

EWA OSETOWSKA, ANNA TARASZEWSKA

## CHARAKTERYSTYKA GENETYCZNA SZCZEPU KRÓLIKÓW „ŁOMNA”

Dalsza obserwacja kliniczna i neuropatologiczna

Z Pracowni Neuropatologii Porównawczej  
Kierownik: prof. dr med. E. Osetowska  
Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN  
Dyrektor: prof. dr med. Z. Ruszczewski

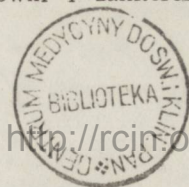
Doniesienie obecne jest czwartym z kolei dotyczącym szczepu królików szynszyli ze stwierdzoną dziedziczną chorobą układu nerwowego. W doniesieniu pierwszym (Osetowska, Wiśniewski 1966) przedstawiono weryfikację neuropatologiczną mózgow trzech królików z objawami klinicznymi, pochodzących z dwóch kolejnych miotów od tej samej samicy. W doniesieniu opublikowanym w roku 1966 (Osetowska i wsp.) stwierdzono po raz pierwszy dziedziczne przekazywanie zespołu neurologicznego przez klinicznie zdrową samicę królikom-samcom. W latach następnym uzupełniono badanie neuropatologiczne materiałem z 10 następnym mózgow, opracowanych na skrawkach seryjnych (Osetowska 1967).

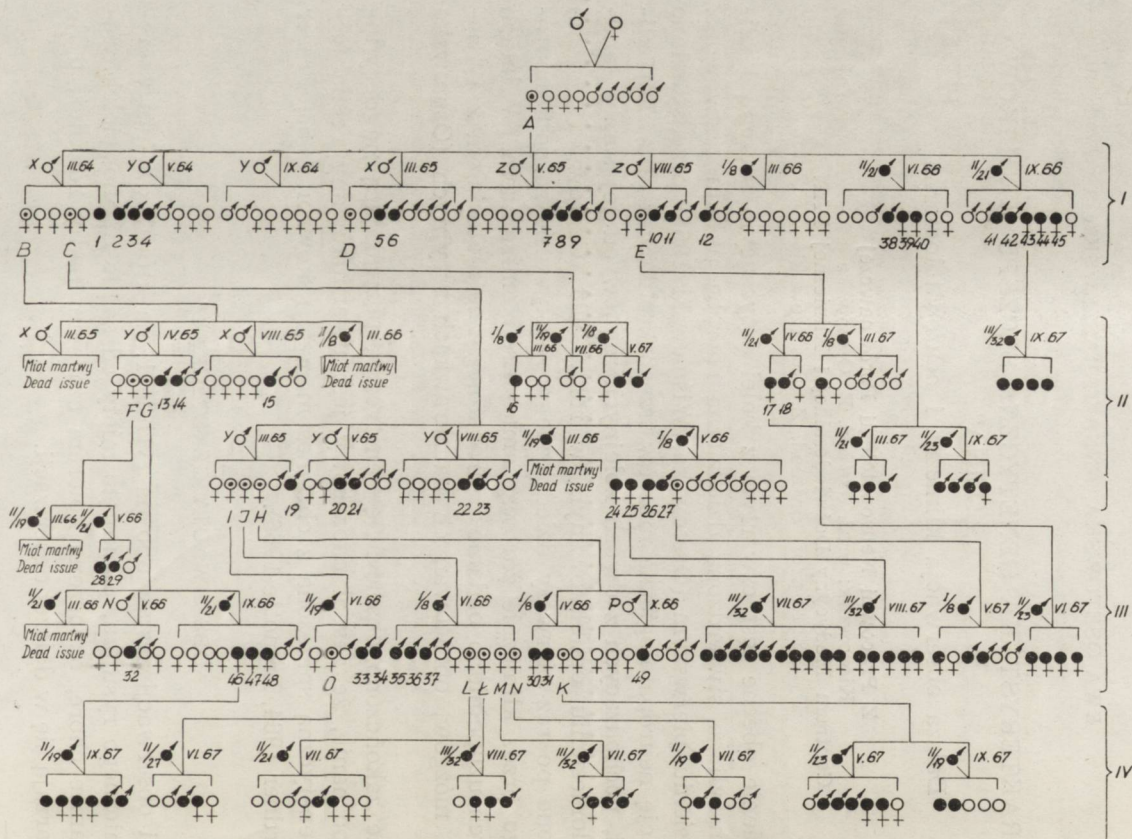
Obecnie zakończono obserwację genetyczną, pozwalającą na decydujące rozpoznanie, że zespół chorobowy jest uwarunkowany cechą (cechami) genetyczną sprzężoną z chromosomem X (Skowron 1965, Fraser 1966, Gardner 1964, Lamotte 1966).

### OBSERWACJA GENETYCZNA \*

Wyniki obserwacji zestawiono na rycinie 1, na której, dla uproszczenia technicznego rysunku, pominięto mioty od samic nie-nosicielek. Samice i samce chore, oznaczone kolorem czarnym, padły również, o ile nie powtarzają się w dalszej obserwacji.

\* Obserwacja genetyczna szczepu była przeprowadzana w oparciu o konsultacje pani doc. dr Haliny Krzanowskiej, Kierownika Katedry Genetyki i Ewolucjonizmu Zwierząt UJ w Krakowie. W tym miejscu składamy Pani Docent raz jeszcze serdeczne podziękowania za wskazówki i zainteresowanie się szczepem królików „Łomna”.





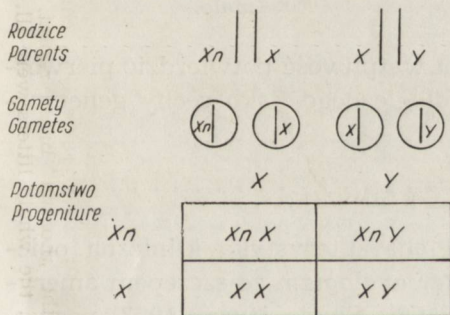
Ryc. 1. „Drzewo genealogiczne” szczerpu królików „Łomna”. Do roku 1966 tylko samce są chore klinicznie. W roku 1966 otrzymuje się pierwsze chore samice. W roku 1967 chore całe mioty. Królik I/7 rzekomy obojnak.  
 Fig. 1. „Genealogical tree” of the „Łomna” breed rabbit. Till 1966, only males were clinically ill. In 1966, first diseased females were obtained. In 1967, the whole litters were ill. The rabbit I/7 intersex-rabbit.

Samice nosicielki oznaczono kolejnymi literami alfabetu, przy czym kolejność zachowano w stosunku do chronologii pokrycia. Podobnie zwierzęta chore oznaczono cyframi arabskimi, zachowując kolejność według chronologii miotu. Samce zdrowe szynszyle, pochodzące z innych rodzin, względnie z innych linii, oznaczano literami X, Y, Z, N, P. Liczby rzymskie, I, II, III, IV podawane przy klamrach na prawym marginesie oznaczają pokolenia. Numerację królików z objawami klinicznymi prowadzono do roku 1966 włącznie. W roku 1967 zaniechano jej, tak ze względu na liczebność królików, jak i ze względu na dość częste upadki, wreszcie w stosunku do królików młodych, u których w trakcie przygotowywania tej pracy nie oznaczono jeszcze ostatecznie płci.

Obserwacja genetyczna szczepu obejmowała trzy etapy.

W okresie pierwszym rozporządzano zweryfikowanymi już samicami nosicielkami, natomiast pierwsze chore samce bądź to padły przed osiągnięciem dojrzałości płciowej, bądź też jak samiec I/2 nie wykazały, pomimo stosunkowo długiego przeżycia, takiej poprawy klinicznej, która umożliwiłaby użycie ich do krycia. Stąd samice nosicielki musiały być kryte samcami zdrowymi, a potomstwo otrzymywano według wzoru przedstawionego na ryc. 2.

Analiza danych z ryciny 1, dotyczących miotu pokolenia I i II w okresie roku 1964 i 1965 pozwala na stwierdzenie, że stosunki liczbowe,



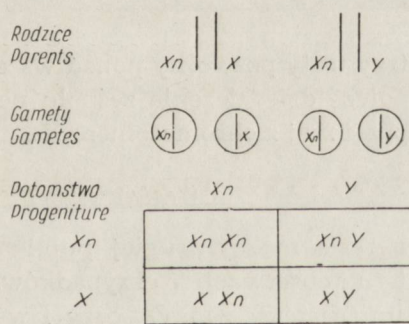
1/4 zdrowych samic  
1/4 healthy females  
1/4 samców zdrowych  
1/4 healthy males

1/4 samic nosicielek  
1/4 female carriers  
1/4 samców chorych  
1/4 diseased males

Ryc. 2.

Ryc. 2. Dziedziczenie cechy chorobowej (X<sub>n</sub>) w układzie: samica nosicielka x x<sub>n</sub> samiec zdrowy.

Fig. 2. Hereditary conditions (X<sub>n</sub>) in the mating: female-carrier x x<sub>n</sub> healthy male.



1/4 samic chorych  
1/4 diseased females  
1/4 samców chorych  
1/4 diseased males

1/4 samic nosicielek  
1/4 female carriers  
1/4 samców zdrowych  
1/4 healthy males

Ryc. 3.

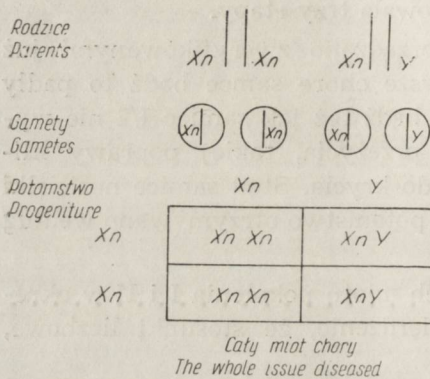
Ryc. 3. Dziedziczenie cechy chorobowej w układzie: samica nosicielka x x<sub>n</sub> samiec chory.

Fig. 3. Hereditary conditions in the mating: female-carrier x x<sub>n</sub> diseased male.

szczególnie dla nosicielki A, która miała mioty najliczniejsze, zgadzają się niemal idealnie.

Etap drugi rozpoczął się z chwilą uzyskania u samców chorych, osobników wykazujących tak dużą poprawę kliniczną, że umożliwiło to użycie ich w roku 1966 do krycia samic nosicielek. Ze skrzyżowania królików chorych i samic nosicielek uzyskano potomstwo według wzoru przedstawionego na ryc. 3, tzn. otrzymano samice chore, samice nosicielki, oraz samce chore i samce zdrowe.

Wreszcie w trzecim okresie obserwacji, w roku 1967, pokryto samice chore samcami chorymi, uzyskując pełne mioty chorych zwierząt (ryc. 4).



Ryc. 4. Dziedziczenie cechy chorobowej w układzie: chora samica x chory samiec.

Fig. 4. Hereditary morbidity in the mating: diseased female x diseased male.

Te trzy testy pozwoliły ponad wszelką wątpliwość potwierdzić pierwotną hipotezę dziedziczenia zespołu neurologicznego, jako cechy genetycznej, sprzężonej z chromosomem X.

#### CHARAKTERYSTYKA KLINICZNA

W okresie naszej drugiej publikacji charakterystyka kliniczna opierała się na obserwacji 7 przypadków. *Per analogiam* ze szczepem amerykańskim (Anders 1945, O'Leary i wsp. 1965, Sawin i wsp. 1963) nazwailiśmy chorobę obserwowaną u naszych królików dziedziczną ataksją. Obecnie, opierając się na doświadczeniu klinicznym, dotyczącym ponad osiemdziesięciu przypadków, możemy wnieść do spostrzeżeń pierwotnych kilka istotnych modyfikacji. W obrazie klinicznym dominują dwa elementy: drżenia drobne rytmiczne, względnie drżenia większe, o dużych wychyleniach, występujące pod wpływem emocji zewnętrznych; niedowłady spastyczne kończyn, głównie tylnych w okresie przedzgonnym obejmujące także i kończyny przednie.

Drżenia dotyczące głowy, uszu, tułowia i ogona pojawiają się najwcześniej. Najprawdopodobniej występują one już u noworodków po

porodzie. W tym jednak okresie króliczęta nagie, zbite w jedną masę, drżą wszystkie, jeżeli usiłuje się je odkryć w gnieździe, wyjmując matkę. Toteż w tym stadium różnicowanie królików chorych i zdrowych jest co najmniej niepewne, jeżeli nie wręcz niemożliwe. Pomiedzy 10. a 14. dniem życia, kiedy króliki są już pokryte sierścią, różnicowanie zachowania jest zupełnie łatwe. Króliki drżące odbijają wtedy wyraźnie od pozostałego, normalnego miotu. Niedowłady kończyn tylnych pojawiają się później około 4—6 tygodnia życia. Początkowo oglądając, można zauważyć pewną nieporadność ruchową, uchwytną szczególnie przy wypuszczeniu stada na gładką murawę lub na ścieżkę. Króliki chore przy skoku pozostawiają kończyny tylne nieco dłużej za sobą. Badaniem neurologicznym można stwierdzić już wtedy wzmożenie napięcia mięśniowego oraz wygórowane odruchy ścięgnowe, niekiedy bardzo wyraźny stopotrząs. W miarę nasilania się procesu chorobowego narasta obniżenie siły mięśniowej. Kończyny tylne u królika puszczzonego wolno wyraźnie „pływają”. W fazie ostatniej królik powłóczy zadem, na którym stwierdza się odleżyny, futerko na tułowiu jest zabrudzone kałem, odgniecione. Kończyny przednie dość wcześnie wykazują objawy uchwytnie badaniem ręcznym (napięcie mięśniowe wzmożone oraz wygórowane odruchy). Natomiast do obniżenia siły takiego, ażeby widoczne było „pływanie” kończyn dochodzi raczej rzadko. Przeważnie zgon poprzedza porażenie kończyn przednich. Pełny zespół spastycznego porażenia czterech kończyn obserwowano tylko w jednym przypadku, u królika 1/2, który przeżył ponad dwa lata, przechodząc po okresie ostrym w stan stacjonarny.

