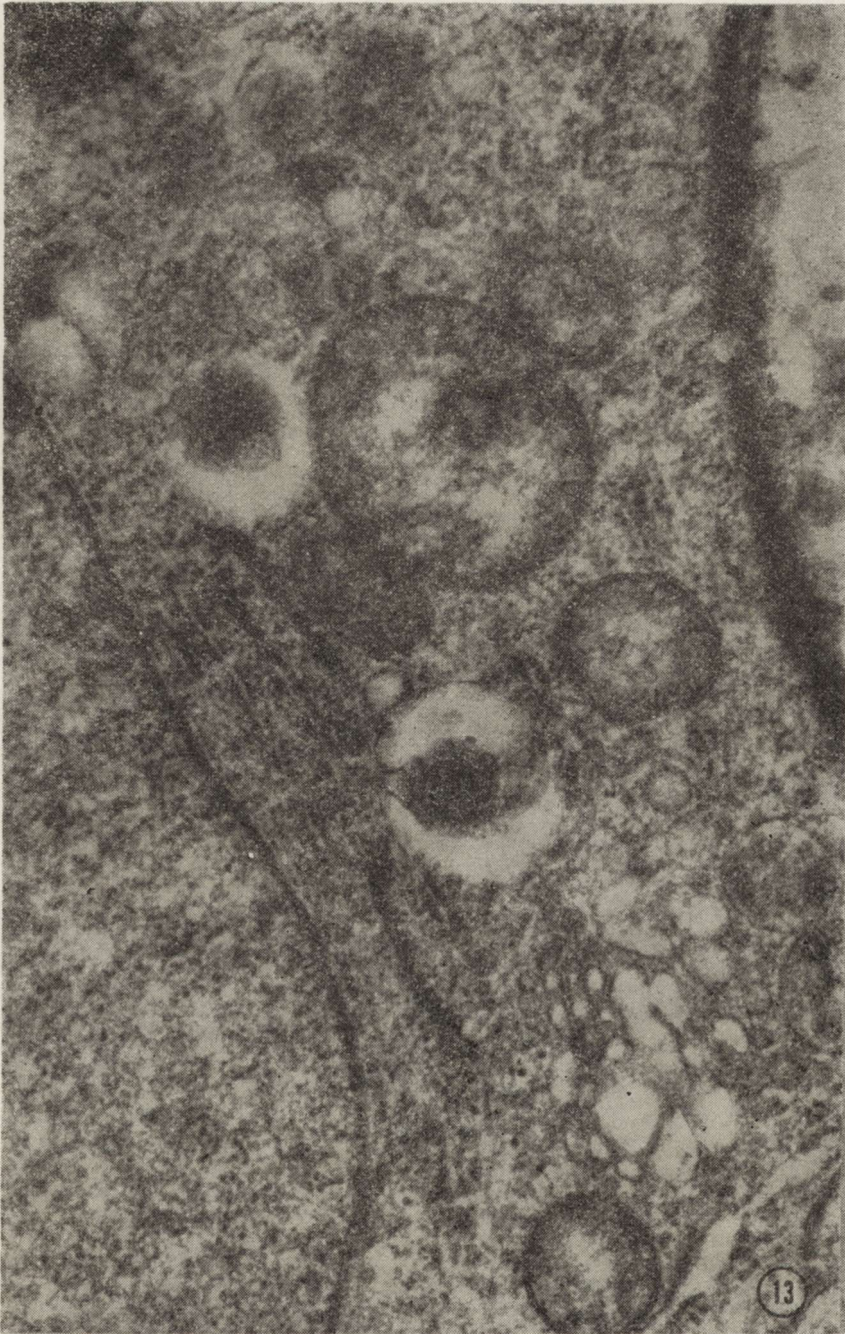


Ryc. 11. Grupa I. Fragment stożka aksonu (H1) z dużą ilością organelli, wypustka astrocyta z cechami obrzmienia i dużą ilością ziarnistości glikogenowych (gl), fragment komórki oligodendrocyta z ciałami wtętowymi (Ib) i ciałem tłuszczowym (Li), oraz włókno aksonalne (ax) wykazujące rozwarstwienie zewnętrznych blaszek mielinowych. Pow. 13.350 ×

First group. Fragment of axonal cone (H1) and edematous astrocytic fiber with numerous glycogen granules (gl), fragment of oligodendrocyte with inclusion bodies (Ib), lipid body (Li) and axonal fiber (ax) with disjunct peripheral myelin lamellae. × 13 350

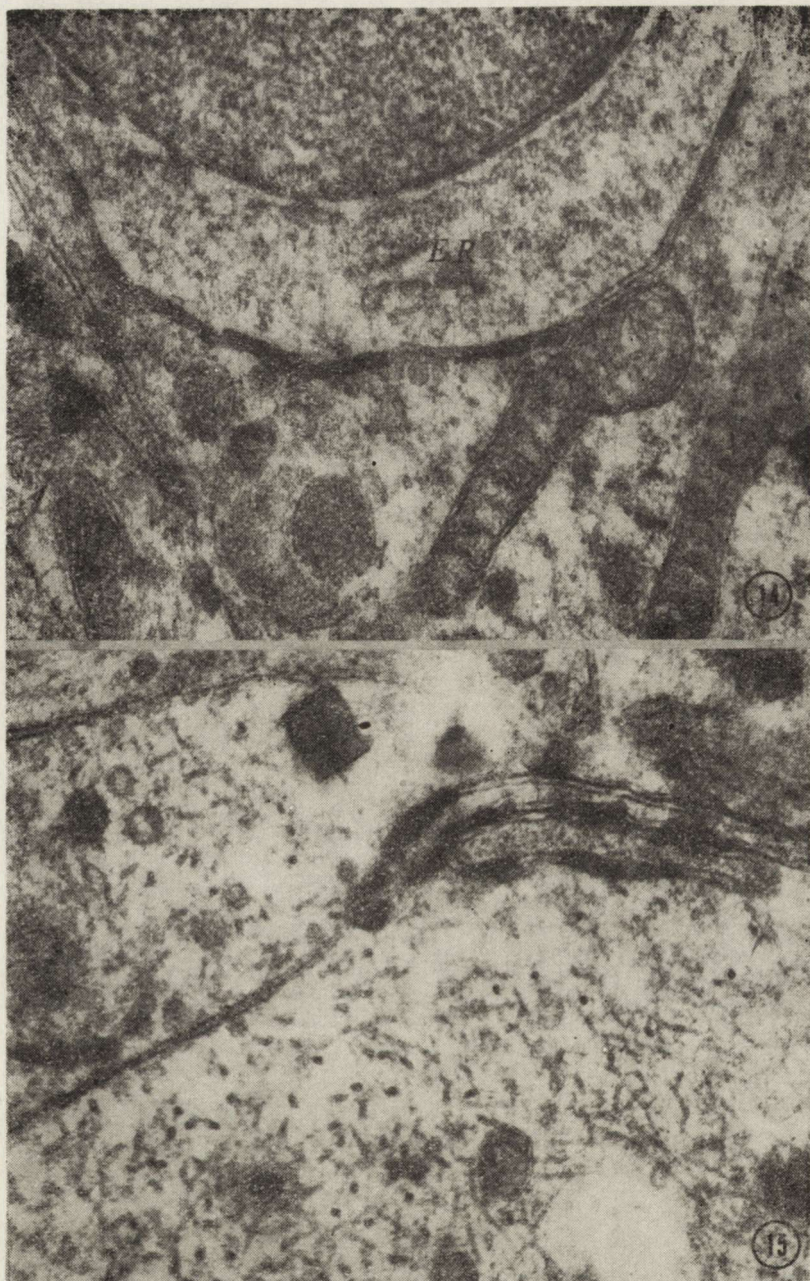


Ryc. 12. Grupa I. Oligodendrocyt. Bogato chromatynowe jądro z głębokimi inwaginacjami otoczki jądrowej. W cytoplazmie obecne są olbrzymie ciała tłuszczowe wielokształtne lub drobne kuliste (Li) oraz liczne ciała wtrętowe (Ib). Pow. 13.350 ×
 First group. Oligodendrocyte. A chromatin rich nucleus with deep invaginations of a nuclear envelope and giant multiformal or small, round lipid bodies (Li) and numerous inclusion bodies (Ib) present in cytoplasm. × 13 350



Ryc. 13. Kontrola. Neuron duży prążkowiec. Esteraza acetylocholinowa (AChE). Enzym obecny w kanałach siateczki śródplazmatycznej szorstkiej, w wewnętrznej błonie otoczki jądrowej i w błonie otaczającej neuron. Pow. 48.000 X

Control. Large neuron of the striatum. Acetylcholinesterase (AChE). Enzymatic reaction present in channels of rough endoplasmic reticulum, in internal membrane of the nuclear membrane and in a neuronal membrane. X 48 000



Ryc. 14. Grupa I. Neuron mały prążkowiec. AChE. Brak enzymu w kanałach (ER) i otoczce jądrowej, natomiast występuje on na niewielkich odcinkach w błonie komórkowej. Pow. 48.000 X

First group. Small neuron of the striatum. AChE. Negative enzymatic reaction in channels of endoplasmic reticulum (ER) and in nuclear membrane but present in small sectors of cellular membrane. X 48 000

Ryc. 15. Grupa I. Neuron mały prążkowiec. AChE. Enzym obecny we fragmencie błon komórkowych, szczególnie w miejscach złącz. Pow. 48.000 X

First group. Small neuron of the striatum. AChE. The enzyme activity in fragments of cellular membranes especially in tight junctions. X 48 000

były przeważnie kształtu okrągłego, lecz bywały również wielokształtne, oprócz nich w cytoplazmie oligodendrocytów stwierdzano niewielkie ilości ziarnistości glikogenowych.

Hodowle 3-tygodniowe prądkowia poddane działaniu 25 mg^{0/0} MnCl₂ wykazywały zmiany degeneracyjne we wszystkich elementach tkankowych i nie nadawały się do interpretacji w mikroskopie elektronowym.

Badania histoenzymatyczne w mikroskopie elektronowym

Odczyn na esterazę cholinową wykazał obecność aktywności enzymu tylko w niektórych neuronach prądkowia w hodowlach poddanych działaniu 12,5 mg^{0/0} MnCl₂, a nagromadzenie histochemicznego produktu reakcji w porównaniu z normą było mniejsze i inaczej zlokalizowane.

W neuronach z hodowli kontrolnych złogi enzymu w postaci materiału o dużej gęstości elektronowej odkładały się na dość dużych odcinkach w kanałach siateczki śródplazmatycznej szorstkiej, przy wewnętrznej błonie otoczki jądrowej oraz obficie w błonie otaczającej neurony (ryc. 13). W hodowlach doświadczalnych produkt reakcji występował jedynie fragmentarycznie na małych odcinkach w błonie komórkowej (szczególnie w złączach) neuronów małych (ryc. 14, 15). W neuronach dużych produkt reakcji był zlokalizowany podobnie jak w kontroli, lecz w o wiele mniejszym nasileniu.

DYSKUSJA

Badania w mikroskopie świetlnym i elektronowym wykazały duży wpływ jonów Mn⁺⁺ na obraz morfologiczny organotypowej hodowli prądkowia. Porównanie wyników z obydwu grup doświadczalnych wykazuje wyraźną zależność nasilenia nieprawidłowości morfologicznych od stężenia jonów manganowych w płynie odżywczym. Chlorek manganawy w stężeniu 25 mg^{0/0} w medium prowadzi do znacznego nasilenia uszkodzeń hodowanej tkanki nerwowej, które było szczególnie widoczne w badaniach mikroskopowo-elektronowych.

Zastosowane warunki doświadczenia oraz odpowiednia koncentracja jonów Mn⁺⁺ pozwalają odnieść stwierdzone nieprawidłowości do bezpośredniego ich wpływu na hodowaną tkankę nerwową.

Największe nieprawidłowości w budowie ultrastrukturalnej wykazywały elementy glejowe, wypustki nerwowe, najmniejsze zaś stwierdzano w dużych neuronach prądkowia. Poza zwiększoną ilością ciał tłuszczowych nie uchwycono innych nieprawidłowości, mimo iż odczyn histochemiczny na AChE wykazał znacznie mniejszą aktywność tego enzymu w porównaniu z kontrolą. Przedstawione nieprawidłowości histochemiczne mogą stanowić wykładnik zaburzeń metabolicznych, które zwykle wyprzedzają zmiany morfologiczne. Natomiast w neuronach małych prądkowia, badania morfologiczne wykazały dość znaczne zmiany

w cytoplazmie polegające na obecności licznych pęcherzyków wypełnionych materiałem o dużej gęstości elektronowej oraz pojedynczych, lecz dużych ciał wtrętowych i ciał tłuszczowych. W neuronach tych produkt reakcji na AChE był inaczej zlokalizowany i skąpy. Nie występował nigdy w cytoplazmie komórek, lecz jedynie w krótkich odcinkach błon komórkowych, przeważnie w złączach między komórką nerwową i glijową. W komórkach glijowych prądkowia nie wykazano obecności tego enzymu, mimo iż w niektórych regionach mózgu, np. w części nerwowej i pośredniej przysadki, enzym ten jest obecny w otoczce jądrowej i siateczce śródplazmatycznej szorstkiej pituicytów (Bridges i wsp. 1973; Whitaker, La Bella 1973).

Zastanawiającym zjawiskiem jest fakt istnienia dość dużej ilości aksonów o mocno zmienionej budowie ultrastrukturalnej. Pochodzą one prawdopodobnie z małych neuronów prądkowia. Zmiany polegają na znacznym uszkodzeniu aksoplazmy i osłonek mielinowych. Uszkodzenie osłonek mielinowych należy prawdopodobnie wiązać z pierwotnymi zmianami w oligodendrocytach spowodowanymi bezpośrednim działaniem jonów Mn^{++} . Zmiany te polegają na masywnym gromadzeniu się ciał tłuszczowych i obecności licznych ciał wtrętowych i pęcherzyków o podobnej budowie ultrastrukturalnej jak opisywane w neuronach małych. Wydaje się, że powszechne występowanie tych struktur można wiązać z akumulacją jonów Mn^{++} . O koncentracji Mn^{++} w tkance donosi także Hietanen i wsp. (1981), być może opisane przez nas struktury, nazwane ciałami wtrętowymi, stanowią odpowiedniki morfologiczne tego zjawiska. Podobne nieprawidłowości w budowie ultrastrukturalnej oligodendrocytów, świadczące o ich strukturalnym i metabolicznym uszkodzeniu z równoległym występującym uszkodzeniem osłonek mielinowych, obserwowano także w wielu innych układach doświadczalnych (Mossakowski, Gajkowska 1976; Kraśnicka, Gajkowska 1979).

Duże nieprawidłowości w budowie ultrastrukturalnej wykazywały również astrocyty. Oprócz nadmiernej ilości glikogenu i ciał tłuszczowych, w ich cytoplazmie obecne były struktury błoniaste, wieloblaszkowe. Interpretacja tych nieprawidłowości jest trudna, znana jest bowiem stabilizująca błony funkcja manganu (Aston 1980). W wielu astrocytach zaobserwowano obecność dużych mitochondriów o cechach obrzmienia, które zawierały osmofilne wtręty. Obecność tych wtrętów może się wiązać również z akumulacją jonów Mn^{++} prowadzącą kolejno do obniżenia ich aktywności enzymatycznej, a następnie do ciężkich uszkodzeń. Podobną interpretację sugeruje Cotzias (1958) i Chandra (1970, 1981). Jednakże wtręty osmofilne pojawiające się w mitochondriach zdaniem Idelmana (1970) mogą wskazywać również na ich degenerację lub „przeciążenie” po intensywnej stymulacji.

Reasumując nasze spostrzeżenia morfologiczne i histochemiczne można przypuszczać, że jony Mn^{++} w wybranym przez nas stężeniu mogą

być akumulowane we wszystkich elementach badanej tkanki, powodując zaburzenia w ich metabolizmie. Stopień uszkodzenia poszczególnych elementów komórkowych prądkowia wydaje się być wprost proporcjonalny do stężenia jonów Mn^{++} .

ВЛИЯНИЕ МАРГАНЦЕВЫХ ЗАКИСНЫХ ЙОНОВ (Mn^{++})
НА МОРФОЛОГИЧЕСКУЮ КАРТИНУ КУЛЬТИВИРУЕМОЙ НЕРВНОЙ ТКАНИ

Резюме

Ионы Mn^{++} в дозе 12,5 мг% в тканевой культуре вызывают нарушения клеточного метаболизма, проявляющегося в возникновении морфологических аномалий. Самые большие морфологические изменения наблюдаются в ультраструктуре глиальных клеток и особенно в олигодендритах, а также в некоторых малых нейронах полосатого тела. Повсеместное выступление инклюзионных тел во всех элементах исследуемой ткани можно связывать вероятно с аккумуляцией ионов Mn^{++} .

EFFECT OF MANGANOUS IONS (Mn^{++}) ON MORPHOLOGICAL
PICTURE IN THE BRAIN IN TISSUE CULTURE

Summary

An addition to the incubating medium 12,5 mg% of manganous ions (Mn^{++}) into tissue culture of the striatum evoked cellular metabolic abnormalities demonstrated as morphological changes.

The most striking neuropathological findings were observed in an ultrastructure of glia, especially in oligodendrocytes and in some small neurons of the striatum. Very common formation of inclusion bodies in all morphological structures of the striatum was accompanied probably by an accumulation of manganous ions.

PIŚMIENICTWO

1. Aston B.: Manganese and man. *J. Orthonol. Psychiat.*, 1980, 9, 237—249.
2. Bernheimer H., Hornykiewicz O.: Das Verhalten des Dopamin-Metaboliten Homovanillinsäure im Gehirn von normalen und parkinsonkranken Menschen. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmakol.*, 1964, 247, 305—306.
3. Bridges T. E., Fisher A. W., Gosbee J. L., Lederis K., Santolaya R. C.: Acetylcholine and cholinesterases (Assays and light- and electron microscopical histochemistry) in different parts of the pituitary of rat, rabbit and domestic pig. *Z. Zellforsch.*, 1973, 136, 1—18.
4. Cotzias G. C.: Manganese in health and disease. *Physiol. Rev.*, 1958, 38, 503—532.
5. Cotzias G. C., Papavasilion P. S., Ginos J., Steck A., DUBY S.: Metabolic modification of Parkinson's disease and of chronic manganese poisoning. *Ann. Rev. Med.*, 1971, 22, 305—326.
6. Chandra S. V., Srivastova S. P.: Experimental production of early brain lesions in rats by parenteral administration of manganese chloride. *Acta Pharmacol.*, (Kbh) 1970, 28, 177—183.

7. Chandra S. V., Shukla S. G.: Effect of manganese on synthesis of brain catecholamines in growing rat. *Acta Pharm. Toxicol.*, 1981, 48, 449—454.
8. Hietanen E., Kilpio J., Savolainen H.: Neurochemical and biotransformational enzyme responses to manganese exposure in rats. *Acta Environm. Contam. Toxicol.*, 1981, 10, 339—345.
9. Idelman S.: Ultrastructure of the mamalian adrenal cortex. *Int. Rev. Cytol.*, 1970, 27, 181—281.
10. Jonderko G.: Badania mechanizmów patogenetycznych przewlekłego zatrucia manganem. *Śląska Akademia Medyczna* 1970, 3—59.
11. Kraśnicka Z., Mossakowski M.: Zagadnienie zmienności morfologicznej tkanki glejowej hodowanej *in vitro*. *Neuropat. Pol.*, 1965, 3, 397—408.
12. Kraśnicka Z., Gajkowska B.: Wpływ dichlorfosu (DDVP) na tkankę nerwową hodowaną *in vitro*. Badania w mikroskopie świetlnym i elektronowym. *Neuropat. Pol.*, 1979, 17, 243—256.
13. Mena I., Marin O., Fuenzalida S., Cotzias G. C.: Chronic manganese poisoning: Clinical picture and manganese turnover. *Neurology, (Minneap.)* 1967, 17, 128—136.
14. Meyer A.: [W:] *Neuropathology*. Red. W. Blackwood, W. McMenemey, A. Meyer, R. M. Norman, D. S. Russell. Arnold, London 1963, 261.
15. Mossakowski M. J., Gajkowska B.: Obraz mikroskopowo-elektronowy uszkodzeń gleju wywołanych cyjankiem sodu w hodowli pozaustrojowej. *Neuropat. Pol.*, 1976, 14, 441—449.
16. Mossakowski M. J., Dydik L., Śmiałek M.: Wczesne uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego w doświadczalnym zatruciu związkami manganu. *Neuropat. Pol.* 1983 (w druku).
17. Pentschew A., Ebner F. F., Kowatch R. M.: Experimental manganese encephalopathy in monkeys. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1964, 22, 488—496.
18. Pentschew A.: Contribution of experimental manganese encephalopathy to neurology and neuropathology. *Rev. Neuro-Psiq.*, 1964, 27, 405—421.
19. Śmiałek M., Mossakowski M. J.: Patomorfologia ośrodkowego układu nerwowego szczurów w zatruciu związkami manganu. *Neuropat. Pol.*, 1981, 19, 377—387.
20. Whitaker S., LaBella F. S.: Cholinesterase in the posterior and intermediate lobes of the pituitary. Species differences as determined by light and electron microscopic histochemistry. *Z. Zellforsch.*, 1973, 142, 69—88.

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

HALINA WYGLĄDALSKA-JERNAS

AKTYWNOŚĆ FOSFATAZ I ESTERAZ W RDZENIU KRĘGOWYM SZCZURÓW W NASTĘPSTWIE OSTREGO ZATRUCIA SUBLIMATEM

Zakład Neuropatologii AM, Poznań

Wśród nieorganicznych połączeń rtęci, sublimat uważany jest za związek silnie toksyczny (Moeschlin 1960; Matsumoto, Onishi 1979). Preparat ten stosowany jest w metalurgii, fotografii, rytownictwie oraz jako środek dezynfekcyjny. Stąd istnieje potencjalna możliwość zatrucia chlorkiem rtęci ludzi i zwierząt.

Mimo licznych badań na temat szkodliwego działania sublimatu na układ nerwowy (Voigt, Adebahr 1963; Mac Gregor, Clarkson 1974; Kark 1979; Matsumoto, Onishi 1979), problem ten jest ciągle aktualny, a patogeniza obserwowanych zmian nie w pełni wyjaśniona.

Zmiany zachodzące w rdzeniu kręgowym w wyniku stosowania sublimatu wzbudzają mniejsze zainteresowanie. Spotykane w zatruciach chlorkiem rtęci objawy niedowładów i porażień obwodowych mogą wskazywać na uszkodzenie nie tylko nerwów, ale również istoty szarej i białej rdzenia kręgowego. Dlatego w niniejszej pracy postanowiono prześledzić zmiany aktywności enzymatycznej niektórych fosfataz i esteraz w rdzeniu kręgowym po doustnym podaniu sublimatu szczurom.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 44 szczurach szczepu Wistar, dojrzałych płciowo samicach i samcach, o ciężarze ciała wynoszącym od 150 do 160 g. Zwierzęta otrzymywały sublimat w roztworze wodnym dożołądkowo (przy pomocy odpowiedniej kaniuli) w dawce jednorazowej 6 mg, przez 4 kolejne dni ($DL_{50} = 30$ mg/kg ciężaru ciała). 6 szczurów stanowiło grupę kontrolną. Po upływie 24 godzin od zakończonego doświadczenia, szczury doświadczalne i kontrolne uśmiercano w narkozie eterowej i wyjmowano w całości rdzeń kręgowy do badań histoenzymatycznych. Pobrany materiał utrwalano przez 16 godzin w płynie Bakera w temperaturze 4°C, a następnie z poszczególnych odcinków rdzenia cięto skraw-

ki na mikrotomie mroźniowym i poddawano je jako wolnopływające reakcji histochemicznej dla wykazania aktywności następujących hydrolaz: pyrofosfatazy tiaminowej (TPPazy) — E. L. * 2.5.1.3. według metody Novikoffa i Goldfischera (1961), inkubacja w temperaturze pokojowej przez 30 min; nieswoistej esterazy (NsE) — E. L. 3.1.1.1. według metody Nachlasy i Seligmanna (1949), inkubacja w temperaturze 37°C przez 15 min; acetylocholinoesterazy (AChE) — E.L. 3.1.1.7. według metody Gerebtzoffa (1953), inkubacja w temperaturze 37°C przez 120 min; butyrylotiocholinoesterazy (BuTJ) — E. L. 3.1.1.8. według metody Gerebtzoffa (1953), inkubacja w temperaturze 37°C przez 180 min; fosfatazy zasadowej (FZ) — E. L. 3.1.3.1. według metody Gomoriego (1953), inkubacja w temperaturze 37°C przez 30 min; fosfatazy kwaśnej (FK) — E. L. 3.1.3.2. według metody Gomoriego (1953), inkubacja w temperaturze 37°C przez 50 min; adenozynotrójfosfatazy (ATPazy) — E. L. 3.6.1.3. według metody Wachsteina (1957), inkubacja w temperaturze 37°C przez 45 min.

WYNIKI

Pyrofosfataza tiaminowa (TPPaza)

Aktywność TPPazy w warunkach prawidłowych widoczna jest przede wszystkim w ścianach naczyń krwionośnych oraz w cytoplazmie komórek nerwowych, w postaci pęcherzyków i ziaren różnej wielkości. W obwodowych partiach istoty białej rdzenia kręgowego można niekiedy zaobserwować słaby odczyn enzymatyczny w przynaczyniowych wypustkach astrogleju protoplazmatycznego.

W przebiegu ostrego zatrucia sublimatem następuje wyraźny wzrost aktywności TPPazy zarówno w neurocytach, jak i w komórkach glejowych oraz w ścianach naczyń krwionośnych. Zatarciu ulega blaszkowato-pęcherzykowa struktura aparatu Golgiego a cała neuroplazma przejawia wysoką homogenną aktywność.

Esteraza nieswoista (NsE)

W rdzeniach grupy kontrolnej aktywność NsE widoczna jest w większości komórek nerwowych (ryc. 1), w postaci licznych, drobnych ziaren, gęsto ułożonych w cytoplazmie. Wyraźny odczyn występuje również w perycytach naczyń krwionośnych zarówno istoty białej, jak i szarej. Słabą aktywność wykazuje również neuropil.

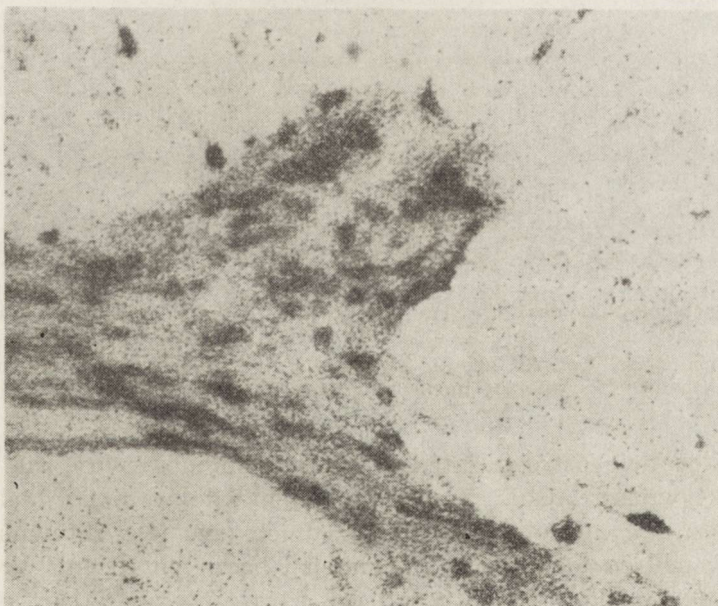
Dożołądkowe podanie sublimatu prowadzi do wyraźnego wzrostu aktywności NsE. Cytoplazma większości neurocytów jest jednolicie wy-

* E. L. — enzyme list (Florkin, Stotz 1973)



Ryc. 1. Esteraza nieswoista. Grupa kontrolna. Wyrażna aktywność w neurocytach i słaby odczyn w neuropilu. Pow. 80 ×

Nonspecific esterase. Control group. Weil-marked activity in the neurocytes and weak reaction in the neuropil. × 80



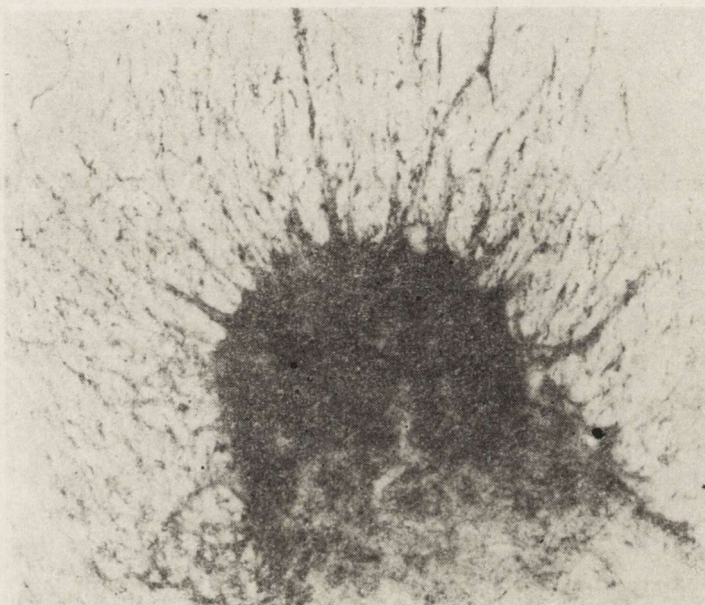
Ryc. 2. Esteraza nieswoista. Grupa doświadczalna. Silna aktywność enzymatyczna w komórkach nerwowych. Pow. 80 ×

Nonspecific esterase. Experimental group. Strong enzymatic activity in neurocytes. × 80

pełniona produktem reakcji enzymatycznej (ryc. 2). Wzrasta też aktywność NsE w perycytach i w neuropilu. Ponadto pojawia się słaba aktywność NsE w wielu komórkach oligodendrogleju.

Acetylocholinoesteraza (AChE)

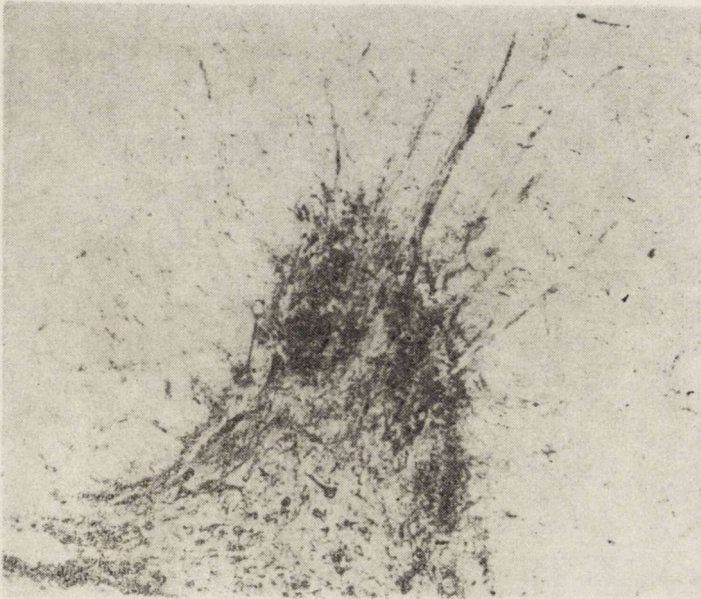
U zwierząt grupy kontrolnej silną aktywność AChE obserwuje się w komórkach ruchowych rogów przednich rdzenia kręgowego oraz w neuropilu (ryc. 3). Neurocyty rogów bocznych wykazują znacznie mniejszy stopień aktywności AChE, a komórki nerwowe rogów tylnych są jej praktycznie pozbawione. W istocie białej rdzenia kręgowego aktywność enzymatyczna widoczna jest ponadto w wypustkach dendrytycznych (ryc. 3).



Ryc. 3. Acetylocholinoesteraza. Grupa kontrolna. Silna aktywność w komórkach ruchowych rogów przednich rdzenia oraz w neuropilu. Pow. 80 ×

Acetylcholinesterase. Control group. Strong activity in the motor neurons of the anterior horns and in neuropil. × 80

W następstwie ostrego zatrucia sublimatem obserwuje się wyraźny spadek aktywności AChE. Zmniejsza się przede wszystkim aktywność enzymatyczna w neuropilu rogów przednich (ryc. 4). Aktywność spada również w neurocytach rogów przednich i bocznych rdzenia kręgowego, chociaż nadal odczyn enzymatyczny jest bardzo wyraźny (ryc. 4). W dendrytach przebiegających w istocie białej rdzenia obserwuje się niewielki spadek aktywności AChE.



Ryc. 4. Acetylocholinoesteraza. Grupa doświadczalna. Znaczny spadek aktywności enzymatycznej w neuropilu rogów przednich rdzenia kręgowego. Pow. 80 ×
 Acetylcholinesterase. Experimental group. Distinct decline of the enzymatic activity in the neuropil of the anterior horns. × 80

Butyrylotiocholinoesteraza (BuTJ)

Aktywność tego enzymu zarówno w grupie zwierząt kontrolnych, jak i po ostrym zatruciu sublimatem, występuje jedynie w ścianach naczyń krwionośnych. Nie udało się zaobserwować odczynu enzymatycznego w komórkach nerwowych ani w elementach glijowych rdzenia kręgowego.

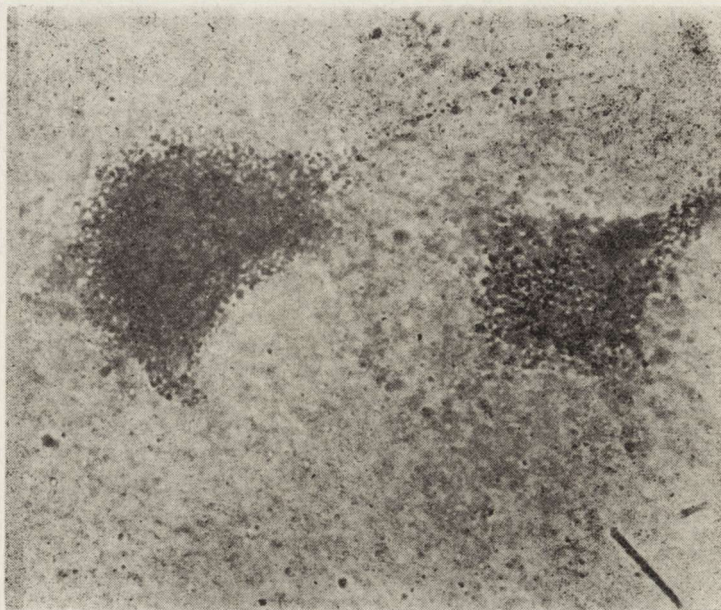
Fosfataza zasadowa (FZ)

U zwierząt kontrolnych aktywność tego enzymu zlokalizowana jest głównie w ścianach naczyń krwionośnych istoty białej i szarej. Również pojedyncze neurony ruchowe wykazują słabą dyfuzyjną aktywność FZ. W wyniku ostrego zatrucia $HgCl_2$ aktywność FZ nie ulega wyraźniejszej zmianie.

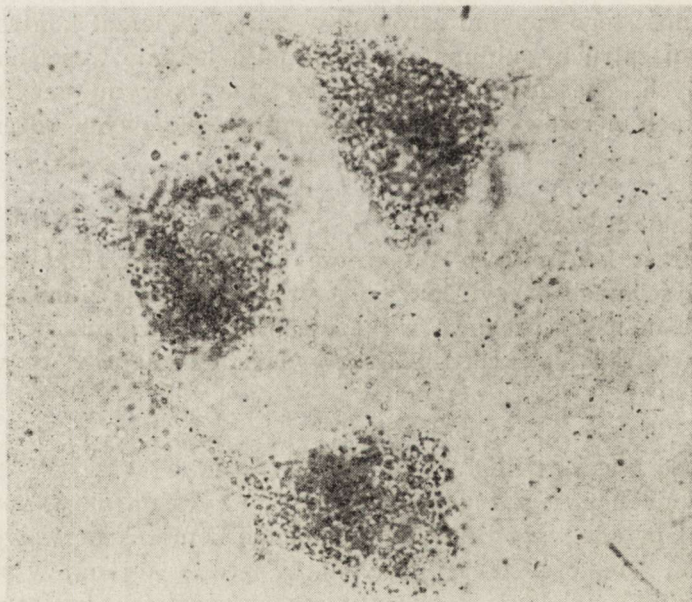
Fosfataza kwaśna (FK)

W rdzeniach zwierząt grupy kontrolnej wyraźna aktywność FK widoczna jest przede wszystkim w cytoplazmie komórek nerwowych, w postaci różnej wielkości ziaren (ryc. 5). W grupie tej najwyższy stopień aktywności FK wykazują neurocyty rogów przednich, mniejszy — neurony rogów bocznych i tylnych.

Czterokrotne dożołądkowe podanie sublimatu powoduje dość znaczny



Ryc. 5. Fosfataza kwaśna. Grupa kontrolna. Silna aktywność w komórkach ruchowych w postaci różnej wielkości ziaren. Pow. 1000 ×
 Acid phosphatase. Control group. Strong enzymatic activity in the motor neurons taking the form of the grains of different size. × 1000



Ryc. 6. Fosfataza kwaśna. Grupa doświadczalna. Aktywność enzymatyczna w neurocytach wyraźnie słabsza w porównaniu z kontrolą. Pow. 1000 ×
 Acid phosphatase. Experimental group. Enzymatic activity in the neurocytes is markedly weaker comparing to the control group. × 1000

spadek aktywności tego enzymu w cytoplazmie komórek nerwowych (ryc. 6). W niektórych neurocytach obserwuje się niewielkie obszary cytoplazmy pozbawione aktywności FK, a w pojedynczych komórkach odczyn ten jest tylko śladowy.

Adenozynotrójfosfotaza (ATPaza)

W grupie zwierząt kontrolnych aktywność tego enzymu zlokalizowana jest przede wszystkim w ścianach naczyń krwionośnych istoty białej i szarej. W niektórych jądrach komórek ruchowych można zaobserwować delikatny odczyn enzymatyczny. W istocie szarej niektóre, sąsiadujące z naczyniami, wypustki astrocytów protoplazmatycznych wykazują słabą aktywność dyfuzyjną ATPazy.

Dożołądkowe podanie sublimatu powoduje dość znaczny spadek aktywności ATPazy w ścianach naczyń krwionośnych. Znika też całkowicie aktywność ATPazy w przynaczyniowych wypustkach astrogleju i w jądrach komórek ruchowych.

OMÓWIENIE

Opierając się na spostrzeżeniach poczynionych w niniejszych badaniach można ustalić, że zatrucie szczurów sublimatem prowadzi do podobnych zmian histoenzymatycznych w rdzeniu kręgowym, jak w przypadku doświadczalnego wprowadzania tym zwierzętom kalomelu (Mac Gregor, Clarkson 1974; Kozik, Wyglądalska 1977; Kozik i wsp. 1977). Stopień nasilenia zmian aktywności enzymatycznej w zatruciu chlorkiem rtęciowym jest jednak mniejszy niż w przypadku zatrucia chlorkiem rtęciowym. Zjawisko to zasługuje na uwagę, ponieważ sublimat jest silniejszym środkiem toksycznym w porównaniu z kalomelem (Moeschlin 1960; Dhar 1973; Kark 1979). Mechanizm patogenetyczny uszkodzenia tkanki nerwowej w zatruciach sublimatem tłumaczony jest uprzednią metylacją tego związku (Shiraki 1979). Być może proces transformacji sublimatu w organizmie przebiega wolniej niż proces łączenia się kalomelu z rodnikiem metylowym. Szybkie i łatwe wchłanianie się chlorku rtęciowego z przewodu pokarmowego oraz jego gromadzenie w nerkach może osłabiać bezpośrednie biologiczne oddziaływanie Hg na tkankę nerwową, ponieważ procesy utleniania i redukcji nieorganicznych związków rtęci w ustroju zależą od szeregu czynników, w tym również od czasu ekspozycji badanego związku (Magos 1978).

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na szczególną wrażliwość niektórych obszarów rdzenia kręgowego na działanie sublimatu. Najsilniejsze zmiany histoenzymatyczne spostrzegano w rogach przednich i bocznych rdzenia kręgowego, a znacznie mniejsze w rogach tylnych oraz w drogach rdzeniowo-mózdkowych. Chang i Hartman (1972) zwracają uwagę na rozległe zmiany ultrastrukturalne w korzonkach przed-

nich rdzenia kręgowego po doświadczalnym zatruciu $HgCl_2$. Obserwowany w naszych badaniach spadek aktywności AChE i FK w neuronach, których wypustki stanowią korzonki przednie rdzenia, wydaje się korelować z wynikami badań ultrastrukturalnych tych autorów. Zmiany morfologiczne obserwowane w mikroskopie świetlnym polegają zazwyczaj na poszerzeniu naczyń krwionośnych, ubytku tigroidu w neuronach oraz pojawieniu się wakuoli w niektórych komórkach nerwowych. Niekiedy dochodzi do martwicy rozplwnej neuronów i rozrostu oligodendrogleju (Kozik 1981).

Zmiany aktywności TPPazy i ATPazy w rdzeniu kręgowym nie różnią się w swoim charakterze od zmian tych odczynów w mózgu, spotykanych w zatruciach chlorkiem rtęciowym. Spostrzeżenia te zostały omówione w pracach wcześniejszych (Kozik, Wyglądalska 1977; Kozik i wsp. 1977).

WNIOSKI

1. Ostre zatrucie chlorkiem rtęciowym prowadzi w rdzeniu kręgowym do wzrostu odczynu na TPPazy i NsE oraz spadku aktywności ATPazy, AChE i FK.

2. Stopień nasilenia zmian aktywności badanych enzymów w zatruciu sublimatem jest mniejszy niż w zatruciach spowodowanych kalomelem.

3. Neurocyty i neuropil rogow przednich oraz bocznych rdzenia kręgowego należą do okolic wybiórczo wrażliwych na działanie chlorku rtęci.

4. Sublimat podawany szczurom doustnie nie wpływa na aktywność FZ i BuTJ w rdzeniu kręgowym.

АКТИВНОСТЬ ФОСФАТАЗ И ЭСТЕРАЗ В СПИННОМ МОЗГУ КРЫС ВСЛЕДСТВИЕ ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ СУЛЕМОЙ

Резюме

Проведено экспериментальные исследования с крысами, которым при помощи канюли вводили внутривенно сулему в дозе 6 мг в течение четырех очередных дней.