W żadnej fazie choroby nie zaobserwowano niedowładów mięśni karku, żuchwy, czy krtani. W zasadzie króliki do końca pobierają pokarm prawidłowo. Nie stwierdzono także zaburzeń ze strony mięśni zewnętrznych oka, ani porażień źrenicznych, jakie opisywano u królików amerykańskich (O'Leary i wsp. 1965). Wydaje się również, że w obrazie klinicznym nie występują zaburzenia zwieraczy, a wspomniane wyżej zabrudzenie futerka należy odnieść do niedowładów kończyn i tułowia, względnie do biegunki występującej w okresie przedgonnym.

W sumie, obraz kliniczny daje się raczej zakwalifikować jako drżączka porażna. Nie ma natomiast w opisanym obrazie właściwej dyskordynacyjnej ataksji mózdkowej.

Choroba układu nerwowego nie jest sama przez się w 100% śmiertelna, aczkolwiek niewątpliwie jest niewyleczalna. Spotyka się jednak, i to stosunkowo często, przebiegi stacjonarne, a także znaczne kliniczne poprawy. W przypadkach o prognozie złej nasila się przede wszystkim drżenie głowy i tułowia. W ogóle, o ile około drugiego mie-

siąca życia drżenia nie wykazują tendencji do zanikania, stan ogólny pogarsza się stopniowo i królik ginie najczęściej pomiędzy 4. a 7. miesiącem życia. Natomiast stosunkowo często w tym samym okresie życia drżenia zaczynają słabnąć, a niedowład, jakkolwiek się pojawiają, nie osiągają nigdy znacznego stopnia rozwoju. Niemniej właśnie niedowład spastyczny utrzymuje się jako objaw stały także i po zaniknięciu drżeń; królika chorego od zdrowego można odróżnić, poza szczegółową obserwacją ruchu, także i ręcznym badaniem neurologicznym za pomocą młotka neurologicznego. Króliki samce, które uległy poprawie klinicznej, są zdolne do krycia. Przenoszą także regularnie na potomstwo zespół chorobowy, co w kilku przypadkach przy bardzo znacznej poprawie indywidualnej było dowodem trafnie postawionej diagnozy klinicznej w pierwszym okresie życia. W tabeli 1 widoczne są króliki chore, używane później do krycia w następnych pokoleniach (samce I/8, II/19, II/21, II/23, II/27, III/32). Wspomniany wyżej królik I/2 z przeżyciem dwuletnim nie miał w dalszych fazach choroby zupełnie drżeń, natomiast do niedowładów dołączyły się liczne troficzne złamania kończyn ustalone rentgenologicznie, jako typowe złamania podokostnowe.

Na ogół reprodukcja w tym szczepie jest dość trudna. W wielu przypadkach, pomimo odbytej kopulacji, samice nie zachodzą w ciążę. Samice ciężarne ronią lub mają przedwczesne porody, względnie rodzą całe mioty martwe. Śmiertelność w szczepie jest wysoka, tak pomiędzy osobnikami chorymi, jak i wśród królików niedotkniętych zespołem neurologicznym.

U królików chorych zgon następuje w wyniku pogarszającego się stanu neurologicznego z komplikacją *sub finem vitae* chorobą infekcyjną płuc lub przewodu pokarmowego. Króliki bez w.w. objawów padają wskutek chorób przypadkowych: biegunek, kokcydiozy jelit i wątroby (Osetowska i wsp. 1966, Pastuszko 1963), zapaleń płuc itp. Odporność na te choroby wydaje się w obrębie szczepu dużo mniejsza niż u królików normalnych. Na podstawie obserwacji dotychczasowych śmiertelność wśród królików chorych można ocenić na 50—60%, z tym, że jak podkreślono powyżej, zespół neurologiczny nie jest bezpośrednią przyczyną zgonu, lecz przyczyną przysposabiającą do śmiertelnych powikłań. Biorąc pod uwagę równocześnie zmniejszoną płodność w szczepie można prawdopodobnie mówić także o semiletalności genu (Gardner 1964, Lyon 1963).

#### NEUROPATHOLOGIA

W narządach wewnętrznych, w układzie mięśniowym, w dniu oka nie znaleziono zmian charakterystycznych w żadnym z badanych przypadków. Zmiany w mózgu przedstawiano ostatnio szczegółowo w do-

niesieniu opartym na seryjnym opracowaniu 10 mózgów (Osetowska 1967). Dlatego obecnie ograniczymy się tylko do sumarycznego zebrania faktów podstawowych.

Zmianą zasadniczą jest rozpływanie się komórek nerwowych, które morfologicznie rozpoczyna się jakby obrzękiem bryłek tigroidu, następnie homogenizacją, aż do zupełnego zblednięcia i zanikania w podłożu protoplazmy, przy utrzymującym się nieco dłużej jądrze komórki (ryc. 5 a, b, c, d). Wyraźną wakuolizację obserwuje się stosunkowo rzadko. Jako zmiana wtórna rozwija się zwyrodnienie aksonu, a następnie osłonki mielinowej (ryc. 6 a). Uszkodzenia te dotyczą wszystkich poziomów. W korze mózgowej, gdzie nagromadzone są duże ilości neuronów, neurony schorzałe i odchodzące od nich aksony rozrzucone są na stosunkowo dużej przestrzeni. W jądrach podstawy elementy zwyrodniałe wyraźnie się zagęszczają, podczas gdy w pniu mózgu można obserwować uszkodzenia całych jąder i wyraźne wyrodnienie odchodzących od nich pęczków nerwowych (ryc. 6b). Zwyrodnieniu dróg długich towarzyszy odczynowa, izomorficzna glejoza włóknista (ryc. 6c). Zmianą dodatkową, zaobserwowaną w 8 na 10 przypadków przebadanych jest wapnienie neuronów, występujące w zwojach podstawy, głównie w *pallidum*, w istocie siateczkowej śródmózgowia i opuszki oraz w jądrach nerwów czaszkowych (ryc. 6d).

#### DYSKUSJA

Stwierdzenie występowania tego nowego zespołu chorobowego, uwarunkowanego cechą genetyczną, występującą w *sex-linkage'u* wydaje się być dość interesującym zjawiskiem także i z punktu widzenia genetyki ogólnej. Gardner (1964) pisze: „...pomimo dużego zainteresowania, jakie budzi zjawisko *sex-linkage'u* i stałej obserwacji fenotypologii zwierząt z tego punktu widzenia, tylko kilka zespołów jest zarejestrowanych jako pewne. Specjalnie usilnie obserwowano szczury, ale nie stwierdzono ani jednego rysu charakterystycznego o cechach przeniesienia przez chromosom X. Pięć możliwych genów, występujących w *sex-linkage'u* jest zarejestrowanych u myszy, wszystkie o pełnej dokumentacji. Jeden tego typu przypadek stwierdzono u kotów pod postacią dziedziczenia futerka o maści szylkretowej (czarno-żółte układy zabarwienia). Prawdopodobnie chodzi tu jednak o brak właściwej dysjunkcji (XXY)”. W katalogu Sidmana i wsp. (1965) zarejestrowano kilka fenotypów chorobowych dziedziczonych w *sex-linkage'u*, a Mary F. Lyon (1963) pisze o letalnych i semiletalnych tendencjach u mysich samców, dziedziczonych przez chromosom X, wskazujących na konieczność specjalnych kojarzeń w miotach w celu wyeliminowania tego le-

talnego wpływu. Katalog McKusicka (1966) podaje kilkanaście zespołów chorobowych u człowieka, wskazujących na wyraźne połączenie z chromosomem X. Ze względów łatwo zrozumiałych żadna z tych obserwacji nie jest kompletna i nie jest sprawdzona za pomocą wszystkich możliwych krzyżówek, potwierdzających, jak w przypadku szczepu łomniańskiego, niewątpliwe sprzężenie genu chorobowego z chromosomem X. Szczególnie interesująca porównawczo jest obserwacja Johnstona i McKusicka (1963), która w rodzinnym obrazie chorobowym eksponuje te same cechy kliniczne, które obserwujemy u naszych królików, to jest zespół drżeń parkinsonoidalnych i postępujące porażenie spastyczne z przewagą kończyn dolnych.

Wydaje się też, że zaobserwowany u królików łomniańskich zespół kliniczny można uważać za zupełnie nową jednostkę chorobową. Porównanie z dwoma zespołami obserwowanymi dotychczas u królika (Anders 1945 i O'Leary i wsp. 1965), jak również króliki niemieckie Nachtsheima (1936 i 1958) wykazują w porównaniu ze szczepem „Łomna” kilka podstawowych różnic. Mianowicie: u królików amerykańskich zespół ataktyczny właściwy występuje jako wtórny w stosunku do porażenia spastycznych kończyn. Początek choroby obserwowany jest w drugim lub trzecim miesiącu życia. Przebieg, poza przypadkami wyjątkowymi (Anders 1945), trwa około 11 dni do trzech tygodni. Nie ma przebiegów stacjonarnych, ani poprawy klinicznej. Neuropatologicznie zmiany dotyczące pnia mózgowego, mózdzku i rdzenia nie przechodzą poza granicę śródmózgowia i międzymózgowia. W ostatniej fazie choroby występują zaburzenia ze strony nerwów czaszkowych. Nigdy nie obserwowano zwapnień neuronalnych. Wreszcie choroba dziedziczy się recesywnie autosomalnie, a według Sawina (1963) gen chorobowy sprzężony jest z chromosomem I. Gen ten oznaczony jest symbolem ax. Heterozygotyczne króliki są bezobjawowe, u homozygotów występuje pełny obraz kliniczny, dotyczący jednakowo samców i samic.

Dużo więcej podobieństwa klinicznego wykazują króliki niemieckie (*Deutsche Wiederkanischen*).

Króliki te, opisane po raz pierwszy przez Nachtsheima (1936), cechuje drżenie głowy i ogona, występujące po raz pierwszy pomiędzy 10—14 dniem życia. Niekiedy objawom tym towarzyszy występowanie napadów tężni tonicznych i zaburzenia połykania. Około drugiego miesiąca życia występują wiotkie porażenia kończyn tylnych, a potem przednich; choroba doprowadza do zejścia śmiertelnego przeciętnie około trzeciego miesiąca życia. Zdarzają się jednak przypadki stacjonarne, a także poprawy kliniczne. Króliki z poprawą kliniczną mogą być użyte do reprodukcji, ale w wielu przypadkach stwierdzono u samców na-



sienie ubogoplemnikowe, lub wręcz bezplemnikowe. Króliki te w okresie przed II wojną światową były badane przez Scherera (cyt. za Innes'em i Saundersem 1962), który stwierdził tylko nietypowe uszkodzenia neuronów bez charakterystycznych zmian w układach czynnościowych. W ten sposób szczep Nachtsheima został zdyskwalifikowany jako jednostka neurologiczna, natomiast utrzymał się jako zespół cech genetycznych. Gen oznaczony symbolem „tr” (Nachtheim 1958) jest, jeśli go tak można określić, „równouprawniony” z genem „ax”, łączonym przez Sawina (1963) z chromosomem I. Oba geny dziedziczą się autosomalnie recesywnie. Uwzględniając charakterystykę obu neurologicznych chorób, opisanych dotychczas u królików, należy przyjąć, że w szczepie „Łomna” ma się do czynienia istotnie z nową mutacją, której znaczenie podkreśla odrębny sposób dziedziczenia.

W patologii neurologicznej ludzkiej istnieje kilka jednostek przekazywanych w *sex-linkage'u*. Zarówno jednak klinicystom, jak i neuropatologom wiadomo, jak trudno jest prześledzić pełne drzewo genealogiczne w rodzinie u człowieka, dalej, jak trudno jest dysponować materiałem mózgowym z rozmaitych stadiów choroby i w dowolny sposób utrwalanym. Wszystkie te trudności są do przewyciężenia w chwili, gdy dysponuje się modelem zwierzęcym o krótkim cyklu reprodukcyjnym i określonej (jak obecnie) regulacji w otrzymywaniu potomstwa.

W stosunku do szczepu królików „Łomna” istnieje szereg zagadnień nie wyjaśnionych, które będą przedmiotem kolejnego opracowania. Obecnie usiłuje się odszukać właściwe ogniwo biochemiczne, leżące u podstawy obserwowanych zmian mózgowych. Wyniki tych badań będą przedmiotem kolejnych doniesień.

Wreszcie na szczególnie wzmiankę zasługuje królik I/7. Królik ten, który okazał się rzekomym obojnakiem właściwej płci męskiej, jest przedmiotem specjalnego doniesienia (Osetowska, Wiśniewski 1967). Interesującym szczegółem w tym przypadku jest fakt, że u ludzi ten typ rzekomego obojactwa dziedziczy się także w sprzężeniu z chromosomem X (Skowron 1965). Ponieważ w szczepie „Łomna” nie zauważono więcej rzekomych obojnaków z objawami chorobowymi, rozpatruje się z tego punktu widzenia samice kliniczne, padłe bez objawów. Stwierdzenie dalszych podobnych przypadków wskazywałoby na podwójne genetyczne obciążenie szczepu „Łomna”.

Е. Осетовска, А. Тарашевска

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММА КРОЛИКОВ „ЛОМНА”  
ДАЛЬНЕЙШИЕ КЛИНИЧЕСКИЕ И НЕВРОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

#### Содержание

В 1967 г. были закончены генетические наблюдения кроликов штамма „Ломна”, позволяющие обнаружить связь болезненного гена, ответственного за неврологический симптом с хромосомом X. В первом периоде исследований имелись только

самки-носители, которые скрещивались со здоровыми самцами. Разделгамет и численное соотношение, полученное в потомстве, иллюстрирует рис. 1. В результате этого скрещивания были получены только больные самцы, составляющие четвертую часть потомства. После получения самцов клинически поправленных (более здоровых), позволяющих использовать их для покрытия, произведено скрещивание самки-носителя с больным самцом. Численные половые пропорции среди здорового и больного потомства иллюстрирует рис. 2. Наконец, после получения также больной самки с соответствующим клиническим улучшением состояния, ее покрыли больным самцом (рис. 3), получая помет полностью больной. „Генеалогическое дерево” штамма, обнаруживающее в то же время постепенные генетические верификации, представляет табл. 1. Подитоживая генетические наблюдения, дается в содержании клиническое состояние (основанное в настоящее время на исследовании и наблюдении свыше 80 особей) и упоминаются в сокращении основные невропатологические изменения. Упоминается также случай гермафродита в первом поколении, который является предметом отдельного сообщения. Применения полученной модели болезни нервной системы, наследованной в *sex-linkage* в аналогиях с патологией человека обсуждаются дискуссии.

E. Osetowska, A. Taraszewska

#### GENETIC CHARACTERISTICS OF THE „ŁOMNA” STRAIN RABBITS CONTINUATION OF CLINICAL AND NEUROPATHOLOGICAL OBSERVATION

##### Summary

In 1967, had been completed the genetic observations on the stain of „Łomna” rabbits, that allowed finding the links of the pathological gene (with the chromosome X responsible for the neurological syndrome. In the initial period of investigations at disposal were only female carriers that served for mating with healthy males. Distribution of gametes and the numerical ratio obtained within the progeniture is illustrated in Fig. 2. As results of this mating, diseased males formed only 1/4 of the issue. When some males had shown clinical recovery permitting to use them for to mate, a mating of a female-carrier with a diseased male was performed. The numerical ratio of sex among the healthy and diseased progeniture is illustrated in Fig. 3. Eventually, after obtaining a diseased female with an appropriate clinical recovery, it was served with a diseased male (Fig. 4), thus obtaining a whole diseased litter. „The genealogic tree” of the breed, showing as well gradual genetic clearance is illustrated in Fig. 1.

While summing-up the genetic investigations, presently based on examinations and observations of 80 subjects, the clinical picture and substantial neuropathological changes are stated briefly. The case of an intersex rabbit in the first generation is the subject of a separate report.

The use of the acquired model of the nervous system disease inherited in the sex-linkage, in analogy to human pathology, is discussed.

##### PISMIENNICTWO

1. Anders, M. V.: The histopathology of a new type of hereditary loss of coordination in the domestic rabbit. *Amer. J. Anat.*, 1945, 76, 183—200.
2. Fraser, A.: *Heredity, genes and chromosomes*. McGraw-Hill Book Co., New York 1966.

3. Gardner, E. J.: Principles of genetics. J. Wiley. New-York 1964.
4. Innes, J. R. M., and Saunders, L. Z.: Inherited diseases and congenital anomalies. In: Comparative neuropathology. Academic Press. New-York-London 1962.
5. Johnston, A. W., McKusick, V. A.: Sex-linked recessive inheritance in spastic paraplegia and parkinsonism. Proc. 2nd Int. Congress Human Genet. Rome, Sept. 6—12.1961, vol. III, 1652—1654, 1963.
6. Lamotte, M., L'Héritier, Ph.: Biologie générale. II. Lois et mécanismes de l'hérédité. Doin, Paris 1966.
7. Lyon, M. F.: Genetics of the mouse. In: Animals for research. Ed. W. Lane-Petter. Academic Press. London-New-York 1963, 199—231.
8. McKusick, V. A.: Mendelian inheritance in Man. The Johns Hopkins Press. Baltimore 1966.
9. Nachtsheim, H.: Die Genetik einigen Erbleiden des Kaninchens verglichen mit ähnlichen Krankheiten des Menschen. Neut. Tierärztl. Wschr. 1936, 44, 741—746.
10. Nachtsheim, H.: Erbpathologie der Nagetiere. In: Pathologie der Laboratoriumstiere. Ed. Cohrs, Jaffé, Meessen. Springer, Berlin 1958. II B.
11. O'Leary, J. L., Sawin, P. B., Luse, S., Harris, A. B., Erickson, L. S.: Hereditary ataxia of rabbits. Arch. Neurol. (Chic.) 1965, 13, 238—262.
12. Osetowska, E., Wiśniewski, H.: Ataxie familiale du lapin, différente de la maladie héréditaire de Sawin-Anders (Première communication). Acta neuropath. (Berl), 1966, 6, 243—250.
13. Osetowska, E., Wiśniewski, H., Dembowski, J.: Rodzinno-dziedziczna ataksja u królika laboratoryjnego szynszyla. Zwierzęta Lab., 1966, III, 2, 161—176.
14. Osetowska, E.: Nouvelle maladie héréditaire du lapin de laboratoire. Acta neuropath. (Berl), 1967, 8, 331—344.
15. Osetowska, E., Ferens, Z., Taraszewska, A.: Możliwość oceny biologicznej i przydatności doświadczalnej zwierząt laboratoryjnych na podstawie analizy materiału sekcyjnego. Zwierzęta Lab., 1966, 4, 83—108.
16. Osetowska, E., Wiśniewski, H.: Królik — interseks w rodzinie z dziedziczną drżączką porażną (szczep „Łomna”). Zwierzęta Lab., 1967, 5, 1, 24—34.
17. Pastuszko, J.: Kokcydiozy królików w Polsce. Pol. Arch. Wet., 1963, 8, 129—140.
18. Sawin, P. B.: The rabbit. In: The care and breeding of laboratory animals. Ed. Farris, E. J. Wiley, J. New-York-London 1963.
19. Sawin, P. B., Anders, M. V., Johnson, R. B.: Ataxia, a hereditary nervous disorders of the rabbit. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.), 1942, 28, 123—127.
20. Sidman, R. L., Green, M. C., Appel, S. H.: Catalog of the neurological mutants of the mouse. Harvard University Press. Cambridge, Mass. 1965.
21. Skowron, S.: Biologia ogólna. PZWL, Warszawa 1965.

Adres autorek: Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, Warszawa, ul. Pasteura 3.

*Ryc. 5. a.* Królik-samica 805/66: uszkodzenie neuronów wzgórza: rozplywająca się protoplazma, w lepiej zachowanych jądrach widoczna obok jąderka chromatyna Barra. Parafina, fiolet krezyłu, pow. 100 X. *b.* Ten sam obraz w impregnacji srebrowej Bodiana. *c.* Królik 350/66. Obrzmienie tigroidu w neuronach istoty siateczkowej, w środku widoczny neuron w rozpędzie. Fiolet krezyłu, pow. 200 X. *d.* Królik 572/66. Postępująca homogenizacja neuronów, jeden neuron zwapniały. Fiolet krezyłu, pow. 200 X.

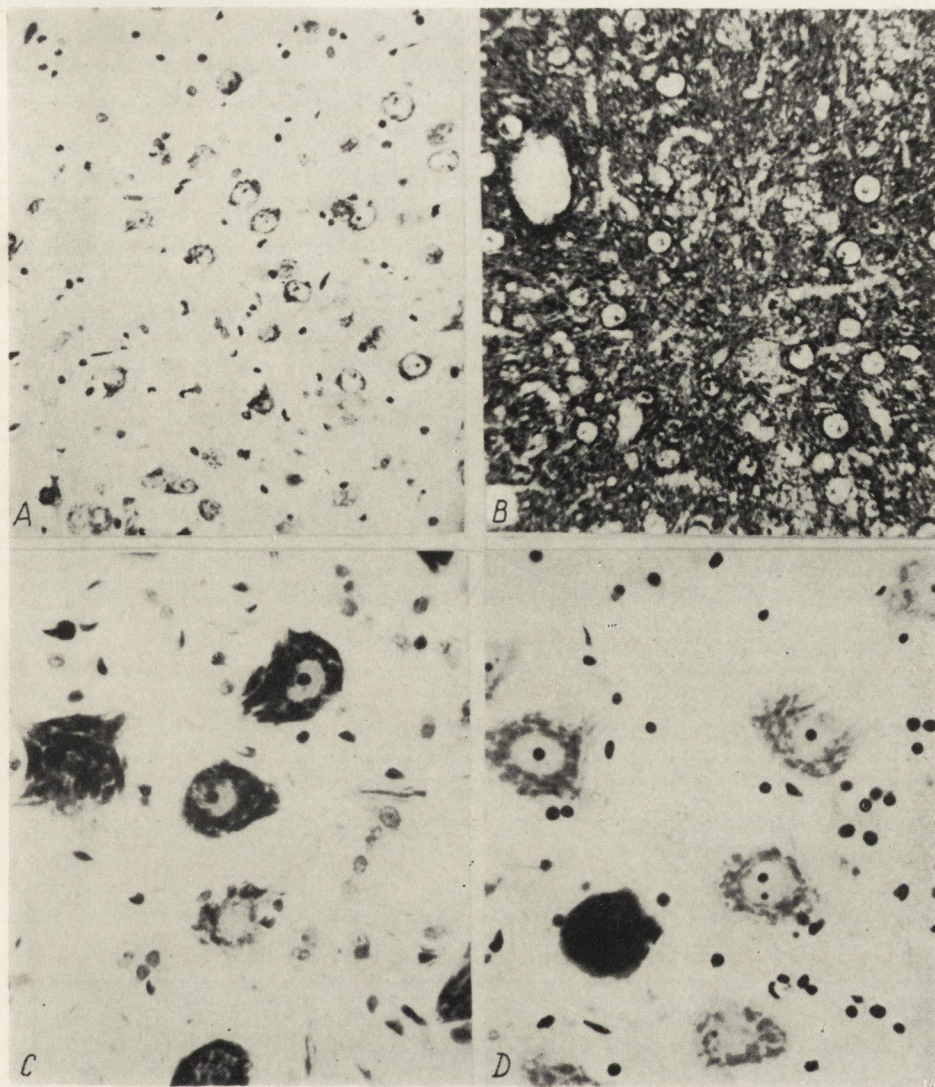
*Fig. 5. a.* Female 805/66: damaged neurons of the thalamus: diffusing protoplasm, in the better preserved nuclei sex-chromatine (Barr) is seen. Paraffin. Cresyl-violet. Magn. X 100. *b.* The same picture in silver staining Bodian type. *c.* Rabbit 350/66. Edema of the tigroid in the neurons of the reticular substance. In the centre is seen a neuron in desintegration. Cresyl-violet. Magn. X 200. *d.* Rabbit 572/66. Progressing homogenization of neurons, one calcified neuron. Cresyl-violet. Magn. X 200.

*Ryc. 6. a.* Królik 805/66. Obrzęk i fragmentacja włókien nerwowych, impr. Bodian, pow. 200 X. *b.* Ten sam królik: zwyrodnienie *fasciculus longitudinalis medialis*, impr. Bodiana, pow. 60 X. *c.* Królik 572/66. Glejoza izomorficzna w *brachia pontis*. Barw. Kanzler-Arendt. Pow. 100 X. *d.* Koncentryczny układ zwapnienia neuronu. Ten sam królik. Impr. Bodiana, pow. 200 X.