В результате проведенных исследований констатировано в спинном мозгу изменения активности фосфатаз и эстераз. Эти изменения заключались в снижении активности ацетилхолинэстеразы, кислой фосфатазы и аденозинтрифосфатазы и в повышении активности тиаминовой пирофосфатазы, а также неспецифической эстеразы в нейронах, особенно передних рогов спинного мозга и в стенках кровеносных сосудов. Доказано также, что интоксикация сулемой не влияет на активность щелочной фосфатазы и бутилтихолинэстеразы. Обращено внимание на особенную чувствительность передних и боковых рогов спинного мозга к действию сулемы. Заслуживает особого внимания меньшая степень усиления изменений энзиматической активности при отравлении сулемой ($HgCl_2$), чем в случаях отравления каломелью (Hg_2Cl_2).

PHOSPHATASES AND ESTERASES ACTIVITIES IN THE SPINAL CORD
OF RAT AFTER THE ACUTE SUBLIMATE INTOXICATION

Summary

The investigations were performed on rats treated intragastrically with sublimate 6 mg daily for 4 consecutive days.

The experiment resulted in changes of the phosphatases and esterases activities in the spinal cord. These changes were expressed in decrease of AChE, acP and ATPase activities and increase of TPPase and NsE activities in the neurocytes, particularly in the anterior horns of the spinal cord and in blood vessel walls. It was also established that sublimate intoxication does not influence the alkP and BuTJ activities. Special vulnerability to the sublimate of the anterior and lateral horns of the spinal cord was noticed. It is worth to emphasize the slighter changes of enzymatic activity after intoxication with mercuric chloride (HgCl_2) then with mercurous chloride (Hg_2Cl_2).

PIŚMIENNICTWO

1. Chang L. W., Hartmann H. A.: Ultrastructural studies of the nervous system after mercury intoxication. II. Pathological changes in the nerve fibres. *Acta neuropath.*, (Berl.) 1972, 20, 316—334.
2. Dhar K.: Metal ions in biological systems. Plenum Press, New York, London 1973, 256.
3. Florin M., Stotz E. H.: Enzyme nomenclature. [W:] *Comprehensive biochemistry*, vol. 13, Elsevier, Amsterdam 1973.
4. Gerebtzoff M.: Recherches histochimiques sur les acetylcholine et choline esterases. *Acta anat.*, (Basel) 1953, 19, 366—379.
5. Gomori G.: *Microscopic histochemistry*. University Press, Chicago 1953.
6. Kark P. R. A.: Clinical and neurochemical aspects of inorganic mercury intoxication. [W:] *Handbook of clinical neurology*. Red. P. J. Vinken, G. W. Bruyn, vol. 36, part I. North-Holland, Amsterdam, New York, Oxford 1979, 147—197.
7. Kozik M. B.: *Encefalopatie egzogenne*. [W:] *Podstawy neuropatologii*. Red. M. J. Mossakowski, J. Dymecki, M. Wender. PZWL, Warszawa 1981.
8. Kozik M. B., Wyglądalska H.: Enzymatic activity of hydrolases in the spinal cord of rat after an acute and subacute calomel intoxication. *Folia Histochem. Cytochem.*, 1977, 15, 79—85.
9. Kozik M. B., Szczech J., Sosiński E.: Zmiany histoenzymatyczne w mózgu w przebiegu doświadczalnej intoksykacji kalomelem. *Neuropat. Pol.*, 1977, 15, 239—253.
10. Mac Gregor J. T., Clarkson T. W.: Distribution, tissue binding and toxicity of mercurials. *Advanc. exp. Med. Biol.*, 1974, 48, 463—503.
11. Magos L.: Mercury: an environmental and dietary hazard. *J. Hum. Nutr.*, 1978, 32, 179—186.
12. Matsumoto Y., Onishi M.: Effects of mercury (inorganic and organic) on the tissue respiration and movement of the cations (Hg^{++} , K^+ , Ca^{++}). *Acta Med. Univ. Kagoshima* 1979, 21, 131—140.
13. Moeschlin A.: *Intoxications. Clinic and treatment*. PZWL, Warszawa 1960.
14. Nachlas M., Seligmann A.: The histochemical demonstration of esterase. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1949, 9, 415—425.

15. Novikoff A., Goldfischer B. S.: Nucleoside diphosphatase activity in the Golgi apparatus and its usefulness for cytological studies. *Proc. nat. Acad. Sci., (USA)* 1961, 9, 47—61.
16. Shiraki H.: Neuropathological aspects of organic mercury intoxication, including Minamata disease. [W:] *Handbook of clinical neurology*. Red. P. J. Vinken, G. W. Bruyn, vol. 36, part I. North Holland, Amsterdam, New York, Oxford 1979, 83—145.
17. Voigt G. E., Adebahr G.: Histochemische Untersuchungen über den Verbleib des Quecksilbers bei der experimentellen Sublimatvergiftung. *Klin. Wschr.*, 1963, 41, 558—563.
18. Wachstein M., Meisel E.: Histochemistry of hepatic phosphatases of a physiologic pH with special reference to the demonstration of bile canaliculi. *Amer. J. Clin. Path.*, 1957, 27, 13—23.

Adres autorki: Zakład Neuropatologii Akademii Medycznej, ul. Przybyszewskiego 49, 60—355 Poznań

ANTONI GODLEWSKI

WPŁYW WINKRYSTYNY PODAWANEJ SZCZUROM W DRUGIEJ POŁOWIE CIAŻY NA MIELINIZACJĘ SPOIDŁA WIELKIEGO

Zakład Neuropatologii Akademii Medycznej, Poznań

Najczęstszymi neurologicznymi powikłaniami po stosowaniu winkrystyny są uszkodzenia nerwów obwodowych, manifestujące się klinicznie zespołami o typie polineuropatii (Hausmanowa-Petrusewicz i wsp. 1972; Rosenthal, Kaufman 1974) z różnie ciężkim przebiegiem. Nierzadkie są również, według niektórych autorów, zaburzenia czynności wyższych ośrodków układu nerwowego przejawiające się zaburzeniami świadomości, napadami drgawkowymi itp., określane niekiedy mianem encefalopatii winkrystynowej (Gröbe, Palm 1972; Dieterich 1979). Podawanie dużych dawek winkrystyny w czasie ciąży wywołują może zmiany teratogenne, nie oszczędzające ośrodkowego układu nerwowego. Wielu autorów opisywało przypadki anencefalii, porencefalii, anoftalmii i podobnych wad rozwojowych (Ferm 1963; Courtney, Valerio 1968; Joneja, Ungthaven 1969; Persaud 1979).

Zasadniczym efektem działania winkrystyny na komórkę jest zablokowanie podziału komórkowego na etapie metafazy, poprzez wybiórcze wiązanie się z białkiem tubulinowym wrzecionka kariokinetycznego (Le Pecq 1978). Stąd w polichemioterapii nowotworowej winkrystyna bywa używana jako środek synchronizujący dzielące się komórki nowotworowe (Camplejohn 1980). Poza tym winkrystyna działa na szereg innych, równie ważnych procesów komórkowych, takich jak: synteza DNA i RNA (Creasey, Markiw 1964; Desjardins i wsp. 1967). W dużych dawkach zachowuje się jak trucizna cytoplazmatyczna, nie oszczędzająca również komórek nerwowych (Burdman 1966).

Badania doświadczalne nad wpływem winkrystyny na układ nerwowy, były zazwyczaj przeprowadzane przy użyciu dużych dawek tego cytostatyku, wielokrotnie przekraczających dopuszczalne dawki terapeutyczne. W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych o wpływie niewielkich, zbliżonych do terapeutycznych dawek winkrystyny na ontogenezę ośrodkowego układu nerwowego. Dlatego wydawało się celowe

podjęcie badań nad wpływem tego alkaloidu podawanego w czasie ciąży na postembrionalny rozwój układu nerwowego. Dogodnym elementem śledzenia pozapłodowego rozwoju mózgu jest mielinizacja dróg nerwowych.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 50 młodych szczurach, samicach i samcach, których matki otrzymywały domięśniowo winkrystynę w dawkach po 0,01 mg/kg masy ciała, rozpuszczoną w 0,5 ml roztworu 0,9% NaCl, każdorazowo w 11, 14, 17 i 20 dniu ciąży. Szczury podzielone na 6 grup doświadczalnych uśmiercano w narkozie eterowej przez przecięcie serca i wykrwawienie w 1, 3, 7, 14, 21 i 28 dobie po urodzeniu. Pobrane mózgowia utrwalano w płynie Bakera, a następnie cięto skrawki na mikrotomie mroźniowym i barwiono metodą Spielmeyera oraz Sudanem IV. Ponadto na wolno pływających skrawkach oznaczano aktywność sulfohydrolazy siarczanów arylowych (E. L. * 3.1.3.6.) według metody Rutenburga i wsp. (1952). Czas inkubacji 6 godz. w temperaturze 37°C.

Grupę kontrolną stanowiła również liczna grupa młodych szczurów pochodzących od matek otrzymujących w 11, 14, 17 i 20 dniu ciąży tylko iniekcje domięśniowe 0,5 ml roztworu 0,9% NaCl. Podział szczurów kontrolnych na grupy wiekowe, jak i dalszy tok postępowania były identyczne jak opisane powyżej.

WYNIKI

Liczba szczurów w miocie, ciężar ciała i rozwój motoryczny w obserwowanych okresach nie różniły się w sposób istotny pomiędzy grupą kontrolną i doświadczalną. Nie stwierdzano także makroskopowych różnic oraz zmian patologicznych podczas sekcji ogólnej badanych szczurów. Mikroskopowe i histoenzymatyczne zmiany w poszczególnych etapach rozwoju osobniczego są następujące:

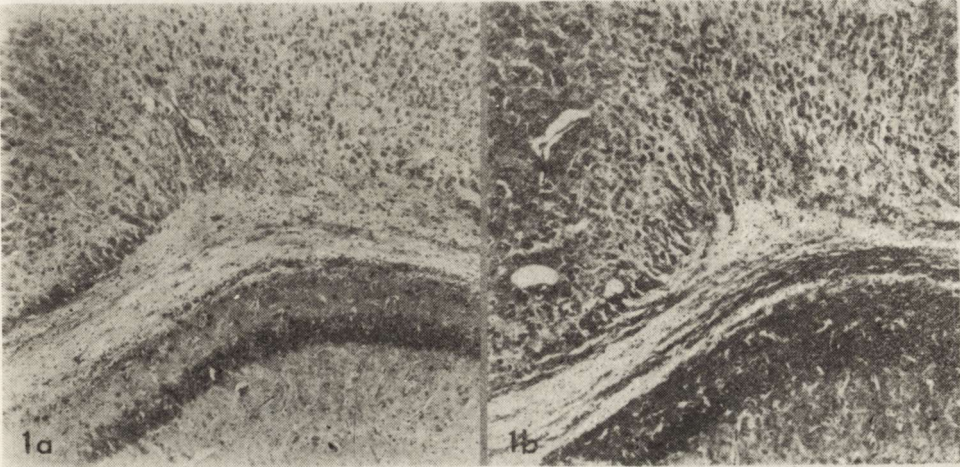
Pierwszy dzień życia pozapłodowego — w obrębie włókien spoidła wielkiego nie widać osłonek mielinowych tak u zwierząt kontrolnych, jak i doświadczalnych. Nie obserwuje się również aktywności sulfohydrolazy siarczanów arylowych (ASS) oraz obecności lipidów w neurogleju.

Trzeci dzień życia pozapłodowego — podobnie jak w grupie poprzedniej włókna spoidła wielkiego u szczurów nie przejawiają aktywności ASS, nie posiadają osłonek rdzennych i nie zawierają złogów lipidowych.

Siódmy dzień życia pozapłodowego — w grupie szczurów kontrolnych nie spotyka się w obrębie spoidła wielkiego włókien barwiących się me-

* E. L. — numer listy enzymów (Florkin, Stotz 1973)

todą Spielmeyera (ryc. 1a). W grupie doświadczalnej natomiast udaje się zaobserwować występowanie delikatnej osłonki mielinowej we włóknach piramidowych przebiegających przez kolano i boczne części spoidła wielkiego. Również część włókien kojarzeniowych w kolanie spoidła wielkiego zawiera osłonkę rdzenną (ryc. 1b). W obu badanych grupach w tym okresie rozwoju ontogenetycznego nie widać aktywności ASS.



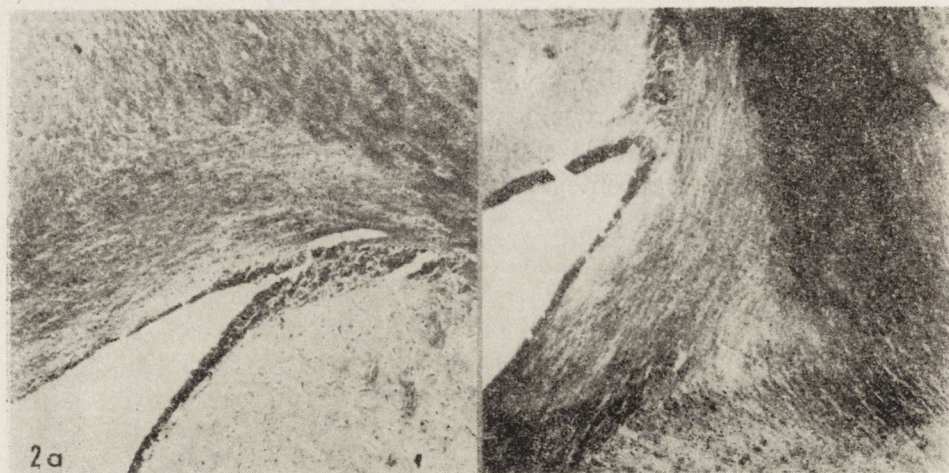
Ryc. 1. a — 7 dzień życia. Grupa kontrolna. Włókna spoidła wielkiego bez osłonek rdzennych. Spielmeyer. Pow. 80 \times ; b — 7 dzień życia. Grupa doświadczalna. Część włókien w obrębie kolana spoidła wielkiego posiada osłonkę mielinową. Spielmeyer. Pow. 80 \times

a — 7th day of life. Control group. The nerve fibers of corpus callosum without myelin sheaths. Spielmeyer. \times 80; b — 7th day of life. Experimental group. Partially myelinated fibers of *genu corporis callosi*. Spielmeyer. \times 80

Czternasty dzień życia pozapłodowego — w grupie kontrolnej pojawiają się osłonki rdzenne w dość licznych włóknach piramidowych przebiegających przez kolano spoidła wielkiego do torebki wewnętrznej oraz w niewielkiej liczbie włókien kojarzeniowych (ryc. 2a). We włóknach tych pojawia się także słaba aktywność sulfohydrolazy siarczanów arylowych (ryc. 3a).

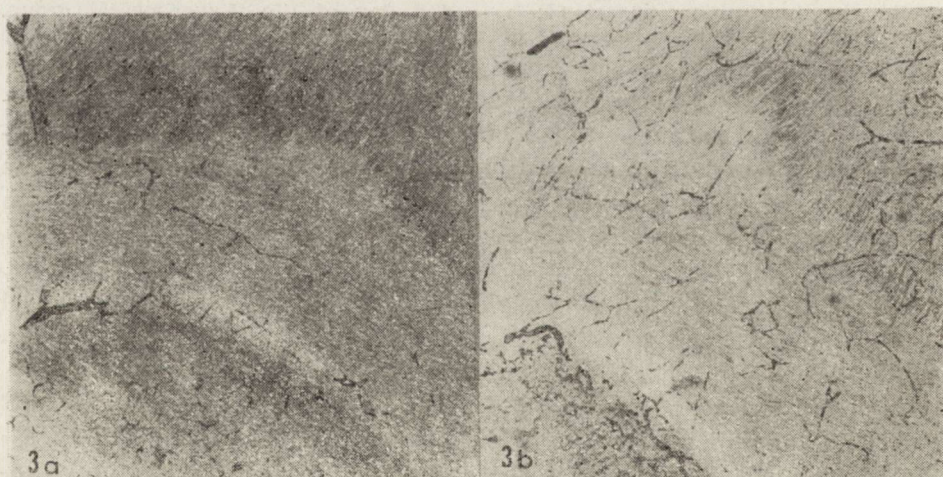
U szczurów poddanych w czasie ciąży działaniu winkrystyny dochodzi do wyraźnego wybarwienia się osłonek rdzennych w części włókien spoidła wielkiego oraz intensywnego wybarwienia włókien piramidowych przebiegających przez spoidło (ryc. 2b). Natomiast aktywność ASS w obrębie zmielinizowanych włókien jest śladowa (ryc. 3b). W preparatach barwionych Sudanem IV niektóre komórki neurogleju szczurów doświadczalnych wykazują obecność drobnych ziaren lipidów.

Dwudziesty pierwszy dzień życia pozapłodowego — w grupie kontrolnej występuje wyraźna obecność włókien mielinowych w obrębie kolana i części bocznych spoidła wielkiego. Włókna części centralnej spoidła wykazują delikatne podbarwienie metodą Spielmeyera. Zwraca uwa-



Ryc. 2. a — 14 dzień życia. Grupa kontrolna. Część włókien spoidła z osłonkami rdzennymi. Wyraźna mielinizacja we włóknach piramidowych. Spielmeyer. Pow. 80 \times ; *b* — 14 dzień życia. Grupa doświadczalna. Intensywne zabarwienie włókien piramidowych i wyraźna mielinizacja w znacznej liczbie włókien spoidłowych. Spielmeyer. Pow. 80 \times

a — 14th day of life. Control group. Some fibers of corpus callosum with myelin sheaths. Pyramidal fibers distinctly myelinated. Spielmeyer. \times 80; *b* — 14th day of life. Experimental group. Intensely stained pyramidal fibers. Distinct myelination of numerous fibers of corpus callosum is visible. Spielmeyer. \times 80

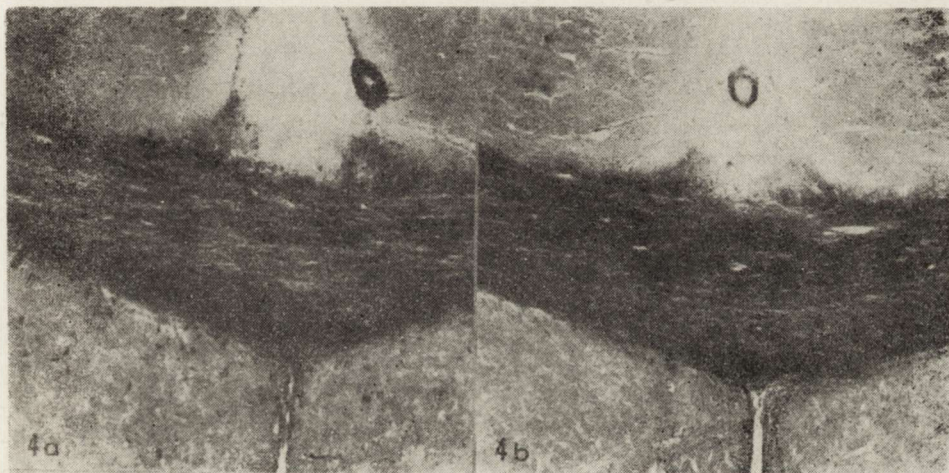


Ryc. 3. a — 14 dzień życia. Grupa kontrolna. Widoczna aktywność ASS we włóknach piramidowych i częściowo w spoidłowych. Pow. 80 \times ; *b* — 14 dzień życia. Grupa doświadczalna. Śladowa aktywność ASS w osłonkach rdzennych. Pow. 80 \times

a — 14th day of life. Control group. The activity of arylsulphatase in pyramidal and callosal fibers. Pow. 80 \times ; *b* — 14th day of life. Experimental group. Very weak activity of ASS in myelin sheaths. \times 80

gę bardziej intensywne wybarwienie włókien leżących w warstwach brzusznych spoidła wielkiego w porównaniu z włóknami leżącymi grzbietowo (ryc. 4a). Aktywność ASS jest proporcjonalna do stopnia mielinizacji włókien.

W grupie doświadczalnej stopień mielinizacji włókien spoidła wielkiego jest zdecydowanie większy niż u szczurów kontrolnych (ryc. 4b). W tych warunkach doświadczalnych intensywne zabarwienie metodą Spielmeyera wykazują zarówno włókna części centralnej spoidła wielkiego, jak i włókna leżące w obrębie kolana i promienistości spoidła. U zwierząt doświadczalnych nie obserwuje się różnic w stopniu zabarwienia pęczków włókien brzusznych i grzbietowych (ryc. 4b). W przeciwieństwie do intensywnego wybarwiania się osłonek rdzennych metodą Spielmeyera, stopień aktywności enzymatycznej ASS u szczurów doświadczalnych jest wyraźnie słabszy. W preparatach barwionych Sudanem IV obserwuje się słabe dyfuzyjne podbarwienie na kolor ceglasto-czerwony wszystkich włókien spoidłowych. W neurogleju nie spotyka się ziaren lipidów.

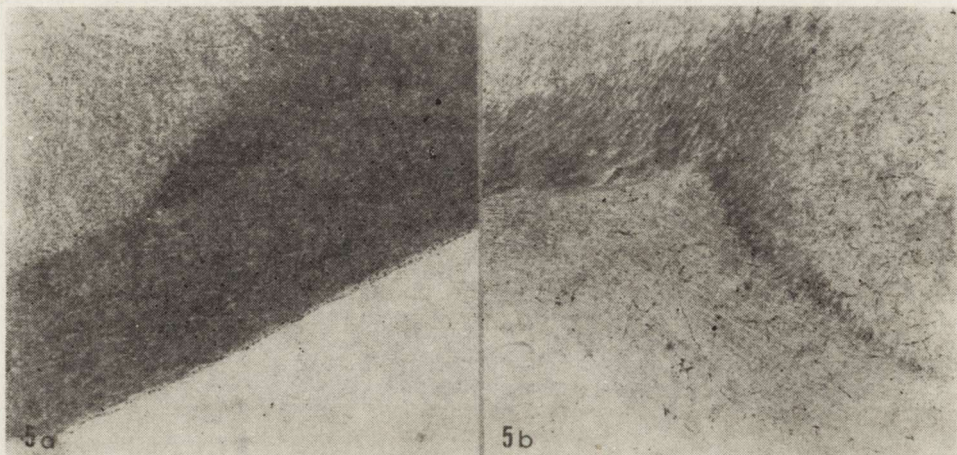


Ryc. 4. a — 21 dzień życia. Grupa kontrolna. Intensywne zabarwienie włókien mielinowych w partiach brzusznych spoidła wielkiego. Spielmeyer. Pow. 80 \times ; b — 21 dzień życia. Grupa doświadczalna. Intensywna mielinizacja wszystkich włókien spoidła wielkiego. Spielmeyer. Pow. 80 \times

a — 21st day of life. Control group. Intensive staining of myelin fibers in abdominal parts of corpus callosum. Spielmeyer. \times 80; b — 21st day of life. Experimental group. All fibers of corpus callosum are intensively myelinated. Spielmeyer. \times 80

Dwudziesty ósmy dzień życia pozapłodowego — wszystkie włókna spoidła są pokryte wyraźną osłonką rdzenną. W preparatach barwionych metodą Spielmeyera nie można wykazać jakichkolwiek różnic pomiędzy grupą kontrolną i doświadczalną. Barwienie Sudanem IV także nie ujawnia różnic między obydwoma badanymi grupami zwierząt. Na uwagę natomiast zasługuje aktywność ASS. W grupie kontrolnej intensywny

odczyn dla sulfohydrolazy siarczanów arylowych widoczny jest we wszystkich włóknach spoidła wielkiego (ryc. 5a). W grupie szczurów poddanych w czasie rozwoju embrionalnego działaniu winkrystyny aktywność ASS we włóknach spoidła wielkiego jest wyraźnie słabsza (ryc. 5b).



Ryc. 5 a — 28 dzień życia. Grupa kontrolna. Wyraźna aktywność ASS we wszystkich włóknach spoidła wielkiego i we włóknach piramidowych. Pow. 80 X; b — 28 dzień życia. Grupa doświadczalna. Znacznie słabsza aktywność ASS, szczególnie we włóknach kojarzeniowych. Pow. 80 X

a — 28th day of life. Control group. Distinct ASS activity in all fibers of corpus callosum and in pyramidal tract. X 80; b — 28th day of life. Experimental group. The decrease of ASS activity concerning mostly associating fibers. X 80

OMÓWIENIE

Obraz morfologiczny mielinizacji spoidła wielkiego i kolejność pojawiania się włókien mielinowych w różnych częściach spoidła są podobne u zwierząt doświadczalnych i kontrolnych. Zwraca natomiast uwagę wcześniejsze pojawienie się osłonek rdzennych we włóknach nerwowych spoidła wielkiego u zwierząt doświadczalnych.

Nieliczne włókna mielinowe w spoidle wielkim u szczurów poddanych podczas życia embrionalnego działaniu winkrystyny można zaobserwować już w 7 dobie po urodzeniu. W grupie szczurów kontrolnych zjawisko to widoczne jest dopiero w 14 dniu życia osobniczego. Tak samo w późniejszych okresach ontogenezy pozapłodowej szybsze i bardziej intensywne wytwarzanie osłonek rdzennych w spoidle wielkim występuje po podaniu samicom ciężarnym winkrystyny.

Patomechanizm działania winkrystyny na procesy mielinogenezy jest niewątpliwie złożony. Oprócz bezpośredniego wpływu alkaloidu na ośrodkowy układ nerwowy (np. przez zablokowanie podziałów komórkowych,

zaburzenia syntezy białek strukturalnych i enzymatycznych, zaburzenia w syntezie kwasów nukleinowych, zahamowanie aktywnego transportu przez błony biologiczne itd.), należy brać pod uwagę możliwość działania pośredniego na mózgowie płodu poprzez organizm matki. Pewnym wydaje się natomiast, że stosowanie winkrystyny nawet w niewielkich dawkach w okresie ontogenezy płodowej, nie jest obojętne dla prawidłowego rozwoju ośrodkowego układu nerwowego. Nie znane są nam jak dotychczas późne, odległe następstwa morfologiczne i czynnościowe działania winkrystyny na układ nerwowy w okresie płodowym.

Oddzielnym zagadnieniem trudnym do wyjaśnienia jest obniżenie aktywności ASS u zwierząt doświadczalnych. Według dotychczasowych spostrzeżeń (Kozik, Węclewski 1965), aktywność tego enzymu jest wyraźnie związana z osłonką mielinową. Podczas rozwoju osobniczego w miarę rozwoju osłonek rdzennych wzrasta w tych włóknach aktywność ASS. Tak samo podczas rozpadu mieliny zmniejsza się lub zanika aktywność sulfohydrolazy siarczanów arylowych (Wender i wsp. 1966; Wender, Kozik 1969). Natomiast w obecnych badaniach okazało się, że nie ma takiej wprost proporcjonalnej zależności. Mimo bowiem wyraźniej szybszej mielinizacji spoidła wielkiego u szczurów doświadczalnych, aktywność ASS u tych zwierząt jest mniejsza niż ten sam odczyn w analogicznych grupach kontrolnych. Być może obserwowane zjawisko jest następstwem inhibicyjnego działania winkrystyny na ASS. Nie można również wykluczyć, że podawana ciężarnym samicom winkrystyna powoduje u potomstwa uszkodzenie komponentu białkowego osłonek rdzennych przy niezaburzonym odkładaniu fosfolipidów mieliny. Przypuszczeń tych i wątpliwości nie można wyjaśnić stosowanymi tu metodami. W dalszych badaniach w tym kierunku należałoby uzupełnić poczynione spostrzeżenia badaniami biochemicznymi białek i obserwacjami ultrastrukturalnymi włókien spoidłowych.

WNIOSKI

1. U szczurów poddanych działaniu winkrystyny w okresie ontogenezy płodowej dochodzi do szybszej mielinizacji spoidła wielkiego.
2. Kolejność pojawiania się włókien mielinowych w poszczególnych częściach spoidła wielkiego jest jednakowa u szczurów z grupy doświadczalnej i kontrolnej.
3. Aktywność sulfohydrolazy siarczanów arylowych w osłonkach mielinowych zwierząt doświadczalnych jest niższa niż w grupie kontrolnej.

ВЛИЯНИЕ ВИНКРИСТИНА ВВОДИМОГО КРЫСАМ ВО ВТОРОЙ ПОЛОВИНЕ БЕРЕМЕННОСТИ НА МИЕЛИНИЗАЦИЮ БОЛЬШОЙ СПАЙКИ

Резюме

В исследованиях использовали молодых крыс, которых матери получали во второй половине беременности четырехкратно (на 11, 14, 17 и 20 dniu беременности) винкрисдин в дозе по 0,01 мг/кг веса тела, т. е. в дозах приближенных к терапевтическим. Экспериментальные крысы забивали на 1, 3, 7, 14, 21 и 28 dniu внеплодовой жизни.

Оценено степень миелинизации большой спайки и изменения энзиматической активности сульфогидролазы арильных сульфатов. Констатировано ускорение миелинизации нервных волокон большой спайки у крыс подверженных действию винкристина в плодовом периоде. Активность сульфогидролазы арильных сульфатов у экспериментальных животных отчетливо ниже в сопоставлении с контрольными группами.

THE MYELINATION CHANGES OF RAT CORPUS CALLOSUM PROVOKED BY ADMINISTRATION OF VINCRIStINE IN THE SECOND PART OF GESTATION

Summary

The investigations were performed on young rats, the mothers of which were treated four times in 2nd half of gestation (in 11th, 14th, 17th and 20th day of gestation) with vincristine. The single dose of the cytostatic was 0.01 mg/kg of body weight and was approximate to therapeutic one. Experimental animals were sacrificed on 1st, 3rd, 7th, 14th, 21st or 28th day of postnatal life.

The influence of vincristine on the myelination of corpus callosum and arylsulphatase activity in this region was investigated. The enhancement of fibers myelination in studied region of rats, the mothers of which were treated with vincristine in period of gestation was observed. The activity of arylsulphatase in experimental rats was decreased as compared to the control animals.

PIŚMIENNICTWO

1. Burdman J. A.: A note on the selective toxicity of vincristine on chick-embryo sensory ganglia in tissue culture. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1966, 37, 331—332.
2. Camplejohn R. S.: A critical review of the use of vincristine (VCR) as a tumor cell synchronicity agent in cancer therapy. *Cell Tiss. Kinet.*, 1980, 13, 327—335.
3. Courtney K. D., Valerio D. A.: Teratology in the macaca mulatta. *Teratology*, 1968, 1, 163—172.
4. Creasey W. A., Markiw M. E.: Biochemical effects of the vinca alkaloids. II. A comparison of the effects of colchicine, vinblastine and vincristine on the synthesis of ribonucleic acids in Ehrlich ascites carcinoma cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 1964, 87, 601—609.
5. Desjardins R., Grogen D. A., Arendell J. P., Busch H.: Effects of antitumor agents on the synthesis of nucleolar DNA. *Cancer Res.*, 1967, 27, 159—164.
6. Dieterich E.: Zur Frage der Encephalotoxizität des Vincristin. (EEG-Befunde bei Langzeit-überlebenden nach Leukämiam und soliden Tumoren im Kindesalter, die mit Vincristin behandelt wurden). *Klin. PEDIATR.*, 1979, 191, 145—147.

7. Ferm V. H.: Congenital malformations in hamster embryos after treatment with vinblastine and vincristine. *Science*, 1963, 141, 426.
8. Florkin M., Stotz E. H.: Enzyme nomenclature. [W:] *Comprehensive Biochemistry*, vol. 13. Elsevier, Amsterdam 1973.
9. Gröbe H. P., Palm D.: Vincristin-induzierte Encephalopathien unter der Behandlung kindlichen Leukosen. *Monatschr. Kinderheilk.*, 1972, 120, 23—27.
10. Hausmanowa-Petrusewicz I., Jędrzejowska H., Haftek J.: Choroby nerwów obwodowych. PZWL, Warszawa 1972.
11. Joneja M., Ungthavorn S.: Teratogenic effects of vincristine in three lines of mices. *Teratology*, 1969, 2, 235—240.
12. Kozik M., Węclewski A.: Histochemical localization of arylsulphate sulphhydrolase (E.C. 3.1.3.6) in the nervous system of guinea pigs. *Acta Histochem.*, 1965, 21, 135—142.
13. LePecq J. B.: Chimiothérapie anticancéreuse. Mécanismes d'action des substances antitumorales. Hermann, Paris 1978.
14. Persaud T. V. N.: Teratogenesis. Experimental aspects and clinical implications. *Exp. Pathol.*, suppl. 4, 1979.
15. Rosenthal S., Kaufman S.: Vincristine neurotoxicity. *Ann. Inter. Med.*, 1974, 80, 735—737.
16. Rutenburg A., Cohen R., Seligmann A.: Histochemical demonstration of arylsulphatase. *Science*, 1952, 116, 539—544.
17. Wender M., Kozik M.: Contribution to the histoenzymatic changes in multiple sclerosis. *Acta neuropath. (Berlin)*, 1969, 13, 143—148.
18. Wender M., Kozik M., Wróblewski T., Rudnicka M.: Histochemical enzymes studies in experimental allergic encephalopathy. *Path. europ.*, 1966, 2, 135—148.

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

DZIAŁ KRONIKI I INFORMACJI

W 1981 r. przedstawiono następujące doniesienia na comiesięcznych posiedzeniach Stowarzyszenia Neuropatologów Polskich:

1) 30 stycznia 1981 r.:

— B. Zgorzalewicz, V. Neuhoff (Klinika Neurologii AM, Poznań, Forschungsstelle Neurochemie Max Planck Institute, Getynga) — „Białka i glikoproteiny nerwu wzrokowego w rozwoju ontogenetycznym królika”

— L. Dydyk, J. Borowicz (Pracownia Ultrastruktury Układu Nerwowego CMDiK PAN, Warszawa) — „Ultrastruktura rdzenia u dzieci”.

2) 27 lutego 1981 r.:

— D. Wierzbicka, L. Szemis, M. Koziak, J. Kulczycki (Zakład Neuropatologii, I Klinika Neurologii Instytutu Psychoneurologicznego Warszawa) — „Przypadek raka tarczycy (guz Hürtle) z przerzutami do układu nerwowego”.

— A. Goncerzewicz, R. Madrid, H. Wiśniewski (Klinika Neurologii AM, Poznań, Inst. for Basic Res. in Mental Retard., Staten Island) — „Aktywność biologiczna makrofagów jako czynnik patogenetyczny w nawracającym doświadczalnym alergicznym zapaleniu mózgu i rdzenia”.

3) 28 marca 1981 r.:

— M. Dąbska, D. Maślińska (Pracownia Neuropatologii Rozwojowej CMDiK PAN, Warszawa) — „Wpływ dichlorofosu na mózg królika w różnych okresach rozwoju”.

— J. Dąbrowska, P. Olejniczak (Klinika Neurologii AM, Wrocław) — „Naczyniopochodne uszkodzenie pnia mózgu pod postacią „ocular bobbing, locked in syndrome”.

4) 14—16 maja 1981 r.

V Konferencja Neuropatologiczna i Polsko-Skandynawskie Sympozjum Neuropatologiczne, Szczecin.

5) 26 czerwca 1981 r.:

— M. Kozik, M. Znamierowska-Kozik (Zakład Neuropatologii AM i Oddział Neurologii Szpitala im. Strusia, Poznań) — „Patomorfologia kryptokokowego zapalenia opon mózgowych o wieloletnim przebiegu”.

— B. Schmidt-Sidor, M. Eibl, K. Rusiecka (Zakład Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego i Oddział Neurochirurgii Szpitala Chirurgii Urazowej Dziecięcej w Warszawie) — „Dwa przypadki brodawczaka splotu u dzieci”.

6) 17 października 1981 r.:

— J. Kałuża, J. Stachura, R. Kijak (Samodzielna Pracownia Neuropatologii Inst. Neurologii AM, Kraków, Pracownia M-E. i Histochemii Inst. Patol. AM, Kraków) — „Cytoprotekcyjne działanie prostaglandyn w stosunku do komórek pochodzenia neuroektodermalnego w warunkach *in vitro*”.

cd. na s. 256

HALINA WEINRAUDER, ZUZANNA KRAŚNICKA

OBRAZ IMMUNOFLUORESCENCYJNY HODOWLI MÓZDŻKU PODDANEJ DZIAŁANIU METYLONITROZOMOCZNIKA

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej
i Klinicznej Polskiej Akademii Nauk, Warszawa

W poprzednich badaniach wykazano lokalizację swoistych antygenów glejowych w komórkach mózdzku noworodka szczura w hodowli organotypowej *in vitro* (Weinrauder, Kraśnicka 1980a, b). Jednocześnie w badaniach nad wpływem metylonitrozomocznika (MNU) na takie same hodowle, stwierdzono jego dwojakie oddziaływanie na komórki glejowe (Kraśnicka, Gajkowska 1979, 1981). Bezpośrednio po podaniu karcinogenu dominowały zmiany o charakterze cytotoksycznym, natomiast po przeniesieniu hodowli do normalnego środowiska odżywczego nasilały się zmiany innego typu: wzmożona proliferacja, wielopostaciowość komórek i ich jąder, nagromadzenie elementów włókienkowych w cytoplazmie, występowanie licznych mitoz często patologicznych. Zjawiska te świadczyły o działaniu MNU stymulującym procesy metaboliczne we wszystkich typach neurogleju, nie wyłączając ependymocytów.

W doniesieniach z piśmiennictwa można znaleźć dane świadczące o występowaniu swoistych dla układu nerwowego białek S-100 i GFA w guzach indukowanych przez ENU i MNU oraz w hodowlach komórkowych tych guzów (Wechsler i wsp. 1973; Sipe i wsp. 1975; Stavrou i wsp. 1979, 1980). Autorzy prac poświęconych lokalizacji swoistych antygenów w nowotworach układu nerwowego podkreślają zalety stosowania surowic odpornościowych w różnicowaniu, klasyfikacji, a nawet diagnostyce guzów układu nerwowego (Maunoury 1977; Maunoury i wsp. 1977; Deck i wsp. 1978; Delpech i wsp. 1978; Jacque i wsp. 1978; Bignami, Stoolmiller 1979; Maunoury i wsp. 1979; Velasco i wsp. 1980). Również w badaniach nad wpływem czynników modyfikujących wzrost, dojrzewanie i morfogenezę komórek układu nerwowego coraz częściej korzysta się z immunologicznych markerów komórkowych (Jacque 1980).

W oparciu o wyniki poprzednich badań i dane z piśmiennictwa postanowiono prześledzić lokalizację i charakter odczynu immunofluorescencji

cyjnego w hodowli organotypowej mózdzku noworodka szczura poddanej działaniu MNU. Badania te wydały się tym bardziej uzasadnione, ponieważ w dostępnym piśmiennictwie nie spotkano opracowań dotyczących tego zagadnienia.

MATERIAŁ I METODY

Hodowle. Badania wykonano na organotypowych hodowlach mózdzku noworodków szczurzych, prowadzonych według standardowej metody opisanej przez Kraśnicką i Mossakowskiego (1965). Do wyselekcjonowanych 15- i 19-dniowych hodowli podawano na okres 3 dni metylonitrozomocznik w dawce 50 mg⁰%. Odczyn immunofluorescencyjny wykonano na 3 grupach doświadczalnych i grupie kontrolnej prowadzonej w warunkach standardowych. W grupie I odczyn wykonywano bezpośrednio po 3-dniowym działaniu MNU, w grupie II po przeniesieniu hodowli do standardowego środowiska odżywczego na 3 dni, a w grupie III po przetrzymaniu hodowli w takim środowisku przez 6 dni.

Odczyny kontrolne wykonywano na hodowlach w wieku odpowiadającym wszystkim grupom doświadczalnym.

Surowica odpornościowa. Używano surowicy pochodzącej od królika immunizowanego wielokrotnie domięśniowo wyciągiem z mózgu szczura zemulgowanego z pełnym ajuwantem Freunda. Surowicę absorbowano normalną surowicą i homogenatami nerki i wątroby szczura w celu usunięcia nieswoistych przeciwciał tkankowych. Z tak absorbowaną surowicą uzyskiwano 1 pasmo precipitacyjne w odczynie immunodyszfuzji z wyciągiem z mózgu szczura.

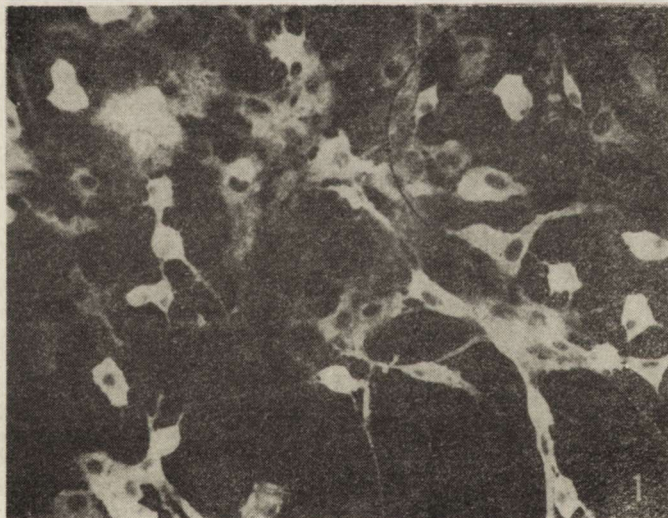
Odczyn immunofluorescencji (IF). Hodowle doświadczalne i kontrolne płukano w PBS (zbuforowany fosforanami roztwór fizjologiczny soli) 3 razy po 15 min, utrwalano w zimnym acetonie przez 4 min i przechowywano w temperaturze -20°C . Utrwalone hodowle inkubowano z surowicą odpornościową w rozcieńczeniu 1:20 przez 45 min, płukano w PBS 3 razy po 5 min i inkubowano z odczynnikami fluorescencyjnym (kozie gamma-globuliny przeciwko gamma-globulinom króliczym koniugowane z izotiocjanianem fluoresceiny, absorbowane pudrem acetonowym z wątrób mysich i z mózgu szczura) przez 30 min. Inkubacje prowadzono w temperaturze pokojowej. Po wypłukaniu nadmiaru odczynnika fluorescencyjnego preparaty montowano w zbuforowanej glicerynie, oglądano w mikroskopie Orthoplan f-my Leitz i fotografowano na filmie barwnym Agfa. Zdjęcia czarno-białe wykonano z negatywów uzyskanych z diapozytywów barwnych.

Kontrolne. Jako kontrole warunków hodowlanych i kontrole swoistości odczynu stosowano hodowle po działaniu MNU i hodowle utrzymywane w standardowym środowisku odżywczym, inkubowane z normalną surowicą króliczą rozcieńczoną 1:20 i inkubowane z PBS zamiast suro-

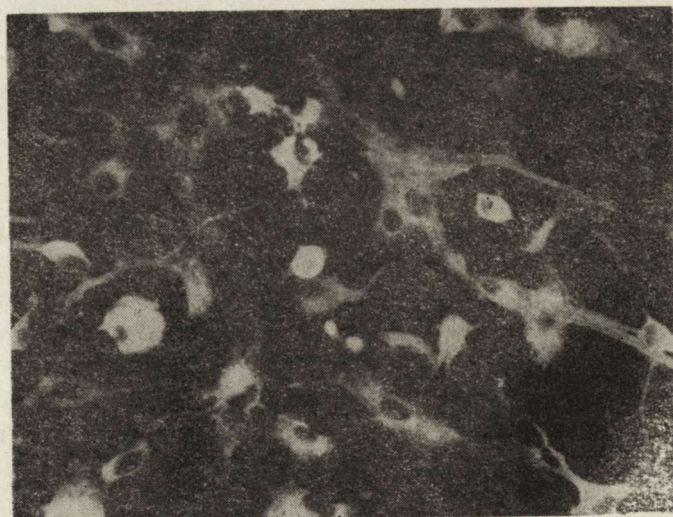
wicy odpornościowej. Wykonano również odczyny z surowicą odpornościową na hodowlach prawidłowych w tym samym wieku co hodowle ze wszystkich grup doświadczalnych.

WYNIKI

We wszystkich hodowlach poddanych działaniu MNU stwierdzono dodatni swoisty odczyn immunofluorescencyjny w komórkach glejowych. W hodowlach 15- i 19-dniowych z grupy I (bezpośrednio po działaniu MNU) obserwowano wzmożenie odczynu w porównaniu z hodowlami prawidłowymi. Najsilniejszy odczyn wykazują oligodendrocyty, które zachowują swoje typowe morfologiczne cechy (ryc. 1, 2). Intensywność odczynu niewiele się różni od intensywności odczynu w oligodendrocytach hodowli utrzymywanych w prawidłowym środowisku odżywczym. Natomiast astrocyty z tej grupy hodowli wykazują nasilony odczyn IF w porównaniu z normą, a także wzmożony polimorfizm perykarionów i wypustek, co jest szczególnie widoczne w hodowlach 19-dniowych (ryc. 2). Zarówno polimorfizm, jak i intensywność odczynu w astrocytach jest bardzo zróżnicowana w poszczególnych komórkach, co jest szczególnie uderzające przy porównaniu z bardziej jednolitym obrazem świecenia oligodendrocytów. W niektórych astrocytach odczyn ma charakter ziarnisty, w innych włóknisty, często występuje w postaci okołojądrowej silnie świecącej obwódki.

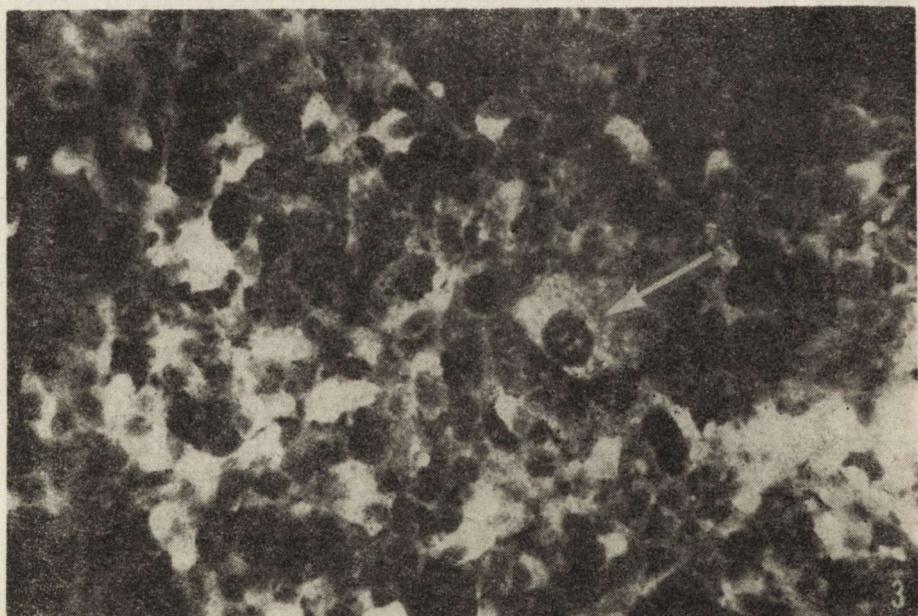


Ryc. 1. Hodowla 15-dniowa, bezpośrednio po działaniu MNU. Dodatni odczyn IF w komórkach glejowych, szczególnie nasilony w mało zmienionych oligodendrocytach. Odczyn w astrocytach silniejszy niż w hodowlach prawidłowych. Pow. 480 ×
 15-day culture, directly after MNU treatment. Positive IF reaction in the glial cells, particularly intensive in little changed oligodendrocytes. In astrocytes reaction is stronger than in control cultures. × 480



Ryc. 2. Hodowla 19-dniowa, bezpośrednio po działaniu MNU. Widoczny większy przerost i polimorfizm astrocytów w porównaniu z hodowlą 15-dniową. Intensywność odczynu w oligodendrocytach bardzo silna. Pow. 480 ×

19-day culture, directly after MNU treatment. Greater proliferation and polymorphism of astrocytes as compared with 15-day culture. Very strong reaction in oligodendrocytes. × 480

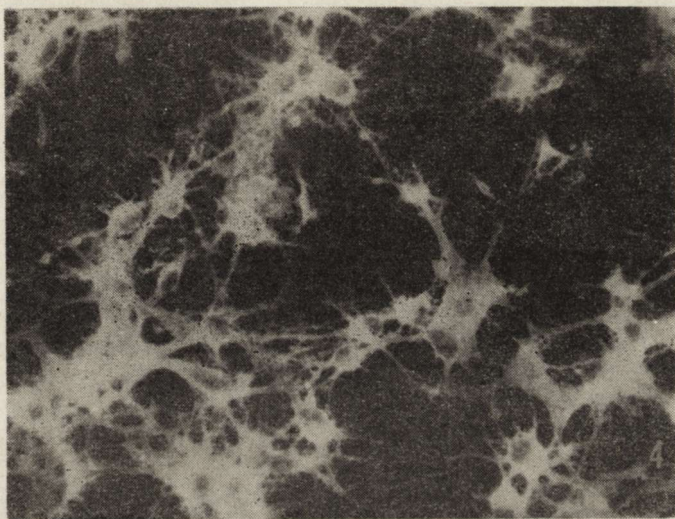


Ryc. 3. Hodowla 19-dniowa, 3 dni po działaniu MNU. Wyraźnie dodatni odczyn IF w obu typach komórek glejowych. W przerosłym astrocytcie (strzałka) odczyn o charakterze ziarnistym. W prawym górnym rogu ujemny odczyn w komórkach wyściółki. Pow. 520 ×

19-day culture, 3 days after MNU treatment. Distinct positive IF reaction in both types of glial cells. Granular fluorescence in the proliferated astrocyte (arrow). In the right upper corner negative reaction in ependymal cells. × 520

Komórki endymy w hodowlach obserwowanych bezpośrednio po działaniu MNU wykazują negatywny odczyn IF, wyraźnie widoczny w tych polach widzenia, w których endymocyty występują obok innych typów komórek glejowych (ryc. 3).

Hodowle grupy II (3 dni po działaniu MNU) wykazują w odczynie IF postępowe zmiany obu rodzajów komórek glejowych. Polegają one na powiększeniu perykarionów i pojawieniu się bardzo dużej ilości wypustek. W niektórych komórkach widoczne są liczne ciemne (negatywne) wakuole, spotykane zarówno w skąpo cytoplazmatycznych oligodendrocytach, jak i w bogato cytoplazmatycznych astrocytach (ryc. 4). W ho-



Ryc. 4. Hodowla 15-dniowa, 3 dni po działaniu MNU. Wyraźny przerost komórek glejowych. Widoczna bogata sieć wypustek. Silny odczyn IF w obu typach komórek glejowych. Pow. 480 \times

15-day culture, 3 days after MNU treatment. Distinct proliferation of glial cells. Rich network of positive cellular processes is clearly visible. Bright fluorescence in both types of glial cells. \times 480

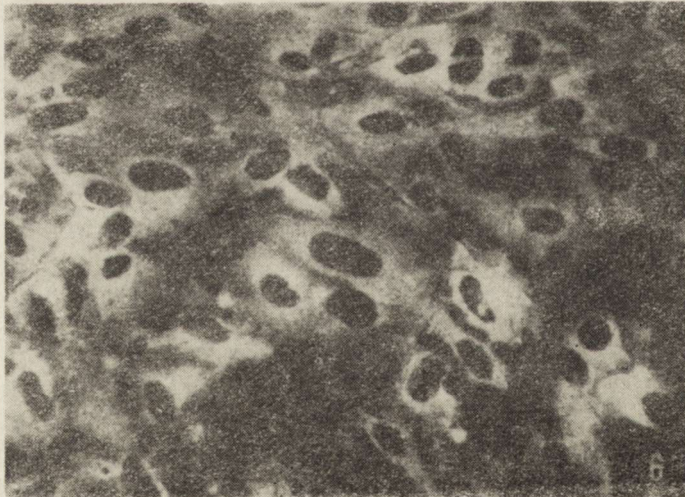
dowlach 19-dniowych intensywność fluorescencji znacznie wzrasta w obu typach komórek glejowych. Spotyka się komórki przerosłe, z pogrubiałymi silnie rozgałęzionymi wypustkami (ryc. 5). Po przeniesieniu hodowli na 3 dni do środowiska prawidłowego stwierdza się dodatni odczyn IF w cytoplazmie komórek wyściółki. Odczyn jest bardzo często nasilony wokół jądra, tworząc charakterystyczną obwódkę. Obraz świecenia w komórkach wyściółki jest bardziej jednolity, nie stwierdza się polimorfizmu komórkowego jak w przypadku innych typów gleju, jakkolwiek cechy przerostu dotyczą całej populacji endymocytów (ryc. 6).

W hodowlach grupy III (po przetrzymaniu hodowli przez 6 dni w środowisku bez czynnika toksycznego) obserwuje się w dalszym ciągu poli-



Ryc. 5. Hodowla 19-dniowa, 3 dni po działaniu MNU. Monstrualnie przerosły astrocyt z pogrubiałymi i zwyrodniałymi wypustkami i bardzo silną reakcją fluorescencyjną. Pow. 480 ×

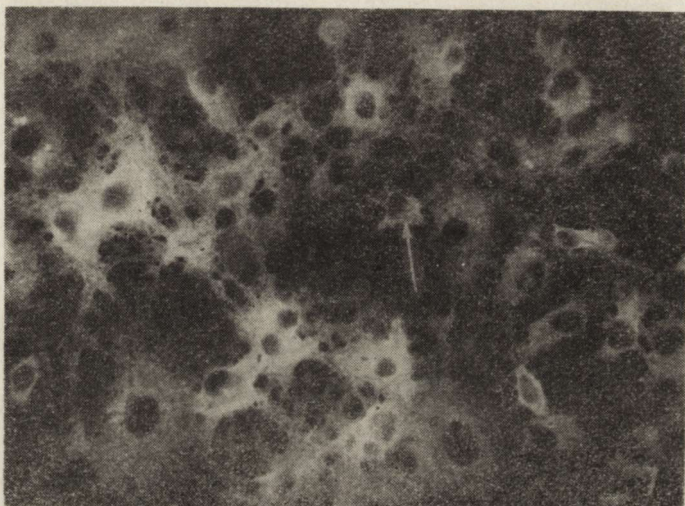
19-day culture, 3 days after MNU treatment. Very strong fluorescense in monstrous, proliferated astrocyte with thickened and degenerated cellular process. × 480



Ryc. 6. Hodowla 15-dniowa, 3 dni po działaniu MNU. Fragment hodowli obejmujący komórki wyściółki. Dodatni odczyn IF z różną intensywnością w poszczególnych komórkach. W niektórych komórkach nasilenie odczynu wokół jądra. Pow. 480 ×

15-day culture, 3 days after MNU treatment. Fragment of culture with ependymal cells. Positive IF reaction with different intensity in particular cells. In some cells very intensive. fluorescense in perinuclear region. × 480

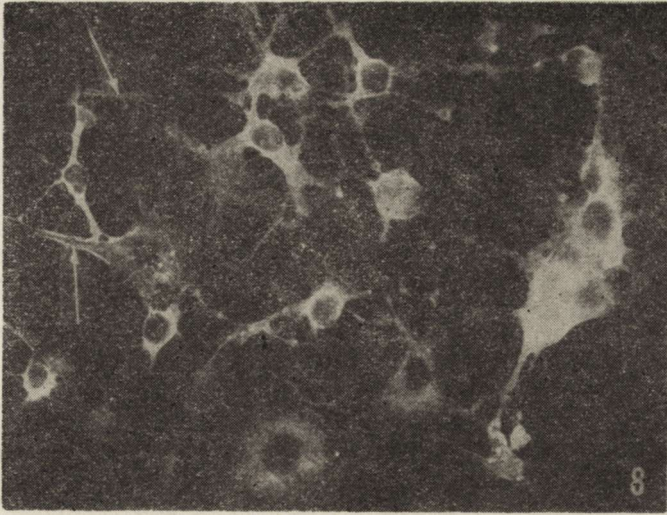
morfizm komórek, różną wielkość jąder oraz różną intensywność odczynu IF w komórkach oligo- i astrogleju. Większość astrocytów z wyjątkowo obfitą cytoplazmą wykazuje mniej intensywne świecenie cytoplazmy, w porównaniu z astrocytami poprzednich grup (ryc. 7). W niektórych komórkach zwraca uwagę bardzo silny odczyn na błonach wypustek komórkowych głównie astrocytów (ryc. 8), a niekiedy oligodendrocytów (ryc. 9). W hodowlach 19-dniowych obraz fluorescencji nie ulega zmianom, zaznaczony jest obfity wzrost komórek i ich polimorfizm — pojawiają się także komórki kometowate i dwubiegunowe (ryc. 10). Nasilenie odczynu wydaje się natomiast nieco słabsze niż w hodowlach z poprzednich grup. Dotyczy to głównie astrocytów, ale zaznacza się także w innych typach komórek glejowych.



Ryc. 7. Hodowla 15-dniowa, 6 dni po działaniu MNU. Fragment hodowli z przewagą astrocytów, z zaznaczonym polimorfizmem i różną intensywnością odczynu IF w poszczególnych komórkach. Nieliczne oligodendrocyty (strzałka) z fluorescencją słabszą niż w poprzednich grupach. Pow. 480 ×

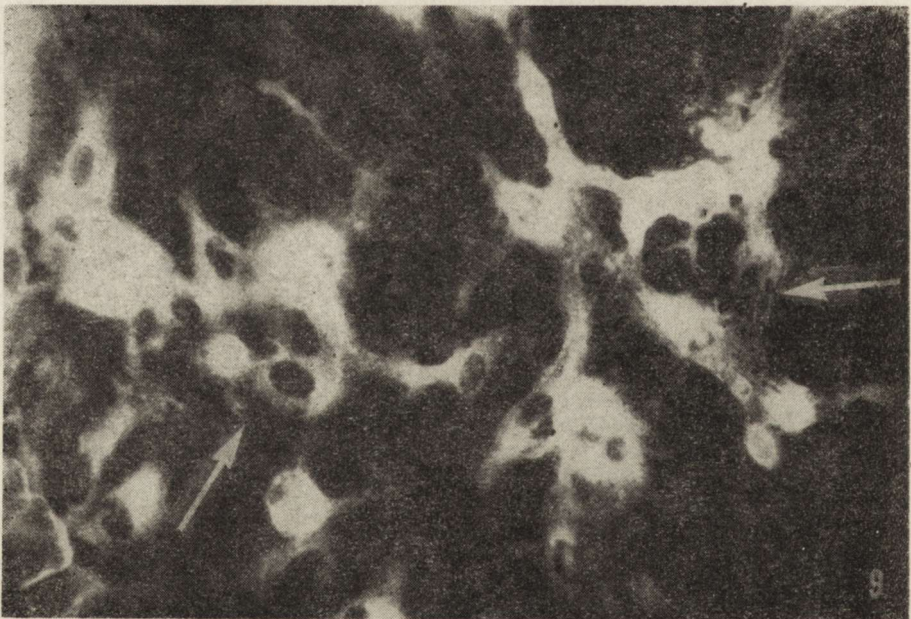
15-day culture, 6 days after MNU treatment. Fragment of culture with predominance of astrocytes, with marked polymorphism and different intensity of fluorescence in particular cells. Not numerous oligodendrocytes (arrow) with fluorescence weaker than in preceding groups. × 480

Odczyny kontrolne wykonano w takich samych grupach wiekowych hodowli jak odczyny doświadczalne. Odczyn IF z surowicą odpornościową na hodowlach prowadzonych w prawidłowym środowisku jest dodatni niezależnie od wieku hodowli. W porównaniu z hodowlami poddanymi działaniu MNU, komórki glejowe nie wykazują cech przerostu, a fluorescencja oligodendrocytów jest intensywniejsza niż astrocytów. Zwraca uwagę negatywny odczyn w komórkach wyściółki (ryc. 11). Wszystkie odczyny z surowicą normalną i PBS zamiast surowicy odpornościowej są całkowicie ujemne, zarówno na hodowlach prawidłowych (ryc.



Ryc. 8. Hodowla 15-dniowa, 6 dni po działaniu MNU. Różnorodność kształtu komórek i intensywności odczynu IF. W niektórych wypustkach zaznaczone bardzo silne świecenie na błonach (strzałki). Pow. 480 ×

15-day culture, 6 days after MNU treatment. IF reaction of different intensity in polymorphous cells. Very strong fluorescence on the membranes of some cellular processes (arrows). × 480

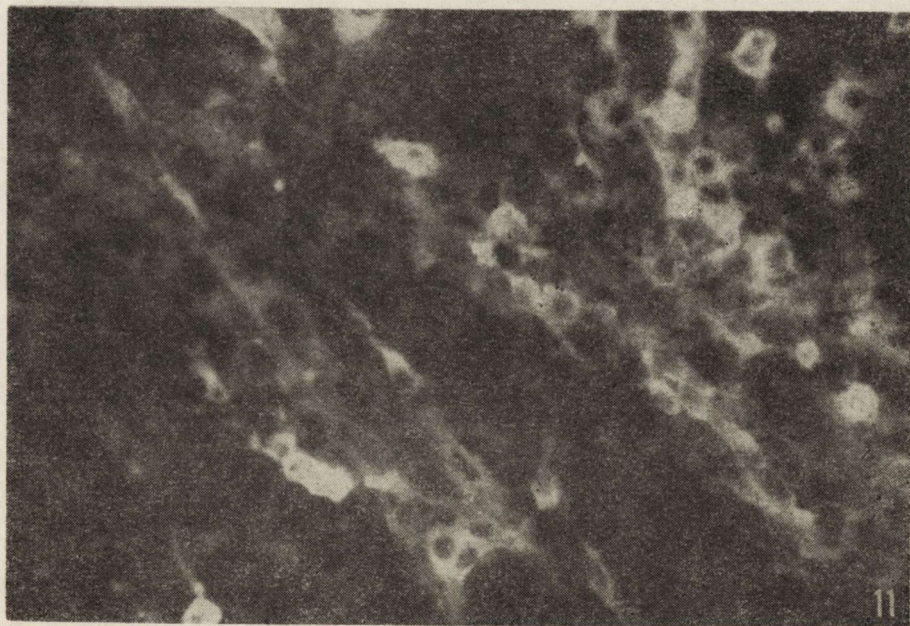


Ryc. 9. Hodowla 19-dniowa, 6 dni po działaniu MNU. Różna intensywność odczynu IF w komórkach glejowych. Charakterystyczny obraz fluorescencji na błonach wypustek glejowych (strzałki). Pow. 520 ×

19-day culture, 6 days after MNU treatment. IF reaction of different intensity in glial cells. Characteristic pattern of fluorescence on the membranes of glial processes (arrows). × 520



Ryc. 10. Hodowla 19-dniowa, 6 dni po działaniu MNU. Intensywna fluorescencja w komórkach glejowych z dużą ilością wypustek, z zaznaczonym zróżnicowaniem kształtu komórek. Widoczna komórka kometowata (strzałka). Pow. 480 ×
 19-day culture, 6 days after MNU treatment. Intensive fluorescence in glial cells with numerous processes and with marked cellular polymorphism. Arrow shows comet-like cell. × 480



Ryc. 11. Hodowla 22-dniowa, kontrolna. Typowy dla komórek glejowych obraz fluorescencji w odczynie z surowicą przeciwko antygenom glejowym. Komórki wyściółki ujemne. Pow. 520 ×
 22-day control culture. Fluorescence pattern typical for glial cells in reaction with antiserum against glial antigens. Ependymal cells negative. × 520



Ryc. 12. Hodowla 15-dniowa, kontrolna. Ujemny odczyn IF z normalną surowicą króliczą. W nielicznych komórkach słabe nieswoiste świecenie (autofluorescencja?).
Pow. 240 ×

15-day control culture. Negative IF reaction with non-immune rabbit serum. In some cells very weak unspecific fluorescence (autofluorescence?). × 240



Ryc. 13. Hodowla 19-dniowa, 3 dni po działaniu MNU. Kontrolny odczyn IF z normalną surowicą króliczą całkowicie ujemny; w niektórych komórkach słabe nieswoiste świecenie. Pow. 520 ×

19-day culture, 3 days after MNU treatment. Control IF staining with non-immune rabbit serum. Note the almost total absence of specific fluorescence. In some cells very weak unspecific reaction. × 520

12), jak i na hodowlach poddanych działaniu MNU (ryc. 13). Świecenie w niektórych komórkach hodowli kontrolnych w odczynie z normalną surowicą ma charakter nieswoisty (żółta fluorescencja).

OMÓWIENIE

Obraz immunofluorescencji w komórkach poddanych działaniu MNU *in vitro*, w odczynie z surowicą przeciwko antygenom glejowym, podkreśla zachodzące w nich zmiany morfologiczne. Obserwuje się proliferację i polimorfizm komórek glejowych, przy czym zmiany te dotyczą głównie astrocytów. W poprzednich badaniach w mikroskopie świetlnym i elektronowym wykazano nieprawidłowości strukturalne — szczególnie dotyczące astrocytów — sugerujące możliwość transformacji blastomatycznej (Kraśnicka, Gajkowska 1979, 1981). Badania nad lokalizacją antygenów glejowych w hodowli (Weinrauder, Kraśnicka 1980a, b) wykazały ich obecność w obu typach gleju, jednak nasilenie odczynu, zależne także od rodzaju użytej surowicy odpornościowej, wskazywało na ilościową przewagę antygeny w oligodendrocytach.

Odczyn immunofluorescencyjny hodowli obserwowanych bezpośrednio po działaniu MNU zmienia się w niewielkim stopniu, jeśli chodzi o lokalizację i charakter fluorescencji, w porównaniu z hodowlami prowadzonymi w normalnym środowisku. Natomiast intensywność odczynu wzrasta, i dotyczy to zarówno oligo-, jak i astrocytów, w których fluorescencja w hodowlach prawidłowych jest znacznie słabsza, a czasem ujemna. Nasilenie odczynu IF w astrocytach zmienionych pod wpływem MNU i jego występowanie w większej części populacji astrocytów świadczy o zwiększonej produkcji antygenów glejowych. Mimo, podkreślanej już przez nas w wynikach, różnorodności obrazu i intensywności fluorescencji w różnych hodowlach i w różnych fragmentach tej samej hodowli, nasilenie odczynu w astrocytach zaznacza się także w hodowlach przetrzymywanych po działaniu MNU przez 3 dni w prawidłowym środowisku odżywczym. Po 6 dniach przeżycia w tym środowisku, intensywność odczynu wydaje się słabnąć, chociaż fluorescencja w dalszym ciągu jest dodatnia w większości komórek i podkreśla ich wzmożony polimorfizm. Znaczne różnice w nasileniu fluorescencji w poszczególnych komórkach z różnych, a nawet z jednej linii komórkowej guzów indukowanych działaniem MNU podkreślają Stavrou i wsp. (1979). Polimorfizm komórkowy jest uważany za typową cechę guzów ośrodkowego układu nerwowego i chociaż nie przesadzamy w tym miejscu o onkogennym działaniu MNU w warunkach hodowli tkankowej, to jednak wydaje się, że znaczny polimorfizm uwydatniający się w odczynie IF, świadczy o transformującym działaniu metylnitrozomocznika, przynajmniej w odniesieniu do części populacji komórkowej. Zdaniem Velasco i wsp. (1980) zastosowanie surowic odpornościowych pozwala na odróżnienie astrocytów reaktywnych, o wyglądzie bardziej izomorficznym, z cienkimi,

delikatnymi wypustkami, od astrocytów zmienionych nowotworowo, z dużymi perykarionami i grubymi, krętymi, mniej rozgałęzionymi wypustkami. Obie formy zmienionych astrocytów występowały również w hodowlach poddanych działaniu MNU w naszym materiale.

Na podkreślenie zasługuje pojawienie się w hodowlach przeniesionych do prawidłowego środowiska, dodatniego odczynu w komórkach wyściółki, czego nie obserwuje się w hodowlach prowadzonych w prawidłowym środowisku, ani w hodowlach bezpośrednio po działaniu MNU. Jest prawdopodobne, że podobnie jak wzmożony polimorfizm komórkowy „dojrzewa” po przeniesieniu do normalnego środowiska, tak i komórki wyściółki pobudzone do produkcji antygeny glejowego przez MNU, produkują go w ilości wykrywanej w odczynie immunohistochemicznym dopiero po przeniesieniu do prawidłowego środowiska. Pojawienie się dodatniego odczynu można wiązać ze zwiększoną ilością elementów włóknkowych w komórkach wyściółki (Duffy i wsp. 1979; Kraśnicka, Gajkowska 1981), jeśli się przyjmie, że część aktywności antygenowej wykazuje podobieństwo lub identyczność immunologiczną z GFA. Należy jednak zaznaczyć, że aktywność antygenowa GFA nie zawsze jest związana z włóknkami, gdyż antygen ten może także pojawiać się w komórkach, w których nie stwierdza się fibrylogenezy (Bissel i wsp. 1974).

Dane dotyczące lokalizacji GFA w komórkach wyściółki wskazują, że dodatnie komórki w normalnej ependymie spotyka się tylko na pewnym etapie rozwoju płodowego (Roessmann i wsp. 1980), natomiast antygen ten występuje w cytoplazmie ependymocytów zmienionych nowotworowo (Deck i wsp. 1978; Duffy i wsp. 1979; Velasco i wsp. 1980) lub reaktywnie (Eng, Rubinstein 1978; Conley 1979), aczkolwiek nie wszyscy autorzy stwierdzali to w swoich pracach. Brak swoistej reakcji w komórkach wyściółczaka wykazali m. in. Lach i Weinrauder (1978) i Van der Meulen i wsp. (1978). Obserwowane w naszym materiale pojawienie się swoistego odczynu w komórkach wyściółki po działaniu MNU może nasilać się w warunkach hodowli tkankowej. Tego rodzaju obserwacje, dotyczące poziomu GFA w hodowli, poczynili także inni autorzy. Bock i wsp. (1977) obserwowali 15-krotny wzrost zawartości antygeny w 28-dniowej hodowli w porównaniu z zawartością w mózgu szczura w tym samym wieku, a Maunoury i wsp. (1977) w hodowli rdzeniaka stwierdzili obecność komórek silnie dodatnich, podczas gdy reakcja na skrawkach guza była ujemna.

Podsumowując nasze obserwacje należy stwierdzić, że zastosowanie odczynu immunohistochemicznego pozwala na dokładniejszą analizę morfologiczną hodowli zmienionych pod wpływem czynników zewnętrznych. Obserwowane zmiany lokalizacji i charakteru fluorescencji stanowią cenne uzupełnienie, a często mogą być rozstrzygające w badaniach nad pochodzeniem i różnicowaniem komórek układu nerwowego, co jest szczególnie istotne w warunkach hodowli tkankowej.

*

Za pomoc techniczną dziękujemy pani Janinie Żak i pani Irenie Dybkowskiej. Szczególnie serdecznie dziękujemy panu Ryszardowi Szopińskiemu za nieocenioną pomoc przy fotografowaniu preparatów fluorescencyjnych i paniom Lidii Jeżak i Lucynie Piotrowskiej za wykonanie dokumentacji fotograficznej.

ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ КАРТИНА КУЛЬТУРЫ МОЗЖЕЧКА ПОДВЕРЖЕННОЙ ДЕЙСТВИЮ МЕТИЛНИТРОЗОМОЧЕВИНЫ (МНМ)

Резюме

Исследования были выполнены на 15- и 19-дневных органотипичных культурах мозжечка крысиных новорожденных подвергнутых действию метилнитрозомочевины (МНМ) в течение 3 дней. Иммунофлюоресцентная реакция с антиглиальной сывороткой была произведена на культурах непосредственно после действия МНМ и спустя 3 и 6 дней пребывания культуры в стандартной питательной среде.

Констатировано интенсивность иммунофлюоресцентной реакции в астроцитах в сопоставлении с контрольными культурами, а также усиленный полиморфизм перикарионов и отростков этих клеток. Эти изменения были особенно отчетливо заметны в культурах перенесенных после действия МНМ на 3 дня в нормальную среду.

Эпендимоциты из культур наблюдаемых непосредственно после действия МНМ проявляли негативную иммунофлюоресцентную реакцию, зато после перенесения культуры на 3 дня в нормальную среду констатировано в клетках эпендимы положительную флюоресценцию цитоплазмы. Не наблюдали полиморфизма эпендимоцитов, зато констатировали признаки гипертрофии целой популяции этих клеток.

В работе авторы обсуждают увеличени епродукции глиальных антигенов в клетках подверженных действию трансформирующего фактора и применение иммунологических маркеров к морфологическому анализу клеток в культурах измененных под влиянием экзогенных факторов.

IMMUNOFLUORESCENCE IN CULTURES OF CEREBELLUM TREATED WITH METHYLNITROSOUREA (MNU)

Summary

Experiments were carried out on 15- and 19-day organotypic cultures of newborn rat cerebellum treated with methylnitrosourea (MNU) for 3 days. Immunofluorescence test (IF) with immune antiglial serum was performed on cultures directly after MNU treatment, and 3 and 6 days following transfer of cultures to standard medium.

More intense IF reaction in astrocytes as compared with control cultures as well as enhanced polymorphism of astrocytic perikarya and processes was found. These changes were especially marked in cultures cultivated for 3 days in standard medium following MNU treatment.

Immunofluorescence of ependymocytes in cultures tested directly after MNU treatment was negative, while positive fluorescence was revealed in cultures transferred for 3 days to normal medium. Proliferation of a whole population of ependymocytes was observed, but features of cellular polymorphism were not found.

Enhancement of glial antigen production in cells treated with transforming factor and application of immunochemical markers for morphological analysis of cells modified by exogenous factors is discussed.

PIŚMIENNICTWO

1. Bignami A., Stoolmiller A. C.: Astroglia-specific protein (GFA) in clonal cell lines derived from the G26 mouse glioma. *Brain Res.*, 1979, 163, 353—357.
2. Bissell M. G., Rubinstein L. J., Bignami A., Herman M. M.: Characteristics of the rat C6 glioma maintained in organ culture system. Production of the glial fibrillary acidic protein in the absence of gliofibrillogenesis. *Brain Res.*, 1974, 82, 77—89.
3. Bock E., Møller M., Nissen C., Sensenbrenner M.: Glial fibrillary acidic protein in primary astroglial cell cultures derived from newborn rat brain. *FEBS Lett.*, 1977, 83, 207—211.
4. Conley F. K.: The immunocytochemical localization of GFA protein in experimental murine CNS tumors. *Acta neuropath.*, (Berl.) 1979, 45 9—16.
5. Deck J. H. N., Eng L. F., Bigbee J., Woodcock S. M.: The role of glial fibrillary acidic protein in the diagnosis of central nervous system tumours. *Acta neuropath.*, (Berl.) 1978, 42, 183—190.
6. Delpech B., Delpech A., Vidard M. N., Girard N., Tayot J., Clement J. C., Creissard P.: Glial fibrillary acidic protein in tumours of the nervous system. *Br. J. Cancer*, 1978, 37, 33—40.
7. Duffy P. E., Graf L., Huang Y.-Y., Rapport M. M.: Glial fibrillary acidic protein in ependymomas and other brain tumors. *J. neurol. Sci.*, 1979, 40, 133—146.
8. Eng L. F., Rubinstein L. J.: Contribution of immunochemistry to diagnostic problems of human cerebral tumors. *J. Histochem. Cytochem.*, 1978, 26, 513—522.
9. Jacque C.: Glial and neuronal immunochemical markers as tools for studying abnormal as well as normal brain maturation. [W:] *Neurological mutations affecting myelination. INSERM Symposium no 14. Red. N. Baumann, Elsevier, North-Holland Biomedical Press 1980, 305—319.*
10. Jacque C. M., Vinner C., Kujas M., Raoul M., Racadot J., Baumann N. A.: Determination of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in human brain tumors. *J. neurol. Sci.*, 1978, 35, 147—155.
11. Kraśnicka Z., Mossakowski M. J.: Zagadnienie zmienności morfologicznej tkanki glejowej hodowanej *in vitro*. *Neuropat. Pol.*, 1965, 3, 397—408.
12. Kraśnicka Z., Gajkowska B.: Wpływ metylonitrozomocznika (MNU) na organotypową hodowlę tkanki nerwowej. (Badania w mikroskopie świetlnym i elektronowym). *Neuropat. Pol.*, 1979, 17, 557—570.
13. Kraśnicka Z., Gajkowska B.: Obraz histologiczny i ultrastrukturalny organotypowej hodowli tkanki nerwowej po działaniu metylonitrozomocznika. *Neuropat. Pol.*, 1981, 19, 75—89.
14. Lach B., Weinrauder H.: Glia-specific antigen in the intracranial tumors. Immunofluorescence study. *Acta neuropath.*, (Berl.) 1978, 41, 9—15.
15. Maunoury R.: Establishment and characterization of 5 human cell lines derived from a series of 50 primary intracranial tumors. *Acta neuropath.*, (Berl.) 1977, 39, 33—41.
16. Maunoury R., Dumas-Duport C., Fontaine C., Vedrenne C.: Ultrastructural localization of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in human glioma culture by immunoperoxidase method. *Brain Res.*, 1979, 170, 392—398.

7. Maunoury R., Delpech A., Delpech B., Vidard M. N., Vedrenne C., Constans J. P., Hillereau J.: Localisation de la protéine gliofibrillaire (GFAP) par immunocytochimie dans les tumeurs cérébrales humaines. Étude histologique et en culture *in vitro*. *Neuro-Chirurgie* 1977, 23, 173—185.
8. Roessmann U., Velasco M. E., Sindely S. D., Gambetti P.: Glial fibrillary acidic protein (GFAP) in ependymal cells during development. An immunocytochemical study. *Brain Res.*, 1980, 200, 13—21.
9. Sipe J. C., Rubinstein L. J., Herman M. M., Bignami A.: Ethylnitrosourea-induced astrocytomas. Morphologic observations on rat tumors maintained in tissue and organ culture systems. *Lab. Invest.*, 1975, 31, 571—579.
10. Stavrou D., Zänker K., Anzil A. P.: Morphological, immunocytochemical and biological characteristics of experimental rabbit brain tumors in tissue culture. *J. neurol. Sci.*, 1979, 42, 365—379.
11. Stavrou D., Rieske E., Anzil A. P., Haglid K. G., Isenberg G.: Definition of a cell clone with astroglial characteristics derived from a chemically induced rabbit brain glioma. *J. neurol. Sci.*, 1980, 45, 287—301.
12. Wechsler W., Pfeiffer S. E., Swenberg J. A., Kostner A.: S-100 protein in methyl- and ethylnitrosourea induced tumors of the rat nervous system. *Acta neuropath.*, (Berl.) 1973, 24, 287—303.
13. Wechsler W., Pfeiffer S. E., Swenberg J. A., Kostner A.: S-100 protein in mózdzku szczura. *Neuropat. Pol.*, 1980, 18, 181—190.
14. Weinrauder H., Kraśnicka Z.: Lokalizacja antygenów glejowych o różnej swoistości w pozaustrojowej hodowli tkanki nerwowej. *Neuropat. Pol.*, 1980, 18, 337—351.
15. Van der Meulen J. D. M., Honthoff H. J., Ebels E. J.: Glial fibrillary acidic protein in human gliomas. *Neuropath. appl. Neurobiol.*, 1978, 4, 177—190.
16. Velasco M. E., Dahl D., Roessmann U., Gambetti P.: Immunocytochemical localization of glial fibrillary acidic protein in human glial neoplasms. *Cancer*, 1980, 45, 484—494.

Adres autorek: Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej Klinicznej PAN, ul. Dworkowa 3, 00—784 Warszawa

— P. B. Liberski (Klinika Neurologii AM, Łódź) — „Niektóre zagadnienia w patologii scrapie”.

7) 14 listopada 1981 r.:

— A. Jędrzejewska (Zakład Diagnostyki Patomorfologicznej CMKP Warszawa) — „Choroba Picka ze stanem gąbczastym”.

— J. Kałuża (Samodzielna Pracownia Neuropatologii Instytutu Neurologii AM, Kraków) — „Ocena morfologiczna nowotworów glejopochodnych po kobalto- i chemioterapii”.

8) 12 grudnia 1981 r.:

— M. Górny, J. Szymaś (Zakład Anatomii Patologicznej AM, Poznań) — „Odporność humoralna przeciwnowotworowa u chorych z glejakami mózgu”.

— J. Szymaś, W. Biczysko, Z. Pawlak (Zakład Anatomii Patologicznej AM, Poznań) — „Granulomatyczne zapalenia mózgu typu Cervos-Navarro”.

*

W 1982 r. przedstawiono następujące doniesienia na comiesięcznych posiedzeniach Stowarzyszenia Neuropatologów Polskich:

1) 17 kwietnia 1982 r.:

— R. Pluta (Zesp. Neuropat. CMDiK PAN, Warszawa) „Całkowite niedokrwienie mózgowia w badaniach doświadczalnych”.

2) 15 maja 1982 r.:

— J. Alwasiak — „Główne nurty badawcze w pracy doc. Andrzeja Głuszcza”.

— W. Papierz — „Obecny stan neuropatologii w ośrodku łódzkim”.

— Sesja mikroskopowa.

Posiedzenie poświęcone było uczczeniu pamięci doc. Andrzeja Głuszcza i odbyło się w Łodzi.

3) 12 czerwca 1982 r.:

— Odnowienie dyplomu doktorskiego prof. Adama Kunickiego.

— Jan Bromowicz — „Neurochirurgia w Krakowie dawniej i dziś”.

— Mirosław Mossakowski — „Adam Kunicki jako neuropatolog”.

— Józef Kałuża — „Rola czynnościowa gleju w oun — fakty, hipotezy, refleksje”.

Posiedzenie poświęcone było 50-leciu pracy lekarskiej prof. dr. hab. med. Adama Kunickiego i odbyło się w Krakowie.

4) 16 października 1982 r.:

— D. Adamek, W. Mierzyński, J. Kałuża (Pracownia Neuropatologii Inst. Neurologii, Pracownia Anatomii Patologicznej Instytutu Pediatrii AM, Kraków) — „Schwannoma malignum — patomorfologia i epikryza kliniczna”.

— J. Szymaś, S. Morkowski (Zakład Anatomii Patologicznej AM, Poznań) — „Kwaśne, włókienkowe białko glejowe — właściwości biochemiczne, immunologiczne oraz identyfikacja morfologiczna”.

5) 6 listopada 1982 r.:

— M. Dąmbska (Pracownia Neuropatologii Rozwojowej CMDiK PAN, Warszawa) — „Wrodzona dystrofia mięśniowo-mózgowa”.

— J. Szymaś, W. Liebert (Zakład Anatomii Patologicznej AM, Poznań) — „Oponiak współistniejący z glejakiem wielopostaciowym”.

HALINA WYGLĄDALSKA-JERNAS

WPŁYW PRZEGRZANIA USTROJU NA MORFOLOGIĘ I HISTOCHEMIĘ RDZENIA KRĘGOWEGO

Zakład Neuropatologii AM, Poznań

Przebywanie w znacznie podwyższonej temperaturze otoczenia po pewnym czasie doprowadza do zaburzenia ogólnej regulacji cieplnej ustroju. W sytuacji gdy temperatura powietrza przekracza temperaturę ciała, następuje przegrzanie ustroju, które manifestuje się przede wszystkim zakłóceniem czynności układu sercowo-naczyniowego i oddechowego oraz zaburzeniami gospodarki wodnej ustroju (Best, Taylor 1966; Grandjean 1967; Gajkowska 1980). Wpływ podwyższonej ciepłoty ciała może prowadzić również do zaburzeń czynności układu nerwowego w postaci np. bólów głowy, tułowia i kończyn, drgawek itp. Kliniczne objawy przegrzania są powszechnie znane, natomiast mniej poznane są zmiany morfologiczne i histoenzymatyczne zachodzące w układzie nerwowym. Biorąc pod uwagę praktyczną możliwość przegrzania ustroju na wielu stanowiskach pracy (w hutnictwie, koksowniach, blachowniach, górnictwie), postanowiono prześledzić wpływ podwyższonej temperatury otoczenia na morfologię i aktywność niektórych enzymów rdzenia kręgowego.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 16 szczurach szczepu Wistar, obu płci, o ciężarze ciała wynoszącym 170—200 g. Zwierzęta poddano jednorazowo działaniu podwyższonej temperatury otoczenia do 45°C przez okres 4 godzin. Następnie po 1, 24, 48 i 72 godzinach szczury uśmiercano przez przecięcie serca w narkozie eterowej. Grupę kontrolną stanowiły 4 szczury przetrzymywane w standardowych warunkach. Rdzeń kręgowy utrwalano w płynie Bakera w temperaturze 4°C przez 16 godzin. Część materiału zatapiało w parafinie i skrawki barwiono fioletem krezyłu oraz metodami Kanzlera i McManus-Hotchkissa. Część materiału cięto na mikrotomie mrozeniowym, a skrawki poddawano reakcji dla wykazania ak-

tywności następujących enzymów: pyrofosfatazy tiaminowej (TPPazy) — E.L. * 2.5.1.3. według metody Novikoffa i Goldfischera (1961). Czas inkubacji 30 min w temperaturze pokojowej; nieswoistej esterazy (NsE) — E.L. 3.1.1.1. według metody Nachlasy i Seligmanna (1949). Inkubacja w temperaturze 37°C przez 15 min; acetylocholinoesterazy (AChE) — E.L. 3.1.1.7. według metody Gerebtzoffa (1953). Inkubacja w temperaturze 37°C przez 120 min; butyrylotiocholinoesterazy (BuTJ) — E.L. 3.1.1.8. według metody Gerebtzoffa (1953). Inkubacja w temperaturze 37°C przez 180 min; fosfatazy zasadowej (FZ) — E.L. 3.1.3.1. według metody Gomoriego (1953). Inkubacja w temperaturze 37°C przez 30 min; fosfatazy kwaśnej (FK) — E.L. 3.1.3.2. według metody Gomoriego (1953). Inkubacja w temperaturze 37°C przez 50 min; adenzynotrójfosfatazy (ATPazy) — E. L. 3.6.1.3. według metody Wachsteina i Meisela (1957). Inkubacja w temperaturze 37°C przez 45 min.