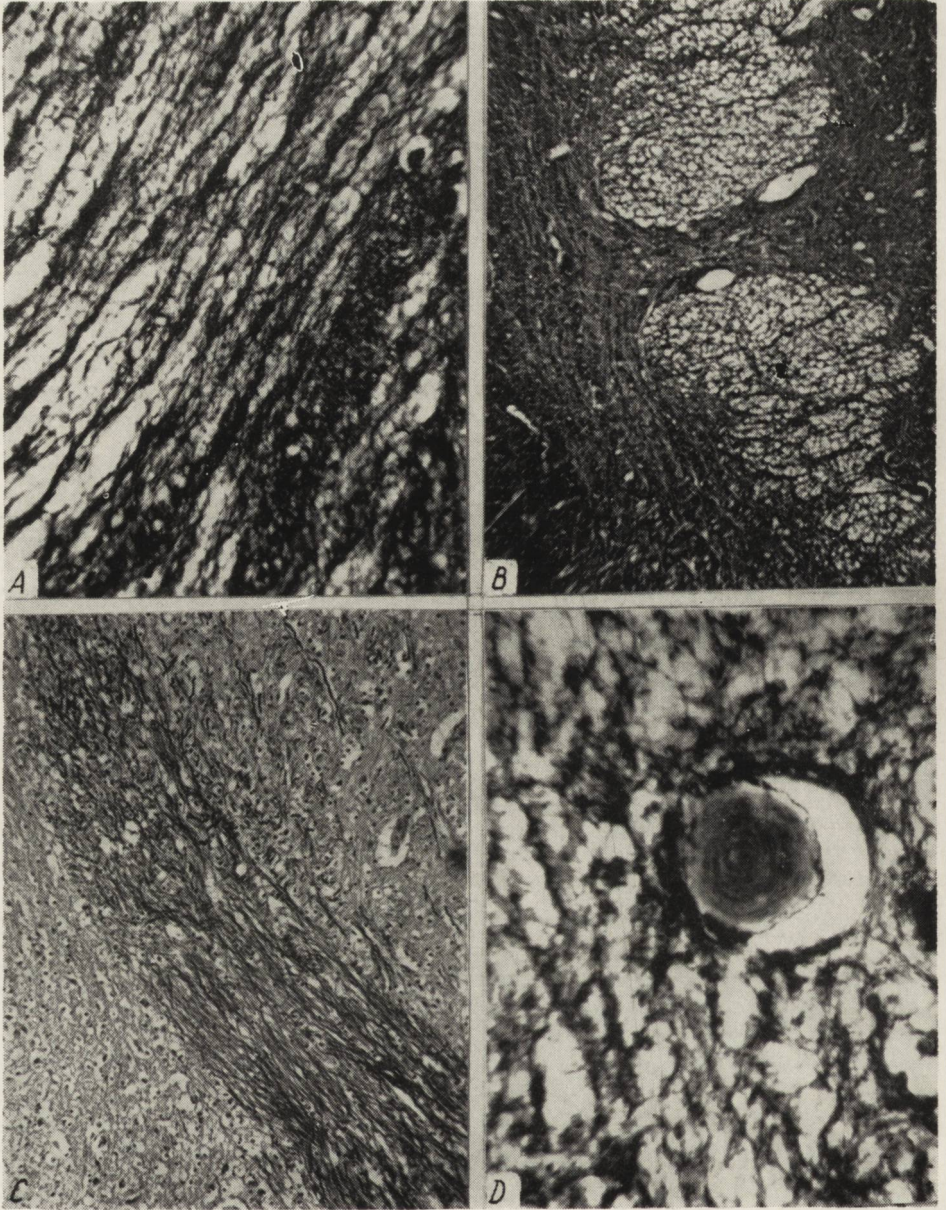
*Fig. 6. a.* Rabbit 805/66. Edema and fragmentation of the nervous fibres, impregnation Bodian. Magn. X 200. *b.* The same rabbit: *fasciculus longitudinalis medialis* degeneration, impregnation Bodian. Magn. X 60. *c.* Rabbit 572/66. Isomorphic gliosis in *brachia pontis*, stained Kanzler-Arendt. Magn X 100. *d.* Concentric arrangement of calcification in the neuron. The same rabbit, impregnation Bodian. Magn. X 200.

\* Materiał przedstawiony na ryc. 5 i 6 dotychczas nie był publikowany. Opracowanie techniczne: M. Osetowska; dokumentacja fotograficzna: R. Szopiński; rysunki techniczne: A. Luszawski.

\* Materials presented in Figs. 5 and 6 have not yet been published. Technically elaborated by M. Osetowska, photographic documentation by R. Szopiński, technical drawings by A. Luszawski.



Ryc. 5.



Ryc. 6.

JAN KORTHALS

PRZEPUSZCZALNOŚĆ BARIERY KREW-MÓZG DLA  $\text{NaJ}^{131}$   
PO OSTRYM NIEDOKRWIENIU MÓZGU U KRÓLIKÓW  
SZYNSZYLI \*

Z Pracowni Neuropatologii Porównawczej  
Kierownik: prof. dr med. E. Osetowska  
Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN  
Dyrektor: prof. dr med. Z. Ruszczewski

Badania nad barierą krew-mózg przy niedotlenieniu mózgu stwierdzają dla różnych indykatorów albo jej całkowite zachowanie, albo też różnego stopnia uszkodzenie (Bakay 1965). Mczedliszwili i wsp. (1965) obserwowali w okresie ostrego niedokrwienia mózgu i bezpośrednio po nim znaczne zmiany w strukturze ścian naczyń kory mózgu i otaczającej je tkance nerwowej, połączone z przejściową diapedezą krwinek czerwonych. Celem naszej pracy jest przebadanie na analogicznym modelu doświadczalnym stopnia uszkodzenia bariery krew-mózg dla  $\text{NaJ}^{131}$  przy różnie długo trwającym okresie niedokrwienia mózgu u królika szynszyla.

MATERIAŁ I METODA

Do badań użyto 15 królików rasy szynszyl, z różnych miotów, wagi 2,5–3,5 kg, płci obojga.

Królikom umieszczonym w aparacie stereotaktycznym „La Precision Cinématographique” wypreparowywano pod miejscowym znieczuleniem nowokainowym tętnicę szyjną wspólną prawą. Podawano dożylnie heparynę (0,3 ml/kg). Podwiązywano część dogłową t. szyjnej wsp. prawej, a w kierunku dosercowym wprowadzano kaniulę, przez którą upuszczano krew do specjalnego układu naczyń, przygotowanego wg Mczedliszwili (1960), doprowadzając zwierzęta do śmierci klinicznej, w okresie której dochodzi do całkowitego przerwania krążenia mózgowego (Mczedliszwili 1965), na różne okresy czasu. Następnie ożywiano je przez powrotne wtłoczenie krwi do układu krwionośnego.

Jako okres śmierci klinicznej (śm. kl.) liczono czas od ostatniego oddechu do chwili rozpoczęcia ożywiania, tzn. powrotnego wtłaczania krwi.

\* Praca wykonana w oparciu o pomoc finansową PL480 US Public Health Service. Agreement 227706.

Doświadczenie przeprowadzono w 5 grupach. W trzech grupach (I, IV, V) wydłużano czas śmierci klinicznej (1, 4 i 8 minut). W dwóch pozostałych powtarzano upusty krwi i następne żywienie ustroju w odstępach 8-minutowych; dwukrotnie przy każdorazowym czasie trwania śm. kl. — 1 min. (grupa II) i pięciokrotnie przy każdorazowej śm. kl. trwającej 15 sek (grupa III).

U królików z 4- i 8-minutową śm. kl. równocześnie z rozpoczęciem żywienia stosowano sztuczne oddychanie poprzez otwór tracheotomiczny, za pomocą aparatu do sztucznego oddychania firmy Palmer i podawano dożylnie 0,2 ml adrenaliny. Królikom, których w okresie 1 min. od rozpoczęcia żywienia nie powróciła akcja serca, otwierano klatkę piersiową, wstrzykiwano adrenalinę do prawej komory serca i stosowano bezpośredni masaż serca.

W 5. minucie po rozpoczęciu żywienia po ostatnim upuście krwi wprowadzano królikom do żyły usznej brzożnej roztwór  $\text{NaJ}^{131}$ , w soli fizjologicznej o aktywności właściwej 100  $\mu\text{C}/\text{l ml}$ , w dawce 50  $\mu\text{C}/\text{kg}$  wagi ciała. Dwa zdrowe króliki, którym podano w sposób identyczny roztwór  $\text{NaJ}^{131}$ , stanowiły grupę kontrolną. Królikom, którym stosowano bezpośredni masaż serca, izotop podawano do lewej komory serca w ilości tej samej. Po 10 minutach krążenia izotopu, króliki zabijano przez przedawkowanie eunarkonu i natychmiast wyjmowano z jamy czaszki mózg z przylegającym odcinkiem rdzenia szyjnego długości około 3 cm. Bezpośrednio przed uspieniem pobierano z prawej komory krew, którą następnie odwirowywano i brano do pomiaru 1 ml surowicy. Z mózgu i rdzenia zdejmowano opony i do badania pobierano rdzeń, opuszkę, most, spłot i symetrycznie: hipokamp, wzgórze i mózdzek, który dzielono na dwie połowy wzdłuż robaka. Lewą półkulę kresomózgowia dzielono na dwie części: czołowo-ciemieniową i potyliczno-skroniową. Z półkuli prawej wycinano istotę białą, a korę dzielono na dwie identyczne części, jak po stronie lewej. *Striatum* z obu stron wyrzucano.

Pobrane skrawki ważono, a następnie mierzono ich aktywność w scyntylicyjnym liczniku studzienkowym typu SE-2 z kryształem  $\text{NaJ}$  aktywowanym talem, pracującym w zestawie z przelicznikiem PEL-5 i zasilaczem wysokiego napięcia ZWN-2,5. Aktywność próbek przeliczano na jedną minutę i jeden g świeżej tkanki. Wyniki przeliczano na procenty w stosunku do aktywności 1 ml surowicy, którą przyjmowano za 100%.

## WYNIKI

Klinika. Okres umierania (czas od rozpoczęcia upuszczenia krwi do ostatniego oddechu) wahał się od 2 min. 30 sek. do 5 min. 50 sek. Tylko u królika nr 3 był on wyraźnie dłuższy i wynosił 9 minut 45 sek. Objętość krwi upuszczanej z ustroju zawierała się w granicach od 60 do 110 ml, przeciętnie 80 ml, co stanowiło około 2,7% wagi ciała. Samoistny oddech wracał w czasie od 25 sek. do 6 min. 45 sek. od chwili rozpoczęcia wtłaczania krwi. U królika nr 3 oddech samoistny nie powrócił aktywnie jak w przypadkach tej samej grupy, lecz dopiero po zastosowaniu sztucznego oddychania. Aparat do sztucznego oddychania podłączono w 1 minutę po rozpoczęciu żywienia. Oddech samoistny powrócił 3 min. 15 sek. później.



Akcja serca powracała w czasie od 10–15 sek. U królików 13 i 14 akcja serca nie powróciła w czasie do 1 minuty. Po wstrzyknięciu adrenaliny i bezpośrednim masażu pobudzono serce do akcji, ale przez cały czas krążenia izotopu skurcze serca były bardzo płytkie i wolne.

Tabela I. Niedokrwienie mózgu u królików  
Postępowanie doświadczalne i obserwacje kliniczne  
Table I. Cerebral ischaemia in rabbits  
Experimental procedures and clinical effects

Grupa doświadczalna Experimental group	Ilość upustów krwi Number of blood-lettings	Czas śmierci klinicznej Duration of the clinical death	Królik Nr Rabbit No.	Czas umierania (przeciętny) Duration of dying (average)	Powrót oddechu samoistnego (przeciętnie) Restoration of spontaneous respiration (average)
I <sub>a</sub>	1	1 min.	1	4'50"	35"
			2	5'05"	35"
I <sub>b</sub>	1	1 min.	3	9'45"	4'15"
III	2	1 min.	4	4'15"	42"
			5	4'30"	48"
III	5	15 sek.	6	3'05"	30"
			7	3'40"	30"
IV	1	4 min.	8	4'30"	6'00"
			9	4'00"	3'30"
V <sub>a</sub>	1	8 min.	10	4'50"	6'45"
			11	5'30"	4'10"
V <sub>b</sub>	1	8 min.	12	5'00"	—
			13	4'35"	—

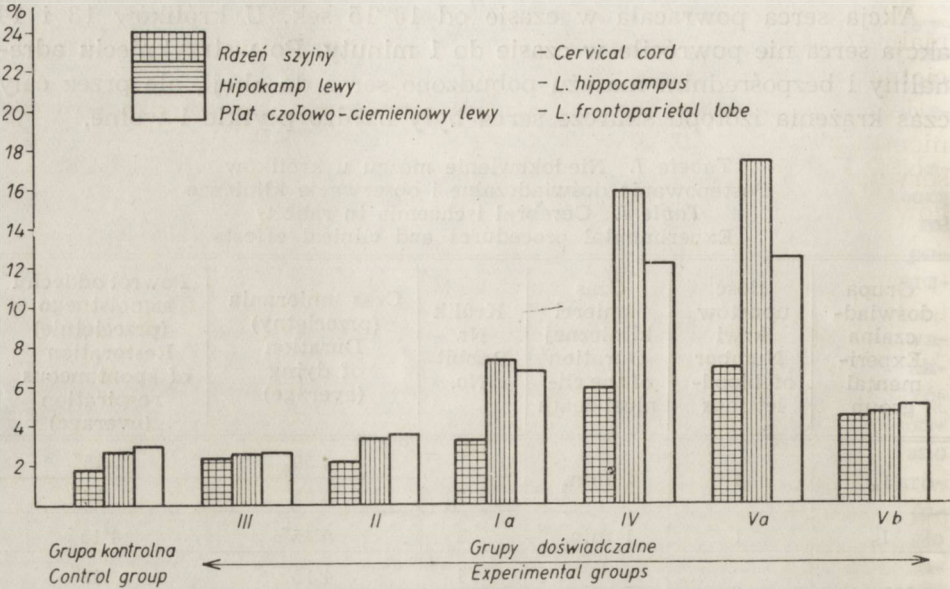
U wagi: Królik nr 3 — oddech nie powrócił aktywnie; nr 12 i 13 — zaburzenia czynności serca po ożywieniu.