WYNIKI

Barwienie fioletem krezyłu

Grupa kontrolna

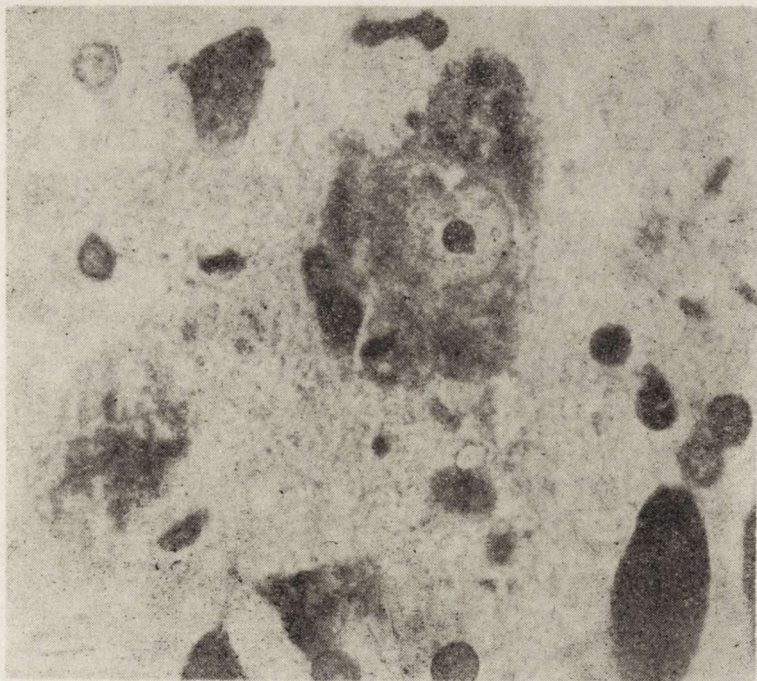
Substancja Nissla w komórkach ruchowych rogów przednich rdzenia występuje w postaci drobnych grudek, w komórkach czuciowych ma postać małych ziarenek i pyłku, a w komórkach układu autonomicznego jest homogenna. Zawartość tigroidu w poszczególnych neuronach jest zróżnicowana. W większości komórek widoczne jest dobrze wybarwione jąderko. Oprócz neurocytów w preparatach kontrolnych można zaobserwować także liczne jądra komórek glejowych.

Grupa doświadczalna

Po upływie 1 godziny od przegrzania dochodzi do dość znacznego ubytku substancji Nissla w komórkach ruchowych oraz autonomicznych. W części neurocytów występuje obkurczenie ciała neuronu. W niewielkiej liczbie komórek rogów przednich i bocznych pojawiają się w cytoplazmie małe wakuole rozmieszczone przeważnie na obwodzie perykaryonu lub we wzgórku aksonu. W sznurach przednich i bocznych wybarwia się część astrocytów.

Po 24 godz. nadal obserwuje się zmniejszenie zawartości tigroidu w neuronach ruchowych i autonomicznych, chociaż w nieco mniejszym stopniu niż w grupie poprzedniej. W tym okresie pojawia się dość znaczny rozrost oligodendrogleju wokół neurocytów przejawiających zmiany zwyrodnieniowe (ryc. 1). Część komórek ruchowych w rogach przednich przyjmuje kształt zbliżony do kulistego. Znacznie rzadziej natomiast spotyka się wakuole w cytoplazmie komórek nerwowych. W sznurach tylnych i bocznych stwierdza się powiększenie jąder astrocytów

* E. L. — enzyme list (Florkin, Stotz 1973)



Ryc. 1. 24 godz. po przegrzaniu. Ubytek substancji Nissla i rozrost oligodendrogleju. Fiolet krezyłu. Pow. 1200 X
 24 h following hyperthermia. Decreased content of Nissl substance in neurons and neuroglial hyperplasia. Cresyl violet. X 1200

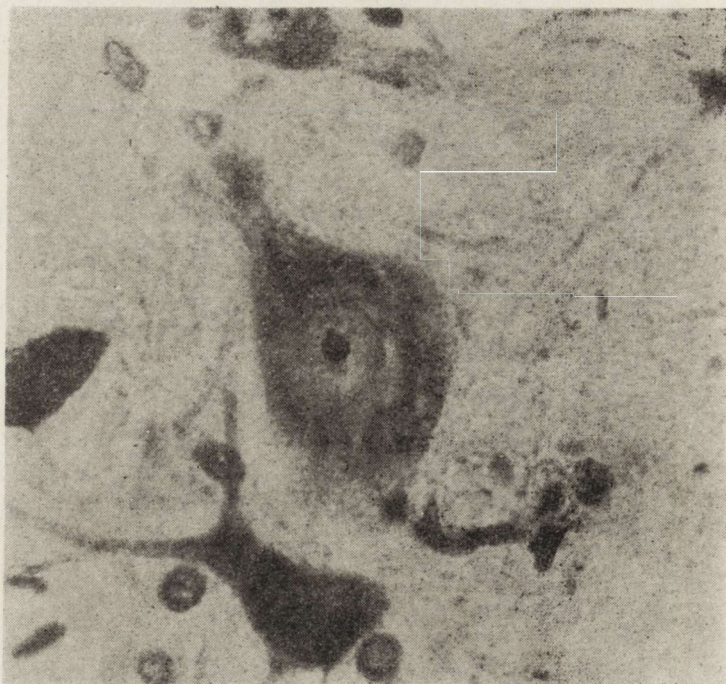
oraz ujawnienie się ich wypustek zabarwionych na kolor bladofioletowy.

Po upływie 48 godz. od zakończenia doświadczenia w zasadzie nie dostrzega się zmian morfologicznych w komórkach nerwowych. U niektórych zwierząt można spotkać jedynie pojedyncze obkurczone neurony (ryc. 2), pozostaje natomiast odczyn ze strony oligodendrogleju. Miejscami widać nagromadzenie jąder oligodendrogleju w postaci charakterystycznych grudkowatych skupień. Po 72 godz. obraz morfologiczny komórek nerwowych nie różni się od obrazu spotykanego w grupie kontrolnej. Zwraca jednak uwagę utrzymujący się rozrost oligodendrogleju w istocie szarej i przerost astrogleju w istocie białej rdzenia kręgowego.

Barwienie metodą Kanzlera

Grupa kontrolna

Zarówno w istocie szarej, jak i białej, wybarwione są tylko jądra komórek glejowych i częściowo nerwowych, jednak bez uwidocznienia ich wypustek.



Ryc. 2. 48 godz. po przegrzaniu. Obkurczony i prawidłowy neurocyt. Fiolet kre-
zylu. Pow. 1200 \times
48 h following hyperthermia. Shrunken and normal neurocytes. Cresyl violet. \times 1 200

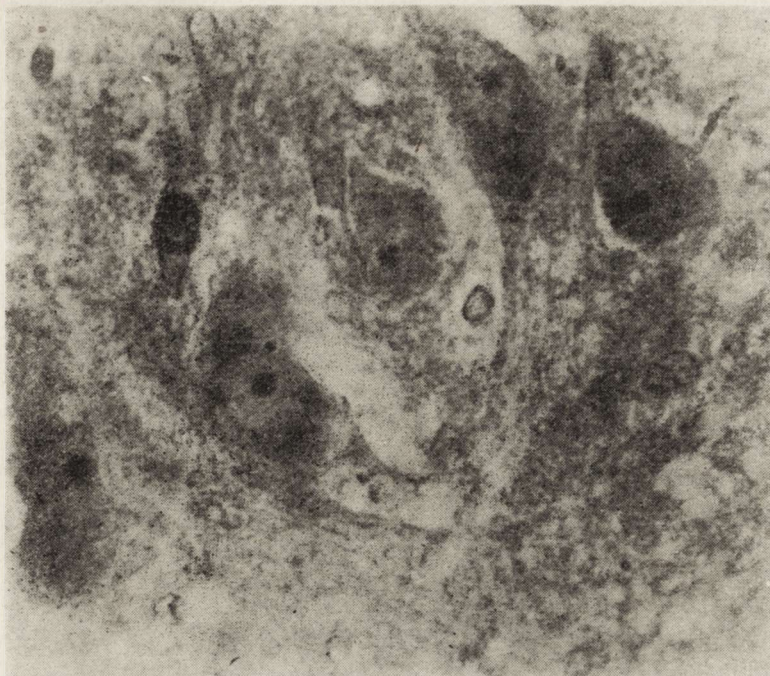
Grupa doświadczalna

Po jednej godzinie od przeprowadzonego doświadczenia gdzieś gdzie dochodzi do wybarwienia pogrubiałych i pofałdowanych wypustek aksonalnych obkurczonych neuronów. Po 24 godz. zwraca uwagę intensywniejsze wybarwienie jąder rozrastającego się oligodendrogleju, w porównaniu z neuroglejem niezmienionym. Po 48 godz. pojawia się odczyn ze strony gleju włóknistego. W tym okresie widać przerośnięte astrocyty głównie w sznurach tylnych oraz w obwodowych pęczkach sznurów bocznych. Po 72 godz. nadal widoczne są pogrubiałe i pofałdowane aksony intensywnie barwiące się na kolor fioletowy oraz rozrastające się oligodendrocyty i przerośnięte astrocyty.

Reakcja McManus-Hotchkissa

Grupa kontrolna

W neuropilu rogów przednich, bocznych i tylnych widoczny jest wyraźny odczyn PAS-dodatni. Silna reakcja PAS występuje w ścianach naczyń krwionośnych. Neurocyty zawierają zwykle nieliczne drobne ziarna PAS w perykarionie lub pozbawione są odczynu McManus-Hotchkissa (ryc. 3). Słaby odczyn PAS pojawia się w niektórych jądrach oligo- i astrogleju.



Ryc. 3. Grupa kontrolna. Nieliczne ziarna PAS-dodatnie w cytoplazmie części neuronów. Pow. 1000 ×

Control group. Part of neurocytes containing not numerous PAS-positive granules in the cytoplasm while other ones do not demonstrate PAS reaction. × 1000

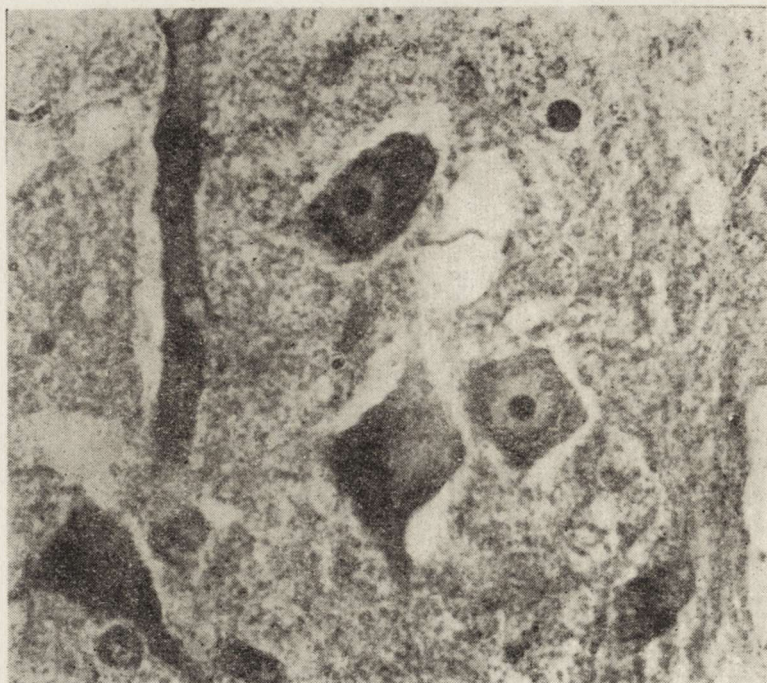
Grupa doświadczalna

W pierwszej godzinie po przegrzaniu wyraźnie nasila się reakcja PAS-dodatnia w istocie szarej rdzenia kręgowego. W tych warunkach pojawiają się ziarnistości PAS-dodatnie w cytoplazmie szeregu komórek ruchowych (ryc. 4). Intensywniejszy odczyn PAS widać również w ścianach naczyń krwionośnych oraz w oligodendrogleju istoty szarej (ryc. 4). W sznurach tylnych, część jąder oligodendrocytów ulega obrzmieniu i barwi się dość intensywnie na kolor buraczkowy.

Po 24 godz. od chwili przegrzania nadal obserwuje się silniejszą niż w normie reakcję PAS, i to zarówno w neuropilu, jak i w komórkach nerwowych oraz oligodendrogleju.

Po 48 godz. ma miejsce zdecydowane obniżenie aktywności PAS. Słabszy w porównaniu z grupą kontrolną odczyn PAS jest przede wszystkim w neuropilu. Zanikają prawie całkowicie ziarnistości PAS w perykarionach komórek nerwowych. Pojawia się natomiast niewielka liczba neurocytów wykazujących dyfuzyjną reakcję PAS w cytoplazmie. W istocie białej tylko nieliczne jądra oligodendrocytów reagują z odczynnikiem Schiffa.

Po 72 godz. występuje kolejny wzrost aktywności PAS, jednak reak-



Ryc. 4. 1 godz. po przegrzaniu. Silna reakcja PAS w perykarionach neuronów i w ścianie naczyń krwionośnych. Wzrost odczynu PAS w oligodendrogleju w porównaniu z kontrolą. Pow. 1000 X

1 h following hyperthermia. Strong PAS reaction in the neuronal perikarya and blood vessel walls. Increase PAS-reaction in oligodendrocytes. X 1 000

cja ta jest słabsza niż w normie (ryc. 3). Słaby w porównaniu z materiałem kontrolnym jest przede wszystkim odczyn PAS w neuropilu. Część komórek nerwowych wykazuje dyfuzyjną reakcję PAS w cytoplazmie, a część neurocytów pozbawiona jest tego odczynu.

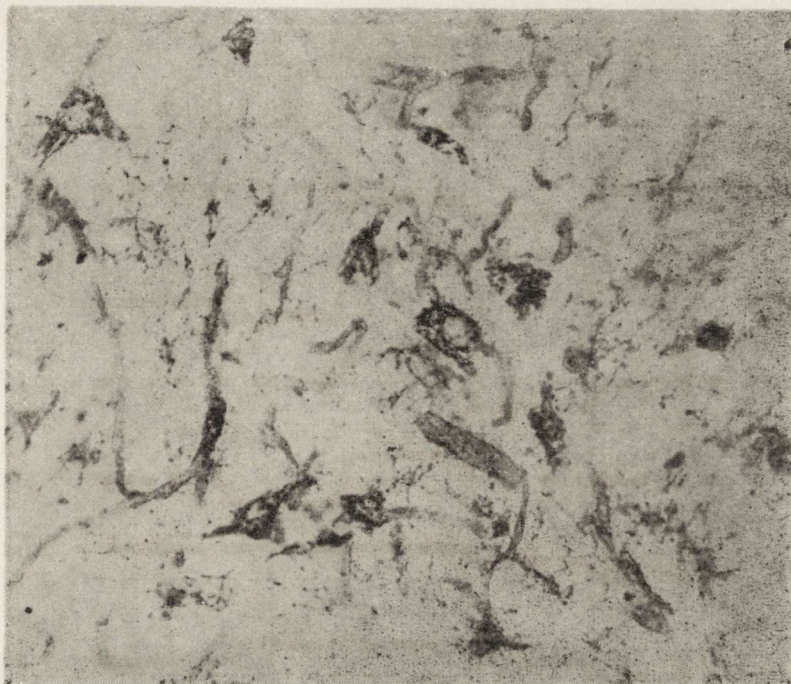
Pyrofosfataza tiaminowa (TPPaza)

Grupa kontrolna

W neurocytach prawidłowych aktywność tego enzymu przejawia się w postaci pęcherzyków i blaszek wyznaczających strukturę aparatu Golgiego (ryc. 5). Ponadto delikatną dyfuzyjną aktywność TPPazy widać w neuropilu. Odczyn na TPPazę widoczny jest także w ścianach naczyń włosowatych (ryc. 5).

Grupa doświadczalna

Po upływie 1 godziny od przegrzania ma miejsce wyraźny wzrost aktywności TPPazy zarówno w perykarionie neuronu, jak i w neuropilu. Przejawia się to często wypełnieniem całej cytoplazmy produktem reakcji enzymatycznej, z zatarciem charakterystycznej struktury aparatu Golgiego. Obok odczynu na TPPazę w komórkach nerwowych wi-



Ryc. 5. Grupa kontrolna. Aktywność TPPazy w strukturach aparatu Golgiego i w ścianach naczyń krwionośnych. Pow. 220 ×

Control group. TPP-ase activity marking structures of Golgi apparatus in the neuronal cytoplasm. Enzyme activity is also present in the blood vessel walls. × 220

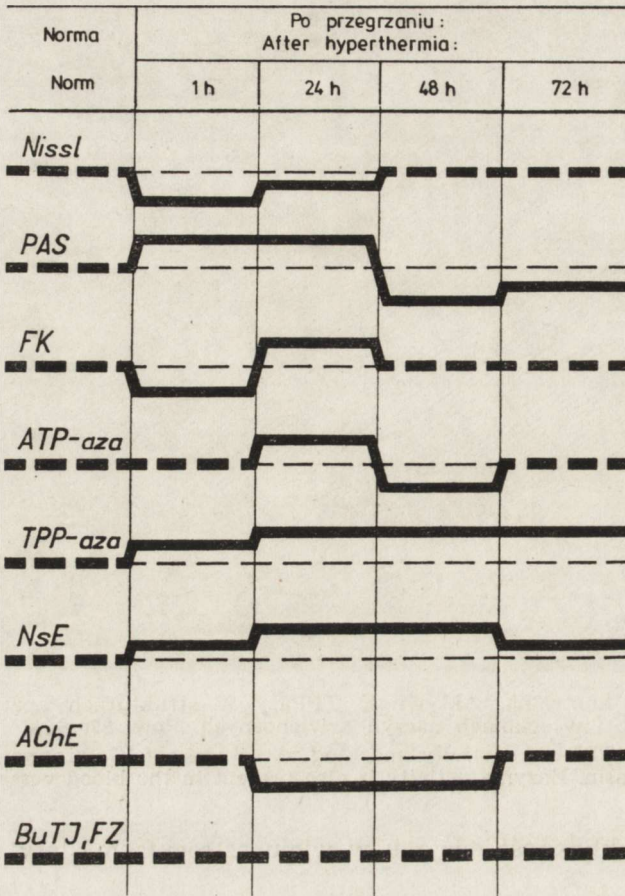
dać również aktywność enzymu w wielu astrocytach istoty szarej rdzenia.

Po 24 godz. obserwuje się dalszy wzrost aktywności TPPazy (schemat 1). W tym czasie bardzo silna aktywność TPPazy widoczna jest zarówno w neurocytach, jak i w neuropilu i ścianach naczyń krwionośnych. Dochodzi ponadto do pojawienia się wyraźnej aktywności TPPazy w oligodendrogleju istoty białej i w obrębie korzonków tylnych. Po 48 godz. lokalizacja i intensywność odczynu są takie same jak po 24 godz. Po 72 godz., nadal utrzymuje się wysoka aktywność TPPazy w neurocytach, neuropilu i naczyniach krwionośnych (ryc. 6). Widoczny też jest odczyn enzymatyczny we włóknach korzonków czuciowych.

Esterazy nieswoiste (NsE)

Grupa kontrolna

Dość silna aktywność NsE u szczurów kontrolnych występuje głównie w perykarionach komórek nerwowych (ryc. 7). W neuropilu jednak widoczna jest również słaba, drobnoziarnista reakcja enzymatyczna (ryc.



Schemat 1. Kierunek i stopień zmian histochemicznych w rdzeniu w następstwie przegrzania ustroju

norma ----- po przegrzaniu —————

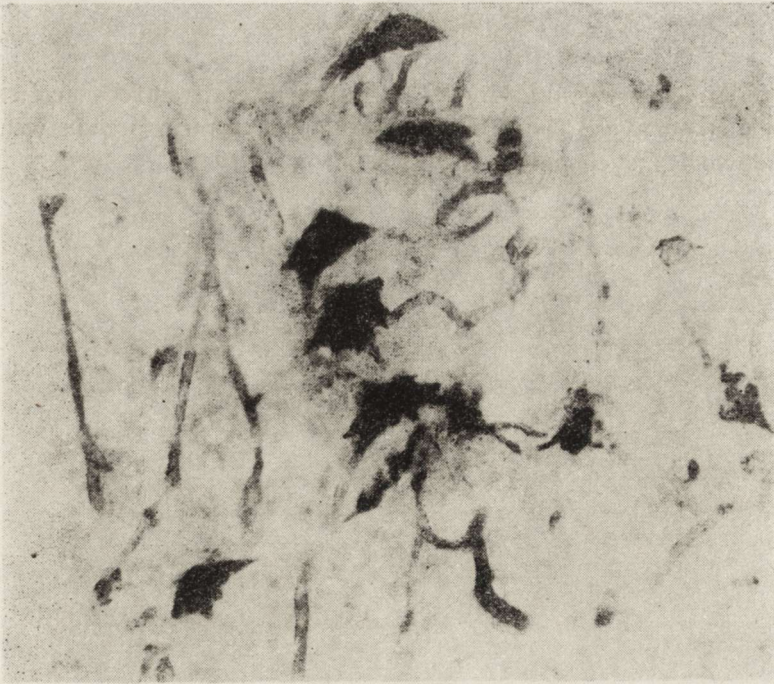
Direction and degree of histochemical changes in the spinal cord resulting of hyperthermia

norm ----- after hyperthermia —————

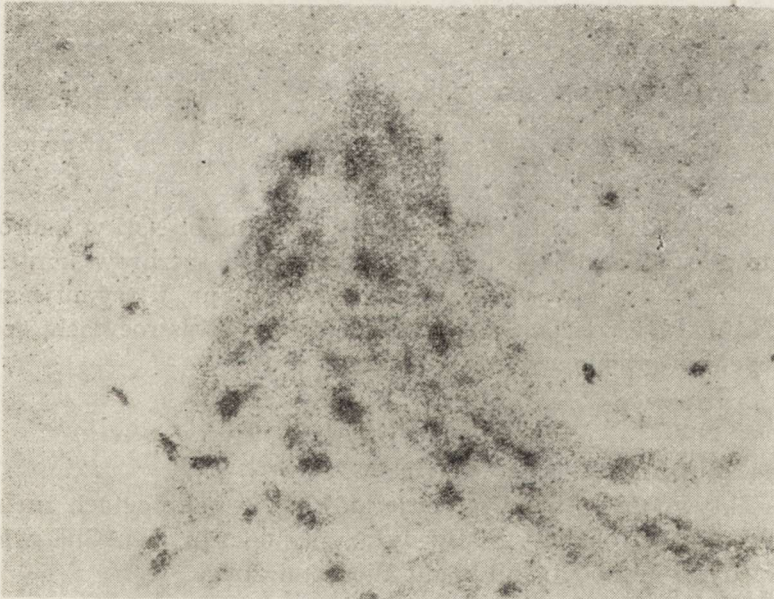
7). Ponadto wyraźną aktywność przejawiają perycyty, a niekiedy słaby dyfuzyjny odczyn można zaobserwować w oligodendrocytach, głównie w istocie białej rdzenia.

Grupa doświadczalna

Po jednej godzinie od przegrzania następuje umiarkowany wzrost aktywności NsE. Wzrost ten manifestuje się przede wszystkim silniejszym odczynem w oligodendrocytach. W neurocytach i neuropilu odczyn na NsE jest taki sam jak w grupie kontrolnej. Po 24 godz. dochodzi do wyraźnego nasilenia odczynu zarówno w perykarionach komórek nerwowych, jak i w neuropilu i oligodendrogleju. Po 48 godz. nadal obserwuje się zwiększoną aktywność NsE. W tym okresie obserwacji docho-

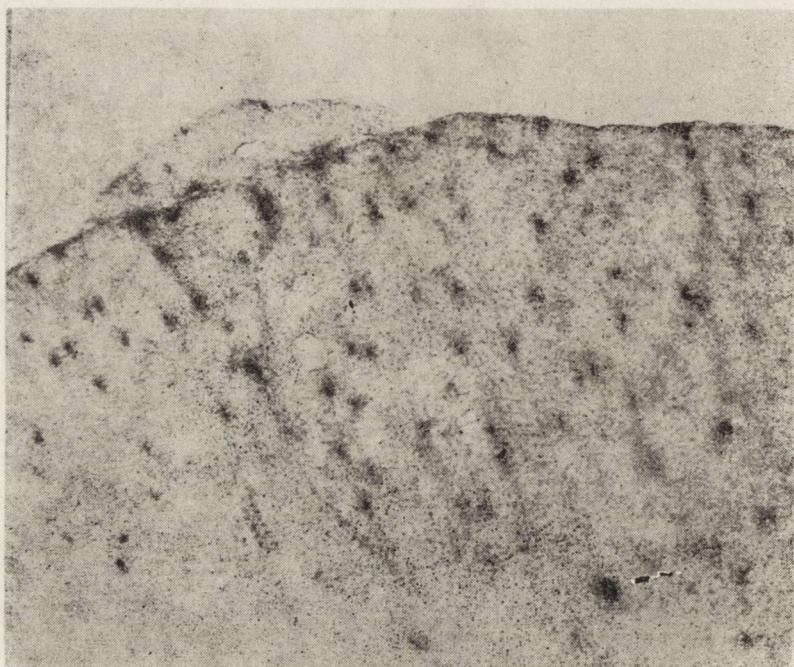


Ryc. 6. 72 godz. po przegrzaniu. Wysoka aktywność TPPazy w cytoplazmie komórek nerwowych oraz w ścianach naczyń krwionośnych. Pow. 220 ×
 72 h following hyperthermia. High TPP-ase activity in the cytoplasm of neurocytes and in the blood vessel walls. × 220



Ryc. 7. Grupa kontrolna. Silna aktywność NsE w neurocytach rogów przednich, wyraźna aktywność w neuropilu i słaby dyfuzyjny odczyn w oligodendrogleju sznurów przednich. Pow. 200 ×
 Control group. Strong NsE activity in neurocytes of the anterior horn, distinct NsE activity in the neuropil and weak diffuse reaction in neuroglia of the anterior funiculi. × 200

dzi do pojawienia się aktywności w pojedynczych astrocytach sznurów przednich i bocznych (ryc. 8). Zjawisko to występuje przede wszystkim w obwodowo leżących pęczkach włókien.



Ryc. 8. 48 godz. po przegrzaniu. Pojawienie się aktywności NsE w astrocytach sznurów przednich i bocznych. Pow. 200 ×

48 h following hyperthermia. Appearance of NsE activity in astrocytes of the anterior and lateral funiculi. × 200

Po upływie 72 godz. stopień nasilenia aktywności NsE w neurocytach i w neuropilu spada do poziomu spotykanego u szczurów kontrolnych, zmniejsza się także aktywność w oligodendrogleju. Utrzymuje się jednak wyraźnie podwyższona aktywność w licznych astrocytach, szczególnie leżących w obrębie sznurów przednich.

Acetylocholinoesteraza (AChE)

Grupa kontrolna

Silna aktywność AChE występuje głównie w neurocytach ruchowych oraz neuropilu tej okolicy. Słaby dyfuzyjny odczyn na AChE widoczny jest niekiedy w neurocytach układu autonomicznego.

Grupa doświadczalna

Po upływie jednej godziny od zakończonego doświadczenia aktywność AChE w rdzeniu kręgowym nie ulega zmianie w porównaniu z grupą kontrolną. Po 24 godz. obserwuje się spadek aktywności AChE głównie w neuropilu. W perykarionach komórek ruchowych aktywność AChE

jest bardzo wyraźna, a nawet miejscami intensywna. Wyraźny odczyn enzymatyczny jest też w ścianach naczyń krwionośnych. Po 48 godz., poza pojawieniem się aktywności AChE w niektórych oligodendrocytach, nie zachodzą inne istotne zmiany. Po 72 godz. dochodzi do nieznacznego wzrostu aktywności AChE w neuropilu. Obraz histoenzymatyczny AChE w rdzeniu kręgowym nie różni się w tym czasie od odczynu enzymatycznego spotykanego w grupie kontrolnej (schemat 1).

Butyrylotiocholinoesteraza (BuTJ)

Grupa kontrolna

W stanach prawidłowych aktywność BuTJ w obrębie rdzenia kręgowego widoczna jest tylko w ścianach naczyń krwionośnych, zarówno w istocie szarej, jak i białej.

Grupa doświadczalna

We wszystkich okresach obserwacji po zakończonej hipertermii aktywność BuTJ podobnie jak u zwierząt prawidłowych występuje tylko w ścianach naczyń krwionośnych (schemat 1). Pozostałe struktury rdzenia kręgowego nie wykazują aktywności BuTJ.

Fosfataza zasadowa (FZ)

Grupa kontrolna

Słabą dyfuzyjną aktywność FZ można zaobserwować jedynie w neuronach ruchowych oraz w ścianach naczyń włosowatych. Niekiedy nieco wyraźniejsza reakcja widoczna jest w jąderku.

Grupa doświadczalna

W następstwie 4-godzinnej hipertermii nie dostrzeżono zmian w aktywności FZ w porównaniu z grupą kontrolną zarówno po 1, jak i po 24, 48 i 72 godzinach obserwacji (schemat 1).

Fosfataza kwaśna (FK)

Grupa kontrolna

Aktywność fosfatazy kwaśnej widoczna jest we wszystkich neurocytach rdzenia kręgowego w postaci różnej wielkości ziaren rozrzuconych w całej cytoplazmie. Największe nasilenie odczynu wykazują komórki ruchowe w rogach przednich, mniejsze neurocyty rogów bocznych i najmniejsze neurony rogów tylnych.

Grupa doświadczalna

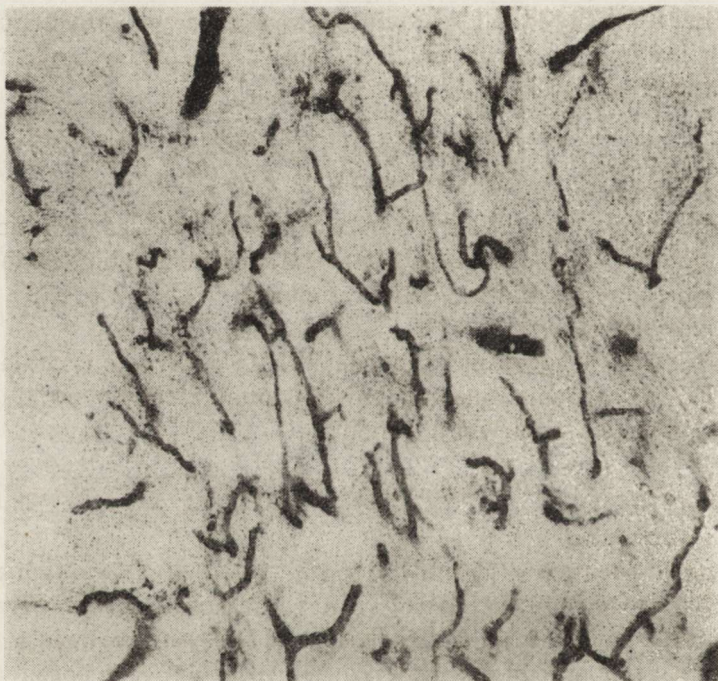
W ciągu jednej godziny po doświadczeniu znacznie spada aktywność FK. Wyraźny odczyn widoczny jest tylko w komórkach nerwowych rogów przednich rdzenia, w pozostałych neurocytach brak aktywności. W istocie białej stwierdza się słaby dyfuzyjny odczyn enzymatyczny. Po 24 godz. dochodzi do wzrostu aktywności FK. Stopień nasilenia odczynu jest nieco wyższy niż w grupie kontrolnej. Obok aktywności FK w neurocytach pojawia się w tym czasie słaba dyfuzyjna aktywność w oligo-

dendrocytach korzonków tylnych. Po 48 godz. aktywność FK w rdzeniu kręgowym wraca do normy. Widoczna jest umiarkowana drobnoziarnista reakcja enzymatyczna w cytoplazmie komórek nerwowych i słaby dyfuzyjny odczyn w istocie białej. Po 72 godz. stopień i lokalizacja FK nie różni się w porównaniu z poprzednią grupą (schemat 1).

Adenozynotrójfosfataza (ATPaza)

Grupa kontrolna

Wyraźna aktywność ATPazy występuje głównie w ścianach naczyń krwionośnych istoty białej i szarej (ryc. 9). Słaby dyfuzyjny odczyn występuje także w istocie białej rdzenia. Gdziekolwiek w sąsiedztwie naczyń włosowatych w obrębie rogów przednich można zaobserwować słabą aktywność ATPazy w przynaczyniowych wypustkach astrocytów (ryc. 9).

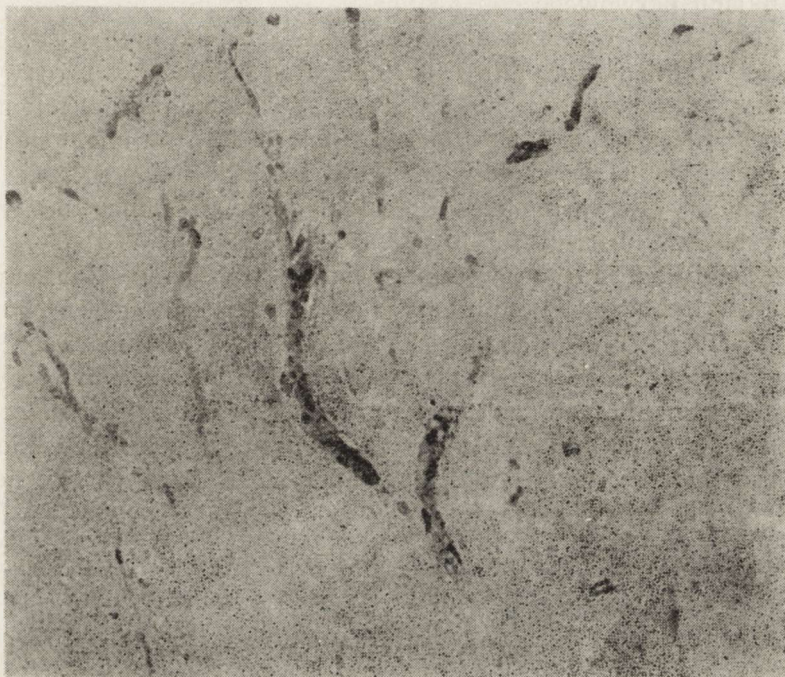


Ryc. 9. Grupa kontrolna. Aktywność ATPazy w ścianach naczyń krwionośnych i w przynaczyniowych wypustkach astrogleju. Pow. 200 ×
Control group. ATP-ase activity in the blood vessel walls and in perivascular processes of astrocytes. × 200

Grupa doświadczalna

Po upływie jednej godziny od przegrzania aktywność ATPazy jest taka sama jak w grupie kontrolnej. Po 24 godz. następuje istotny wzrost aktywności ATPazy. W tym okresie pojawia się odczyn enzymatyczny w jądrach wielu oligodendrocytów i wzrasta aktywność w przynaczy-

niowym astrogleju. Wzrost aktywności ATPazy występuje również w ścianach naczyń krwionośnych głównie w istocie szarej rdzenia. Po 48 godz. obserwuje się spadek aktywności ATPazy poniżej normy: zanik aktywności enzymatycznej w astrogleju oraz znaczny spadek w ścianach naczyń krwionośnych (ryc. 10). Po 72 godz. aktywność ATPazy znów nieco wzrasta i osiąga nasilenie podobne jak w grupie kontrolnej. Lokalizacja odczynu na ATPazę jest w tym czasie także zbliżona do stanu prawidłowego. Zwraca jedynie uwagę obecność słabego dyfuzyjnego odczynu na ATPazę w jądrach wielu oligodendrocytów.



Ryc. 10. 48 godz. po przegrzaniu. Znaczny spadek aktywności ATPazy w ścianach naczyń krwionośnych. Pow. 200 \times

48 h following hyperthermia. Considerable decrease of ATP-ase activity in the blood vessel walls. \times 200

OMÓWIENIE

Prześledzenie zmian morfologicznych i histochemicznych w rdzeniu kręgowym, zachodzących w różnych odstępach czasu po doświadczalnym przegrzaniu ustroju, pozwala na ocenę dynamiki zmian badanych procesów. Mimo stosunkowo długiego (4 godz.) przebywania szczurów w podwyższonej do 45°C temperaturze otoczenia, uzyskane wyniki badań wydają się przemawiać za względną szkodliwością hipertermii. Większość bowiem badanych odczynów enzymatycznych (FK, ATPaza

i AChE) po 72 godzinach od zakończenia doświadczenia wraca do normy (schemat 1). Aktywność BuTJ i FZ nie ulega żadnej zmianie w całym okresie obserwacji. Prawie całkowita regeneracja morfologiczna neuronów widoczna jest już po upływie 48 godzin od czasu przegrzania ustroju. Być może jednak część uszkodzonych neurocytów ulega w tym czasie zanikowi. Przypuszczenie takie nasuwa się wobec występowania w istocie szarej rdzenia, po 72 godzinach od zakończenia hipertermii, grudkowatych skupień oligodendrogleju. Ogólnie jednak daleko idąca restytucja morfologiczna i histochemiczna rdzenia kręgowego może wskazywać na niewielką szkodliwość okresowego przegrzania dla tej części układu nerwowego.

Na podstawie przeprowadzonych badań trudno odpowiedzieć, czy uzyskane wyniki można odnieść do innych gatunków, czy też stwierdzone zmiany zachodzą tylko u szczurów. W dostępnym piśmiennictwie (Jacob 1955; Hechel 1970; Szmigielski, Bielec 1976) nie udało się znaleźć podobnego układu doświadczenia. Spostrzeżenia podane przez innych autorów mają przeważnie charakter statyczny, odnoszący się tylko do jednego okresu obserwacji (Jessen 1974; Robinson, Wizenberg 1974), bądź też dotyczą innego gatunku zwierząt (Bernstein, Zeuthen 1966; Robinson, Wizenberg 1974) lub innych struktur układu nerwowego (Dickson, Shah 1972; Bielec, Szmigielski 1975). W tym stanie rzeczy wysunięcie wniosków praktycznych wymagałoby przeprowadzenia podobnych badań także na innych gatunkach zwierząt. Na zakończenie warto wspomnieć, że utrzymujące się jeszcze po 72 godzinach niewielkie zmiany w aktywności TPPazy i NsE oraz odczynu PAS mogą ulec normalizacji w okresie późniejszym.

WNIOSKI

1. Czterogodzinne przegrzanie ustroju w temperaturze 45°C powoduje w neurocytach rdzenia kręgowego szczurów zmiany wsteczne o różnym nasileniu, które na ogół cofają się po upływie 48 godzin od zakończenia przegrzania.

2. W wyniku przegrzania dochodzi w rdzeniu kręgowym do wzrostu lub spadku aktywności szeregu enzymów hydrolitycznych. Zmieniona aktywność FK wraca do stanu prawidłowego po 48 godzinach, zaś normalizacja aktywności ATPazy i AChE następuje po 72 godzinach.

3. Aktywność BuTJ i FZ nie ulega zmianie pod wpływem przebywania w podwyższonej do 45°C temperaturze otoczenia w ciągu 4 godzin.

4. Zmiany morfologiczne i histochemiczne doświadczalnej hipertermii mają charakter przemijający i odwracalny.

ВЛИЯНИЕ ПЕРЕГРЕВА ОРГАНИЗМА НА МОРФОЛОГИЮ
И ГИСТОХИМИЮ СПИННОГО МОЗГА

Резюме

Проблема патогенеза изменений происходящих в нервной системе вследствие перегрева организма представляет собой в дальнейшем предмет заинтересованности ряда авторов. Принимая во внимание практическую возможность гипертермии организма на многочисленных постах работы, автор провела экспериментальные исследования на крысах подверженных однократно действию температуры окружающей среды повышенной до 45°C в течение 4 часов. Затем по истечении 1, 24, 48 и 72 часов животных убивали и брали спинной мозг для исследований. Часть срезов красили методами повсеместно применяемыми в невропатологии, а часть подвергали реакции для проявления активности некоторых фосфатаз и эстераз. В результате проведенных исследований констатировано, что 4-часовой перегрев организма в температуре 45°C вызывает в нейронах спинного мозга регрессивные изменения с небольшой интенсивностью, которые отступают по истечении 48 часов с момента перегрева. В результате гипертермии приходит также к расстройствам активности ряда энзимов в спинном мозгу, однако спустя 48 часов с момента перегрева активность кислой фосфатазы возвращается к нормальному состоянию, а нормализация активности аденотрифосфатазы и ацетилхолинэстеразы — спустя 72 часа. Активность бутилтиохолинэстеразы и щелочной фосфатазы не подвергается изменению под влиянием примененных экспериментальных условий.

MORPHOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL CHANGES IN THE SPINAL CORD
DUE TO THE WHOLE BODY HYPERTHERMIA

Summary

Pathogenesis of changes in the central nervous system evoked by the whole body hyperthermia remains still open and controversial. Taking into account the practical importance of the professional hyperthermia the following experimental studies have been performed. The experiments were carried out on rats, which were exposed on the temperature of 45°C for 4 hrs. Then animals were sacrificed in the 1st, 24th, 48th and 72nd h following exposition. The spinal cord removed from the spine immediately after animals death were used for histological and histochemical studies. It has been shown, that minimal morphological abnormalities appearing in early stages after hyperthermia disappeared 48 hrs following experiment. Temporary changes in histoenzymatic reactions demonstrating activities of acid phosphatase, ATP-ase and AChE normalized after 48 and 72 hrs respectively. At no time of the experiment the activities of alkaline phosphatase and BuTJE showed any abnormality. It has been concluded that exposure of rats to the surrounding temperature of 45°C for 4 hrs resulted in temporary and reversible morphological and histoenzymatic abnormalities in the spinal cord.

PIŚMIENNICTWO

1. Bernstein E., Zeuthen E.: The relationship of RNA synthesis to temperature as an inducer of synchronous division. C. R. Lab., Carlsberg 1966, 35, 501—517.

2. Best C. H., Taylor N. B.: The physiological basis of medical practice. Williams and Wilkins, Baltimore 1966.
3. Bielec M., Szmigielski S.: Thermographic analysis of energy absorption in microwave irradiated animals. *Phys. Med. Biol.*, 1975, 21, 157—169.
4. Dickson J. A., Shab H. D.: The effect of hyperthermia (42°C) on the biochemistry and growth of a malignant line. *Europ. J. Cancer*, 1972, 8, 561—571.
5. Florin M., Stotz E. H.: Enzyme nomenclature. [W:] *Comprehensive biochemistry*, vol. 13, Elsevier, Amsterdam 1973.
6. Gajkowska B.: Wpływ wysokiej temperatury otoczenia na ultrastrukturę układu podwzgórzowo-przysadkowego szczura. *Neuropat. Pol.*, 1980, 18, 1—13.
7. Gerebtzoff M.: Recherches histochimiques sur les acetylcholine et choline esterases. *Acta anat.*, 1953, 19, 336—339.
8. Gomori G.: *Microscopic histochemistry*. University of Chicago Press, Chicago 1953.
9. Grandjean E.: *Physiologische Arbeitsgestaltung leitfaden der Ergonomie*. Ott Verlag, München 1967.
10. Hechel M.: Ganzkörpererwärmung und stenerbare Hyperthermie mittels tiefpenetrierender kurzweiliger Infrarot-Strahlung. *Med. Welt*, 1970, 69, 308—313.
11. Jacob H.: Wärmé-und Kälteschädigungen des Zentralnervensystems. [W:] *Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie*. Red. O. Lubarsch, F. Henke, R. Rössle, Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1955, XIII/III, 288—312.
12. Jessen C.: Temperaturempfindlichkeit des Rückenmarks. Ein Phänomen und seine Einordnung in die Temperaturregulation. E. Leitz, Giessen 1974, 1—50.
13. Nachlas M., Seligmann A.: The histochemical demonstration of esterase. *J. nat. Cancer Inst.*, 1949, 9, 415—425.
14. Novikoff A., Goldfischer B. S.: Nucleoside diphosphatase activity in the Golgi apparatus and its usefulness for cytological studies. *Proc. nat. Acad. Sci., (USA)* 1961, 47, 802—810.
15. Robinson J. E., Wizenberg M. J.: Thermal sensitivity and the effect of elevated temperatures on the radiation sensitivity of Chinese hamster cells. *Acta radiol.*, 1974, 13, 241—248.
16. Szmigielski S., Bielec M.: Hipertermia w leczeniu nowotworów złośliwych. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 1976, 39, 459—492.
17. Wachstein M., Meisel E.: Histochemistry of hepatic phosphatases of a physiologic pH with special reference to the demonstration of bile canaliculi. *Amer. J. Clin. Path.*, 1957, 27, 13—23.

Adres autorki: Zakład Neuropatologii AM ul. Przybyszewskiego 49, 60—355 Poznań

EWA NACHMAN, MAREK NACHMAN

UNACZYNIENIE TĘTNICZE JĄDER PRAŻKOWIA I TOREBKI WEWNĘTRZNEJ MÓZGOWIA KOTA

Samodzielna Pracownia Angiologii Ośrodkowego Układu Nerwowego AM, Łódź

Rozwój neurofizjologii oraz neuropatologii porównawczej i doświadczalnej stwarza potrzebę coraz dokładniejszego poznania neuroanatomii, w tym także unaczynienia mózgowia zwierząt. Praktyka badań eksperymentalnych układu nerwowego wykazała, że bardzo odpowiednim oraz dostępnym zwierzęciem laboratoryjnym, ze stojących w systematyce blisko człowieka, jest kot domowy.

Z dostępnego piśmiennictwa wynika, że w unaczynieniu mózgowia kota poznano jedynie układ tętniczy powierzchniowy — półkul mózgowych, pnia mózgu, mózdzku oraz rdzenia kręgowego.

W piśmiennictwie szczegółowo opisano główne źródła unaczynienia tętniczego mózgowia kota — tętnice szyjne mózgowe, odpowiadające tętnicom szyjnym wewnętrznym mózgowia człowieka oraz tętnice kręgowo (Campbell 1938; Chadzypanagiotis, Kubasik 1968). Chadzypanagiotis (1974) opisał także szczegółowo topografię, budowę oraz zakresy unaczynienia gałęzi tętnic przednich mózgu, tętnic środkowych mózgu oraz tętnic tylnych mózgu w obszarze korowym powierzchni grzbietowo-wypukłych, przyśrodkowych oraz w części podstawnej mózgu.

Prace eksperymentalne Kapustiny (1951, 1961), Kłosowskiego (1951) oraz Kłosowskiego i Kosmarskiej (1961) nad krążeniem mózgowym dostarczyły także pewnych danych morfologicznych o naczyniach mózgowia kota.

Badania przeprowadzone przyżyciowo metodą wziernikową przez otwór trepanacyjny w czaszce, jak również badania pośmiertne metodą iniekcji naczyń masami wypełniającymi wykazały, że w sieci tętniczej oraz żylniej półkul mózgowych kota występują liczne, różnej średnicy zespolenia od 10 do 120 μm , które wyznaczają strefy krążenia obocznego. Kłosowski i Kosmarska (1961) stwierdzili, że największa szerokość zespolień tętniczych jest wewnątrz bruzd a nie na powierzchni zakrętów i występują one głównie we wspólnych obszarach unaczynienia tętnic:

przedniej mózgu i środkowej mózgu, przedniej mózgu i tylnej mózgu oraz środkowej mózgu i tylnej mózgu. Autorzy ci ustalili również, że typ pnia naczyniowego oraz sposób odejścia od niego gałęzi bocznych stanowi kryterium dla odróżnienia tętnic i żył zarówno na powierzchni, jak i wewnątrz mózgu.

W piśmiennictwie brak jest jednak prac o unaczynieniu wewnętrznym mózgowia kota. Unaczynienie tętnicze w obszarze jąder kresomózgowia, torebki wewnętrznej, wzgórza oraz jąder mózdzku u innych zwierząt opisał Goetzen (1970). Autor ustalił i opisał źródła unaczynienia tych struktur, budowę, liczbę i średnicę gałęzi wewnętrznych (głębokich) mózgu oraz ich przebieg i zakresy unaczynienia. Określił także i porównał unaczynienie wewnętrzne mózgowia badanych zwierząt z odpowiednim unaczynieniem wewnętrznym mózgowia człowieka.

W unaczynieniu jąder kresomózgowia i torebki wewnętrznej człowieka, psa, cielęcia, owcy i królika, Goetzen wyróżnił gałęzie soczewkowo-torebkowo-ogonowe oraz gałęzie soczewkowo-torebkowe tętnicy przedniej i środkowej mózgu. W wyniku swoich badań autor stwierdził, że obok podobieństw w angioarchitektonice jąder kresomózgowia i torebki wewnętrznej człowieka, psa, cielęcia i owcy istnieją wyraźne różnice gatunkowe w unaczynieniu tych struktur. Według autora unaczynienie tętnicze odnogi tylnej torebki wewnętrznej najsilniej rozwinięte jest w mózgowiu cielęcia i owcy, następnie psa i człowieka.

Przedstawiony przez Goetzena podział gałęzi wewnętrznych prążkowania w mózgowiu człowieka, psa, cielęcia, owcy i królika na długie i krótkie gałęzie prążkowania oraz zastosowane przez autora nowe miana topograficzne „gałęzie soczewkowo-torebkowo-ogonowe” i „soczewkowo-torebkowe” okazały się również bardzo przydatne i praktyczne w naszych badaniach oraz zostały przez nas wykorzystane w opisie tętniczek prążkowania mózgowia kota.

MATERIAŁ I METODY

Badania układu tętniczego mózgowia kota wykonano metodą iniekcijną na 30 mózgach zwierząt obojga płci. Układ tętniczy mózgowia nastrzyknięto przez tętnice szyjne wspólne, lateksami kauczuków syntetycznych marki Hycar, Perbunan N, Revinex według metody Goetzena (1957), po uprzedniej perfuzji naczyń wodą destylowaną. Tworzywo wstrzykiwano strzykawką pod kontrolowanym ciśnieniem jednocześnie do obu tętnic szyjnych wspólnych. Koagulację tworzywa i wstępne utrwalenie mózgowia przeprowadzono w kwaśnym alkoholu. Następnie przy pomocy mikroskopu operacyjnego dokonano anatomicznej oceny nastrzykniętych pni koła tętniczego mózgu kota, ich odgałęzień korowych oraz odcinków zewnątrzmożgowych odgałęzień głębokich, przebiegających „wolno” w zbiornikach podpajęczynówkowych. Ustalono liczbę,

miejsce oraz postać odejścia od pni macierzystych gałęzi głębokich do prążkowiec.

W kolejnym etapie pracy preparowano pod mikroskopem operacyjnym odcinki wewnątrzmożgowe gałęzi głębokich tętnicy środkowej mózgu, w niektórych przypadkach tętnicy przedniej mózgu i tętnicy naczyniówkowej (przedniej) — w torebce wewnętrznej, w jądrach kresomóżgowia oraz w części górno-bocznej wzgórcza. Wypreparowane naczynia fotografowano i opisano ich budowę, topografię oraz zakresy unaczynienia w mózgu.

WYNIKI

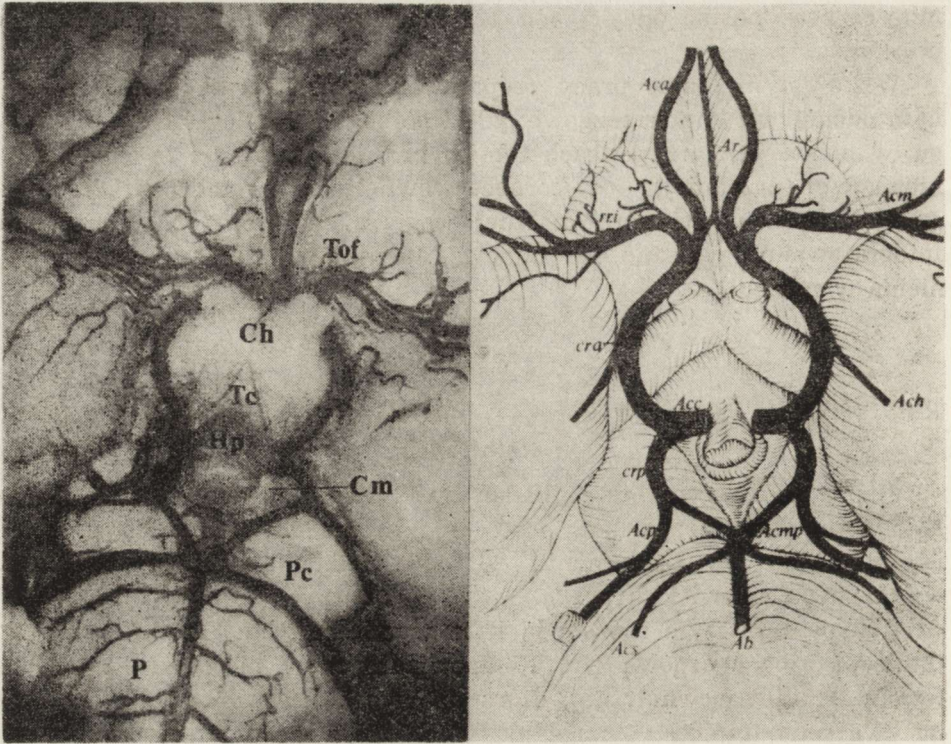
Koło tętnicze mózgowia kota — budowa i topografia głównych pni tętnicznych

Już w pierwszym etapie badań zwróciliśmy uwagę, że w budowie koła tętniczego mózgu kota oraz źródeł jego zaopatrzenia występują istotne różnice w porównaniu do odpowiedniego układu tętniczego w mózgowiu człowieka (ryc. 1).

W kole tętniczym mózgowia kota wyodrębniliśmy krótką i szeroką tętnicę szyjną mózgową (Acc), odpowiadającą w mózgowiu człowieka tętnicy szyjnej wewnętrznej, która na wysokości podwzgórcza dzieli się na dwa pnie tętnicze: odnogę przednią (cra) — *crus anterior* oraz odnogę tylną (crp) — *crus posterior*. Odnoga przednia tętnicy szyjnej mózgowej (cra), średnicy 0,6—0,8 mm biegnie w górę i do przodu, i za skrzyżowaniem wzrokowym daje dwa główne odgałęzienia: tętnicę środkową mózgu (Acm) oraz tętnicę przednią mózgu (Aca). Z tej części pnia tętnicy szyjnej mózgowej odchodzi pojedynczym pniem tętnica naczyniówkowa (Ach). Krótszy i cieńszy pień odnogi tylnej tętnicy szyjnej mózgowej (crp), średnicy 0,4—0,8 mm biegnie w kierunku konaru mózgu i dzieli się na jego bocznej powierzchni na tętnicę tylną mózgu (Acp) oraz tętnicę łączącą tylną (Acmp), która odpowiada odcinkowi początkowemu tętnicy tylnej mózgu człowieka. Tętnica łącząca tylną w okolicy dołu międzykonarowego łączy się z jednoimienną tętnicą przeciwległej półkuli mózgu oraz z tętnicą podstawną mózgu (Ab).

Budowa, topografia oraz zakresy unaczynienia gałęzi wewnętrznych tętnicy środkowej mózgu kota

Gałęzie wewnętrzne tętnicy środkowej mózgowia kota nazywane w mózgowiu człowieka tętniczkami soczewkowo-prążkowiowymi (*arteriae lenticulostriatæ*) i soczewkowo-wzrokowymi (*arteriae lenticuloopticae*) według Testuta (1904), Lazorthesa (1961), Heubnera (1971) i Dureta (1971) lub gałęziami soczewkowo-torebkowo-ogonowymi (*rr. lenticulocapsulocaudati*) i soczewkowo-torebkowymi (*rr. lenticulocapsulati*) tętnicy środkowej mózgu (według Goetzena — 1970), odchodzą zmiennie



Ryc. 1. Schemat 1. Budowa i topografia głównych pni tętniczych koła tętniczego mózgowia kota. Pow. 5 X.

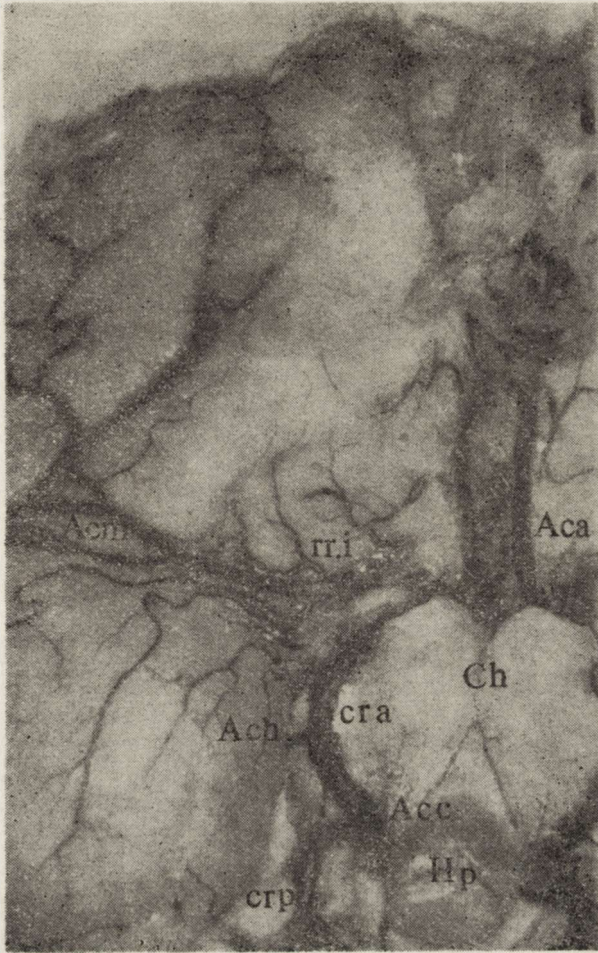
Acc → tętnica szyjna mózgowia, cra — odnoga przednia t. szyjnej mózgowej, crp — odnoga tylna t. szyjnej mózgowej, Acm — tętnica środkowa mózgu, Aca — tętnica przednia mózgu, Ar — tętnica węchowa, Ach — tętnica naczyniówkowa (przednia), Acp — tętnica tylna mózgu, Acmp — tętnica łącząca tylna, Ab — tętnica podstawna, Acs — tętnica górna mózdzku, rri — gałęzie wewnętrzne t. środkowej mózgu, Ch — skrzyżowanie wzrokowe, Cm — ciało suteczkowate, Hp — przysadka, Tc — guz popielaty, Tof — guzek węchowy, Pc — konar mózgu, P — most

Schema 1. Anatomical structure and topography of main arterial trunks of arterial circle of cat brain. X 5.

Acc — cerebral carotid artery, cra — anterior limb of cerebral carotid artery, crp — posterior limb of cerebral carotid artery, Acm — middle cerebral artery, Aca — anterior cerebral artery, Ar — olfactory artery, Ach — choroidal artery (anterior), Acp — posterior cerebral artery, Acmp — posterior communicating artery, Ab — basilar artery, Acs — superior cerebellar artery, rri — internal branches of middle cerebral artery, Ch — optic chiasm, Cm — mamillary body, Hp — hypophysis, Tc — tuber cinereum, Tof — olfactory nodule, Pc — cerebral peduncle, P — pons

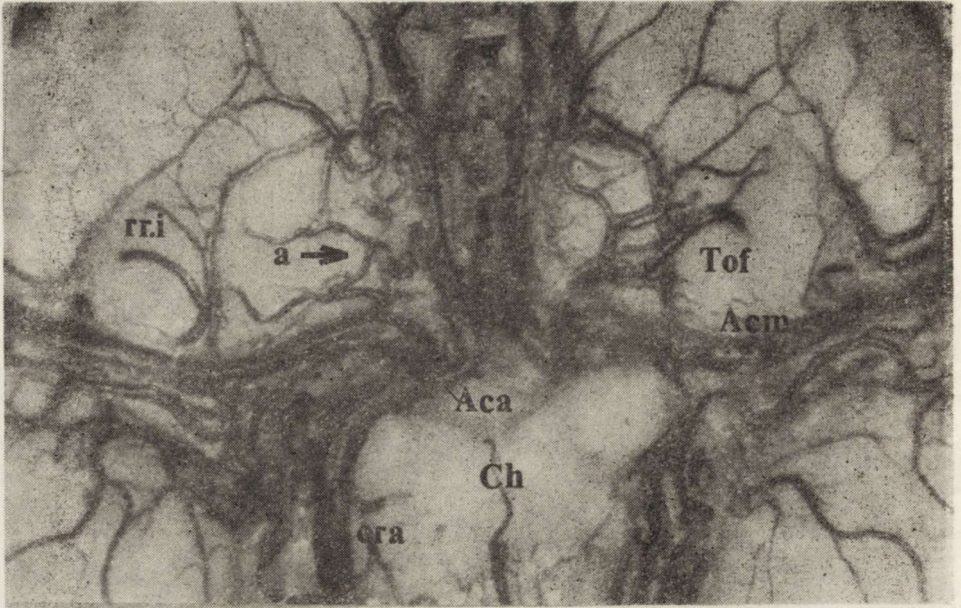
i niesymetrycznie w liczbie od 6 do 12 gałęzi z odcinków początkowych tętnicy środkowej mózgu lub jej 1-rzędowych gałęzi korowych.

Z uwagi na przebieg gałęzi wewnętrznych tętnicy środkowej mózgu w jamie podpajęczynówkowej oraz w prążkowie wyróżniono dwa odcinki w ich pniach: odcinek zewnątrzmozgowy i odcinek wewnątrzmozgowy.



Ryc. 2. Topografia, budowa, przebieg oraz miejsce odejścia od pni macierzystych gałęzi wewnętrznych t. środkowej mózgu (rr.i) w okolicy guzka węchowego na powierzchni podstawnej prawej półkuli mózgowia kota. Widoczne są cztery gałęzie tętnicze wewnętrzne prążkowiec w przestrzeni podpajęczynówkowej. Niektóre z tych gałęzi wewnętrznych rozgałęziają się przed wejściem do mózgu na drobne odgałęzienia korowe i grubsze odgałęzienia penetrujące w głąb mózgu. Pow. 6 X
 Acc — t. szyjna mózgowia, cra — odnoga przednia t. szyjnej mózgowiej, crp — odnoga tylna t. szyjnej mózgowiej, Acm — t. środkowa mózgowiej, Aca — t. przednia mózgu, Ach — t. naczyniówkowa (przednia), Ch — skrzyżowanie wzrokowe, Hp — przysadka

Topography, anatomical structure, course and point of ramification of maternal trunks of internal branches of middle cerebral artery (rr.i) in region of olfactory nodule on the surface of the right cerebral hemisphere. The four arterial internal branches of striatum are visible in the subarachnoid space. Some of these internal branches ramify in front of the entrance to the brain to the thin cortical ramifications and thick branches penetrating into deep layer of cat brain. X 6.
 Acc — cerebral carotid artery, cra — anterior limb of cerebral carotid artery, crp — posterior limb of cerebral carotid artery, Acm — middle cerebral artery, Aca — anterior cerebral artery, Ach — choroidal artery (anterior), Ch — optic chiasm, Hp — hypophysis



Ryc. 3. Różnice anatomiczne oraz inna topografia gałęzi wewnętrznych t. środkowej mózgu (rr.i) w odcinkach zewnątrzmoźgowych w okolicy guzków węchowych prawej i lewej półkuli mózgu. W oponie miękkiej prawej półkuli mózgu widoczne jest również szerokie zespolenie (średnicy 140 μm) gałęzi głębokiej tętnicy środkowej mózgu z podobną gałęzią tętnicy przedniej mózgu. Pow. 8 \times

Aca — t. przednia mózgu, Acm — t. środkowa mózgu, cra — odnoga przednia t. szyjnej mózgowej, rr.i — gałęzie wewnętrzne t. środkowej mózgu, Ch — skrzyżowanie wzrokowe, Tof — guzek węchowy, a — zespolenie

Anatomical differences and other topography of internal branches of middle cerebral artery (rr.i) in extracerebral segments of arterioles in region of olfactory nodules of left and right cerebral hemispheres. In pia mater of right cerebral hemisphere wide arterial anastomosis (140 μm in diameter) of internal branches of anterior cerebral artery is seen. $\times 8$

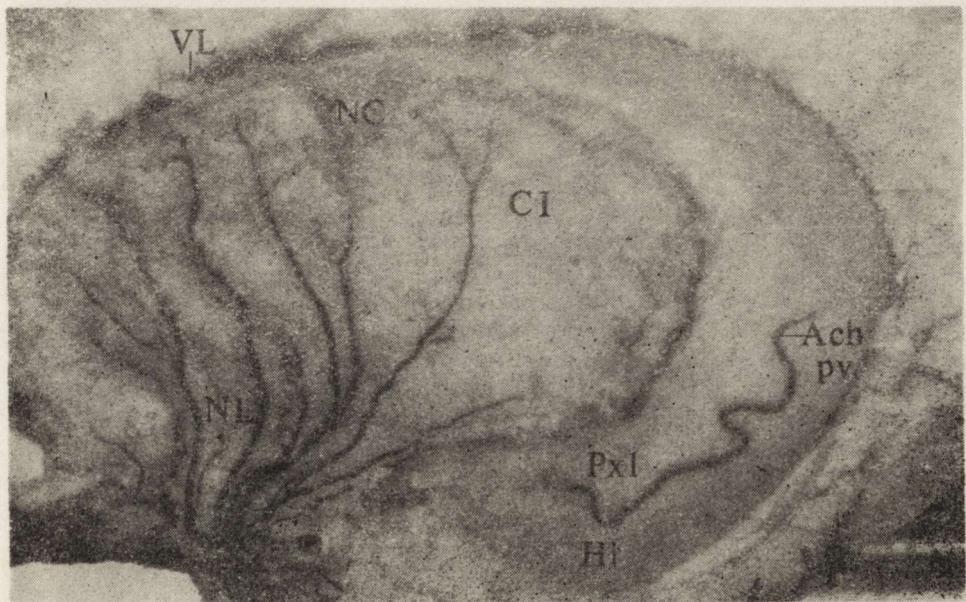
Aca — anterior cerebral artery, Acm — middle cerebral artery, cra — anterior limb of cerebral carotid artery, rr.i — internal branches of middle cerebral artery, Ch — optic chiasm, Tof — olfactory nodule, a — anastomosis

W jamie podpajęczynówkowej gałęzie wewnętrzne biegną zmiennie i niesymetrycznie krótkim odcinkiem w oponie miękkiej okolicy guzka węchowego i wchodzi do mózgu w okolicy tego guzka. Niektóre z tych gałęzi przed wejściem do mózgu dają drobne rozgałęzienia korowe (ryc. 2). W pojedynczych przypadkach rozgałęzienia głębokie tętnicy środkowej mózgu w odcinku zewnątrzmoźgowego przebiegu tworzą szerokie zespolenia, średnicy 140 μm z gałęziami głębokimi tętnicy przedniej mózgu (ryc. 3).

Obok gałęzi biegnących w oponie miękkiej występowały również gałęzie wewnętrzne, które odchodziły bezpośrednio od ściany górnej pnia tętnicy środkowej mózgu przylegającej do mózgowia i zasłonięte pniem macierzystym wchodziły do tkanki mózgowej. Na podstawie wyników z tej części badań stwierdziliśmy, że: 1) okolica guzka węchowego, jako

miejsce wejścia gałęzi wewnętrznych do prążkowania, odpowiada istocie dziurkowanej przedniej w mózgowiu człowieka; 2) z uwagi na zmienność przebiegu gałęzi wewnętrznych tętnicy środkowej mózgu w odcinku zewnątrzmożgowym nie można wnioskować o ich topografii i obszarach unaczynienia w prążkowie.

Na podstawie topografii oraz różnic w budowie tętniczek przebiegających w prążkowie i torebce wewnętrznej wyróżniono podobnie jak u człowieka, psa, cielęcia, owcy i królika długie tętniczki soczewkowo-torebkowo-ogonowe (średnicy 140—220 μm) oraz krótsze i cieńsze tętniczki soczewkowo-torebkowe (średnicy 75—140 μm) tętnicy środkowej mózgu. Pnie tych tętniczek w skorupie jądra soczewkowatego tworzyły zwykle promienisty układ. W istocie szarej części przedniej skorupy jądra soczewkowatego biegiły najczęściej pnem łukowato wygiętym ku przodowi, z małą ilością odgałęzień pobocznych i dzieliły się najliczniej



Ryc. 4. Przebieg gałęzi soczewkowo-torebkowo-ogonowych t. środkowej mózgu w prążkowie i torebce wewnętrznej lewej półkuli mózgu kota. Długie i krótkie gałęzie wewnętrzne zaopatrują jądro soczewkowate (NL), jądro ogoniaste (NC), przednią i tylną odnogę torebki wewnętrznej oraz odcinek dolny jej części zasoczewkowej (CI). Na powierzchni komorowej hipokampa (Hi), w splocie naczyniówkowym komory bocznej mózgu (Pxl) widoczny jest kręty, pojedynczy pień tętnicy naczyniówkowej (Ach — pv). Pow. 5 \times .

VL — część środkowa komory bocznej mózgu

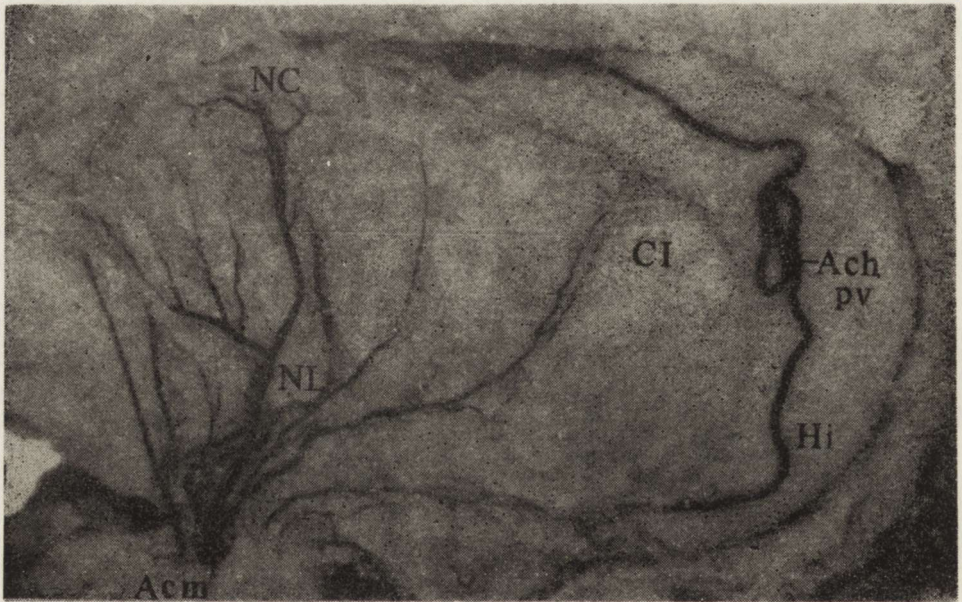
Course of lenticulo-capsule-caudal branches of middle cerebral artery in striatum and internal capsule of left hemisphere in cat brain.

Long and short internal branches supply lenticular nucleus (NL), caudate nucleus (NC), crus anterior and posterior of internal capsule and inferior segment of its retrolenticular part (CI). On the ventricular surface of hippocampus (Hi), in choroid plexus of lateral ventricle (Pxl) single, meandering trunk of choroidal artery (Ach—pv) is seen. $\times 5$.

VL — middle part of lateral ventricle

dopiero w odnodze przedniej torebki wewnętrznej i w istocie szarej głowy i trzonu jądra ogoniastego. W części środkowej i tylnej skorupy gałęzie tętnicy środkowej mózgu biegły ukośnie w górę ku tyłowi, prostym pnem z równie małą ilością odgałęzień pobocznych. Obszarem unaczynienia tych gałęzi była skorupa jądra soczewkowatego, jądro ogoniaste oraz odnoga przednia, odnoga tylna i odcinek górny części zasoczkowej torebki wewnętrznej.

Krótkie gałęzie, soczewkowo-torebkowe, tętnicy środkowej mózgu biegły w głębszych warstwach skorupy i w gałce bladej jądra soczewkowatego, zwykle w ilości od 4 do 6 gałęzi. Nie miały one silnie rozwiniętych rozgałęzień pobocznych i w przebiegu były najczęściej proste. Zakresem ich unaczynienia była skorupa i gałka bladej jądra soczewkowatego, odnoga przednia, odnoga tylna i odcinek dolny części zasoczkowej torebki wewnętrznej (ryc. 4, 5, 6).

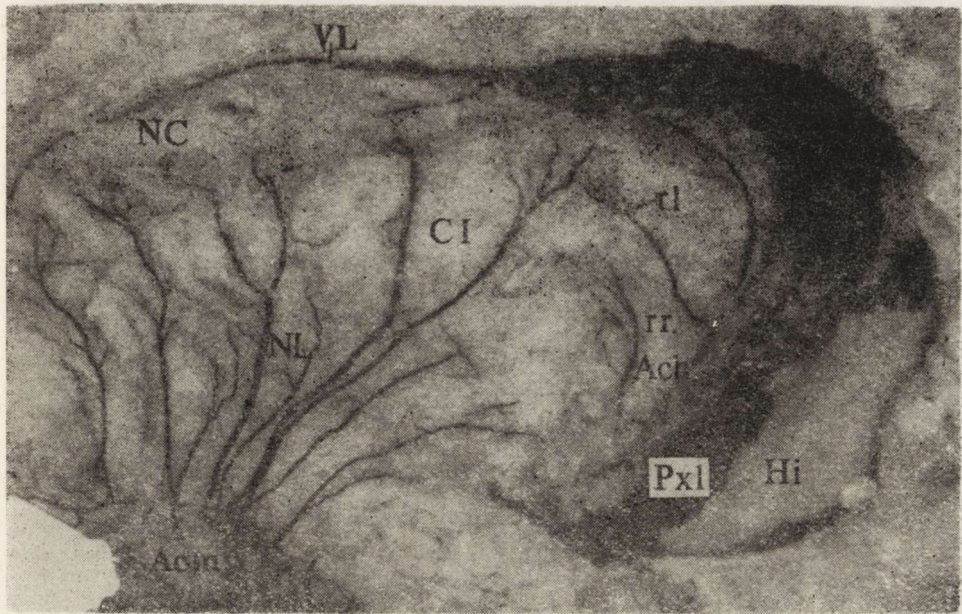


Ryc. 5. Odmierna budowa, liczba i topografia gałęzi głębokich soczewkowo-torebkowo-ogonowych i soczewkowo-torebkowych t. środkowej mózgu w prażkowiu i torebce wewnętrznej lewej półkuli mózgowia innego kota. Szczególnie silnie rozwinięta jest gałąź soczewkowo-torebkowo-ogonowa w części środkowej skorupy jądra soczewkowatego (NL). W splocie naczyniówkowym komory bocznej mózgu widoczny jest zawężony pień t. naczyniówkowej (Ach—pv). Pow. 6 X.

Acm — t. środkowa mózgu, NC — jądro ogoniaste, CI — torebka wewnętrzna, Hi — powierzchnia komorowa hipokampa

Various structure, number and topography of deep (internal) lenticulo-capsule-caudal and lenticulo-capsule branches of middle cerebral artery in striatum and internal capsule of left hemisphere in another cat brain. Lenticulo-capsule-caudal branches in middle part of putamen of lenticular nucleus (NL) is particularly strongly developed. In choroid plexus of lateral ventricle the volvulus truncus of choroidal artery (Ach—pv) is observed. X 6.

Acm — middle cerebral artery, NC — caudate nucleus, CI — internal capsule, Hi — ventricular surface of hippocampus



Ryc. 6. Topografia gałęzi soczewkowo-torebkowo-ogonowych t. środkowej mózgu oraz rozgałęzień t. naczyniówkowej w prążkowiec i torebce wewnętrznej lewej półkuli mózgu kota. Zwraca uwagę łukowaty układ gałęzi długich — soczewkowo-torebkowo-ogonowych w części przedniej i środkowej skorupy jądra soczewkowatego (NL) oraz ukośny i liniowy przebieg gałęzi soczewkowo-torebkowo-ogonowej w części tylnej skorupy jądra soczewkowatego. Zwraca uwagę również fakt, że długie gałęzie wewnętrzne na całej długości przebiegu przez jądro soczewkowate mają prawie równy średnicy pień i dają bardzo mało rozgałęzień pobocznych. Dzielą się one dopiero w torebce wewnętrznej i najliczniej w głowie i trzonie jądra ogoniastego (NC). W części zasoczkowej torebki wewnętrznej (rl) widoczne są trzy gałęzie wewnętrzne odcinka śródkomorowego t. naczyniówkowej (rr.Ach).
Pow. 6 X.

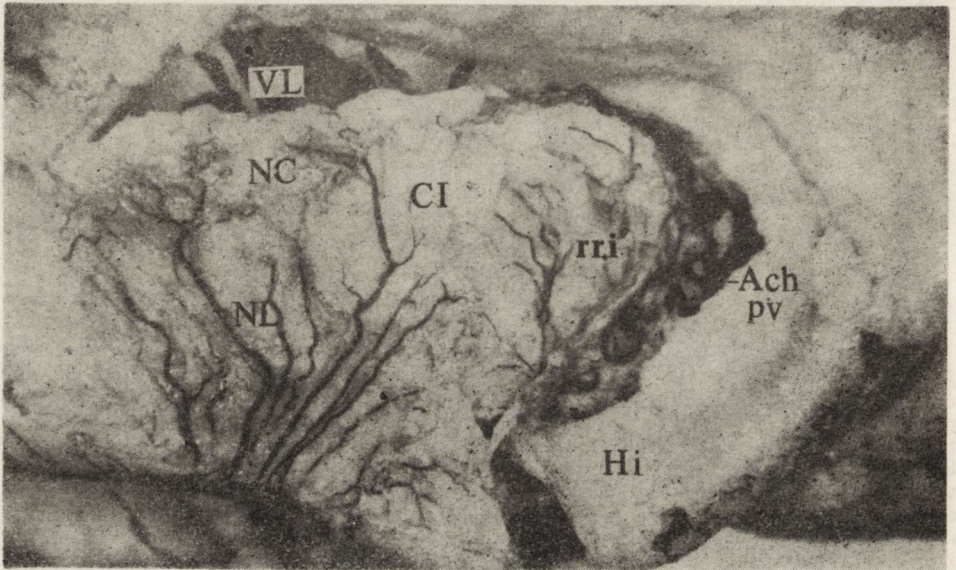
Acm — t. środkowa mózgu, CI — torebka wewnętrzna, VL — komora boczna mózgu, Pxl — splot naczyniówkowy komory bocznej mózgu, Hi — powierzchnia komorowa hipokampa

Topography of lenticulo-capsule-caudal branches of middle cerebral artery and ramifications of choroidal artery in striatum and internal capsule of left hemisphere of cat brain. Arcuate system of long lenticulo-capsule-caudal branches in anterior and middle parts of putamen of lenticular nucleus (NL) and sloping and linear course of lenticulo-capsule-caudal branches in posterior part of putamen of lenticular nucleus draw our attention. It is worth noticing, that long internal branches on the all length of their course through nucleus caudatus have the trunk of almost the same diameter and produce a small number of collateral ramifications. They divide only in internal capsule and in great number in the head and corpus of nucleus caudatus (NL). In the retro-lenticular part of internal capsule (rl) three internal branches of intraventricular segment of choroidal artery (rr.Ach) is seen. X 6.

Acm — middle cerebral artery, CI — internal capsule, VL — lateral ventricle, Pxl — choroidal plexus, Hi — hippocampus

Dodatkowym źródłem unaczynienia torebki wewnętrznej były gałęzie wewnętrzne odcinka śródkomorowego tętnicy naczyniówkowej. Odczodziły one najczęściej w liczbie 2—3 gałęzi bezpośrednio od pnia odcinka śródkomorowego tętnicy naczyniówkowej, biegnącego wzdłuż brzegu przytwierdzonego splotu naczyniówkowego komory bocznej. Po

wejściu do mózgu biegły przez włókna promienistości wzrokowej łukowato wygiętym pniem ku górze i do przodu, i rozgałęziały się miotelkowato we włóknach torebki wewnętrznej oraz we wzgórze. Zaopatrywały one odcinek górny i środkowy części zasoczkowej torebki wewnętrznej, ciało kolankowate boczne oraz części górno-boczne wzgórza (ryc. 7).



Ryc. 7. Typowy przebieg długich i krótkich gałęzi głębokich t. środkowej mózgu w prążkowi i torebce wewnętrznej oraz topografia i zakres unaczynienia gałęzi głębokich odcinka śródkomorowego t. naczyniówkowej (przedniej) — (Ach—pv) w lewej półkuli mózgu kota. Gałęzie głębokie t. naczyniówkowej (rr.i) biegną wiązka łukowato wygiętych ku przodowi gałęzi przez włókna promienistości wzrokowej i dochodzą do części górno-bocznej wzgórza.

NL — jądro soczewkowate, NC — jądro ogoniaste, CI — torebka wewnętrzna, Hi — hipokampus, VL — komora boczna mózgu, (część środkowa)

Typical course of long and short deep branches of middle cerebral artery in striatum and in internal capsule with the topography and range of vascularisation of deep branches in intraventricular segment of choroidal artery (anterior) — (Ach—pv) in the left hemisphere of cat brain. Deep branches of choroidal artery (rr.i) run as the bundle of arcuate bent towards anterior part branches through the fibers of optic radiation and reach the part of upper-lateral thalamus. $\times 5$. NC — caudate nucleus, NL — lentiform nucleus, CI — internal capsule, Hi — hippocampus, VL — lateral ventricle (middle part)

Na podstawie tej części badań stwierdziliśmy, że topografia oraz zakres unaczynienia gałęzi tętniczych w prążkowi i torebce wewnętrznej w mózgowiu kota są podobne do odpowiedniego układu tętniczego w mózgowiu człowieka w warunkach prawidłowych, mimo odmiennych początków odejścia gałęzi wewnętrznych od pni macierzystych oraz miejsc ich wejścia do mózgu.

WNIOSKI

1. Głównym źródłem unaczynienia jąder prążkowiec i torebki wewnętrznej w mózgowiu kota są podobnie jak u człowieka, psa, cielęcia, owcy i królika długie gałęzie soczewkowo-torebkowo-ogonowe oraz krótkie gałęzie soczewkowo-torebkowe tętnicy środkowej mózgu.

2. Okolica guzka węchowego w mózgowiu kota jako miejsce wejścia gałęzi wewnętrznych do prążkowiec i torebki wewnętrznej odpowiada istocie dziurkowanej przedniej u człowieka.

3. Zmienność przebiegu gałęzi wewnętrznych w odcinku zewnątrz-mózgowym (w jamie podpajęczynówkowej) w mózgowiu kota dowodzi nietrafności stosowanych dawniej podziałów i klasyfikacji gałęzi wewnętrznych w prążkowiec i torebce wewnętrznej i nie ma zastosowania u kota.

4. Mimo różnic w odejściach od pni macierzystych gałęzi tętnicznych prążkowiec u człowieka i kota, topografia i zakres unaczynienia gałęzi w prążkowiec i torebce wewnętrznej są podobne w warunkach prawidłowych i obejmują: jądro ogoniaste, jądro soczewkowane, odnogę przednią i tylną oraz część zasoczewkową torebki wewnętrznej.

5. Dodatkowym źródłem unaczynienia torebki wewnętrznej, jądra ogoniastego, a także wzgórcza kota są podobnie jak u człowieka gałęzie głębokie z odcinka środkomorowego t. naczyńiówkowej.

6. Anatomiczna zmienność liczby, wymiarów, odejść od pni macierzystych, przebiegów, podziałów oraz zakresów unaczynienia wyżej wymienionych gałęzi tętnicznych jest cechą osobniczą badanego mózgu.

АРТЕРИАЛЬНАЯ ВАСКУЛЯРИЗАЦИЯ ЯДЕР ПОЛОСАТОГО ТЕЛА КОШКИ

Резюме

Работа посвящена топографии и сосудистым областям внутренних ветвей центральной артерии головного мозга и передней артерии сосудистого сплетения конечного мозга, а также внутренней сумке головного мозга кошки. Исследования были проведены на 30 головных мозгах кошек, которых артерии прежде инъецировано синтетическими латексами. Представлены строение и топография главных артериальных стволов артериального круга мозга кошки. Авторы указали также на его различия в сопоставлении с соответственной артериальной системой головного мозга человека с особым учетом внутренних ветвей полосатого тела и их мест входа в мозг.

Составлено классификацию внутренних ветвей полосатого тела на основе топографии и пределов их васкуляризации в головном мозге. Выделено длинные ветви полосатого тела — чечевично-капсулярно-каудальные и короткие чечевично-капсулярные ветви центральной артерии головного мозга. Представлена изменчивость хода этих ветвей, как во внемозговой части, в подпаутином пространстве, так и в ядрах полосатого тела и во внутренней сумке. Определено также добавочные источники васкуляризации внутренней сумки, хвостатого ядра и таламуса. Составляли их глубокие ветви средижелудочной части передней артерии сосудистого сплетения.

На основе проведенных исследований сделано анатомическую оценку артериальной васкуляризации в головном мозге человека в нормальных условиях.

ARTERIAL VASCULARIZATION OF THE STRIATAL NUCLEI AND INTERNAL CAPSULE IN CAT

Summary

The present paper deals with the topography and vascular areas of the internal branches of the middle cerebral artery and the anterior choroid artery in telencephalic nuclei and internal capsule of the cat's brain.

The results achieved on 30 cat brains previously administrated with synthetic latexes are presented here. Both the structure and topography of the main arterial trunci of the cerebral arterial circle were described and also the differences between the cat's and the appropriate arterial system in the human cerebrum, with the particular interest in the internal branches of the striatum and their ascent to the brain were clearly indicated.

The internal branches of the striatum were classified on the basis of the topography and the region of their vascularization in the brain. Long branches of striatum "lenticulo-capsulo-caudates" and short "lenticulo-caudates" branches of the middle cerebral artery were distinguished. The variable course of those branches both in the extracerebral segment — in subarachnoid space, in the striatal nuclei and in the internal capsule was described. The additional sources of the vascularization of the internal capsule, caudate nucleus and the thalamus were determined, beside main vascular origin. The deep branches of the intraventricular segment of the anterior choroid artery constitute those sources.

On the basis of the investigations the anatomical evaluation of arterial vascularization of the striatum and the internal capsule of the cat's brain in comparison to the appropriate angioarchitectonic in the human cerebrum in physiological conditions was done.

PIŚMIENNICTWO

1. Campbell A. C. P.: The vascular architecture of the cat's brain. [W:] *The circulation of the brain and spinal cord*. Res. Publ. Nerv. Dis., 1938, 18, 69.
2. Chadzypanagiotis D., Kubasik A.: Tętnice doprowadzające krew do mózgowia kota. *Folia Morph. (Warsz.)* 1968, 27, 447—484.
3. Chadzypanagiotis D.: Arteries on the surface of the cerebral hemisphere in the cat. I. Branches of the middle cerebral artery. *Folia Morph. (Warsz.)*, 1974, 33, 385—398.
4. Chadzypanagiotis D.: Arteries on the surface of the cerebral hemisphere in the cat. II. Branches of the anterior and posterior cerebral artery. *Folia Morph. (Warsz.)*, 1975, 34, 323—336.
5. Durét H.: The arteries of the cerebrum, the brain stem, and the cerebellum. [W:] *Atlas de la vascularisation arterielle du cerveau chez l'homme*. Atlas of the arteries of the human brain. Sandoz, Paris 1971.
6. Goetzen B.: Zastosowanie lateksów syntetycznych kauczuków w anatomicznych badaniach naczyń i przewodów. *Polski Tyg. Lek.*, 1957, 12, 296.
7. Goetzen B.: Unaczynienie wewnętrzne mózgowia człowieka i niektórych zwierząt. [W:] *Atlas neuropatologiczny*. Red. E. Osetowska PZWL, Warszawa 1970.
8. Heubner O.: The arteries of the cerebrum, the brain stem, and the cerebellum. [W:] *Atlas de la vascularisation arterielle du cerveau chez l'homme*. Atlas of the arteries of the human brain. Sandoz, Paris 1971.

9. Kapustina E. B.: Arterialnaja siet w miakkoj mozgowej obołoczkie pałuszaryj gołownogo mozga kozzki, sabaki i krolika. cyt. wg 11 poz. piśm.
10. Kapustina E. B.: Principy organizaczi i razwitia sosudistoj sistemy mozga. cyt. wg 12 poz. piśm.
11. Kłosowski B. N.: Cirkulacja krwi w mozgu. Medgiz, Moskwa 1951.
12. Kłosowski B. N., Kosmarska E. N.: Diejatielnoje i tormoznoje sostojanije mozga. Medgiz, Moskwa 1961.
13. Lazorthes G.: Vascularisation et circulation cerebrales. Masson, Paris 1961.
14. Testut L.: Traite d'Anatomie Humaine. O. Doin, Paris 1904.

Adres autorów: Samodzielna Pracownia Angiologii Ośrodkowego Układu Nerwowego AM, ul. Kopcińskiego 20, 90—153 Łódź

cd. ze s. 256

6) 11 grudnia 1982 r.:

— M. Wender (Klinika Neurologii AM, Poznań) — Wrażenia naukowe z IX Kongresu Neuropatologii w Wiedniu.

— J. Dymecki (Zakład Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego, Warszawa) — „Teoretyczne podstawy doświadczalnego modelu Parkinsonizmu i domózgowych przeszczepów tkanki nerwowej”.

— D. Markiewicz, J. Dymecki (Zakład Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego, Warszawa) — „Porównawcza ocena zmian morfologicznych w dwu modelach Parkinsonizmu, wytworzonych przez jednostronne stereotaktyczne uszkodzenie istoty czarnej, przy pomocy elektrokoagulacji i 6-hydroxydopaminy”.

— M. Półtorak, J. Dymecki, D. Markiewicz, Z. Lipińska, O. Puciłowski, W. Dyr (Zakład Neuropatologii, Zakład Psychofarmakologii i Fizjologii Układu Nerwowego Instytutu Psychoneurologicznego, Warszawa) — „Metodyka i wstępne wyniki domózgowego przeszczepiania niedojrzałej istoty czarnej szczurom z doświadczalnym Parkinsonizmem”.

— O. Puciłowski, A. Bidziński, K. Kostowski, J. Dymecki, M. Półtorak, Z. Lipińska, W. Dyr (Zakład Psychofarmakologii i Fizjologii Układu Nerwowego, Zakład Biochemii i Zakład Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego, Warszawa) — „Wyniki badań behawioralnych i biochemicznych szczurów z doświadczalnie wytworzonym Parkinsonizmem przed i po domózgowym wszczepieniu niedojrzałej istoty czarnej”.

Jerzy Dymecki

KOMUNIKAT

W dniach od 3 do 6 maja 1984 r. odbędzie się w Krakowie VI konferencja Stowarzyszenia Neuropatologów Polskich połączona z III Polsko-NRD-owskim Sympozjum Neuropatologicznym.

W okresie Konferencji odbędzie się Walne Zgromadzenie członków SNP.

Tematyka:

Rozwój i zaburzenia rozwojowe o.u.n.

Patologia rdzenia kręgowego.

Tematy wolne.

Adres Komitetu Organizacyjnego:

prof. dr hab. med. Józef Kałuża

Zakład Neuropatologii Instytutu Neurologii AM

Botaniczna 3, 31-503 Kraków

MIROSLAW J. MOSSAKOWSKI, BARBARA KWIATKOWSKA-PATZER

WPLYW INDOMETACYNINY NA NIEDOKRWIENNE USZKODZENIA
MÓZGU U CHOMIKA MONGOLSKIEGO
(*MERIONES UNGUICULATUS*)

Zespół Neuropatologii i Pracownia Fizjologii Krążenia Centrum Medycyny
Doświadczalnej i Klinicznej PAN, Warszawa

W licznych badaniach patofizjologicznych i patomorfologicznych wykazano, że jednym z następstw przejściowego niedokrwienia mózgu są zmienne w swoim nasileniu i długotrwałości zaburzenia krążenia mózgowego, występujące w okresie recyrkulacji krwi (Waltz, Sund 1967; Ames i wsp. 1968; Crowell, Olsson 1972; Mchedlishvili i wsp. 1974; Mossakowski 1974; Kapuściński 1974; Kapuściński i wsp. 1975; Mrsulja i wsp. 1975; Kelly, Halsey 1976; Fischer i wsp. 1977; Mossakowski, Gadamski 1979; Crockard i wsp. 1980). Nieprawidłowości te obok pierwotnego czynnika niedokrwienego mogą odgrywać zasadniczą rolę w patogenezie nieodwracalnych uszkodzeń tkanki nerwowej (Mossakowski, Zelman 1975). Mechanizm poniedokrwienych zaburzeń krążenia mózgowego nie jest jednoznacznie wyjaśniony, pomimo że uwzględniano w nim udział licznych czynników o charakterze zarówno ogólnym jak i miejscowym. Wśród tych ostatnich sugerowano między innymi patogenetyczną rolę prostaglandyn, wzrost zawartości których w mózgu stwierdzono w szeregu badań doświadczalnych (Ruszczewski 1977; Gaudet, Levine 1979; Iannotti i wsp. 1981; Bhakoo i wsp. 1982). Supozycje te znalazły poparcie między innymi w spostrzeżeniach Furlowa i Hallenbecka (1978, 1979), którzy wykazali, że podanie indometacyny, znanego inhibitora cyklo-oksigenazy, w okresie poprzedzającym przejściowe niedokrwienie mózgu zapobiega w ogóle lub znacząco zmniejsza poniedokrwienne zaburzenia krążenia mózgowego. W naszych badaniach (Mossakowski, Kwiatkowska-Patzer 1982) nad wpływem indometacyny na stan sieci naczyniowej mózgu, po jego przejściowym niedokrwieniu wykazano, że inhibitor syntetazy prostaglandyn zastosowany przed podwiązaniem tętnicy szyjnej zapobiegał wystąpieniu rozsianych drobnych ognisk niedokrwienia tkanki, pozostając bez wpływu na uogólnione przekrwienie żylnie mózgu oraz ogniskowe niedokrwienie zlokalizowane

w obszarach pogranicza unaczynienia przez duże tętnice mózgu. Ponieważ tym właśnie drobnym, rozszanym przede wszystkim w formacjach szarych, ogniskom niedokrwienia, stanowiącym najbardziej powtarzalne i długotrwałe zjawisko, charakterystyczne dla okresu recyrkulacji krwi, przypisywano podstawową rolę w rozwoju poniedokrwiennych nieodwracalnych uszkodzeń tkankowych w mózgu, wydawało się celowe prześledzenie wpływu indometacyny na obraz neuropatologiczny i dynamikę tych zmian.

Założenie to wymagało zastosowania właściwego modelu doświadczalnego niedokrwienia mózgu, prowadzącego do stałych i powtarzalnych w swoim charakterze i topografii uszkodzeń tkankowych. Warunki te spełniało obustronne podwiązanie tętnic szyjnych wspólnych u chomików mongolskich. Zostało ono szczegółowo scharakteryzowane w aspektach patofizjologicznych i patomorfologicznych w naszej poprzedniej pracy (Kapuściński, Mossakowski 1983).

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na chomikach mongolskich (*Meriones unguiculatus*), dorosłych samcach o masie ciała 55—70 g, którym w narkozie eterowej zaciskano przy użyciu klipsów Heifetza obie tętnice szyjne wspólne na okres 30 min. Wszystkim zwierzętom wykonywano tracheosomię, wykorzystywaną w przypadku zaburzeń spontanicznej czynności oddechowej do sztucznej wentylacji powietrzem pokojowym, przy użyciu mechanicznej pompy oddechowej firmy Z. D. „Medipan”. Dokładny opis zabiegu przedstawiono w poprzedniej pracy (Kapuściński, Mossakowski 1983).

Zwierzęta doświadczalne w liczbie 12, na 45 min przed zamknięciem tętnic szyjnych otrzymały dootrzewnowo iniekcję indometacyny (Merck-Sharp and Dohme, Res. Lab. USA) rozpuszczonej w płynie Krebsa-Ringera w dawce 10 mg/1 kg ciężaru ciała. Roztwór indometacyny przygotowywano na świeżo przed każdym doświadczeniem, rozpuszczając proszek w 70% alkoholu etylowym (5 mg/0,3 ml), a następnie rozprowadzając w 5 ml wysyconego CO₂ płynu Krebsa-Ringera.

Zwierzęta kontrolne w liczbie 6 zamiast indometacyny otrzymywały w tym samym czasie dootrzewnową iniekcję rozpuszczalnika. Zwierzęta doświadczalne i kontrolne zabijano przez dekapitację, w grupach po 3 (2 zwierzęta doświadczalne i 1 kontrolne) po upływie 1, 2, 3, 4, 5 i 6 godz. od zdjęcia zacisku z tętnic szyjnych. Mózgi po natychmiastowym wyjęciu z jamy czaszki utrwalano w całości przez okres 7—10 dni w zobojętnionym do pH 7,2 10% roztworze formaliny. Następnie mózgi krojono w płaszczyźnie czołowej na bloki przechodzące na wysokości przednich i w pełni rozwiniętych zwojów podstawy oraz mostu z mózdzkiem

i przeprowadzano do parafiny. Parafinowe skrawki barwiono hematoxyliną i eozyną i według metody Klüvera-Barrery.

Dla wyłączenia bezpośredniego wpływu indometacyny oraz zabiegu doświadczalnego wprowadzono dodatkowe kontrole. U czterech zwierząt podano identyczną jak u zwierząt doświadczalnych dawkę indometacyny bez wykonywania żadnego zabiegu doświadczalnego, a następnie dekapitowano je, po 2, po upływie 3 i 6 godz., a u dalszych 4 po uprzedniej premedykacji indometacyną wykonano zabieg rzekomy, polegający na wyizolowaniu i odsłonięciu obu tętnic szyjnych bez ich podwiązania. Również w tym przypadku zwierzęta zabijano przez dekapitację po upływie 3 i 6 godz. od zakończenia zabiegu rzekomego. Ostatnią wreszcie kontrolę stanowiły zwierzęta, u których wykonywano zabieg rzekomy bez uprzedniego podania indometacyny. Przygotowanie i opracowanie materiału do badań histopatologicznych we wszystkich dodatkowych grupach kontrolnych było identyczne jak opisano powyżej.

WYNIKI

Obraz kliniczny

Szczegółowy obraz kliniczny zwierząt z 30-minutowym, obustronnym podwiązaniem tętnic szyjnych wspólnych, zarówno w okresie niedokrwienia, jak i w czasie 6-godzinnej recyrkulacji krwi przedstawiono w poprzedniej pracy (Kapuściński, Mossakowski 1983). W obecnym opracowaniu zwrócono przeto uwagę na niektóre tylko jego elementy, które mogły decydować o utrzymaniu zwierząt przy życiu. U wszystkich zwierząt zarówno doświadczalnych, jak i kontrolnych z podwiązaniem tętnic szyjnych, występowały zaburzenia czynności oddechowej. Obecne one były w okresie niedokrwienia i po przywróceniu krążenia w mózgu. Wyrażały się przyspieszeniem oddechu, z następowym jego zwolnieniem, a w znacznej liczbie przypadków zatrzymaniem spontanicznej czynności oddechowej, wymagającym stosowania oddechu kontrolowanego. Przyspieszenie czynności oddechowej w obu grupach występowało we wstępnym okresie po podwiązaniu tętnic szyjnych, osiągając wartości od 200 do 300 oddechów na minutę. Trwało zazwyczaj 2—5 min, ulegając następnie zwolnieniu nierzadko do około 50/min. Tylko u dwóch zwierząt z grupy doświadczalnej przeciągnęło się ono do 20 minuty niedokrwienia. Zatrzymanie czynności oddechowej w grupie doświadczalnej wystąpiło u 5 zwierząt, przy czym było ono jednokrotne w dwóch przypadkach, a dwukrotne w trzech. W grupie doświadczalnej, obejmującej łącznie 6 zwierząt — jednokrotne zatrzymanie oddechu w czasie niedokrwienia mózgu wystąpiło u dwóch, a dwukrotne u trzech zwierząt. W okresie po przywróceniu krążenia krwi w mózgu, zatrzymanie oddechu wystąpiło u 5 zwierząt z grupy doświadczalnej i u 2 z grupy kontrolnej. W okresie poniedokrwinnym u zwierząt obu grup obserwo-

wano drżenia i drgawki kończyn, ruchy rotacyjne i objawy pobudzenia ruchowego.

Obraz patomorfologiczny

W obrazie makroskopowym ośrodkowego układu nerwowego nie stwierdzono zmian patologicznych w żadnej grupie badanych zwierząt.

Mikroskopowe nieprawidłowości strukturalne ośrodkowego układu nerwowego występowały zarówno u zwierząt kontrolnych, jak i we właściwej grupie doświadczalnej, różniły się one jednak swoją rozległością i dynamiką, a po części również swoim charakterem. Zmiany te w obu grupach zwierząt, a zwłaszcza w grupie kontrolnej wykazywały wyraźną zależność od czasu po niedokrwieniu.

U zwierząt z niedokrwieniem mózgu, którym nie podawano indometacyny, najwcześniejsze uszkodzenia tkankowe występowały już w pierwszej godzinie po udrożnieniu tętnic szyjnych i zlokalizowane były w bocznej lub centralnej części podwzgórza, w przegrodzie oraz w boczno-brzuszej i grzbietowej części wzgórza. Miały one charakter drobnych, słabo odgraniczonych od otoczenia ognisk rozluźnienia neuropilu, związanego z jego wakuolizacją (ryc. 1). Położone w ich obrębie komórki nerwowe zachowywały prawidłowy obraz morfologiczny. W 2 i 3 godz. recyrkulacji krwi w mózgu proces patologiczny ulegał zaawansowaniu. Ogniska zgąbczenia tkanki, jedno- lub obustronne, występujące nadal wyłącznie w przedstawionym powyżej umiejscowieniu, były rozleglejsze

Ryc. 1. 1 godz. po niedokrwieniu mózgu bez stosowania indometacyny. Delikatne, nieostre rozluźnienie utkania w jądrach przegrody. H—E. Pow. 100 ×

1 h following cerebral ischemia without indomethacin pretreatment. Delicate, ill-defined tissue rarefaction in the septal nuclei. H—E. × 100

Ryc. 2. 2 godz. po niedokrwieniu mózgu bez stosowania indometacyny. Liczne, źle ograniczone, zlewające się ogniska wakuolizacji neuropilu w bocznej części podwzgórza. H—E. Pow. 100 ×

2 h following cerebral ischemia without indomethacin pretreatment. Numerous, confluent, ill-defined foci of neuropil vacuolization in lateral hypothalamus. H—E. × 100

Ryc. 3. 3 godz. po niedokrwieniu mózgu bez stosowania indometacyny. Rozległe, dobrze ograniczone ognisko rozluźnienia utkania w brzuszno-bocznej części wzgórza. H—E. Pow. 60 ×

3 h following cerebral ischemia without indomethacin pretreatment. Large, well defined focus of tissue rarefaction in ventro-lateral portion of the thalamus. H—E. × 60

Ryc. 4. 3 godz. po niedokrwieniu mózgu bez stosowania indometacyny. Ognisko zaawansowanego zgąbczenia tkanki w przegrodzie. Zachowane neurony ciemne i obkurczone. H—E. Pow. 200 ×

3 h following cerebral ischemia without indomethacin pretreatment. Focus of advanced tissue spongiosis in septal nuclei. Remaining neurons are dark and shrunken. H—E. × 200

Ryc. 5. 6 godz. po niedokrwieniu mózgu bez stosowania indometacyny. Dobrze ograniczone ognisko selektywnej martwicy w bocznej części wzgórza. Przyśrodkowo rozległe zblednięcie i wakuolizacja tkanki. H—E. Pow. 60 ×

6 h following cerebral ischemia without indomethacin pretreatment. Well defined focus of selective necrosis in the lateral portion of the thalamus. Medial diffuse palor and tissue vacuolization. H—E. × 60



Ryc. 6. 5 godz. po niedokrwieniu mózgu bez stosowania indometacyny. Rozległe rozluźnienie utkania skorupy. H—E. Pow. 200 ×
5 h following cerebral ischemia without indomethacin pretreatment. Diffuse disintegration of the putamen. H—E. × 200

i ostro obrysowane (ryc. 2 i 3). Znajdujące się w nich komórki nerwowe wykazywały cechy chromatolizy lub były obkurczone i ciemno wybarwione (ryc. 4). Od 4 godz. po niedokrwieniu proces patologiczny ulegał uogólnieniu. Obok zlokalizowanych jak uprzednio, rozległych, wyraźnie zdemarkowanych ognisk zgąbczenia tkanki pozbawionych komórek nerwowych lub zawierających ich ciemne, obkurczone profile (ryc. 5), występowały zmiany w innych strukturach ośrodkowego układu nerwowego. W zwojach podstawy, przede wszystkim skorupie oraz w korze nowej na sklepiści półkul pojawiały się ogniska rozrzedzenia utkania, o podobnym charakterze jak opisane w podwzgórzu i wzgórzu we wczesnych godzinach po niedokrwieniu (ryc. 6). W korze miały one układ warstwowy, ograniczony do jej jednej warstwy, zazwyczaj III, bądź festonowaty obejmujący po kilka warstw (ryc. 7). W istocie białej obserwowano rozluźnienie utkania z porozsuwanymi pęczkami włókien, pomiędzy którymi były widoczne oligodendrocyty z cechami ostrego obrzmienia (ryc. 8). W korze nowej, zwłaszcza w jej warstwach piramidowych oraz w zakręcie hipokampa występowały liczne komórki nerwowe z cechami schorzenia ischemicznego (ryc. 9). W korze amonalnej występowało ponadto znaczne rozluźnienie podłoża komórek dwupiramidowych oraz ich mniej lub bardziej rozległe ubytki (ryc. 10). Opisane zmiany zwiększały nasilenie i rozległość w kolejnych godzinach po wznowieniu krążenia mózgowego. Zwracał uwagę fakt braku odczynu hematogenego i glejowego towarzyszącego nieprawidłowościom tkan-

Ryc. 7. 6 godz. po niedokrwieniu mózgu bez stosowania indometacyny. Wakuolizacja III warstwy kory mózgu. H—E. Pow. 200 ×

6 h following cerebral ischemia without indomethacin pretreatment. Laminar vacuolization of the IIIrd cortical layer. H—E. × 200

Ryc. 8. 5 godz. po niedokrwieniu mózgu bez stosowania indometacyny. Rozluźnienie utkania podkorowej istoty białej. H—E. Pow. 200 ×

5 h following cerebral ischemia without indomethacin pretreatment. Loosen pattern of the subcortical white matter. H—E. × 200

Ryc. 9. 4 godz. po niedokrwieniu mózgu bez stosowania indometacyny. Liczne kwasochłonne neurony w warstwie piramidowej rogu Amona oraz rozluźnione utkanie podkorowej istoty białej. H—E. Pow. 100 ×

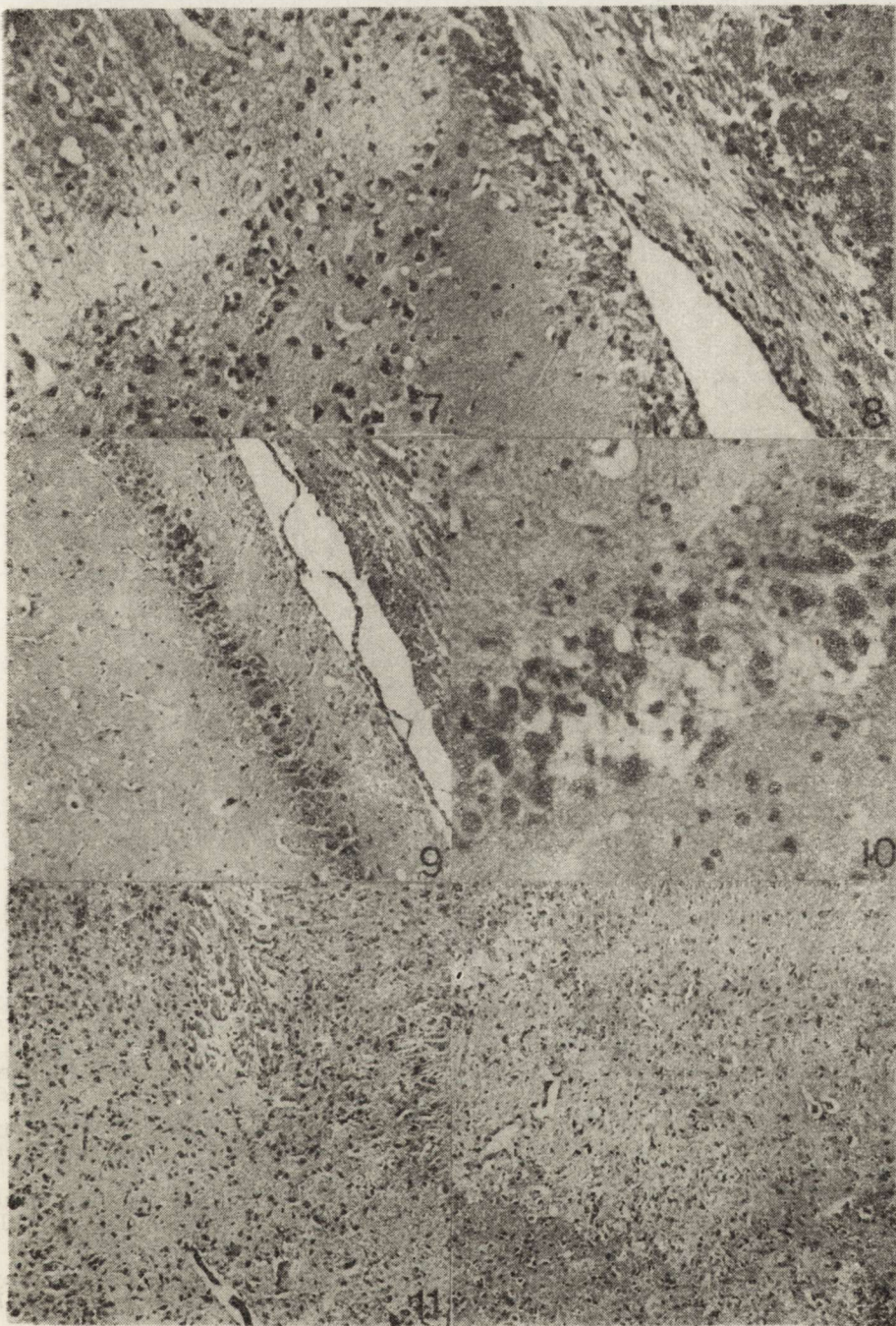
4 h following cerebral ischemia without indomethacin pretreatment. Numerous eosinophilic neurons in the pyramidal layer of Ammon's horn and loose texture of the subcortical white matter. H—E. × 100

Ryc. 10. 5 godz. po niedokrwieniu mózgu bez stosowania indometacyny. Rozluźnienie neuropilu, zwyrodnienie i ubytki komórek nerwowych warstwy piramidowej rogu Amona. H—E. Pow. 400 ×

5 h following cerebral ischemia without indomethacin pretreatment. Tissue rarefaction and neuronal degeneration and loss in the pyramidal layer of Ammon's horn. H—E. × 400

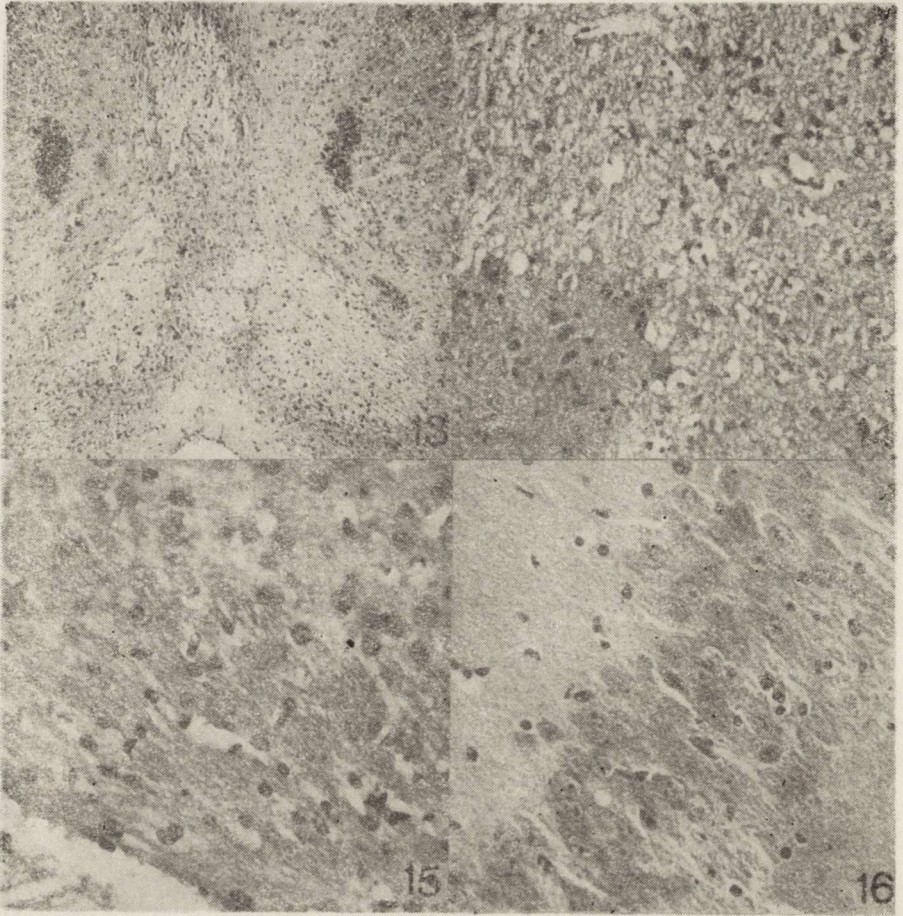
Ryc. 11. 2 godz. po niedokrwieniu mózgu, poprzedzonym podaniem indometacyny. Delikatne rozluźnienie utkania tkanki w bocznej części podwzgórza. H—E. Pow. 100 ×

2 h following cerebral ischemia with indomethacin pretreatment. Delicate tissue rarefaction in lateral portion of hypothalamus. H—E. × 100



Ryc. 12. 2 godz. po niedokrwieniu mózgu, poprzedzonym podaniem indometacyny. Zle ograniczone ognisko delikatnej wakuolizacji tkanki w bocznej części wzgórza. H—E. Pow. 100 ×

h following cerebral ischemia with indomethacin pretreatment. II-defined focus of delicate tissue vacuolization in the lateral portion of thalamus. H—E. × 100



Ryc. 13. 5 godz. po niedokrwieniu mózgu poprzedzonym podaniem indometacyny. Symetryczne ogniska rozrzedzenia utkania tkanki w tylnej części podwzgórza. H—E. Pow. 60 ×

5 h following cerebral ischemia with indomethacin pretreatment. Well defined foci of tissue rarefaction in the posterior portion of the hypothalamus. H—E. × 60

Ryc. 14. 5 godz. po niedokrwieniu mózgu poprzedzonym podaniem indometacyny. Rozległe ogniska zgębczenia utkania wzgórza z niezmiennymi komórkami nerwowymi. H—E. Pow. 200 ×

5 h following cerebral ischemia with indomethacin pretreatment. Diffuse tissue rarefaction in thalamus with normal appearance of the remaining nerve cells. H—E. × 200

Ryc. 15. 5 godz. po niedokrwieniu mózgu poprzedzonym podaniem indometacyny. Prawidłowy wygląd podkorowej istoty białej i dolnych warstw kory mózgu. H—E. Pow. 400 ×

5 h following cerebral ischemia with indomethacin pretreatment. Normal appearance of the subcortical white matter and lower cortical layers. H—E. × 400

Ryc. 16. 5 godz. po niedokrwieniu mózgu poprzedzonym podaniem indometacyny. Prawidłowo utrzymane komórki piramidowe rogu Amona. H—E. Pow. 400 ×

5 h following cerebral ischemia with indomethacin pretreatment. Unchanged pyramidal neurons of Ammon's horn. H—E. × 400

kowym we wszystkich okresach obserwacji. W żadnym natomiast przypadku nie stwierdzono uszkodzeń tkankowych w strukturach pnia mózgu i mózdzku.

U zwierząt, u których podanie indometacyny poprzedzało uniedroźnienie tętnic szyjnych, po upływie 1 godz. recyrkulacji krwi w mózgu, nie spostrzegano zmian tkankowych. Najwcześniej pojawiały się one po 2 godz. od zwolnienia tętnic szyjnych. Miały one charakter drobnych, źle odgraniczonych ognisk delikatnej wakuolizacji neuropilu z prawidłowym obrazem morfologicznym zawartych wśród niej neuronów (ryc. 11). Ogniska te podobnie jak w grupie bez podawania indometacyny, zlokalizowane były w podwzgórze, przegrodzie oraz w brzuszno-bocznych i grzbietowych okolicach wzgórza (ryc. 12). Zmiany o identycznej lokalizacji, obu- lub częściej jednostronne występowały u wszystkich zwierząt w późniejszych okresach obserwacji. Były one w porównaniu do zwierząt, które nie otrzymywały indometacyny mniej rozległe (z wyjątkiem jednego zwierzęcia uśpionego w 3 godz. po niedokrwieniu) i mniej zaawansowane. W żadnym przypadku i w żadnym czasie po niedokrwieniu wakuolizacja neuropilu nie prowadziła do rozległego zgąbczenia tkanki (ryc. 13). We wszystkich czasach w ogniskach rozluźnionego utkania, nawet ostrzej demarkowanych, zachowane były komórki nerwowe o niezmiennym lub prawie niezmiennym obrazie morfologicznym (ryc. 14). Podobnie w żadnym czasie po niedokrwieniu nie stwierdzono zajęcia innych struktur półkul mózgowych. Istota biała zachowywała swój prawidłowy obraz morfologiczny (ryc. 15). Niezmienione były również komórki nerwowe kory nowej i amonalnej oraz jąder podstawy (ryc. 16). Podobnie jak w grupie poprzedniej w żadnym przypadku nie spostrzegano odczynu hematogenego i glejowego, towarzyszącego nieprawidłowościom tkankowym oraz zmian patologicznych w pniu mózgu i w mózdzku.

W dodatkowych grupach kontrolnych zmiany patologiczne w ośrodkowym układzie nerwowym nie występowały. Dotyczyło to zarówno zwierząt z wykonanym zabiegiem rzekomym, poprzedzonym i nie poprzedzonym podaniem indometacyny, jak i zwierząt nie poddanych żadnym zabiegom operacyjnym, którym podano indometacynę w dawce identycznej z zastosowaną w grupie z 30-minutowym niedokrwieniem mózgu.

OMÓWIENIE

Porównanie obrazu patomorfologicznego ośrodkowego układu nerwowego u zwierząt z 30-minutowym obustronnym uniedroźnieniem tętnic szyjnych wspólnych, u których niedokrwienie mózgu poprzedzone było podaniem inhibitora cyklo-oksigenazy, z nieprawidłowościami tkankowymi występującymi u zwierząt bez premedykacji pozwala na uchwycenie

cenie cech wspólnych dla obu grup i występujących między nimi różnic. Podobieństwa te i odrębności dotyczą zarówno lokalizacji i charakteru zmian, jak i ewolucji procesu patologicznego we wczesnym, obejmującym 6 godz. okresie poniedokrwiennym. Cechą wspólną dla obu grup zwierząt jest umiejscowienie i charakter lokalnych uszkodzeń tkankowych, występujących powtarzalnie w podwzgórzu, strukturach przegrody i w boczno-brzusznym oraz grzbietowym okolicach wzgórza. W obu grupach zmiany te występują zarówno jednostronnie, jak i obustronnie, nie wykazując nawet w tym przypadku pełnej symetrii. Mimo że brak jest szczegółowych opracowań angioarchitektoniki mózgu chomika mongolskiego, można przypuszczać, że zmiany te położone są w obszarach pogranicza unaczynienia dużych pni tętniczych odchodzących od tętnicy szyjnej wewnętrznej bądź też na styku zaopatrywania w krew z dorzecza kręgowo-podstawnego i szyjno-tętniczego. Ten właśnie obszar unaczynienia u chomika mongolskiego jest najsłabiej rozwinięty i najbardziej niestabilny (Levy, Brierley 1974; Tamura i wsp. 1981). Z tym też wiązać należy zapewne podwzgórzową lokalizację miejscowych uszkodzeń mózgu, a z jego zmiennością ich jedno- lub dwustronny charakter. Z drugiej strony zajęte okolice wzgórza stanowią predylekcyjną lokalizację głębokich zaburzeń mikrokrążenia po jednostronnym nawet podwiązaniu tętnic szyjnych u chomika mongolskiego (Mossakowski, Gadamski 1978; Mossakowski, Kwiatkowska-Patzer 1982). Okolice pogranicza unaczynienia są obszarami mózgu najbardziej podatnymi na uszkodzenie w następstwie układowych zaburzeń hemodynamicznych (Zülch 1955). Obniżenie układowego ciśnienia tętniczego występujące w okresie poniedokrwiennym u wszystkich zwierząt z czasową niedrożnością tętnic szyjnych (Kapuściński, Mossakowski 1983), mogło bez wątpienia stanowić czynnik sprzyjający rozwojowi najwcześniejszych, nieodwracalnych uszkodzeń tkankowych w tych właśnie obszarach. Należy przy tym zwrócić uwagę, że indometacyna pozostawała bez wpływu na występowanie tu ognisk wtórnego niedokrwienia w okresie recyrkulacji krwi po podwiązaniu tętnic szyjnych (Mossakowski, Kwiatkowska-Patzer 1982). Z tym też zapewne wiązać należy brak różnic między zwierzętami premedykowanymi indometacyną i niepremedykowanymi. Podobny był również charakter tkankowy uszkodzeń. Miały one postać ograniczonej wakuolizacji neuropilu, uznanej za morfologiczny wykładnik cytotoksycznego obrzęku tkanki (Klatzo 1975). Struktura uszkodzenia podlegała dalszej ewolucji w czasie i u zwierząt niepremedykowanych poprzez fazę zgąbczenia tkanki przechodziła do stadium martwicy selektywnej. Tu jednakże pojawiały się wyraźne różnice między obydwoma grupami zwierząt, dotyczące zarówno rozległości zmian, jak i stopnia ich zaawansowania. U zwierząt premedykowanych inhibitorem cyklo-oxygenazy nieprawidłowości tkankowe były mniej rozległe i nie osiągały stadium martwicy. Nawet w ogniskach najbardziej zaawansowane-

go zgańczenia zachowane neurony utrzymywały prawidłowy obraz morfologiczny. Usprawiedliwione wydaje się przypuszczenie, że osłaniające działanie indometacyny mogło polegać w tym przypadku na zapobieganiu tworzenia się mikrozakrzepów naczyniowych w otoczeniu i w obrębie uszkodzonej tkanki, których występowanie może wtórnie prowadzić do powiększenia się ognisk i pogłębienia nieprawidłowości strukturalnych (Wise i wsp. 1973).

Podstawowe jednakże różnice obrazu patomorfologicznego obu grup zwierząt dotyczyły zmian rozwijających się w drugiej fazie po niedokrwieniu, obejmującej okres od 4 godz. recyrkulacji krwi. W okresie tym u zwierząt niepremedykowanych indometacyną dochodziło do uogólnienia zmian patologicznych. Obok uprzednio już istniejących miejscowych uszkodzeń tkankowych, pojawiały się wykładniki morfologiczne naczyniopochodnego obrzęku mózgu, obejmujące przede wszystkim formacje białe, wakuolizacja neuropilu występowała w niezajętych dotychczas strukturach, takich między innymi, jak jądra podstawy i kora mózgu oraz stwierdzało się rozsiarne zwyrodnienie komórek nerwowych, najbardziej nasilone w korze nowej, a przede wszystkim w korze zakrętu hipokampa, cechującej się wybiórczą wrażliwością na niedokrwienie. W grupie zwierząt, u których niedokrwienie mózgu poprzedzono podaniem inhibitora cyklo-oksigenazy żadna z tych zmian nie występowała przez cały okres 6-godzinnej obserwacji.