Remarks: Rabbit No. 3 — breath did not come back actively; No. 12 and 13 — disturbance of heart action after reanimation.

Wyniki badań izotopowych przedstawiają się następująco:

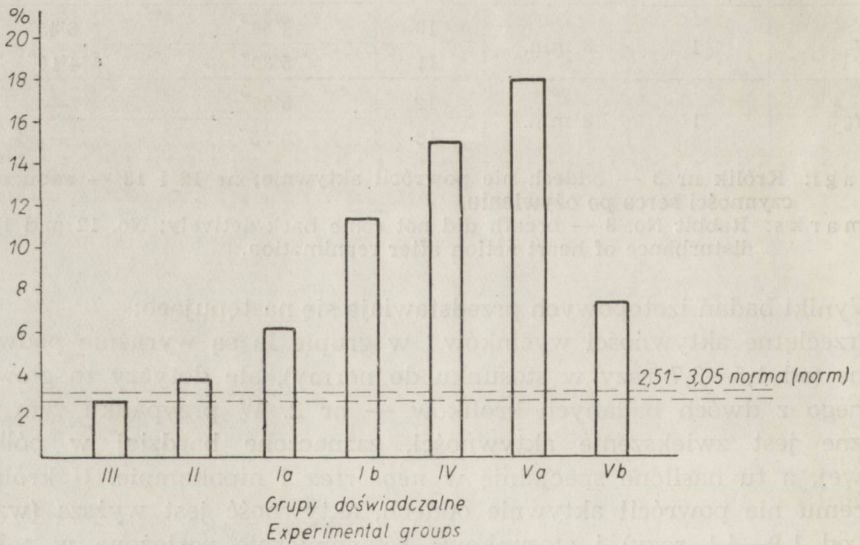
Przeciętne aktywności wycinków \* w grupie I<sub>a</sub> są wyraźnie podwyższone (od 1,5—3,7 razy w stosunku do normy), ale dotyczy to głównie jednego z dwóch badanych królików — nr 2. W przypadku tym widoczne jest zwiększenie aktywności, zaznaczone bardziej w półkuli prawej, a tu nasilone specjalnie w *neocortex* i hipokampie. U królika, któremu nie powrócił aktywnie oddech, aktywność jest wyższa (wzrasta od 1,9—4,1 razy) i stosunkowo równomiernie rozłożona w całym mózgowiu.

\* Nie umieszczona ze względów technicznych tablica ze szczegółowymi wynikami badań izotopowych jest do wglądu u autora.



Ryc. 1. Rozkład przeciętnych aktywności rdzenia szyjnego, hipokampa lewy i płata czołowo-ciemieniowego lewy w poszczególnych grupach doświadczalnych. Wartości podano w procentach w stosunku do aktywności surowicy (100%).

Fig. 1. Distribution of the mean activities of cervical cord, l. hippocampus and l. frontoparietal lobe in individual experimental groups. The values are given as percentages in relation to the serum activity (100%).



Ryc. 2. Przeciętna aktywność wzgórza lewego w poszczególnych grupach doświadczalnych. Wartości podano w stosunku do aktywności surowicy (100%).

Fig. 2. Mean activity of l. thalamus in individual experimental groups. The values are given as percentages in relation to serum activity (100%).

W przypadkach z II grupy doświadczalnej stwierdza się tylko minimalnie podwyższoną aktywność skrawków (maksymalny wzrost przeciętnej do 1,4 razy w stosunku do normy).

Jeszcze niższe wartości stwierdza się w grupie III, gdzie poza rdzeniem nie ma wzrostu przeciętnej aktywności, a wprost przeciwnie, obserwuje się tendencję do mniejszego przechodzenia jodu do tkanki mózgowej niż w grupie kontrolnej.

Największą aktywność stwierdza się u królików z grupy IV i Va (przeciętne wzrastają od 2,7—6,8 razy). Przeciętne aktywności u królików z 8-minutową śm. kl. są tylko nieznacznie większe niż w grupie z 4-minutową śm. kl.

Analizując w tych grupach stężenie  $\text{NaJ}^{131}$  w poszczególnych strukturach, można stwierdzić największy wzrost w hipokampie, wzgórzu i istocie białej (wzrost przeciętnych od 5,4—6,8 razy). Mniejszy jest w moście, skrawku czołowo-ciemieniowym lewym, opuszce i mózdzku (od 3,6—4,8 razy), a w jeszcze mniejszym stopniu przechodzi jod do pozostałych struktur (wzrost od 2,7—3,8 razy).

Wyniki w obu przypadkach grupy Vb są zbliżone do siebie, a ich przeciętna nie wzrasta ponad 3 razy. Inny jest tu jednak niż w poprzednich grupach rozkład aktywności w poszczególnych strukturach. Najwyższy wzrost notuje się w moście, a następnie we wzgórzu, opuszce i rdzeniu.

Na ogół stwierdza się o wiele większy wzrost aktywności w istocie białej niż w korze. W przypadku 2 wartości te są wybitnie odwrócone, przy bardzo wysokiej aktywności kory, stosunkowo niska aktywność w istocie białej. W skrawkach czołowo-ciemieniowych zarówno w korze samej, jak i w korze pobranej razem z istotą białą, notuje się wyższy wzrost aktywności niż w skrawkach skroniowo-potylicznych.

W całości materiału, a zwłaszcza w grupach z wyraźnym wzrostem stężenia jodu (grupy: I, IV, V), stwierdza się osobnicze różnice we wrażliwości na zbliżony stopień doświadczalnej ischemii.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Ze względu na zbyt małą liczbę zwierząt użytych do doświadczeń, jak i duży rozrzut wyników w niektórych grupach doświadczalnych, przedstawionych poniżej wniosków nie należy traktować jako ostatecznych, lecz tylko jako interpretacje wyników, które mogą być podstawą do wytyczenia dalszego kierunku badań.

Korelacja badań izotopowych z obserwacjami klinicznymi i danymi eksperymentalnymi wskazuje na zależność stopnia przechodzenia jodu do tkanki mózgowej od: 1) czasu trwania ischemii, 2) wysokości ciśnie-

nia krwi w okresie krążenia izotopu, 3) osobniczej wrażliwości organizmu na ischemię.

Im dłuższy czas trwania ischemii, tym większy jest stopień przechodzenia jodu do tkanki mózgowej. Nie jest to jednak zależność wprost proporcjonalna. Między przypadkami z 1-minutową śm. kl. a 4-minutową śm. kl. obserwuje się na ogół duży wzrost aktywności, natomiast wzrost ten jest już niewielki przy dalszym przedłużaniu śm. kl. do 8 minut.

Wydaje się, że ten „skok” wzrostu przepuszczalności bariery krew-mózg jest zgodny w czasie z niemożliwością aktywnego powrotu samostannego oddechu. Unaoczniają to przypadki z grupy IV, jak i królik nr 3 z grupy 1-minutowej śm. kl. Ostatni przypadek może być również przykładem tego, że na zwiększenie się stopnia uszkodzenia bariery krew-mózg wpływa nie tylko czas trwania śm. kl., ale również przedłużający się okres umierania.

Wpływ ciśnienia krwi na rozwój obrzęku był sugerowany już przez Streichera i wsp. (1965) i zaobserwowany przez Klatzo i wsp. (w druku). W naszym materiale wpływ ciśnienia krwi na stopień przechodzenia jodu do tkanki mózgowej najlepiej obrazują króliki nr 12 i 13, u których obserwowano bardzo słabą akcję serca (w wyniku której nastąpił duży spadek ciśnienia krwi) w okresie krążenia izotopu. Stężenie jodu w tkance mózgowej jest w tych przypadkach o wiele niższe (nie przekracza w żadnym skrawku 3-krotnej wartości normy) niż u pozostałych królików, które przeszły analogiczny okres ischemii, ale u których po ożywieniu stwierdzono dobrą akcję serca.

W związku z obniżonym ciśnieniem krwi wytłumaczalny jest fakt, że w tych przypadkach najwyższą aktywność stwierdza się w odcinkach mózgu położonych najniżej, dobrze ukrwionych i leżących w sąsiedztwie wielkich naczyń, a więc w pniu, rdzeniu i wzgórze.

Po powtórzonych upustach krwi ciśnienie w okresie ożywiania powraca wolniej do normy niż po jednorazowej śm. kl. (Korthals — w przygotowaniu). Tym zjawiskiem głównie należy tłumaczyć niską aktywność skrawków w przypadkach grupy II i III. Pod uwagę można tu również wziąć zmniejszenie się objętości krwi przepływającej przez mózg w okresie krążenia izotopu. Ponadto przy pięciokrotnych upustach krwi istotne znaczenie ma stosowany przez nas krótki czas każdorazowej śm. kl.

Wykładnikiem klinicznym stopnia uszkodzenia bariery krew-mózg może być szybkość powrotu własnego oddechu. Zauważa się to nawet przy tym samym czasie trwania śm. kl. Im dłuższy jest okres od chwili rozpoczęcia ożywiania organizmu do pojawienia się pierwszego własnego oddechu, tym większą stwierdza się radioaktywność wycinków. Oczywiście, że ta równoległość w pierwszym rzędzie odnosi się do

opuszki, gdzie znajduje się ośrodek oddechowy, i do okolic sąsiadujących z opuszką. I tak u królika nr 2, u którego stwierdzono bardzo wysokie stężenie jodu w korze i hipokampie przy minimalnym wzroście aktywności opuszki, zaobserwowano szybki powrót oddechu własnego, natomiast przy stosunkowo wysokim stężeniu jodu w opuszcze i moście w przypadku 3 oddech własny powrócił dopiero po przeszło 4 minutach.

Do badań zarówno izotopowych jak i morfologicznych (Korthals) stosowaliśmy u królików upust krwi poprzez kaniulę wprowadzoną w kierunku dosercowym do prawej tętnicy szyjnej wspólnej, podwiązując jednocześnie jej część dogłową. Ten dodatkowy czynnik ischemiczny dawał w efekcie większe nasilenie zmian po stronie prawej, prowadząc czasami do powstania jednostronnej martwicy całkowitej w korze, rogu Amona lub we zgórze. Znane jest łatwe przechodzenie jodu do pola objętego całkowitą martwicą (Zelman 1967) i tym należy tłumaczyć znacznie wyższy stopień stężenia jodu w korze i hipokampie w półkuli prawej u królika nr 2.

Z dotychczasowych badań (Broman 1949, Becker, Quadbeck 1952, Plum i wsp. 1963, Hodges i wsp. 1958, Bakay 1957, Szmidt 1960, Crone 1961, Bakay, Bendixen 1963, Smirnow, Czetwerikow 1953) można wnioskować, że negatywne lub pozytywne stwierdzenie uszkodzenia bariery krew-mózg zależy od użytej metodyki wywoływania niedotlenienia mózgu, jak i właściwości zastosowanego trasera, przede wszystkim wielkości jego cząsteczki.

Stwierdzony przez nas wysoki stopień uszkodzenia bariery krew-mózg dla  $\text{Na}^{131}\text{J}$  wynika zarówno z drastycznej, przebiegającej z dużą komponentą zaburzeń naczyniowych metodyki wywoływania ischemii mózgu, jak i z drobnocząsteczkowego charakteru samego trasera, być może także z indywidualnych skłonności królika, jako podłoża badań.

Autor składa podziękowanie dr med. I. Zelman za konsultacje naukowe, a pracownikom naukowo-technicznym A. Maciuła i A. Luszawskiemu za pomoc techniczną.

И. Кортхальс

ПРОНИЦАЕМОСТЬ БАРЬЕРА КРОВЬ-МОЗГ ДЛЯ  $\text{Na}^{131}\text{J}$  ПОСЛЕ ОСТРОЙ ИСХЕМИИ МОЗГА У КРОЛИКОВ ШИНШИЛЛА

Содержание

Кроликов подвергали временному полному прекращению мозгового кровообращения приводя их к клинической смерти посредством обезкровливания с последующим оживлением при помощи возвратного введения крови в кро-

веносное русло. Опыты проводились на 15 кроликах, разделенных на 5 опытных и 1 контрольную группу. В трех группах I, IV и V время клинической смерти составляло соответственно: 1, 4 и 8 минут. В двух остальных группах повторялись кровопускания и последующие оживления организма в восьмиминутных интервалах, двухкратно во время клинической смерти, длящейся 1 минуту (II группа) и пятикратно во время клинической смерти, длящейся 15 сек. (III группа). Na J<sup>131</sup> вводился внутривенно (в двух случаях внутрисердечно) на пятую минуту после начала оживления после последнего кровопускания. Кроликов умерщвляли после 10 минут циркуляции изотопа. Активность ткани подавалась в процентах по отношению к активности сыворотки (100%). Обнаружена увеличенная проницаемость барьера кровь-мозг для Na J<sup>131</sup> после острой ишемии мозга. Самый большой рост активности обнаруживают: морской конь, зрительный бугор и белое вещество.