Powstaje oczywiście pytanie w jakiej mierze niewystąpienie drugiej fazy uszkodzeń tkankowych można wiązać z wpływem indometacyny zapobiegającej miejscowym zaburzeniom przepływu mózgowego w okresie poniedokrwinnym (Furlow, Hallenbeck 1978; Hallenbeck, Furlow 1979), w tym przede wszystkim pojawieniu się plackowatych ognisk niedokrwienia, rozsiarnych w strukturach szarych mózgu (Mossakowski, Kwiatkowska-Patzer 1982), którym Wise i wsp. (1973) oraz Mossakowski i Zelman (1975) przypisują istotną rolę w patogenezie niedokrwiniennych uszkodzeń mózgu. Koncepcja ta, jakkolwiek bardzo atrakcyjna w świetle przytoczonych powyżej spostrzeżeń nie tłumaczy bynajmniej wszystkich obserwowanych zjawisk. Można ją co najwyżej odnieść do braku u zwierząt premedykowanych rozsiarnych ognisk zwyrodnienia i/lub zaniku komórek nerwowych. Nie wyjaśnia ona już wybiórczego uszkodzenia komórek dwupiramidowych kory amonalnej, których selektywna wrażliwość na niedokrwienie, jak wykazał Śmiałek (1977) zależy przede wszystkim od intensywności ich metabolizmu tlenowego, a nie od regionalnych zaburzeń ukrwienia, które zresztą nie występują w tej okolicy w następstwie podwiązania tętnic szyjnych u chomików mongolskich (Klatzo 1982).

Podobnie niewyjaśniony jest mechanizm osłaniającego działania indometacyny w stosunku do obrzęku mózgu. Obrzęk mózgu stanowiący następstwo niedokrwienia jest w większości przypadków procesem dwu-

fazowym. Jego fazę wstępną stanowi uogólniony bądź ograniczony obrzęk cytotoksyczny, wyrażający się w naszym materiale wakuolizacją i zgałbieniem tkanki. Obrzęk naczyniopochodny związany z uszkodzeniem przepuszczalności naczyń stanowi późniejsze i niestałe następstwo niedokrwienia mózgu i występuje u większości zwierząt z obustronnym podwiązaniem tętnic szyjnych (Ito i wsp. 1976). Jego wykładniki morfologiczne obecne są również w naszym materiale u zwierząt niepremedykowanych indometacyną, a brak ich w grupie zwierząt, u których niedokrwienie poprzedzono podaniem inhibitora cyklo-oksigenazy, mimo, że występują u nich dwa czynniki sprzyjające i przyspieszające rozwój tego właśnie typu obrzęku. Są to ogniskowe uszkodzenia tkankowe oraz cechy zastójny żylnej. Na podkreślenie zasługuje przy tym fakt, że poischemiczny zastój żylny, który według Kapuścińskiego (1978) stanowi istotny czynnik warunkujący rozwój naczyniopochodnego obrzęku mózgu, nie podlega wpływowi indometacyny (Mossakowski, Kwiatkowska-Patzer 1982).

Działanie indometacyny zapobiegające rozwojowi poischemicznego obrzęku mózgu u chomików mongolskich stwierdzili również Crockard i wsp. (1980), Iannotti i wsp. (1981) i Bhakoo i wsp. (1982) i wiązali je nie tyle z zahamowaniem zaburzeń mózgowego przepływu krwi, stanowiących następstwo niedokrwienia, ile z przeciwdziałaniem destabilizacji błon komórkowych, wywołanej przez wzrost poziomu prostaglandyn. Ten właśnie mechanizm wydaje się wysoce prawdopodobny również w naszym przypadku, tym bardziej, że zahamowanie obrzęku mózgu, którego elementem jest również obrzmienie okołokapilarnych wypustek glejowych, zaciskających światło naczyń włosowatych, może tłumaczyć wpływ indometacyny na poprawę lokalnego przepływu mózgowego krwi.

Nie można jednak odrzucić ewentualności, że indometacyna przedłuża jedynie okres dojrzewania procesu patologicznego, a nieobserwowane u zwierząt premedykowanych nieprawidłowości tkankowe pojawiłyby się w okresie późniejszym. Na to pytanie odpowiedzią mogą badania na zwierzętach o dłuższym niż 6 godzin okresie przeżycia.

*

Autorzy dziękują Panu Sławomirowi Januszewskiemu za znakomitą pomoc techniczną w przeprowadzeniu doświadczeń.

ВЛИЯНИЕ ИНДОМЕТАЦИНА НА ИШЕМИЧЕСКИЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА У МОНГОЛЬСКОГО ХОМЯКА (*MENIONES UNGOICULATUS*)

Резюме

Целью исследований было определение влияния индометацина, известного ингибитора синтетазы простагландинов, на невропатологическую картину повреждений головного мозга в раннем периоде после 30-минутной перевязки общих сонных артерий. Исследования были проведены на монгольских хомяках, у которых перевязке сонных артерий предшествовала внутривентрикулярная инъекция индометацина в растворе Кребса-Рингера в дозе 10 мг/1 кг веса.

Контрольную группу составляли животные, у которых произведено идентичную процедуру без введения ингибитора цикло-оксигеназы. Морфологические исследования были проведены на мозгах взятых в периоде 6 часов после ишемии.

Констатировано, что индометацин предупреждал развитие отека головного мозга и появление обобщенных клеточных аномалий, зато он не влиял на появление местных повреждений локализованных в области пограничной полосы васкуляризации больших ответвлений внутренней сонной артерии и прежде всего на стыку кровоснабжения позвоночно-основной и шейно-артериальной области. Хотя и здесь изменения у животных подвергнутых премедикации выступили позже и были менее протяженны, а процесс деструкции ткани менее затянутый. Заслоняющее влияние индометацина связывали с предохранением от нарушений микрокровообращения и от дестабилизации клеточных мембран освобождающихся путем увольнения простагландинов в ишемическом мозге.

EFFECT OF INDOMETHACIN ON THE ISCHEMIC BRAIN LESIONS IN MONGOLIAN GERBILS (*Meriones unguiculatus*)

Summary

The study aimed in establishing the effect of indomethacin, a well known inhibitor of cyclooxygenase, on the dynamics and nature of postischemic brain lesions in Mongolian gerbils in which cerebral ischemia was due to bilateral ligation of the common carotid arteries for a period of 30 min. In experimental animals carotid ligation was preceded by intraperitoneal injection of indomethacin, dissolved in Krebs-Ringer solution in a dose of 10 mg/1 kg of body weight. Control animals were not pretreated with indomethacin. The brains of both group of animals were examined during 6 h of postischemic period in 1 h intervals.

It was stated that indomethacin pretreatment prevented appearance of morphological exponents of vasogenic brain edema and generalized, dispersed neuronal abnormalities, but it did not inhibit development of local tissue impairment, localized in the borderline zones, between vascularisation territories of larger branches of the internal carotid arteries and in particular between watersheds of the vertebral and carotid systems. Although even here the tissue lesions appeared later, were less extensive and advanced than in the respective control animals. The authors connect the influence of indomethacin with prevention of microcirculatory disturbances and cell membrane destabilisation induced in the ischemic brains by prostaglandins.

PIŚMIENNICTWO

1. Ames A., Wright R. L., Kowada M., Thurston J. M., Magno G.: Cerebral ischemia. II. The no-reflow phenomenon. *Am. J. Pathol.*, 1968, 52, 437—453.
2. Bhakoo K. K., Lascelles P. T., Crochard H. A., Avery S. F.: Brain prostaglandins and cerebral edema following temporary vascular occlusion in gerbils. *V. Intern. Conf. Prostaglandins. Florence, May 18—21, 1982. Abstracts*, p. 706.
3. Crockard H. A., Iannotti F., Hunstock A. H., Smith R. D., Harris R. J., Symon L.: Cerebral blood flow and edema following carotid occlusion in gerbil. *Stroke* 1980, 11, 494—498.
4. Crowell R. M., Olsson Y.: Impaired microvascular filling after focal cerebral ischemia in monkeys. *J. Neurosurg.*, 1972, 36, 303—309.
5. Fischer E. G., Ames A., Hedley-Whyte E. T., O'Garman S.: Reassessment of cerebral capillary changes in acute global ischemia and their relationship to the "no-reflow phenomenon". *Stroke* 1977, 8, 320—328.
6. Furlow T. W. Jr., Hallenbeck J. M.: Indomethacin prevents impaired perfusion of the dog's brain after global ischemia. *Stroke* 1978, 9, 591—594.
7. Gaudet R. J., Levine L.: Transient cerebral ischemia and brain prostaglandins. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1979, 86, 393—401.
8. Hallenbeck J. M., Furlow T. W. Jr.: Prostaglandin I₂ and indomethacin prevent impairment of postischemic brain reperfusion in the dog. *Stroke* 1979, 10, 629—637.
9. Iannotti F., Crochard A., Ladds G., Symon L.: Are prostaglandins involved in experimental ischemic edema in gerbils. *Stroke* 1981, 12, 301—306.
10. Ito U. Go K. G., Walker J. T. Jr., Spatz M., Klatzo I.: Experimental cerebral ischemia in gerbils. III. Behaviour of the blood brain barrier. *Acta neuropath. (Berl.)*, 1976, 34, 1—6.
11. Kapuściński A.: Cerebral blood flow under conditions of circulatory hypoxia with particular reference to the retransfusion period. *Neuropat. Pol.*, 1974, 12, 563—572.
12. Kapuściński A.: Further studies on postischemic brain edema: contribution of disorders of central circulatory and respiratory mechanical difficulties. [W:] *Pathology of cerebrospinal microcirculation. Red. J. Cervos-Navarro, E. Betz, G. Ebhardt. Advances in Neurol. Raven Press, New York 1978*, 20, 321—332.
13. Kapuściński A., Mchedlishvili G. I., Nikolaishvili L. S.: Development of postischemic brain edema and its relation to circulatory disorders. [W:] *Blood flow and metabolism in the brain. Red. M. Harper, B. Jennett, J. Rowan. Churchill Livingstone, Edinburgh 1975*, 21—25.
14. Kapuściński A., Mossakowski M. J.: Pathophysiological and morphological observations after 30 min bilateral occlusion of the common carotid artery in gerbils. [W:] *Stroke-animal models. Advances in the biosciences. Vol. 43. Red. K. Stefanović, Pergamon Press, London, 1983*, 63—82.
15. Kelly R. A., Halsey J. H. Jr.: Comparison of local blood flow and oxygen availability at the same locus in the ischemic gerbil brain. *Stroke* 1976, 7, 274—278.
16. Klatzo I.: Pathophysiological aspects of cerebral ischemia. [W:] *The nervous system — the basic neurosciences. Red. D. B. Tower, Raven Press, New York 1975*, 313—322.
17. Klatzo I.: Features of selective vulnerability in cerebral ischemia. Third Belgrade Symposium on developmental and circulatory aspects of brain metabolism. Belgrade, June 30—July 2, 1982. Belgrade. Abstracts 15.

18. Levy D. E., Brierley J. B.: Communications between vertebro-basilar and carotid artery circulations in the gerbil. *Exper. Neurol.*, 1974, 45, 503—508.
19. Mchedlishvili G. I., Nikolaishvili L. S., Antia R. V.: Cerebral blood flow and arterial behaviour during the ischemic and early postischemic periods. *Neuropat. Pol.*, 1974, 12, 551—562.
20. Mossakowski M. J.: Cerebral microcirculation disorders in experimental circulatory hypoxia. *Neuropat. Pol.*, 1974, 12, 573—581.
21. Mossakowski M. J., Gadamski R.: Zaburzenia mikrokrążenia mózgu u chomików mongolskich po jednostronnym podwiązaniu tętnicy szyjnej wspólnej. *Neuropat. Pol.*, 1978, 16, 507—518.
22. Mossakowski M. J., Kwiatkowska-Patzer B.: Effect of indomethacin on the morphology of the brain vascular network in the postischemic period. [W:] Developmental and circulatory aspects of brain metabolism. Red. B. B. Mrsulja, Raven Press, New York (w druku).
23. Mossakowski M. J., Zelman B. I.: Dynamics of microcirculation disorders in experimental circulatory hypoxia (ischemia). [W:] VII International Congress of Neuropathology. Red. S. Kornyej, S. Tariska, G. Gosztonyi. *Excerpta Medica*, Amsterdam 1975, 573—576.
24. Mrsulja B. B., Mrsulja B. J., Ito U., Spatz M., Klatzo I.: Experimental cerebral ischemia in Mongolian gerbils. V. Behaviour of biogenic amines. *Acta neuropath. (Berl.)*, 1976, 36, 1—8.
25. Ruszczewski P.: Poziomy endogennych prostaglandyn w żylniej krwi mózgu u psa w warunkach hipo- i hiperkapnii, hipoksji i ostrego niedokrwienia mózgu. Praca doktorska. Warszawa 1977.
26. Śmiałek M.: Aktywność oddechowa w układzie askorbinian-cytochrom C neuronów kory amonalnej chomika mongolskiego (*Meriones unguiculatus*) w doświadczalnym niedokrwieniu mózgu. *Neuropat. Pol.*, 1977, 15, 169—181.
27. Tamura A., Harizoe H., Fukuda T.: Relationship of cerebral vasculature to infarcted areas following unilateral common carotid artery ligation in the Mongolian gerbils. *J. Cerebral Flow. Metabol.* 1981, 1 Suppl. 1, 194—195.
28. Waltz A. G., Sund T. M.: The microvasculature and microcirculation of the cerebral cortex after arterial occlusion. *Brain* 1967, 90, 681—696.
29. Wise G., Stevens M., Shuteworth E. C., Allen N.: The relationship of edema to the development of microvascular obstruction in cerebral ischemia. *Proc. 3rd Ann. Meeting Soc. for Neurosciences* 1973, 375—376.
30. Zülch J.: On circulatory disturbances in borderline zones of cerebrum and spinal cord. *Proc. 3rd Intern. Congr. Neurol. Excerpta Medica*, Amsterdam 1955, 849—859.

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

PRZEMYSŁAW NOWACKI, JOLANTA CECERKO, LAURA KOLARZ-JÓZEWICZ

PRÓBA OCENY MORFOLOGICZNEJ WIEKU POURAZOWYCH KRWIAKÓW ŚRÓDMÓZGOWYCH

Klinika Neurologii Pomorskiej Akademii Medycznej, Szczecin
Klinika Neurochirurgii Pomorskiej Akademii Medycznej, Szczecin

Krwiak śródmózgowy, w tym również pourazowy, wywołuje odczyn ze strony otaczających tkanek. Opisem tego zjawiska zajmowali się Dinsdale (1964), Tomlinson (1964), Osetowska i Taraszewska (1967), Ferens (1969) oraz Zülch (1974), przedstawiając podstawowe składniki komórkowe biorące udział w procesie organizacji obrzeża krwiaka śródmózgowego. Przeprowadzone wcześniej badania nad przemianami morfologicznymi, zachodzącymi w trakcie organizacji krwiaka podtwardówkowego, doprowadziły do określenia kryteriów, które umożliwiają ustalenie wieku wynacznienia na podstawie wyglądu jego torebki (Nowacki 1980).

W niniejszej pracy staraliśmy się udzielić odpowiedzi na pytania, co stanowi główny składnik reakcji obrzeża na wynacznioną po urazie do mózgu krew i czy istnieją takie cechy organizacji obrzeża krwiaka, na podstawie których można by określić jego wiek?

MATERIAŁ I METODY

Badaniom poddano 20 pourazowych krwiaków śródmózgowych wraz z obrzeżem, w tym 6 otoczonych drobnymi ogniskami stłuczenia mózgu z licznymi wybroczynami krwotocznymi, operowanych w Klinice Neurochirurgii PAM w Szczecinie w latach 1974—1980, u osób obojga płci w wieku od 10 do 63 lat.

Materiał po utrwaleniu w 8% roztworze formaliny i zatopieniu w parafinie był barwiony fioletem krezyłu, hematoksyliną-eozyną (H—E) oraz metodami van Giesona, Holzera i Perdrau'a. Badaniami objęto jedynie te przypadki, w których można było określić wiek wynacznienia na podstawie urazu głowy, poprzedzającego wystąpienie objawów neurologicznych. Ocena dotyczyła zachowania się elementów ko-

mórkowych i włóknistych biorących udział w organizacji obrzeża krwika oraz naczyń objętych krwikiem lub leżących w jego najbliższym sąsiedztwie.

WYNIKI

W obrzeżu krwika występowały: fibroblasty, makrofagi, komórki limfoidalne, granulocyty obojętnochłonne, włókna srebrochłonne, kolagenowe oraz naczynia krwionośne, tworząc od 7 dnia po urazie rodzaj torebki otaczającej ognisko krwotoczne.

Fibroblasty stanowiły podstawowy składnik obrzeża krwika począwszy od 7 dnia po urazie. W wynaczynieniach od 11 do 25 dnia choroby fibroblasty układały się luźno w całej torebce, biorąc swój początek z przydanki śródmózgowych naczyń żylnych i tętniczych przetrwałych krwawienie (ryc. 1, 2). W miarę starzenia się krwika ilość fibroblastów wzrastała; w wynaczynieniach najstarszych układały się one miejscami w gęste zwarte skupiska, jednak nie tworzyły warstw, któ-

Ryc. 1. Fibroblasty i śródbłonki w ścianie pobudzonego naczynia w przetrwałym krwotoku śródmózgowym. Widoczna nieostra granica przejścia naczynia w torebkę krwika. H—E. Pow. 60 ×

Fibroblasts and endothelial cells in the wall of an activated intracerebral vessel in an old hemorrhagic focus. Direct transition of the vessel into capsule of hematoma. H—E. × 60

Ryc. 2. Fragment z ryciny 1 w dużym powiększeniu. H—E. Pow. 240 ×

Fragment from Figure 1 in larger magnification. H—E. × 240

Ryc. 3. Fragment torebki 28-dniowego krwika z licznymi fibroblastami występującymi z jednakową gęstością w różnych jej okolicach. H—E. Pow. 240 ×

Fragment of capsule of a 28-day old hematoma with numerous fibroblasts equally distributed in its various areas. H—E. × 240

Ryc. 4. Niewielkie pojedyncze skupiska drobnoziarnistych złogów hemosyderyny (strzałki) w 3-dniowym krwiku. H—E. Pow. 240 ×

Small agglomerations of fine granular hemosiderin deposits (arrows) in a 3-day old hematoma. H—E. × 240

Ryc. 5. Obfite gruboziarniste złogi hemosyderyny (strzałki) w torebce 45-dniowego krwika. H—E. Pow. 240 ×

Profuse coarse-granular deposits of hemosiderin (arrows) in the capsule of a 45-day old hematoma. H—E. × 240

Ryc. 6. Obfite złogi hematoidyny w torebce 28-dniowego krwika. H—E. Pow. 240 ×

Profuse deposits of hematoidin in the capsule of a 28-day old hematoma. H—E. × 240

Ryc. 7. Masywny okołonaczyniowy naciek złożony z komórek limfoidalnych w torebce 45-dniowego krwika. Fiolet krezyłu. Pow. 60 ×

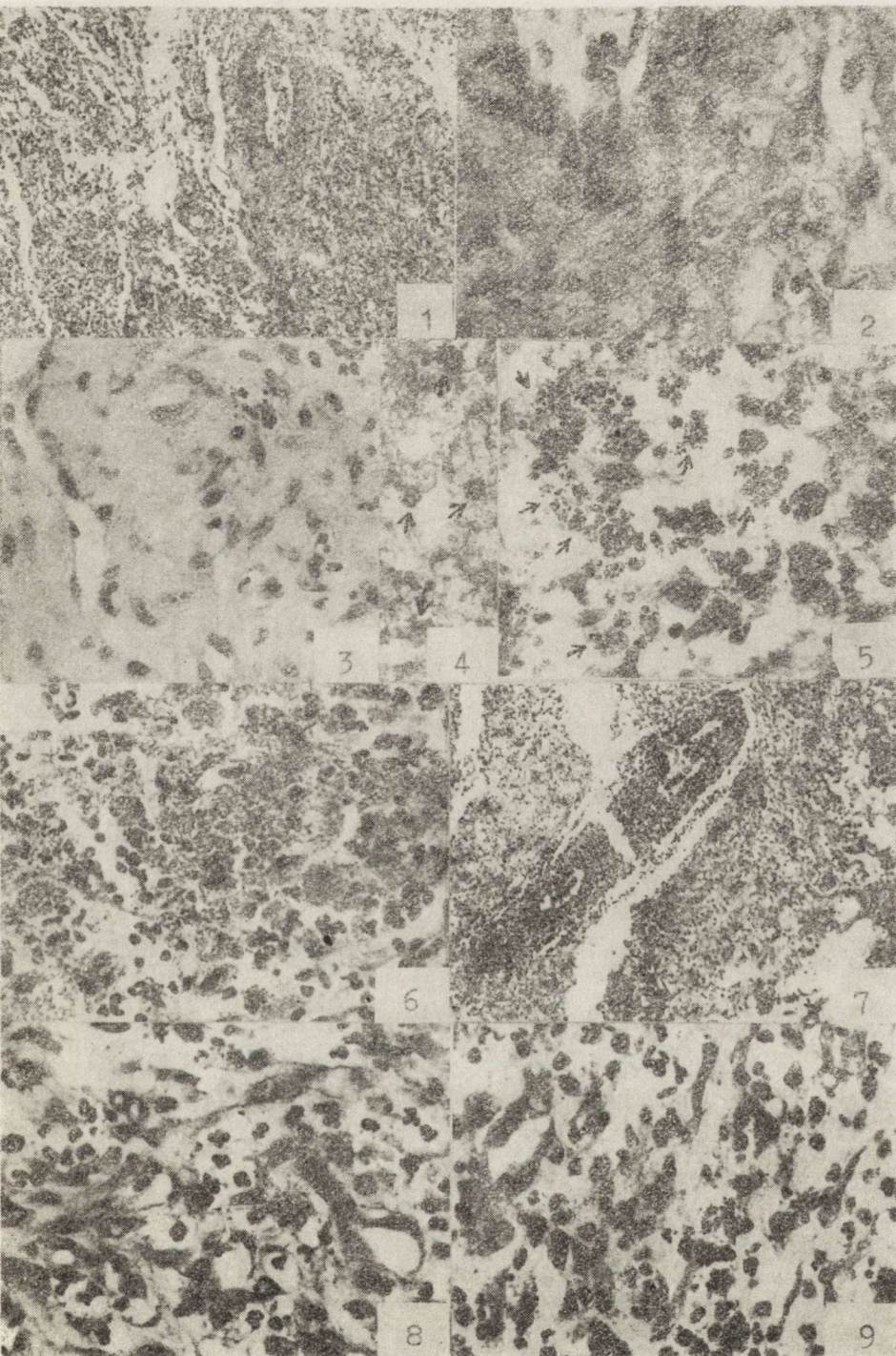
Massive perivascular infiltration of lymphoid cells in the capsule of a 45-day old hematoma. Cresyl violet. × 60

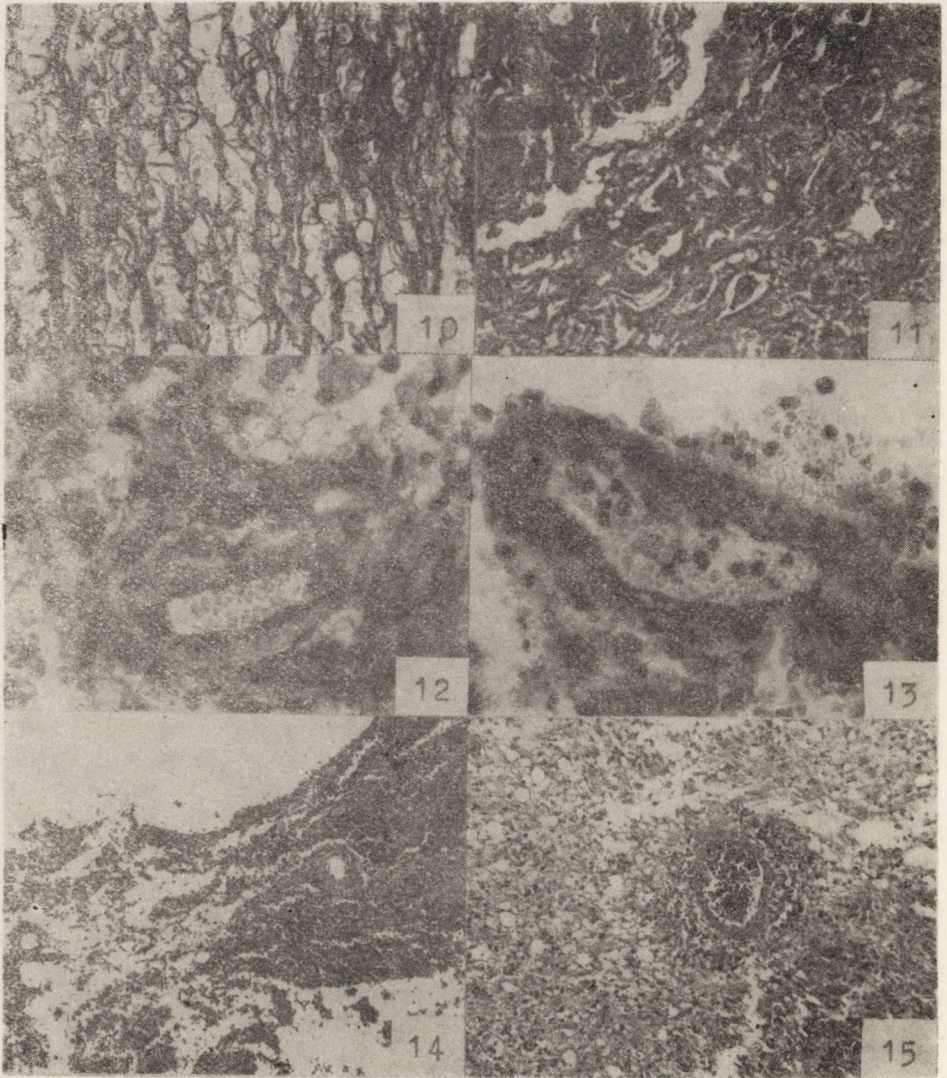
Ryc. 8. Liczne obojętnochłonne granulocyty rozproszone równomiernie w torebce 25-dniowego krwika. Fiolet krezyłu. Pow. 240 ×

Numerous neutrophilic granulocytes spread throughout the capsule of a 25-day old hematoma. Cresyl violet. × 240

Ryc. 9. To samo co na rycinie 8 w przypadku krwika 45-dniowego. Fiolet krezyłu. Pow. 240 ×

The same as in Figure 8 a case of a 45-day old hematoma. Cresyl violet. × 240





Ryc. 10. Włókna srebrnochłonne w torebce 25-dniowego krwiaka. Perdrau. Pow. 240 ×
 Argentophilic fibers in the capsule of a 25-day old hematoma. Perdrau. × 240

Ryc. 11. Gruba włóknista torebka 28-dniowego krwiaka. Van Gieson. Pow. 240 ×
 Thick fibrous capsule of a 28-day old hematoma. Van Gieson. × 240

Ryc. 12. Naczynie żyłne powstałe prawdopodobnie w trakcie tworzenia się torebki.
 Krwiak 16-dniowy. Fiolet krezyłu. Pow. 240 ×
 A venous vessels which had originated probably during the capsule formation of
 a 16-day old hematoma. Cresyl violet. × 240

Ryc. 13. Przetrwale śródmózgowe naczynie żyłne w przypadku krwiaka 28-dnio-
 wego. Fiolet krezyłu. Pow. 240 ×
 Persistent intracerebral venous vessel in a case of a 28-day old hematoma. Cresyl
 violet. × 240

Ryc. 14. Przetrwale śródmózgowe naczynia tętnicze wśród mas krwinek czerw-
 onych w 3-dniowym krwiaku. H—E. Pow. 60 ×
 Persistent intracerebral arteries among red blood cells in a 3-day old hematoma. H—E. × 60

rych wielkość i położenie w torebce zależałyby od wieku krwiaka (ryc. 3).

Makrofagi występowały w obrzeżu krwiaków świeżych i dawnych. Proporcjonalnie do innych elementów torebki krwiaka więcej ich było w pierwszych 2—3 tygodniach choroby, przy czym ilość makrofagów rosła w tym czasie z wiekiem wynacznienia. W krwiakach dawnych makrofragi stanowiły drugi pod względem ilości (po fibroblastach) składnik torebki, jednak liczba komórek żernych nie podlegała już większym wahaniom. Z wiekiem wynacznienia zmieniały się elementy wchłonięte przez makrofagi. Hemosyderyna występowała w pierwszych 3 tygodniach choroby w postaci drobnych ciemnobrązowych ziarenek, potem gruboziarnistych rdzawych złogów. Ilość hemosyderyny wzrastała mniej więcej do końca 4 tygodnia po urazie, potem nie podlegała większym wahaniom (ryc. 4 i 5). Od około 25 dnia choroby występowała w zmiennej ilości hematoidyna w postaci gruboziarnistych złogów barwy cytrynowożółtej (ryc. 6).

Komórki limfoidalne tworzyły miejscami wyraźne nacieki okołonaczyniowe w torebce (ryc. 7), bądź występowały w postaci pasm w okolicach przechodzenia torebki w masy krwotoczne. Ilość komórek limfoidalnych w torebce wzrastała w miarę starzenia się krwiaka, zawsze była jednak mniejsza niż fibroblastów.

Granulocyty obojętnochłonne w wynacznieniach świeżych układały się wzdłuż pasm wykrzepionego włókniaka, potem występowały jedynie w utkaniu torebki, luźno rozsypane w podłożu. Ich ilość malała na korzyść innych elementów rozwijającej się torebki (fibroblasty, włókna łącznotkankowe), choć obecne były także w dużej ilości w torebce krwiaka 25 i 45-dniowego (ryc. 8, 9).

Włókna srebrochłonne obserwowano w obrzeżu krwiaków począwszy od 12 dnia po urazie. W miarę starzenia się krwiaka wzrastała ilość i grubość włókien. Początkowo występowały one w postaci cienkiej nieregularnej siateczki, później w formie grubszych pasm, zwykle przebiegających równolegle do siebie (ryc. 10).

Włókna kolagenowe obserwowano w torebce krwiaka od 14 dnia po urazie. Występowały one w dużej ilości, często w postaci dużych skupisk, niekiedy otaczających grubościennie naczynia. W miarę starzenia się krwiaka, ilość włókien wzrastała obejmując całą torebkę (ryc. 11).

Jak wynika z tabeli, w 16 na 20 badanych przypadków, w utkaniu torebki krwiaka obserwowano naczynia zatokowate, żyłne i tętnicze.

Persistent arterial vessels among erythrocyte masses in a 3-day old hematoma.
H—E. $\times 60$

Ryc. 15. Prawdopodobnie przetrwałe śródmózgowe naczynie tętnicze w torebce krwiaka 45-dniowego. Wokół naczynia naciek z komórek limfoidalnych. Fiolet krezyłu. Pow. $60 \times$

Persistent intracerebral arterial vessel in capsule of a 45-day old hematoma.
Infiltration of lymphoid cells around the vessel. Cresyl violet. $\times 60$

Tabela 1. Zachowanie się naczyń krwionośnych w torebkach pourazowych krwiałków śródmózgowych w różnych okresach trwania choroby

Table 1 Behavior of blood vessels in capsules of post traumatic in various periods in the course of the disease

Lp. No.	Wiek klinikzny krwiaka (dni)	Wiek chorego (lata)	Typ i wielkość naczyń (wymiaru podano w mikronach)				
	Clinical age of hematoma (days)	Age of patient (years)	Zatokowate Lacunar		żyłne venous		tętnicze arterial
			średnica diameter	grubość ściany thickness of wall	średnica diameter	grubość ściany thickness of wall	
1	kilka godz. some hrs	63	—	—	—	40—60	10—15
2	"	34	—	—	—	160—180	30—40
3	3	61	—	20—30	5—8	50—100	20—25
4	3	46	—	—	—	20—30	5—8
5	4	50	—	20—30	5—8	90—110	30—35
6	6	34	—	—	—	70—100	15—20
7	6	39	—	—	—	70—75	10—20
8	7	35	—	15—20	5—8	20—25	8—10
9	11	31	—	20—25	5—8	20—30	8—10
10	13	43	30—50	—	—	120—140	20—25
11	14	39	40—60	30—100	5—20	80—100	20—25
12	16	63	50—60	25—30	5—8	180—200	40—50
13	25	34	30—50	30—75	10—20	—	—
14	28	49	70—120	20—30	5—8	—	—
15	ca 30	37	25—30	30—45	5—8	70—75	10—20
16	ca 45	34	50—70	30—50	5—8	70—100	30—40

Naczynia zatokowate obserwowano począwszy od 12 dnia choroby. Ich wielkość wynosiła od 25 do 125 mikronów. Nie stwierdzono, aby średnica naczyń zatokowatych wzrastała w miarę starzenia się krwiaka. W torebce krwiaka 14- i 16-dniowego naczynia te osiągały średnicę 40—60 mikronów, a 45-dniowego (najstarszego) tylko o 10 mikronów większą. Z kolei wynacznienie 28-dniowe zawierało naczynia zatokowate dochodzące do 120 mikronów średnicy.

Naczynia żyłne obecne były w torebce zarówno krwiałków kilkuniedniowych, jak i kilkutygodniowych (ryc. 12, 13). Średnica naczyń wahała się w szerokich granicach od 20 do 200 mikronów, najczęściej wynosiła 30 do 50 mikronów. Grubość ściany naczyń żylnych osiągała od 5 do 50 mikronów. Zarówno średnica jak i grubość ściany naczyń żylnych nie podlegała zmianom proporcjonalnie do wieku wynacznienia.

W 13 przypadkach występowały w krwiałkach naczynia tętnicze, przy czym średnicę do 200 mikronów i grubość ściany do 40—50 mi-

kronów miały zarówno w wynacznieniu kilkugodzinnym, jak i w torebce krwiaka 16-dniowego (ryc. 14, 15).

Naczynia żyłne i tętnicze występowały poza torebką również w samym ognisku krwotocznym.

Odczyn tkanki glejowej wokół krwiaków był niewielki. Polegał na umiarkowanym rozplemie mikrogleju i nieznacznym astrogleju. Wokół kilkudniowych ognisk wynacznienia obserwowano nawet zubożenie podłoża w komórki glejowe. Glej brał niewielki udział w tworzeniu torebki i to tylko krwiaków dawnych.

Nie stwierdzono, aby charakter torebki różnił się w istotny sposób w krwiakach otoczonych ogniskami stłuczenia mózgu i w wynacznieniach, wokół których stłuczenie nie występowało.

DYSKUSJA

Skrócony okres trwania choroby spowodowany bądź szybko wykonanym zabiegiem operacyjnym, bądź śmiercią chorego, nie pozwalał na wytworzenie się wyraźnego odczynu wokół śródmózgowego ogniska krwotocznego (Huber i wsp. 1974; Zoltán 1974).

W przebadanych przez nas przypadkach stwierdziliśmy, że pourazowe krwiaki śródmózgowe otoczone są w miarę upływu czasu składnikami pochodzenia mezenchymalnego, podobnymi jakie obserwuje się podczas organizacji krwiaka podtwardówkowego. Na ogół odczyn mezenchymalny na krew wynacznioną do mózgu podczas urazu czaszko-mózgowego był w naszym materiale większy niż spostrzegali to Dinsdale (1964) i Tomlinson (1964), zwłaszcza w krwiakach dawnych.

Istotną rolę w zapoczątkowaniu organizacji wynacznienia odgrywała w opisanych przez nas przypadkach, zgodnie z obserwacjami innych autorów (Osetowska, Taraszewska 1967; Ferens 1969), przydanka naczyń śródmózgowych przetrwałych krwawienie, pobudzana do intensywnej produkcji fibroblastów. Wspomnianymi tu naczyniami oraz naczyniami nowopowstałymi w trakcie tworzenia się torebki napływają granulocyty obojętnochłonne, makrofagi i komórki limfoidalne, biorąc udział w organizacji krwiaka.

Znając podstawowe elementy wchodzące w skład odczynu wokół krwiaka śródmózgowego, podjęliśmy próbę ustalenia na ich podstawie kryteriów, które pozwalałyby na określenie wieku wynacznienia. Największą uwagę poświęciliśmy zachowaniu się naczyń krwionośnych występujących w torebce krwiaków śródmózgowych. Jak wynika z przeprowadzonych przez nas badań, określenie wieku wynacznienia na podstawie typu naczyń, a zwłaszcza ich średnicy, jest bardzo trudne, gdyż obok naczyń nowo powstających w torebce, znajdują się w jej utkaniu różnej wielkości naczynia tętnicze i żyłne, które przetrwały krwotok. Bardzo często wyglądem swym przypominają one typowe na-

czynnia powstałe w trakcie tworzenia się torebki. Powoduje to, że ustalony na podstawie wyglądu naczyń wiek krwiaka znacznie przekracza jego wiek rzeczywisty. Spośród wspomnianych wcześniej elementów biorących udział w tworzeniu torebki, najbardziej stałym zmianom w trakcie starzenia się krwiaka podlegały w naszym materiale fibroblasty, włókna srebrochłonne i kolagenowe. Przede wszystkim wzrastała ich ilość, przez co torebki dawnych krwiaków były bardziej gęste i zwarte. Ustalenie wieku wynacznienia na podstawie zachowania się fibroblastów i włókien łącznotkankowych jest jednak trudne; możliwe jest jedynie oszacowanie wieku krwiaków świeżych z błędem kilku dni, a krwiaków dawnych — kilkunastu dni lub nawet kilku tygodni. Należy ponadto zwrócić uwagę na fakt, że ilość fibroblastów i włókien łącznotkankowych w tym samym przypadku podlega wahaniom w różnych miejscach torebki, co prawdopodobnie wynika ze zmiennej ilości naczyń przetrwałych krwawienie w poszczególnych okolicach krwiaka (Osetowska, Taraszewska 1967). Wahania te prowadzą do wyraźnych różnic w grubości i wygładzie torebki w różnych jej częściach.

W niektórych przypadkach pomocna w próbie określenia wieku wynacznienia może okazać się zawartość makrofagów, zwłaszcza wygląd i ilość hemosyderyny. Hematoidyna z jednej strony może być przydatna w ocenie wieku krwiaka, z drugiej zaś potwierdza opinię o beztlenowym metabolizmie produktów rozpadu krwiaka, narastającym w miarę jego starzenia się (Żeromski 1967; Mossakowski i wsp. 1969). Obserwacje nasze potwierdzają opinię o dużym udziale makrofagów w organizacji krwiaka śródmózgowego (Robbins 1957; Tomlinson 1964; Ferens 1969), ale jednocześnie wskazują na ich ograniczoną przydatność w ocenie jego wieku.

Ilość i rozmieszczenie granulocytów obojętnochłonnych w torebce krwiaka śródmózgowego nie zależy od jego wieku, przy czym chcielibyśmy zaznaczyć, że w naszym materiale komórki te występowały w torebkach krwiaków częściej niż w krwiakach podwardówkowych (Nowacki 1980).

Niektórzy autorzy przypisują duże znaczenie odczynowi glejowemu w oddzieleniu krwotoku od otoczenia (Robbins 1957; Simon, Szymaś 1974). W grupie przebadanych przez nas krwiaków udział gleju w tworzeniu torebki wokół wynacznienia był niewielki, co zgadza się z wcześniejszymi obserwacjami Osetowskiej i Taraszewskiej (1967). Warto w tym miejscu zwrócić uwagę na bogaty odczyn glejowy jaki spotyka się wokół ropni mózgu, w przeciwieństwie do opisanych przez nas krwiaków śródmózgowych.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że ocena morfologiczna wieku pourazowych krwiaków śródmózgowych jest bardzo trudna, ze względu na duże różnice w wygładzie torebki krwiaka w poszczególnych jego okolicach. Dla uzyskania jak najlepszych wyników, badaniu należy pod-

dać w miarę możliwości dużą ilość materiału z różnych okolic obrzeża krwiaka. Łatwiej jest ocenić wiek krwaków świeżych, ponieważ obraz morfologiczny ich torebek jest nieco bardziej proporcjonalny do wieku wynacznienia niż w przypadkach krwaków dawnych.

WNIOSKI

1. Naczynia śródmózgowe nie zniszczone przez krwotok dają początek łącznotkankowej torebce krwiaka, która rozwija się z ich przydanki i napływających nimi składników krwi.

2. Ilość fibroblastów, włókien srebrochłonnych, kolagenowych, makrofagów oraz zawartość komórek żernych w torebkach pourazowych krwaków śródmózgowych zmienia się w czasie trwania choroby, umożliwiając określenie wieku wynacznienia, jednak tylko w dużym przybliżeniu.

3. Typ i wielkość naczyń rozwijających się w torebce krwiaka nie podlega charakterystycznym zmianom z wiekiem wynacznienia. Śródmózgowe naczynia przetrwałe krwotok, które znajdują się w utkaniu torebki, dodatkowo utrudniają określenie wieku krwiaka, gdyż często przypominają wyglądem typowe naczynia torebki, posiadając wymiary nieproporcjonalne do czasu trwania choroby.

ПОПЫТКА МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКИХ ВНУТРИМОЗГОВЫХ ГЕМАТОМ

Резюме

Гистопатологическим исследованиям подвергнуто 20 посттравматических внутримозговых гематом взятых во время операции от лиц обоего пола и в разном возрасте. Оценивались только те случаи, в которых можно было определить длительность экстрavasации на основании травмы головы предшествующей выступлению неврологических симптомов. В результате проведенных исследований возникают следующие наблюдения: внутримозговые сосуды неразрушенные посттравматической гематомой кладут начало соединительно-тканной капсулы, которая развивается из адвентиции этих сосудов и из натекающих ими элементов крови. Число фибробластов, аргирофильных, колагенных волокон, макрофагов, а также содержание макрофагов в капсуле посттравматических внутримозговых гематом изменяется в продолжительности заболевания и делает возможным определение длительности экстрavasации, однако только с большим приближением. Тип и величина сосудов развивающихся в капсуле гематомы не подвергаются характерным изменениям по мере длительности экстрavasации. Внутримозговые сосуды пережившие кровотечение, которые находятся в строении капсулы добавочно препятствуют определению длительности гематомы, потому что часто напоминают внешним видом типичные сосуды капсулы, обладая измерениями непропорциональными продолжительности болезни. В противоположность организации абсцесса головного мозга, глиальная реакция в краю посттравматических внутримозговых гематом невелика в сопоставлении с мезенхимальной реакцией и не подвергается изменениям пропорциональным длительности экстрavasации.