Чем больше время ишемии, тем больше степень проникновения иода в мозговую ткань. Она уменьшается, если во время циркуляции изотопа имеют место нарушения деятельности сердца, сопряженные с снижением кровяного давления. При повторяемых ишемиях мозга самую большую проницаемость барьера кровь-мозг для Na J<sup>131</sup> обнаруживали после первой ишемии. Уменьшается после двухкратной клинической смерти и после пятикратного кровопускания часто составляет величины ниже нормы.

В связи со слишком малым количеством использованных в опытах животных, как и большой разброс результатов в некоторых экспериментальных группах, представленные в работе выводы нужно рассматривать как вступительное сообщение.

J. Korthals

#### PERMEABILITY OF THE BLOOD-BRAIN BARRIER FOR Na<sup>131</sup>I AFTER SEVERE ISCHAEMIA OF THE CEREBRUM IN THE CHINCHILLA RABBIT

##### Summary

In the rabbits had been caused phlebotomy, a transitory, complete interruption in the encephalic circulation, leading to clinical death, then subsequently reanimation by a recurrent of blood flowed into their blood system was performed.

Experiments had been conducted with 15 rabbits divided into 5 experimental groups, and 1 check-group. In three groups I, IV, V, the period of clinical death had been respectively — 1, 4, and 8 minutes. With the remaining 2 groups phlebotomies were recurred, and then successive reanimations of the system in intervals of 8 minutes, twicely at each duration of the clinical death lasting 1 min (group II) and fivefold at each clinical death lasting 15 seconds (group III). Na<sup>131</sup>I had been injected intravenously (in two cases intracardiacly) at the 5th minute of the started reanimation after the last phlebotomy. The rabbits were killed after 10 minutes of the isotope circulation. The activity of the tissue is given in percentage realating to the activity of the serum (100%). An increased permeability of the blood-brain barrier for Na<sup>131</sup>I is noticed in effect of severe ischaemia. The largest increase in activity show: the hippocampus, the thalamus and the white substance. The longer lasts the duration of the ischaemia, the greater subsequently is the degree of infiltration of iodine into the cerebral

tissue. It decreases, if during the circulation of the isotope, in the heart function occur disturbances connected with a drop in blood pressure. At repeated ischaemias of the brain, the largest permeability of the blood-brain barrier for  $\text{Na}^{231}\text{I}$ , had been noticed subsequent to the first ischaemia. Following twofold clinical death it decreased, but quantities below standard were noticed in effect of fivefold phlebotomies.

Concerning the too small number of animals used for this experiment, as well as the distribution of findings in some experimental groups, the conclusions presented in this work can be considered as a preliminary report.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Bakay L.: Relationship between cerebral vascularity and  $^{32}\text{P}$  uptake. *Arch. Neurol. Psychiat.*, 1957, 78, 29—36.
2. Bakay L., Bendixen H. H.: Central nervous vulnerability in hypoxic states: Isotope uptake studies. In: *Selective Vulnerability of the Central Nervous System in Hypoxaemia*. Ed., W. H. McMenemey and J. F. Schade, Blackwell Scient. Publ., Oxford 1963, 63—78.
3. Bakay L., Lee J. C.: *Cerebral Edema*. Charles C. Thomas Springfield, 1965.
4. Becker M., Quadbeck G.: Untersuchungen über Funktionsstörungen der Blut — Hirnschranke bei Sauerstoffmangel und Kohlenoxydvergiftung mit dem neuen Schrankenindikator Astraviolett. *FF. Z. Naturforsch.*, 1952, B7, 498—500.
5. Broman T.: *The Permeability of Cerebrospinal Vessels in Normal and Pathological Conditions*. Einar Munksgaard, Copenhagen 1949.
6. Crone C.: Om Diffusionen af Nogle Organiske Non-Elektrolyter Fra Blod til Hjernevaev. *Ejnar Munksgaard, Copenhagen* 1961.
7. Hodges P. C., Sellers R. D., Story J., Stanley P. H., Torres F., Lillehei C. W.: The effects of total cardiopulmonary, by pass procedures upon cerebral function evaluated by the electroencephalogram and blood-brain barrier test; a clinical and experimental investigation. In: *Extracorporeal Circulation*. Ed., I. G. Allen, Charles C. Thomas, Springfield, 1958, 279—294.
8. Klatzo I., Steinwall O., Streicher E.: Dynamics of cold injury edema. In: *Proc. Symposium on Brain Edema*, Vienna, Sept. 11—13, Ed. I. Klatzo and F. Seitelberger, Springer Verlag, Vienna — New York, in press.
9. Korthals J.: Doświadczalne niedokrwienie mózgu u królika. *Klinika i morfologia (w przygotowaniu)*.
10. Mzedliszwili G. I.: O dleystwii adrenalina na regionarnye arterii mozga. *Bjułeten eksperimentalnoj bjologii i medicyny*. 1960, 5, 10—14.
11. Mzedliszwili G. I., Kuparadze M. R., Baramidze D. G.: Dinamika izmenenij sosudow kory mozga pri razwitii postizemicheskowo oteka. *Bjułeten eksperimentalnoj bjologii i medicyny*, 1965, 12, 30—35.
12. Plum F., Posner J. B., Alvord E. C.: Edema and necrosis in experimental cerebral infarction. *Arch. Neurol.*, 1963, 9, 563—570.
13. Smirnow A. A., Czetwerikow D. A.: Izuczenie obmena fosfora w mozgu pri gipoksji s pomoszczju radioaktywnowo fosfora. *Dokłady Akademii Nauk SSSR*, 1953, 90, 843—845.

14. Streicher E., Wiśniewski H., Klatzo I.: Resistance of immature brain to experimental cerebral edema. *Neurology*, 1965, 15, 833—836.
15. Szmidt Z. N.: K mechanizmu izmenenij pronicaemosti bjologiczeskich barierow pri snizenii atmosfernowo dawlenija. *Dokłady Akademii Nauk SSSR*, 1960, 132, 1216—1218.
16. Zelman I. B.: Bariera krew-mózg dla NaJ-131 w warunkach prawidłowych i patologii naczyniowej mózgu. *Neuropat. Pol.*, 1967, 5, 387—428.

Adres autora: Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN. Warszawa, ul. Pasteura 3.



BOLESŁAW H. LIWNICZ

KINETYKA AMINOKWASÓW W OŚRODKOWYM  
UKŁADZIE NERWOWYM BADANA ZA POMOCĄ  
<sup>75</sup>Se-SELENOMETIONINY \*

Kierownik pracy: prof. dr E. Osetowska  
Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN  
Dyrektor: prof. dr Z. Ruszczewski

WSTĘP

Około 40% suchej masy mózgu stanowią białka (Palladin 1966). Są one jednym z najważniejszych składników układu nerwowego, determinujących jego strukturę jak i stan czynnościowy.

Badania nad białkami mózgu rozwijają się w trzech kierunkach: 1) rozdział na grupy o podobnych właściwościach fizykochemicznych, 2) badanie właściwości czynnościowych (enzymatycznych), 3) kinetyka przemian białkowych.

Przy czym dąży się do jak najściślejszej korelacji między wyżej wymienionymi kierunkami. Z teoretycznego punktu widzenia są dwa sposoby badania kinetyki przemian (*turnover*): 1) wbudowanie znacznika do nowo powstałych cząstek, 2) wymiana znacznika w cząstkach istniejących. Najczęściej jako wykładnik przemiany białek mózgu przyjmuje się tzw. biologiczny okres półtrwania —  $T_{1/2}$ . W praktyce przy badaniach przemiany białek mózgu tylko sporadycznie można obserwować od początku przemianę. Obszerną dyskusję poświęconą obliczeniu biologicznego okresu półtrwania podaje Reiner (1953). Istnieją trzy sposoby znakowania białek mózgu: 1) wbudowanie znakowanych aminokwasów podczas syntezy, 2) wbudowanie fosforu radioaktywnego do fosfoproteidów, 3) znakowanie uprzednio zsyntetyzowanych białek przez podanie zwierzęciu wody trytowanej.

Do badań układu nerwowego stosowano liczne aminokwasy, jak:  
l-alanina-<sup>14</sup>C (Smith 1967),  
d-alanina-<sup>14</sup>C (Smith 1967),  
l-arginina-<sup>14</sup>C (Defalco i Davies 1961, Johnson i Luttges 1966),  
l-arginina-<sup>3</sup>H (Droz 1965),  
kwas asparaginowy-<sup>14</sup>C (Berl i wsp. 1961),  
l-cysteina-<sup>35</sup>S (Ford i Hirschman 1958),  
l-fenylalanina-<sup>14</sup>C (Lajtha i Mella 1961, Johnson i Luttges 1966),  
glicyna-<sup>14</sup>C (Nechayeva i wsp. 1964),

\* Praca wykonana w oparciu o pomoc finansową PL 480 US Public Health Service Programm. Agreement 227706.

glutamina- $^{14}\text{C}$  (Berl i wsp. 1961),  
 kwas glutaminowy- $^{14}\text{C}$  (Bexter 1963),  
 kwas glutaminowy- $^{15}\text{N}$  (Gotowcewa 1964),  
 l-leucyna- $^{14}\text{C}$  (Lajtha i Mella 1961),  
 dl-leucyna- $^{14}\text{C}$  (Folbergrova 1966),  
 dl-leucyna- $^3\text{H}$  (Altman 1963),  
 l-lizyna  $^{14}\text{C}$  (Lajtha i Toth 1966, Johnson i Luttges 1966),  
 d-lizyna  $^{14}\text{C}$  (Lajtha i Mella 1961, Folbergrova 1966),  
 dl-lizyna  $^3\text{H}$  (Ford i wsp. 1965),  
 kwas alfa-aminomasłowy  $^{14}\text{C}$  (Smith 1967),  
 kwas gamma-aminomasłowy  $^{14}\text{C}$  (Bexter 1963),  
 l-metionina  $^{35}\text{S}$  (Gaitonde i Richer 1956, Panczenko 1957),  
 dl-metionina  $^{35}\text{S}$  (Folbergrova 1966),  
 l-prolina  $^{14}\text{C}$  (Lajtha i Mella 1961, Sporn i wsp. 1959),  
 l-treonina  $^{14}\text{C}$  (Miani i wsp. 1961),  
 l-walina  $^{14}\text{C}$  (Flexner i wsp. 1962, Johnson i Luttges 1966).

Aktywność znacznika można wykrywać za pomocą liczników promieniowania lub emulsji jądrowych (autoradiografia). Do autoradiografii najlepiej nadają się związki znakowane  $^3\text{H}$ , którego niska energia pozwala na uzyskanie dobrej zdolności rozdzielczej. Stwarza to możliwość korelacji rozmieszczenia ziaren srebra autoradiogramów z obrazem cytologicznym uzyskanym w mikroskopie elektonowym.

Ze względu na fotonowy charakter promieniowania gamma (jeden foton promieniowania gamma jest zdolny wywołać efekt utajony w jednym kryształe halogenku srebra), nie używa się do autoradiografii znaczników będących gamma emitarami. Jednakże w przypadku  $^{75}\text{Se}$  elektrony konwersji pozwalają otrzymać obraz autoradiograficzny (Hansson i Jacobsson 1965, 1966).

Za pomocą znakowanych aminokwasów badano kinetykę białek mózgu takich zwierząt, jak myszy (Lajtha i wsp. 1957), szczurów (Gaitonde i Richter 1956, Mokrash 1966, Lajtha i Toth 1962, Palladin i wsp. 1964), królików (Lajtha 1964), kotów (Palladin i wsp. 1964), psów (Fisher i wsp. 1956), małp (Berl i wsp. 1961, Metzger 1967), świnek morskich (Folbergrova 1966, Pogodayew i Makedova 1964) itp.

Znacznik podawano zarówno donaczyniowo, jak i pozanaczyniowo (np. do otrzewnowo, poza barierą krew-mózg, jak i do tkanki mózgowej, — Gaitonde i Richter 1956, Lajtha i Mella 1961, Nechayeva i wsp. 1964, Palladin i wsp. 1964).

Badania kinetyki syntezy białek mózgu przeprowadzano zarówno w układzie *in vivo*, jak również *in vitro*, a nawet dla izolowanych bezkomórkowych układów enzymatycznych (Cremer 1964, Folbergrova 1966, Johnson i Luttges 1966, Klee i wsp. 1963, Nechayeva i wsp. 1964, Palladin i wsp. 1964).

Niestety, jak to się często zdarza przy dużej liczbie informacji uzyskanych różnymi metodami, otrzymane wyniki są niejednokrotnie kontrowersyjne. Jednak kontrowersje te dotyczą nie tyle istoty zjawiska, ile raczej wartości liczbowych. Na podstawie danych, uzyskanych z literatury przedmiotu, wiadomo obecnie, że: 1) w układzie nerwowym istnieje intensywna przemiana białkowa (Belik i Tiuleniew 1966, Gaitonde i Richter 1957, Lajtha i Toth 1966), 2) na przemianę białkową w mózgu (badania znakowanymi aminokwasami) wpływa bariera krew-mózg (Gaitonde i Richter 1956), 3) przemiana białek układu nerwowego jest intensywniejsza u noworodków i młodych zwierząt (Gaitonde i Richter 1956, Johnson i Luttges 1966, Lajtha i wsp. 1957, Palladin i wsp. 1964, Piha i Uusitalo

1964), 4) przemiana białkowa w układzie nerwowym jest różna w poszczególnych okolicach układu nerwowego (Altman 1963, Berl i wsp. 1961, Pogodayew i Makhedova 1964, Waelsch 1957), 5) poszczególne aminokwasy wbudowują się z różną aktywnością (Berl i wsp. 1961, Folbergrova 1966, Johnson i Lutges 1966), 6) na przemianę wpływa współistnienie białek o różnych biologicznych okresach półtrwania (Lajtha 1966), 7) synteza białek jest wielokrotnie wyższa w neuronach niż w komórkach glejowych (Altman 1963, Cohn i wsp. 1954, Fischer i wsp. 1956, Lodin i Koloušek 1958, Merei i Gallyas 1964, Oehlert i wsp. 1958), 8) przemiana białek jest różna w poszczególnych rodzajach neuronów (Altman 1963a, 1963b, Droz i Leblond 1963, Lajtha 1966).

Na podstawie badań autoradiograficznych wiadomo, że synteza białek zachodzi w perikarionie i w jąderku. W obrazach autoradiograficznych w mikroskopie elektronowym widać ziarna srebra nad ergastoplazmą substancji Nissla (Droz 1965). Belik i Tiuleniew (1966) uzyskali następujący rozkład radioaktywności białek mózgu królika po podaniu  $^{35}\text{S}$ -mentioniny:

Tabela 1.

Table 1.

Czas od podania Time since administration	Fracja jądrowa Nuclear fraction	Mitochondria		Mikrosomy Microsomes	Supernatant Supernatant
		ciężkie heavy	lekkie light		
15 min.	34	21	54	76	41
36 min.	73	47	154	160	86
2 godz./h	266	181	473	482	417
4 godz./h	244	275	541	488	—
12 godz./h	362	337	489	579	613
48 godz./h	319	300	485	466	516
96 godz./h	309	286	457	443	465

W ostatnich latach ukazały się liczne prace, w których stosowano znakowane aminokwasy do badań korelacji biochemiczno-czynnościowej. Można by wymienić przykładowo choćby takie pozycje, jak: praca nad wpływem bodźców wzrokowych (Metzger i wsp. 1967, Talwar i wsp. 1966) i wzmożonej czynności ruchowej zwierzęcia na syntezę białek układu nerwowego (Altman 1963). Istnieje dość liczna literatura poświęcona wpływowi leków i hormonów na syntezę białek mózgu (Gaitonde i Richter 1956, Lajtha 1964b, Masłowa i wsp. 1966, Nechayeva i wsp. 1964, Palladin i wsp. 1964, Pogodayew i Makhedova 1964, Ford i Hirschman 1958, Ford i wsp. 1965). Duże zainteresowanie wzbudza wpływ bodźców elektrycznych na syntezę białek (Gaitonde i Richter 1956, Lajtha 1964b, Nechayeva i wsp. 1964, Pogodayew 1966).

W roku 1964 Lajtha pisał: „Pozostają do rozwiązania zagadnienia dotyczące metabolizmu białek w stanach prawidłowych i patologicznych. Jakie czynniki determinują przemianę, wzrost i regenerację w stanach prawidłowych i patologicznych o.u.n.? Czy szybkość metabolizmu poszczególnych cząsteczek białek jest taka sama podczas całego życia narządu, czy też skład białek ulega zmianie? Czy specyficzne białka są charakterystyczne lub też odpowiedzialne za zmiany patologiczne? Czy istnieją białka charakterystyczne dla danego stadium rozwoju, czy czynniki kontrolujące są zaburzone przez wiek starczy? Większość z tych pytań w dobie dzisiejszej nadal pozostaje bez odpowiedzi”. W perspektywie powyższych pytań wydaje się, że badania nad kinetyką znakowanych aminokwasów w mózgu mogą wnieść pewien wkład w przyszłe zrozumienie zjawisk zachodzących w patologicznych odchyleniach funkcji.

Wybór metioniny do badań nad kinetyką aminokwasów wynika z faktu, że metionina jest aminokwasem wchodzącym w liczne cykle metaboliczne. Ze względu na ścisłe powiązanie jej z metabolizmem innych aminokwasów siarkowych należy ją rozpatrywać razem.

#### UZASADNIENIE WYBORU ZNACZNIKA

W roku 1966 przystępując do rozpracowania biochemicznego doświadczalnej encefalopatii aluminiowej za pomocą znakowanych aminokwasów (Liwnicz 1967) natknięto się na trudności związane z pomiarem miękkiego promieniowania beta. Na rynku krajowym brak było aparatury, która pozwalałaby przeprowadzić pomiary z potrzebną dokładnością. Było to istotną przeszkodą, ponieważ używane do badań metabolizmu o.u.n. aminokwasy znakowane  $^{14}\text{C}$ ,  $^3\text{H}$  i  $^{35}\text{S}$  są miękkimi beta emitatorami.

Fakt ten skłonił do zainteresowania się aminokwasami znakowanymi gamma emitatorami. Praktycznie można brać pod uwagę aminokwasy znakowane  $^{131}\text{I}$  i  $^{75}\text{Se}$ . W przypadku aminokwasów znakowanych  $^{131}\text{I}$ , wpływ samego jodu na procesy biochemiczne wyklucza stosowanie jodowych aminokwasów do badań nad metabolizmem układu nerwowego na szerszą skalę.

Na podstawie literatury, poświęconej metabolizmowi aminokwasów znakowanych  $^{75}\text{Se}$ , można wnioskować o podobieństwie między aminokwasami selenowymi i siarkowymi (Rosenfeld i Beath 1964). Ze względu na właściwości biochemiczne i prostą preparatykę, związaną z przygotowaniem do pomiaru promieniowania, zastosowano  $^{75}\text{Se}$ -selenometioninę do badań metabolizmu w układzie nerwowym we wspomnianej encefalopatii aluminiowej. Uzyskane wyniki (Liwnicz 1967) skłaniały do podjęcia dalszego cyklu badań nad metabolizmem  $^{75}\text{Se}$ -selenometioniny w ośrodkowym układzie nerwowym, co może przyczynić się do wypracowania stosunkowo prostego modelu umożliwiającego wniknięcie w odchylenia patologiczne przemiany mózgowej (*turnover*).

Selen: historia, właściwości i zastosowanie. O biologicznym efekcie selenu pisał już w roku 1295 sławny podróżnik Marco Polo, opisując tzw. chorobę alkaliczną u zwierząt, występującą w zachodnich Chinach. Istnieje opis pochodzący z roku 1950 o efektach zatrucia selenem u ludzi. Jest wstrząsający opis pochodzący z Kolumbii — „...w tych stronach rosną okazałe zboża i urodziwe jarzyny, ale część z nich jest trująca dla zwierząt i ludzi. Spożycie tych roślin powoduje wypadanie włosów. Kobiety w tych okolicach rodzą potworne niemowlęta pokryte szpeciniastą sierścią. Widok tych niemowląt jest tak odrażający, że są one najczęściej porzucane przez rodziców”. Pierwszy klasyczny opis „choroby alkalicznej” u zwierząt pochodzi z roku 1857 (Rosenfeld i Beath 1964). Selen, jako pierwiastek, wykrył w 1817 r. szwedzki chemik Berzeliusz. Znanych jest około 10 radionuklidów selenu (tabela 2).

Tabela 2.

Table 2.

Radionuklid Radio-nuclid	T <sub>1/2</sub>	Sposób rozpadu Mode of decay	Energia promienio- wania (MeV) Radiation energy (MeV)	Metody otrzymywania Method of generation
<sup>72</sup> Se	9,7d	EC		As-d-5n
<sup>73</sup> Se	7,1h	β+, EC IT	β+, 1,29; 1,65 γ, 0,36; 0,066	<sup>70</sup> Ge-α-n As-d-4n
<sup>75</sup> Se	127d	EC γ	γ, 0,265; 0,136 0,28; 0,405	<sup>74</sup> Se-n-γ; As-p-n As-d-2n
<sup>77</sup> Se m	17,5s	IT	γ, 0,162	<sup>76</sup> Se-n-γ U-rozpad/-fission
<sup>79</sup> Se m	3,90m	IT	γ, 0,096	<sup>78</sup> Se-n-γ Br-n-p U-rozpad/-fission
<sup>78</sup> Se	6 x 10 <sup>4</sup> l	β—	β—, 0,16	
<sup>81</sup> Se m	56,8m	IT	γ, 0,103	<sup>80</sup> Se-n-γ Se-d-p Br-m-p U-rozpad/-fission
<sup>81</sup> Se	18,2m	β—	β—, 1,38	Se-n-γ <sup>80</sup> Se-d-p Br-n-p U-rozpad/-fission
<sup>83</sup> Se	25m	β— γ	β—, 1,5 γ, 0,35	Se-n-γ Se-d-p U-rozpad/-fission Th-rozpad/-fission
<sup>84</sup> Se	3,3m	β—		U-rozpad/-fission

Dla badań biologicznych nadaje się  $^{75}\text{Se}$  ze względu na długi okres połowicznego rozpadu. Wśród organicznych pochodnych selenu wykryto selenometioninę, selenocysteinę, selenocystynę i selenohomocystynę oraz takie metabolity aminokwasów, jak selenohypotaurynę i selenotaurynę (Cohen i Cowie 1957, McConnell i Dallam 1962, Mud i Cantoni 1957, Natori i wsp. 1964, Lam i Olson 1964, Pan i wsp. 1964, Rosenfeld 1960).

Podając zwierzętom  $^{75}\text{Se}$  pod postacią kwasu selenowego, selenianu sodu lub chlorku selenu stwierdzono jego wbudowanie się do białek. McConnell i wsp. (1959) podając szczurom  $\text{H}_2$   $^{75}\text{SeO}_4$  otrzymali w homogenacie wątroby następujący rozkład aktywności frakcji:

Tabela 3.  
Table 3.

Frakcja Fraction	Całkowita aktywność $^{75}\text{Se}$ Total activity $^{75}\text{Se}$	$^{75}\text{Se}$ wbudowane w białka $^{75}\text{Se}$ integrated into proteins
Homogenat Homogenate	100 <sup>0</sup> %	80,3 ± 2,3 <sup>0</sup> %
Frakcja jądrowa Nuclear fraction	2,7 ± 0,4 <sup>0</sup> %	87,4 ± 11,5 <sup>0</sup> %
Frakcja mitochondrialna Mitochondrial fraction	31,0 ±	91,7 ± 2,2 <sup>0</sup> %
Frakcja mikrosomalna Microsomal fraction	8,7 ± 1,7 <sup>0</sup> %	88,7 ± 5,1 <sup>0</sup> %
Supernatant	54,6 ± 1,1 <sup>0</sup> %	64,6 ± 3,7 <sup>0</sup> %

Albert i wsp. (1966), podając dożylnie psom selenian, stwierdzili szczyt aktywności w mózgu po 24 godzinach. Podając zwierzętom selenometioninę, stwierdzono że wbudowuje się do takich białek, jak: hemoglobina, kolagen, keratyna, laktoglobulina, albuminy i globuliny osocza, fibrynogen, urokinaza, parathormon, enzymy trzustki (Awwad i Potchen 1965, Celander i Celander 1965, Celander i wsp. 1962, Claycomb i wsp. 1960, McConnell i Kreamer 1960, Coray i wsp. 1966, Filczagin 1960, di Giulio 1965, van Goidsenhoven i wsp. 1964, Hansson i Blau 1963, Mende i Viarmonte 1965, Mautner, Günther 1962, Meister 1965, Nelp i Blumberg 1965, Tausky i wsp. 1966, Schwarz, Sweeney 1964).

Należy podkreślić, że białka z wbudowanymi selenowymi aminokwasami nie tracą swoich specyficznych czynności enzymatycznych. W wyniku tych ustaleń  $^{75}\text{Se}$ -selenometionina została wprowadzona do badań diagnostycznych trzustki i gruczolaków przytarczycy (Beierwaltes 1964, Biagini i wsp. 1963, di Giulio i Beierwaltes 1964, di Giulio i Morales 1966, Haynie 1965, Haynie i wsp. 1963, Miale i Ponger 1966, Powell i wsp. 1966, Rodriguez-Antunez 195, Sodee 1965). Są także doniesienia o zastosowaniu selenometioniny do wykrywania mięsaków i przerzutów nowotworowych do węzłów chłonnych (Cavalieri i wsp. 1966, Gonzalez i wsp. 1965, Herrera i wsp. 1965). Stwierdzono również, że selenometionina przenika przez barierę łożyska płodu (Imbrasch i Sternberg 1966). W ilościach użytych do diagnostyki  $^{75}\text{Se}$ -selenometionina jest nietoksyczna.

Poważną niedogodnością badań diagnostycznych z użyciem  $^{75}\text{Se}$ -selenometioniny jest brak tropizmu tego ogólnoustrojowego znacznika, który, jak przyto-

czono powyżej, wbudowuje się do wielu rodzajów białek. Istnieją liczne prace poświęcone premedykacji, która ma na celu zwiększenie wybiórczego gromadzenia się znacznika w badanym narządzie. Gottschalk i wsp. (1966) podawali w tym celu znacznik bezpośrednio do układu naczyniowego badanego narządu. Reasumując przegląd literatury można stwierdzić, że 1) metabolizm selenometioniny jest analogiczny do metabolizmu metioniny, 2) selenometioninę można używać do zewnętrznych pomiarów radioaktywności.