AN ATTEMPT TO EVALUATE THE MORPHOLOGICAL AGE
OF POST-TRAUMATIC INTRACEREBRAL HEMATOMAS

Summary

The histopathological study concerned 20 post-traumatic intracerebral hematomas taken during surgery from patients of both sexes and various age. The evaluation involved only those cases in which the extravasation age could be determined on the basis of the time of head trauma preceding the appearance of neurological symptoms. It was found that the intracerebral vessels, not damaged during the post-traumatic bleeding, forms a source of the connective tissue elements, from which the capsule of hematomas develops. The amount of fibroblasts, argentophilic and collagen fibers, macrophages and the content of neutrophilic granulocytes in the capsules of post-traumatic hematomas change in the course of the disease. This provides the possibility to determine with a rough exactness the extravasation age. Type and the size of vessels growing inside the hematoma capsule fail to undergo characteristic changes with the age of extravasation. Presence of the persistent and undamaged at the time of bleeding intracerebral vessels in the hematoma walls hinders additionally determination of hematoma age, since their morphological picture is in general very similar to that of capsular vessels, originating during capsule formation. Contrary to the organization of brain abscesses, the glial reaction at the border of intracerebral hematomas is rather mild as compared to that of mesenchymal tissue and does not show any convergence with the age of extravasation.

PIŚMIENICTWO

1. Dinsdale H. B.: Spontaneous haemorrhage in the posterior fossa. *Arch. Neurol.*, (Chic.) 1964, 10, 200—217.
2. Ferens Z.: Wpływ pourazowych ognisk uszkodzenia w mózgu na zachowanie się ścian naczyń mózgowych u małp *Macaca rhesus*. *Neuropat. Pol.*, 1969, 7, 33—54.
3. Huber Z., Gabryel P., Tokarz F., Simon E., Matłoz Z., Nowak S., Pawlak Z., Szymaś J.: Analiza kliniczno-patomorfologiczna przyczyn zgonów u chorych z obrażeniami czaszkowo-mózgowymi. *Pat. Pol.*, 1974, 25, 497—502.
4. Mossakowski J. M., Long Dan M., Myers R. E., Le Curet H. R., Klatzo I.: Early histochemical and ultrastructural changes in perinatal asphyxia — cyt. za: Ferens Z. *Neuropat. Pol.*, 1969, 7, 33—54.
5. Nowacki P.: Zależność między wiekiem krwaka podtwardówkowego a obrazem morfologicznym jego torebki. *Neuropat. Pol.*, 1980, 17, 151—166.
6. Osetowska E., Taraszewska A.: Topografia a morfologia śródmózgowych ognisk urazowych u małp *Macaca mulata (Rhesus)*. *Neuropat. Pol.*, 1976, 5, 235—257.
7. Robbins S. L.: *Textbook of pathology*. W. B. Saunders, Philadelphia, London 1957.
8. Simon E., Szymaś J.: Konfrontacja anatomo-kliniczna i opracowanie materiału sekcyjnego w przypadkach obrażeń ośrodkowego układu nerwowego, *Pat. Pol.*, 1974, 25, 393—401.
9. Tomlinson B. E.: *Pathology. [W:] Acute injuries of the head*. Red. G. Rowbotham Livingstone, Edinburgh, London 1964.

- Zoltán L.: Serious traumatic brain-stem lesions. Intensive therapy. *Pat. Pol.*, 1974, 25, 373—382.
- Zülch K. J.: Pathomorphology and pathophysiology of craniocerebral trauma, *Pat. Pol.*, 1974, 25, 339—366.
- Żeromski J.: Badanie histochemiczne tkanki mózgowej w przebiegu doświadczalnego urazu mózgu. *Med. Dośw.*, 1967, 36, 307—336.

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

A. MITRO, J. MARŠALA, P. JALČ, M. POMFY, A. MAROSSY, Z. DAXNEROVÁ,
Z. ŠEBÖKOVA

METHOD OF THE DEVELOPMENT OF IRREVERSIBLE, COMPLETE CEREBRAL ISCHEMIA IN DOG

The Institute of Neurobiology, Slovak Academy of Sciences, Košice
Faculty of Medicine, P. J. Šafarik University, Košice

The dog is very often used as an experimental animal for studying the effects of the cerebral ischemia and morphological, biochemical and functional changes resulting from reduced oxygen supply to the brain. The vessel distribution in the dog brain is well known from numerous experimental studies (Inke, Palkovits, 1962; Miller et al. 1968; Popesko, 1978). Blood to the dog brain is supplied by common carotid, vertebral and anterior spinal arteries (De La Torre et al., 1962). The surgical procedure of ligating of common carotid arteries, contrary to the other neck vessels is easily achieved. However, due to an effective and rich collateral circulation (De La Torre et al., 1959) neither unilateral nor bilateral carotid artery ligation is sufficient to develop significant cerebral ischemia. For understanding the basic pathophysiological mechanisms, underlying the effects of the cerebral ischemia, the total interruption of the blood supply to the brain is necessary. The other requirement consists in achieving the reproducible ischemic lesions uniform in all portions of the brain, which allows standardization of experimental conditions (Hossmann, 1977). Numerous experimental models of the cerebral ischemia in dogs were published among others by Drews and Gilboe (1973), Mchedlishvili (1973), Sobotka (1975), Snyder et al. (1975) and Lind et al. (1975). In experimental model described by Sobotka (1975) the arterial blood from cannulated femoral artery of the donor-dog, is passing through the perfusion system into right and left carotid arteries of isolated head of the recipient-dog, in which vertebral arteries were previously ligated and anterior spinal artery compressed. The beginning and the end of the cerebral ischemia is regulated by pressing or releasing the clip on the cannulae placed in carotid arteries. Snyder et al. (1975) thoracotomized the intubated dog in the fourth intercostal space and then clamped both ascending aorta and superior

caval vein. The other methods of total interruption of the blood supply to the brain consisted in compression of all arterial and venous vessels of the neck by strangulation (Nemoto et al., 1975) or in clamping of arteries supplying the brain (Hossmann et al., 1973). Our task was to elaborate a simple method of total, irreversible cerebral ischemia in dog, possible to be performed without intubation of the experimental animal. The proposed method is appropriate not only for biochemical examinations but also for morphological studies, as it offers the possibility of brain perfusion with histological fixatives.

MATERIAL AND METHODS

Eight male and female dogs of different age weighing 7–15 kg were used. Thiopental (SPOFA, Czechoslovakia) was injected intravenously in dosis of 30 mg/kg body weight. During the experiment the animals

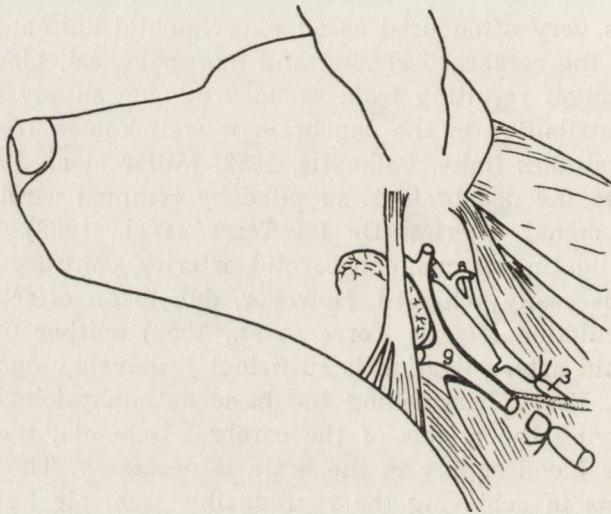


Fig. 1. Schema of the dog's neck — lateral view. Place of ligation of common carotid artery (3); place of ligation and section of a jugular vein (9)

Schemat okolicy szyjnej psa — widok z boku. Podwiązanie tętnicy szyjnej wspólnej (3) i przecięcie żyły szyjnej (9)

Fig. 2. Schema of the dog's neck vertebrae — lateral view. The removed part of the C₂-spine marked by a dotted line; the place of access to the spinal cord through the second intervertebral space (arrow); 1 — vertebral artery, 2 — vertebral vein, 3 — common carotid artery, 4 — internal carotid artery, 5 — external carotid artery, 6 — anastomotic branch to the occipital artery, 7 — cerebrospinal artery, 8 — internal jugular vein, 9 — external jugular vein

Schemat kręgów szyjnych psa — widok z boku. Usunięta część wyrostka kolczy-stego C₂ (linia przerywana) i miejsce dojścia do rdzenia poprzez drugą przestrzeń międzykręgową (strzałka); 1 — tętnica kręgową, 2 — żyła kręgową, 3 — tętnica szyjna wspólna, 4 — tętnica szyjna wewnętrzna, 5 — tętnica szyjna zewnętrzna, 6 — zespolenie z tętnicą potyliczną, 7 — tętnica mózgowo-rdzeniowa, 8 — żyła szyjna wewnętrzna, 9 — żyła szyjna zewnętrzna

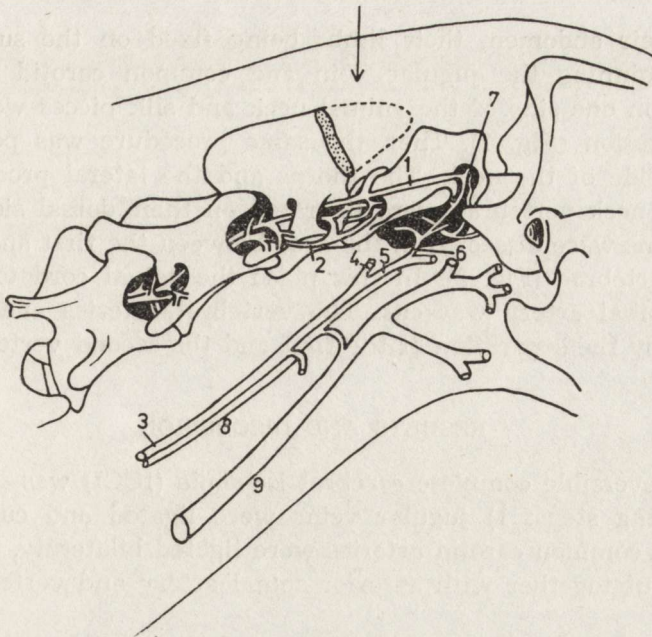


Fig. 2

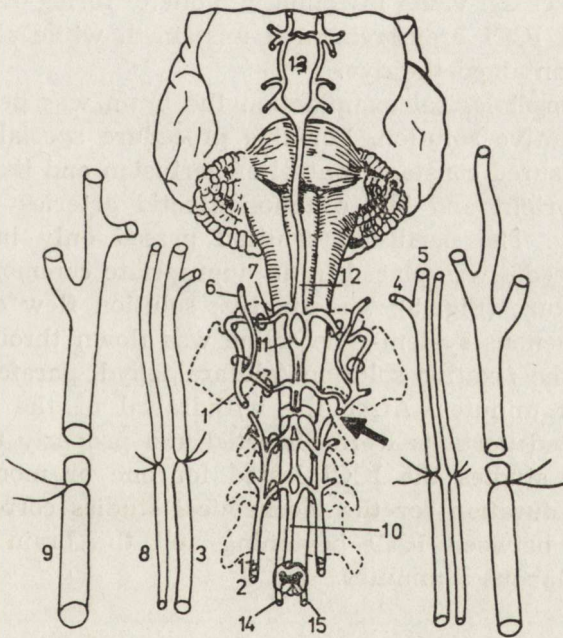


Fig. 3. Schema of the main neck and spinal cord vessels in a dog — view from below; 1 — 9 as in Fig. 2; arrow indicates the place of the spinal cord section; 10 — ventral spinal artery, 11 — atlanto-occipital circle, 12 — basilar artery, 13 — Willis circle, 14 — right vertebral sinus, 15 — left vertebral sinus

Schemat głównych naczyń okolicy szyjnej i rdzenia kręgowego psa — widok od dołu; 1 — 9 oznaczenia jak na ryc. 2; strzałka wskazuje miejsce przecięcia rdzenia kręgowego; 10 — tętnica rdzeniowa brzuszna, 11 — koło szczytowo-potyliczne, 12 — tętnica podstawna, 13 — koło Wilezjusza, 14 — zatoka kręgową prawa, 15 — zatoka kręgową lewa

lied on their abdomen, their limbs being fixed on the surgical table. At the beginning the jugular vein and common carotid artery were separated on one side of the animal neck and silk pieces were prepared for the ligation (Fig. 1). Then the same procedure was performed on the other side of the neck. The thorns and the lateral processes of the first three neck vertebrae were liberated on their dorsal side. The vertebral thorns were dissected in the area between the first and the second cervical vertebrae (Fig. 2). In this place the spinal cord together with anterior spinal artery was cut. The vertebral arteries and veins were disrupted by the separation of the first and the second vertebrae (Fig. 3).

RESULTS AND DISCUSSION

The irreversible complete cerebral ischemia (ICCI) was performed in the following steps: 1) jugular veins were ligated and cut above the ligature, 2) common carotid arteries were ligated bilaterally, 3) the spinal cord was cut together with anterior spinal artery and vertebral arteries and veins.

The completeness of the cerebral ischemia was tested by means of Evans Blue or cresyl violet injection into one of foreleg or hindleg vessels. In the case of ICCI brain remained unstained, while all the body and limb vessels contained the dye.

For the morphological examination the brain was perfused with the saline and fixative solution. For this procedure special apparatus was used which ensured constant control of perfusion and its pressure values (Fig. 4). The right and left common carotid arteries were perfused simultaneously. The perfusion solution passed only into the animals head as the needle was placed in an appropriate common carotid artery above its ligature (Fig. 5). The fixative solution flew out through the opened neck venous system. The saline was flown through during 1—2 minutes and the fixative solution (glutaraldehyd, paraformaldehyd etc.) during 15—20 minutes. After the withdrawal of the brain from the head its selected portions were dissected and properly treated. For the morphological studies the ICCI lasted for one or more minutes. The shortest ICCI duration for the biochemical studies corresponded to the time interval between ICCI beginning and the brain preparation. It lasted usually about 5 minutes.

Fig. 4. Perfusion device. The air blowing pump (1) is connected with a tank (2). The tank is connected with a manometer (3) for measuring the air pressure in the tank. The air containing tank is also connected with the glass (4) which contains a perfusion solution. The solution is passed through polyethylene tubes (5) into both common carotid arteries

Urządzenie do perfuzji. Pompa powietrzna (1) połączona ze zbiornikiem (2). Zbiornik jest połączony z manometrem (3) do pomiarów ciśnienia powietrza w zbiorniku i z naczyniem (4) zawierającym roztwór perfuzyjny. Roztwór jest odprowadzany przez rurki polietylenowe (5) do tętnic szyjnych wspólnych

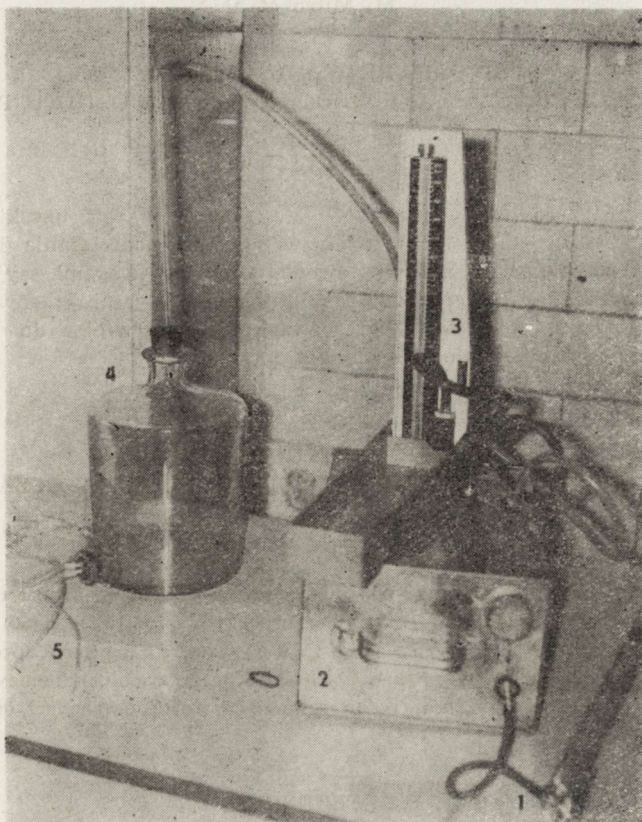


Fig. 4.

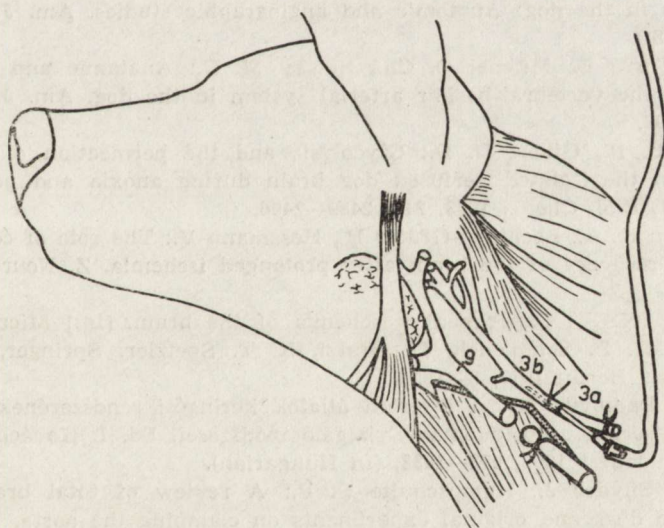


Fig. 5. Schematic view of the perfusion. Needle (3a) connected with a polyethylene tube introduced into common carotid artery (3b) above the ligation; 9 — ligated and sectioned external jugular vein

Schemat podawania płynu perfuzyjnego. Igła (3a) połączona z rurką polietylenową wprowadzona jest do tętnicy szyjnej wspólnej (3b) powyżej podwiązania; 9 — podwiązana i przecięta żyła szyjna zewnętrzna

METODA UZYSKIWANIA CAŁKOWITEGO
NIEODWRACALNEGO NIEDOKRWIENIA MÓZGU U PSA

Streszczenie

Nieodwracalne, całkowite niedokrwienie mózgu u psa uzyskiwano poprzez obustronne podwiązanie tętnic szyjnych wspólnych, podwiązanie i otwarcie żył szyjnych oraz przecięcie rdzenia kręgowego pomiędzy kręgami szyjnymi C₁ i C₂, wraz z tętnicą rdzeniową przednią oraz tętnicami i żyłami kręgowymi. Kontrolę całkowitego niedokrwienia stanowiło wstrzyknięcie barwnika do krwiobiegu — tkanki mózgu pozostawały niezabarwione.

МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛНОЙ,
НЕОБРАТИМОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА У СОБАКИ

Резюме

Необратимую, полную ишемию головного мозга у собаки авторы получали путем двусторонней перевязки общих сонных артерий, перевязки вскрытия шейных вен и перерезки спинного мозга между шейными позвонками C₁ и C₂, вместе с передней артерией спинного мозга, а также с позвоночными артериями и венами. Контролем полной ишемии была инъекция красителя в кровообращение — ткани головного мозга оставались не окрашенными

REFERENCES

1. De La Torre E., Netsky M. G., Meschan I.: Intracranial and extracranial circulations in the dog: Anatomic and angiographic studies. *Am. J. Anat.*, 1959, 3, 343—381.
2. De La Torre E., Mitchel O. Ch., Netsky M. C.: Anatomic and angiographic study of the vertebral-basilar arterial system in the dog. *Am. J. Anat.*, 1962, 2, 187—198.
3. Drewes L. R., Gilboe D. D.: Glycolysis and the permeation of glucose and lactate in the isolated perfused dog brain during anoxia and postanoxic recovery. *J. Biol. Chem.*, 1973, 248, 2489—2496.
4. Hossmann K. A., Lechtape-Grüter H., Hossmann V.: The role of cerebral blood flow for recovery of the brain after prolonged ischemia. *Z. Neurol.*, 1973, 204, 281—285.
5. Hossmann K. A.: Experimental ischemia of the brain. [In:] *Microsurgery for stroke*. Eds. P. Schmiedek, O. Gratzl, R. T. Spetzler. Springer, New York, Heidelberg, Berlin 1977, 8—15.
6. Inke G., Palkovits M.: A kísérleti állatok keringési rendszerének anatómiaja. [In:] *A kísérleti orvostudomány vizsgáló módszerei*. Ed. I. Kovách. Akadémiai Kiadó, Budapest 1962, 973—1033. (In Hungarian).
7. Lind B., Snyder J., Kampschulte S. P.: A review of total brain ischemia models in dogs and original experiments on clamping the aorta. *Resuscitation* 1975, 4, 19—31.
8. Mchedlishvili G. I.: Experimental model of controllable circulatory hypoxia (ischemia) of cerebral hemispheres. *Neuropat. Pol.*, 1973, 11, 249—262.
9. Miller M. E., Christensen G. C., Evans H. E.: *Anatomy of the dog*. Ed. W. B. Saunders. Philadelphia, London 1968.

10. Nemoto E., Gleyaert A., Steroski W., Moosy J., Rao S., Safar P.: Post-ischemic encephalopathy (PIE): A long-term monkey model for therapy evaluation. *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp.*, 1975, 34, 387—389.
11. Popesko P.: *Kompendium veterinárnej anatómie: 4. Cievny systém*. Vydavateľstvo Priroda, Bratislava 1978. (In Slovak).
12. Snyder J. V., Nemoto E. M., Carrol R. G., Safar P.: Global ischemia in dogs: intracranial pressure, brain blood flow and metabolism. *Stroke* 1975, 6, 21—27.
13. Sobotka P.: Reverzibilita zmien psi mozgové kúry po úplné ischémii. *Čes. Lék. čas.*, 1975, 36, 1107—1109. (In Czech).

Authors' address: Institute of Neurobiology, Slovak Academy of Sciences, 57, Šrobárova Str., Košice, Czechoslovakia

SPRAWOZDANIE Z IX MIĘDZYNARODOWEGO KONGRESU
NEUROPATOLOGII

Wiedeń 5—10 wrzesień, 1982 r.

IX Międzynarodowy Kongres Neuropatologii odbył się w centrum zjazdowym wiedeńskiego Hofburgu pod przewodnictwem prof. F. Seitelbergera. Wygłoszone na Kongresie referaty i przedstawione doniesienia posterowe obejmowały prawie cały zakres neuropatologii, a liczba ich przekroczyła 500. Stąd też w sprawozdaniu zatrzymam się wyłącznie na tych referatach, które oceniam najwyżej z punktu widzenia aktualności naukowej. Na szczególną uwagę zasługują te doniesienia, w których przy rozwiązywaniu problemów wykorzystano największe osiągnięcia metodyczne, zastosowane w ostatnich latach w naukach neurologicznych: obrazowanie mózgu (neuroimaging), technika przeciwciał monoklonalnych, klonowanie limfocytów oraz metody wysokiej rozdzielczości białek.

W sympozjach i sesjach na temat urazów i regeneracji w układzie nerwowym na uwagę zasługuje referat Adamsa (Glasgow), który na podstawie badań doświadczalnych twierdzi, że w analizie patomorfologicznej urazów mózgu zbyt małe znaczenie przypisuje się zmianom uogólnionym (rozlane uszkodzenia aksonów, obrzęk mózgu, uszkodzenia hipoksyjne). Szczególną rolę w patomechanizmie ciężkich zespołów pourazowych przywiązuje autor do zmian aksonalnych w spoidle wielkim i innych układach spoidłowych. Nowatorskie podejście doświadczalne do problemu regeneracji w ośrodkowym układzie nerwowym po uszkodzeniach aksonalnych przedstawił Björklund (Lund). Autor wykazał wpływ przeszczepu młodych tkanek hipokampa na stymulację i pączkowanie uszkodzonych neuronów cholinergicznym. Przeszczep, działając jako most dla regeneracji aksonów, ułatwia tworzenie *de novo* dróg o pełnej wartości czynnościowej. Berry i wsp. (Londyn) zwrócili uwagę na rolę czynnika wzrostu fibroblastów (FGF), pochodzącego z tkanki nerwowej (być może z mieliny), w rozwoju blizny tkankowej w układzie nerwowym. Czynniki ten ma działać poprzez stymulację własności mitogennych fibroblastów.

W następnym temacie obrad, dotyczącym mechanizmów transportu przez naczynia mózgowe, niezwykle interesujące doniesienie o enzymach syntetyzujących katecholaminy i o receptorach adrenergicznych w komórkach śródbłonka naczyń mózgowych przedstawili Spatz i wsp. (Bethesda). Doświadczenia autorów wykazały po raz pierwszy zdolność tkanek pochodzenia zewnątrzneuronalnego do syntetyzowania monoamin w ośrodkowym układzie nerwowym. Obecność receptorów powiązanych z systemem cykazy adenylowej i enzymów syntezy katecholamin w komórkach śródbłonka naczyń potwierdza koncepcję monoaminowej regulacji bariery krew—mózg. Innym spojrzeniem na analizę zjawiska przepuszczalności bariery krew—mózg z punktu widzenia biologii molekularnej był referat Crone i Gjedde z Kopenhagi. Autorzy wykazali, że białka ściany śródbłonka spełniają rolę receptorów rozpoznających drobiny substratu. Natomiast inne białka, działając jako przenośniki, odgrywają rolę drogi wodnej przez śródbłonek. Wyniki tych

i innych badań na temat mechanizmów barierowych naczyń mózgu wskazują na występowanie analogii pomiędzy czynnością naczyń włosowatych mózgu i nabłonka nerkowego. Ze względu na nową technikę badawczą interesujący był referat Ikuty (Niigata). Dla oceny czynności komórek w mechanizmie bariery krew—mózg autor wykorzystał metodę, nazwaną przez niego stereotaktyczną morfologią, umożliwiającą obserwację żywych komórek tego układu.

Bezpośrednie badanie mechanizmów bariery krew—mózg u żyjących ludzi stało się możliwe dzięki metodzie obrazowania mózgu (pozytronowa tomografia emisyjna, tomografia fotonowa, technika z zastosowaniem jądrowego rezonansu magnetycznego). Z badań przedstawionych w referacie Oldendorfa (Los Angeles) można było wyciągnąć wnioski dotyczące stanu zjawisk na poziomie tkankowym, co stanowi przewrót w odniesieniu do dotychczasowych technik neuropatologicznych, wymagających izolacji tkanki przed jej analizą.

Najciekawsze prace przedstawione na sesji neuroonkologicznej dotyczyły problemów wiążących się z istotą wzrostu oraz immunologią nowotworów. Koestner (East Lansing, Michigan) przedstawił dowody doświadczalne, że transformowane nowotworowo komórki glejaków mogą ulec regresji w kierunku komórek normalnych. Autor wykazał, że pod wpływem maślanu sodu komórki anaplastyczne doświadczalnych glejaków, wywołanych działaniem etylnitrozomocznika, ulegają przeobrażeniu w komórki nie różniące się morfologicznie i czynnościowo od normalnego gleju. Zjawisko ma jednak charakter przejściowy i mija po wycofaniu leku. Podobne, ale trwające dłużej zmiany można zaobserwować pod wpływem czynnika wzrostu nerwów (NGF). Na tej podstawie autor wysuwa hipotezę, że identyczny lub podobny czynnik może być odpowiedzialny *in vivo* za indywidualną odporność na mutacje neoplastyczne.

Bardzo ciekawy problem, stawiający w nowym świetle patomechanizm chemicznej karcynogenezy przedstawili Ikuta i wsp. (Niigata). Po implantacji węglowodorów karcynogennych autorzy obserwowali w komórkach glejaków powstawanie cząstek podobnych do wirusów. Na tej podstawie wysunęli oni hipotezę, że chemiczne karcynogeny pobudzają genom wirusów pasożytujących w komórkach, co dopiero wtórnie mogłoby prowadzić do powstawania nowotworów doświadczalnych. Kilku autorów (Nakamura i wsp. — Toronto, Wikstrand i Bigner — Durham) stosując technikę monoklonalnych przeciwciał do badania immunoreaktywności komórek glejaków mózgu, wykazało przydatność tej metody dla monitorowania procesów różnicowania i dojrzewania komórek guzów pochodzenia neuroektodermalnego. Yoshida i wsp. (Nagoya) oraz Yates i wsp. (Columbus) przedstawili dalsze dowody (w warunkach *in vitro* i *in vivo*) hamowania rozwoju komórek gąbczaków przez β -interferon, w większym stopniu niż płodowych komórek nienowotworowych.

W kolejnym sympozjum oraz sesjach poświęconych neuropatologii genetycznej i rozwojowej tematyka była dość różnorodna. Iqbal i Wiśniewski (Staten Island) na podstawie swych badań wysunęli hipotezę, że parowane helikalne filamenty, stanowiące molekularną podstawę zwyrodnienia włóknienkowego typu Alzheimer'a, gromadzą się w dotkniętych neuronach ze względu na swoją oporność na działanie proteaz komórkowych.

Haltia i wsp. (Helsinki) przedstawili aspekty kliniczne, morfologiczne i chemiczne nowej, powoli postępującej choroby neurologicznej u bliźniąt, określonej jako choroba neuronalnych wtrętów wewnątrzjądrowych. Na uwagę zasługuje również wykazanie przez Privata i wsp. (Paryż), że uwarunkowana genetycznie hypomielinizacja u myszy Quaking jest zależna od błędu w różnicowaniu glioblastów.

Referat Mynanthopoulosa (Bethesda) przedstawiony na sesji plenarnej świadczy, jak różne metody mogą prowadzić do rozwiązania problemów neuropatolo-

gicznych (w tym przypadku etiologii wad wrodzonych układu nerwowego). Autor omówił wyniki perspektywicznych badań epidemiologicznych przeprowadzanych na dużą skalę w USA. W oparciu o stwierdzenie, że wady cewki nerwowej występują znacznie częściej, jeżeli okres upływający od ostatniej ciąży jest krótki lub jeśli skończyła się ona poronieniem, wysuwa tezę o oddziaływaniu płód—płód, jako czynnika etiologicznego wad cewki nerwowej. Być może istotne znaczenie mają pozostałe w macicy trofoblasty.

Bardzo wiele uwagi poświęcono na Kongresie teorii zapalenia w ośrodkowym układzie nerwowym, zwłaszcza prowadzącym do demielinizacji. Sesję na powyższy temat zainaugurował niezwykle interesujący referat Waksmana (Nowy York), który stanowił podsumowanie stanu wiedzy na temat patomechanizmu ostrych i przewlekłych zapaleń, opartego na badaniach wykonanych na modelach immunologicznych. W zapaleniach typu przeniesionego przez komórki (cell-mediated immunity), limfocyty T rozpoznają swoiste antygeny umiejscowione na komórkach gospodarza (śródbłonek? makrofagi? oligodendroglę?), a następnie limfocyty T rozmnażają się i wytwarzają limfokiny, które przyciągają i aktywują monocyty hematogenne. W tych warunkach nieswoiste komórki jednojądrzaste przeobrażają się w fagocytujące makrofagi, które uszkadzają miąższ przez bezpośredni kontakt cytotoksyczny i przez uwolnienie hydrolaz lizosomalnych. W okolicy tak powstałego ogniska pojawiają się wtórnie nacieki zawierające dużą liczbę komórek plazmatycznych, pochodzących z krążących limfocytów B. W razie uszkodzenia wywołanego przez nierozpadające się antygeny lub przez antygen tkankowy obecny w dużych ilościach, komórki jednojądrzaste mogą się stać nabłonkowatymi i wytwarzać ziarniniaki. Uszkodzenia miąższu mogą być nasilone przez przeciwciała działające na składniki miąższu (np. przeciwciała mielinotoksyczne), częściowo o działaniu bezpośrednio cytotoksycznym.

Wiele nowych, chociaż częściowo fragmentarycznych danych przedstawiono w następnych referatach, opartych o badania doświadczalne i obserwacje kliniczne. Wiśniewski i wsp. (Staten Island) na podstawie rozległych badań przewlekłego nawracającego zapalenia mózgu i rdzenia przedstawili dane wskazujące, że również antygeny inne niż białko zasadowe mogą wywołać alergiczne zapalenie mózgu. Dla rozwoju dużych ognisk demielinizacyjnych niezbędne jest natomiast uczulenie wieloantygenowe, a dla przewlekłej postępującej, nawracającej postaci, obwodowe odłożenie antygeny encefalitogennego. Badania Rodrigueza i wsp. (La Jolla, Kalifornia) wykazały, że przewlekłe nawracająca choroba demielinizacyjna może być wywołana również przez zakażenia wirusowe, najłatwiej przez wirus zapalenia wątroby myszy (MHV) oraz wirus zapalenia mózgu i rdzenia myszy typu Theilera (TMEV). Zdaniem tych autorów przewlekła postępująca demielinizacja jest uwarunkowana przetrwałym zakażeniem wirusowym. Nyland i wsp. (Bergen) oraz Traugott i Raine (Nowy York) badając nacieki okołonaczyniowe, przy użyciu techniki przeciwciał monoklonalnych przeciwko limfocytom T i ich subpopulacjom wykazali, że limfocyty T są dominującym typem komórek nacieków w ostrych i świeżych uszkodzeniach. Dalej wykazano, że komórki supresorowe T są zlokalizowane głównie na brzegu aktywnych uszkodzeń. W starszych ogniskach stwierdza się je głównie w części środkowej. Na tej podstawie autorzy uważają, że komórki T odgrywają decydującą rolę w rozwoju uszkodzeń istoty białej w chorobach demielinizacyjnych. W świetle tych doświadczeń nie wiadomo jak wyjaśnić spostrzeżenia Arnasona (Chicago) i innych autorów, że liczba komórek supresorowych T ulega obniżeniu we krwi obwodowej w czasie ataku stwardnienia rozsianego, a niekiedy obniżeniu ulega również całkowita liczba komórek T.

Znacznie mniej uwagi niż badaniom immunologicznym poświęcono zmianom tkankowym w chorobach zapalno-demielinizacyjnych, wywołanych przez działanie

zewnątrzpochodnych czynników szkodliwych. Najciekawszą pracą z tego zakresu badań był referat Maggio i Cumara (Cordoba). Autorzy bronili tezy o pierwotnej roli molekularnych zmian błony mieliny w rozwoju procesu demielinizacji. Zdaniem autorów modyfikacje organizacji wewnątrz-molekularnej mieliny i związane z tym odchylenia przepuszczalności prowadzą do nieprawidłowej czynności błon, a tym samym osłabiają odporność na działanie czynników zewnętrznych.

Z prac przedstawionych na Kongresie na temat padaczki na wzmiankę zasługuje doniesienie Redmonda i Harrisa (Toledo), którzy wykazali obecność immunoglobulin w ognisku podaczkorodnym i na tej podstawie wysnuli hipotezę o roli immunoglobulin i komplementu w patogenezie niektórych postaci padaczki.

Kongres wykazał dobitnie, że neuropatologia badająca zjawiska tkankowe w procesach chorobowych ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego coraz bardziej zbliża się do dziedziny określanej jako neurobiologia. Równocześnie, jak podkreślono w dyskusji na Kongresie, w wielu krajach w erze rozwoju technik obrazowania układu nerwowego, dających przyżyciowo możliwość nie tylko pełnego rozpoznania, ale i wglądu w charakter i rozległość procesów tkankowych, rysuje się wyraźnie zmierzch zainteresowania badaniami autopsyjnymi.

Inną nasuwającą się refleksją jest wyraźnie widoczne japońskie wyzwanie dla nauki światowej. Japończycy stanowili nie tylko najliczniejszą grupę narodową na Kongresie, ale wnieśli również poważny wkład naukowy do obrad, wykazując znakomite przygotowanie techniczne swych warsztatów badawczych. Pełną ocenę wartości prac japońskich utrudniała jednak, na ogół mierna u Japończyków znajomość języka angielskiego, która czyniła część referatów trudno zrozumiałą dla słuchaczy.

W Kongresie wzięła udział duża, bo licząca 10 osób delegacja polska.

Mieczysław Wender

Халина Вейнраудер, Зузанна Красниicka: Иммунофлюоресцентная картина культуры мозжечка подверженной действию метилнитрозомочевины (МНМ) . . .	241
Халина Выглиондальска-Ернаc: Влияние перегрева организма на морфологию и гистохимию спинного мозга	257
Эва Нахман, Марек Нахман: Артериальная васкуляризация ядер полосатого тела	273
Мирослав Я. Моссаковски, Барбара Квятковска-Патцер: Влияние индометацина на ишемические повреждения головного мозга у монгольского хомяка (<i>Meriones unguiculatus</i>)	287
Пжемыслав Новацки, Йоланта Цецерко, Лаура Коляж-Юзевич: Попытка морфологической оценки длительности посттравматических внутримозговых гематом	303
А. Митро, Я. Маршала, П. Ялч, М. Помфы, А. Мароссы, З. Дакснерова, З. Шебекова: Метод получения полной, необратимой ишемии головного мозга у собаки	315
М. Вендер: Отчет о IX Международном Конгрессе Невропатологии	322
Ежи Дыменцки: Отдел хроники и информации	240, 256 i 286

CONTENTS

Bożena Zgorzalewicz, Volker Neuhoff, Hans Georg Zimmer: Changes in the protein and glycoprotein composition of rabbit optic nerve myelin during early postnatal development	161
Hanna Grabowska: Morphology of human pineal gland in various extracranial pathological disorders	169
Irina W. Gannuszкина, Halina Weinrauder, Inna G. Zirnowa: The detection of antibrain antibodies in sera of patients with neurological diseases by immunofluorescence and immunodiffusion	183
Krystyna Honczarenko: Clinical-neuropathological correlation of the cerebral lacunar state of different etiology, with exception of atheromatous background	191
Barbara Gajkowska, Zuzanna Kraśnicka, Mirosław Smiałek: Effect of manganese ions (Mn^{++}) on morphological picture in the brain in tissue culture	203
Halina Wyglądalska-Jernas: Phosphatases and esterases activities in the spinal cord of rat after the acute sublimate detoxication	221
Antoni Godlewski: The myelination changes of rat corpus callosum provoked by administration of vincristine in the second part of gestation	231
Halina Weinrauder, Zuzanna Kraśnicka: Immunofluorescence in cultures of cerebellum traeted with methylnitrosourea	241
Halina Wyglądalska-Jernas: Morphological and histochemical changes in the spinal cord due to the whole body hyperthermia	257
Ewa Nachman, Marek Nachman: Arterial vascularization of the striatal nuclei and internal capsule in cat	273
Mirosław J. Mossakowski, Barbara Kwiatkowska-Patzer: Effect of indomethacin on the ischemic brain lesions in mongolian gerbils (<i>Meriones unguiculatus</i>)	287
Przemysław Nowacki, Jolanta Cecerko, Laura Kolarz-Józefowicz: An attempt to evaluate the morphological age of post-traumatic intracerebral hematomas	303
A. Mitro, J. Maršala, P. Jalč, M. Pomfy, A. Marosy, Z. Dexnerová, Z. Šreböková: Method of the development of irreversible, complete cerebral ischemia in dog	315
Mieczysław Wender: Report of IXth International Congress of Neuropathology, Vienne 1982	322
Jerzy Dymecki: Chronicle and Information	240, 256 i 286

SPIS TREŚCI

Bożena Zgorzalewicz, Volker Neuhoﬀ, Hans Georg Zimmer: Zmiany w składzie białek i glikoprotein nerwu wzrokowego królika we wczesnym okresie rozwoju pozapłodowego	161
Hanna Grabowska: Obraz morfologiczny szyszynki ludzkiej w przebiegu niektórych ogólnoustrojowych stanów patologicznych	169
Irina W. Gannuszkina, Halina Weinrauder, Inna G. Zirnowa: Zastosowanie immunofluorescencji i immunodyfuzji do wykrywania przeciwciał antymózgowych w surowicach pacjentów z chorobami OUN	183
Krystyna Honczarenko: Korelacje kliniczno-neuropatologiczne stanu zatokowego mózgu o różnej etiologii z wyłączeniem tła miażdżycowego	191
Barbara Gajkowska, Zuzanna Kraśnicka, Mieczysław Śmiałek: Wpływ jonów manganowych (Mn^{++}) na obraz morfologiczny hodowanej tkanki nerwowej	203
Halina Wyglądalska-Jernas: Aktywność fosfatas i esteraz w rdzeniu kręgowym szczurów w następstwie ostrego zatrucia sublimatem	221
Antoni Godlewski: Wpływ winkrystyny podawanej szczurom w drugiej połowie ciąży na mielinizację spoidła wielkiego	231
Halina Weinrauder, Zuzanna Kraśnicka: Obraz immunofluorescencyjny hodowli mózdzku poddanej działaniu metylnitrozomocznika	241
Halina Wyglądalska-Jernas: Wpływ przegrzania ustroju na morfologię i histochemię rdzenia kręgowego	257
Ewa Nachman, Marek Nachman: Unaczynienie tętnicze jąder prądkowia i torebki wewnętrznej mózgowia kota	273
Miroslaw J. Mossakowski, Barbara Kwiatkowska-Patzer: Wpływ indometacyny na niedokrwiennie uszkodzenia mózgu u chomika mongolskiego (<i>Meriones unguiculatus</i>)	287
Przemysław Nowacki, Jolanta Cecerko, Laura Kolarz-Józefowicz: Próba oceny morfologicznej wieku pourazowych krwiaków śródmózgowych	303
A. Mitro, J. Maršala, P. Jalč, M. Pomfy, A. Marossy, Z. Daxnerová, Z. Seböková: Metoda uzyskiwania pełnego, nieodwracalnego niedokrwienia mózgu u psa	315
Sprawozdanie z IX Międzynarodowego Kongresu Neuropatologicznego w Wiedniu — 1982	322
Jerzy Dymecki: Dział kroniki i informacji	240, 256 i 286

СОДЕРЖАНИЕ

Боżена Згожалевиц, Фолкер Нейгоф, Ханс Георг Циммер: Изменения в составе белков и гликопротеидов зрительного нерва кролика в раннем периоде внеэмбрионального развития	161
Ханна Грабовска: Морфологическая картина человеческой шишковидной железы в течение некоторых общеорганических патологических состояний	169
Ирина В. Ганнушкина, Халина Вейнраудер, Инна Г. Жирнова: Иммунофлюоресцентный и иммунодиффузионный тесты для исследования противомозговых антител у неврологических больных	183
Крystына Гончаренко: Клинико-невропатологические корреляции лакунарного состояния головного мозга с разной этиологией с исключением атероматозного фона	191
Барбара Гайковска, Зузанна Красьницка, Миечыслав Смялэк: Влияние марганцевых закисных йонов (M^{++}) на морфологическую картину культивируемой нервной ткани	203
Халина Выглюндальска-Ернас: Активность фосфатаз и эстераз в спинном мозгу крыс вследствие острого отравления сулемой	221
Антони Годлевски: Влияние винкристина вводимого крысам во второй половине беременности на миелинизацию большой спайки	231