#### OKREŚLENIE BEZPOŚREDNIEGO CELU PRACY

Jako bezpośredni cel podjętych obecnie badań postawiono sobie za zadanie:

1. Ustalenie optymalnego układu doświadczalnego do badania kinetyki  $^{75}\text{Se}$ -selenometioniny w układzie nerwowym.
2. Oznaczenie puli wolnych aminokwasów w pięciu reprezentatywnych okolicach układu nerwowego za pomocą  $^{75}\text{Se}$ -selenometioniny.
3. Wyliczenie poziomu nie związanej  $^{75}\text{Se}$ -selenometioniny w badanych okolicach układu nerwowego w zależności od czasu jaki upłynął od chwili podania znacznika.
4. Przeprowadzenie analizy danych za pomocą rozkładu uzyskanej krzywej kinetycznej na poszczególne czynniki składowe.
5. Zbadanie przydatności  $^{75}\text{Se}$ -selenometioniny do pomiarów zewnętrznych mózgu.

#### MATERIAŁ I METODA

Do doświadczenia użyto 53 królików, ras: białej popielniańskiej (p.) i czerwonej nowozelandzkiej (z.) (pochodzące z Zakładu Hodowli Zwierząt Laboratoryjnych PAN w Łomnie-Las), obu płci, o wadze 1,700—2,500 kg. Podejmując badania na królikach uwzględniano fakt, że: 1) są to największe spośród dostępnych ssaków, które można otrzymać jako zwierzęta jednorasowe po przystępnych cenach, 2) wielkość mózgu tego zwierzęcia ułatwia pobieranie wybranych okolic topograficznych ośrodkowego układu nerwowego, 3) króliki są często używane do badań patologii układu nerwowego i mogą stanowić dobry model porównawczy.

Wszystkim królikom podawano 10 uCi/kg  $^{75}\text{Se}$ -l-selenometioniny (Amersham) rozcieńczonej solą fizjologiczną. U 48 zwierząt, z których 45 użyto do badań biochemicznych i 3 do pomiarów zewnętrznych, znacznik podawano do żyły usznej. Pięciu królikom znacznik rozcieńczony do łącznej objętości 0,3 ml podano podpotylicznie do zbiornika mózdkowo-rdzeniowego.

Zwierzęta użyte do badań biochemicznych usypiano w kolejnych odstępach czasu od podania znacznika: 10 min., 20 min., 40 min., 1 godz.,

2 godz., 4 godz., 6 godz., 12 godz. i 72 godz. Rozkład poszczególnych grup czasowych przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4.

Table 4.

Nr grupy Group No.	Liczba zwierząt Number of animals	Miejsce podania znacznika Location of the labelled compound administration	Czas od podania do uśpienia Time from admini- stration till dormancy
I z	5	dożylnie/intravenously	10 min.
I p	1	podpotylicznie/suboccipitally	10 min.
II z	5	dożylnie/intravenously	20 min.
II p	1	podpotylicznie/suboccipitally	20 min.
III z	5	dożylnie/intravenously	40 min.
III p	1	podpotylicznie/suboccipitally	40 min.
IV z	5	dożylnie/intravenously	1 godz./h
IV p	1	podpotylicznie/suboccipitally	1 godz./h
V z	5	dożylnie/intravenously	2 godz./h
V p	1	podpotylicznie/suboccipitally	2 godz./h
VI z	5	dożylnie/intravenously	4 godz./h
VII z	5	" "	6 godz./h
VIII z	5	" "	12 godz./h
IX z	5	" "	72 godz./h

Króliki usypiano eunarkonem, po czym wykonywano im perfuzję 0,25 M sacharozą. Wykonanie perfuzji izotoniczną sacharozą pozwoliło na usunięcie zawartości łożyska naczyniowego, która mogłaby interferować w uzyskanych wynikach. Należy podkreślić, że perfuzja izotoniczną sacharozą nie wypłukuje wolnych aminokwasów z tkanki nerwowej (Singh i Malhotra 1962).

Pobierano pięć okolic z układu nerwowego:

- okolicę czołową, obejmującą korę frontalną, korę motoryczną i istotę białą;
- półkule mózdzku bez części usznej;
- wzgórze;
- pień od środka komory IV do skrzyżowania piramid;
- rdzeń szary od skrzyżowania piramid do końca zgrubienia szynowego;
- oraz wycinki promieniste z nerki i wycinki wątroby.

Bezpośrednio po pobraniu materiału przenoszono go do zamrażarki o temperaturze  $-35^{\circ}\text{C}$ . Po odtajaniu w temperaturze pokojowej materiał homogenizowano za pomocą homogenizatora szklanego przez 3 minuty, przy 1600 obr./min w 4 ml wody bidestylowanej. Zawartość homogenizatorów, po popłukaniu w 1 ml wody bidestylowanej, przenoszono



no do probówek wirowniczych, w których przeprowadzano kolejne czynności związane z oczyszczaniem białka. Kolejne ekstrakty zbierano pipetami jednorazowego użytku i przenoszono do ampulek. Ampułki zatapiano. Podczas poszczególnych ekstrakcji wytrząsano materiał odpowiednio 40—45 minut. Przed odpipetowaniem wirowano 45 minut przy  $2500 \times g$ . Ekstrahowano w następującej kolejności:

- 1) wytrącanie 10% kwasem trójchlorooctowym (TCA) w temperaturze lodówki (głównie aminokwasy),
- 2) 10% TCA (głównie aminokwasy) — w temperaturze pokojowej,
- 3) 5% TCA — przy  $90^{\circ}\text{C}$  przez 15 minut,
- 4) 5% TCA — w temperaturze pokojowej,
- 5) 95% etanol przy  $70^{\circ}\text{C}$  przez 15 minut,
- 6) 95% etanol w temperaturze pokojowej,
- 7) etanol : eter = 3 : 1 przy  $50^{\circ}\text{C}$  przez 15 minut,
- 8) chloroform : metanol = aa przy  $60^{\circ}\text{C}$  przez 15 minut,
- 9) eter w temperaturze pokojowej,
- 10) aceton : eter : benzyna = 6 : 3 : 0,5 w temperaturze pokojowej.

Użyte metody oczyszczania białek były oparte na odpowiednich danych z literatury badania metabolizmu białek mózgu za pomocą aminokwasów znakowanych izotopami radioaktywnymi (Mase i wsp. 1962).

Pomiary radioaktywności przeprowadzano w kryształach scyntylacyjnym studzienkowym NaJ (Tl). Zestaw do zliczania obejmował: urządzenie scyntylacyjne typ USB-2, przelicznik elektronowy typ PEL-5, zasilacz stabilizowany typ ZWN-2,5. Parametry liczenia: wysokie napięcie 1200 V, dyskryminacja 10 V, wzmocnienie  $25 \times$ . Pomiary przeprowadzono przy nastawionej liczbie zliczeń, wynoszącej 10 000 impulsów.

U trzech królików wykonano w Zakładzie Izotopowym Instytutu Onkologii zdjęcia Gamma-kamerą (Pho Gamma — Nuclear Chicago). Królikom tym podawano  $^{75}\text{Se}$ -l-selenometioninę 10 uCi/kg do żyły usznej. U dwóch królików zdjęcia wykonano w stanie uśpienia eunarkonem, jednemu w 2 godziny, drugiemu zaś 5 godzin od podania znacznika. U trzeciego królika w 5 godzin od podania izotopu po uśpieniu eunarkonem, wykonano perfuzję 0,25 M sacharozą.

Dla kontroli metody prowadzono pomiary aktywności kolejno uzyskiwanych ekstraktów.

Zastosowany układ pomiarowy był najbardziej optymalny z dostępnych. Zliczono 10 tysięcy impulsów, co stanowiło przeszło 20-krotne tło i dawało średni względny błąd kwadratowy około 1%. Rozrzuty uwzględniano, podając obok średniej arytmetycznej z grupy, średnie odchylenia kwadratowe. Przy interpretacji rozrzutów należy uwzględnić takie

czynniki biologiczne, jak różnice zależne od rasy, wieku, płci, a nawet różnice osobnicze (Lajtha 1964), które starano się zmniejszyć do minimum, stosując króliki głównie jednej rasy — białej popielniańskiej oraz w przybliżeniu w jednym wieku. Przestrzeganie jednakowej płci przy uwzględnieniu powyższych wymagań okazało się niemożliwe. Wpływ różnic osobniczych w biologicznych doświadczeniach można zmniejszyć, zwiększając liczbę zwierząt w grupach doświadczalnych, przez co uzyskuje się lepszy rozkład statystyczny.

Należy przyznać, że 5 zwierząt, wchodzących w skład grupy doświadczalnej, jest skromnym materiałem, jednakże w trakcie interpretacji okazało się, że, pomimo rozrzutów, uwidaczniały się już pewne wyraźne tendencje jednolitości otrzymanych wyników (histogramy).

Dla poszczególnych frakcji pochodzących z tych samych próbek, wyniki przedstawiono w postaci ilorazu  $a/c$ , w którym:

$a$  — wyraża aktywność netto (imp./min)  
dwóch pierwszych frakcji 10% TCA,

$c = a + b$ , gdzie  $b$  — jest aktywnością oczyszczonego białka.

Dane liczbowe, ujęte w tabelach i wykresach, są podane w procentach.

#### WYNIKI

Otrzymane wyniki zestawiono w tabelach 5 i 6 oraz na histogramach. Na histogramach, przedstawiających grupy zwierząt po podaniu znacznika do żyły usznej, ilorazy  $a/c$  mają w pierwszych dwóch grupach (10 min i 20 min) podobne wartości dla badanych okolic układu nerwowego. W 40 minucie od podania aminokwasu zaznacza się zróżnicowanie wartości ilorazów na dwie grupy: jedna obejmująca pień i rdzeń o większych wartościach ilorazu oraz druga obejmująca czoło i mózdzek o mniejszych wartościach ilorazu. Wzgórze ma średnią wartość. Po cząwszy od 1 godziny wartości ilorazów dla poszczególnych okolic układają się w następującej wzrastającej kolejności:

$$\text{czoło} < \text{mózdzek} < \text{wzgórze} < \text{pień} < \text{rdzeń}.$$

Przy podaniu znacznika do żyły usznej wartości ilorazów dla nerki i wątroby we wszystkich grupach doświadczalnych były niższe niż wartości uzyskane dla podanych wyżej okolic układu nerwowego, pochodzących z tej samej grupy zwierząt. Wartości ilorazów  $a/c$  były wyższe dla nerki niż wątroby.

Zwierzęta, którym podawano znacznik do zbiornika mózdkowo-rdzeniowego w czasie przeprowadzenia doświadczenia, traktowano jako „pi-

Tabela 5. Rozkład współczynnika  $\frac{a}{a+b} \cdot 100$  po podaniu  $^{75}\text{Se}$ -selonometioniny do żyły usznej

Table 5. Distribution of the coefficient  $\frac{a}{a+b} \cdot 100$  after administrating  $^{75}\text{Se}$ -selonometionine into the auricular vein

Okolica Region	Czas Time								
	10 min.	20 min.	40 min.	1 h	2 h	4 h	6 h	12 h	72 h
Rdzeń Spinal medulla	75±6	55±4	50±5	48±5	47±2	45±3	43±3	37±4	13±7
Pień Cerebral trunk	75±3	52±4	48±5	43±5	40±5	38±2	36±6	29±3	10±1
Wzgórze Thalamus	75±3	50±3	45±5	40±4	37±4	34±3	32±4	22±2	10±2
Mózdzek Cerebellum	72±5	47±4	40±5	32±6	31±2	31±2	30±3	25±2	11±3
Czoło Frontal region	77±3	51±5	43±4	33±4	30±3	27±1	26±4	18±3	9±2
Nerka Kidney	54±4	35±4	31±5	27±5	25±3	20±2	19±4	10±2	4±1
Wątroba Liver	49±3	26±3	15±3	13±4	8±1	8±2	8±3	7±4	6±3

lotowe". Jednakże ze względu na charakterystyczny rozkład aktywności, w trakcie interpretacji doświadczenia postanowiono je włączyć do niniejszego opisu. Należy jednak podkreślić, że materiał był zbyt mały do interpretacji statystycznej i wyniki pozwalają jedynie mówić o tendencjach. Wzajemny stosunek wartości ilorazów dla poszczególnych okolic jest przy podawaniu podpotylicznym analogiczny jak przy podaniu znacznika do żyły usznej.

Obrazy uzyskane za pomocą Gamma-kamery, u wszystkich trzech królików odpowiadają zarysom mózgu. Obraz uzyskany u królika, któremu wykonano perfuzję (usunięto krew) świadczy o tym, że zarejestrowana na zdjęciu aktywność pochodzi z tkanki mózgowej. U królika z wykonaną perfuzją zarejestrowano na zdjęciu ognisko położone na uchu, które odpowiadało wynacznieniu znacznika podczas jego podawania.

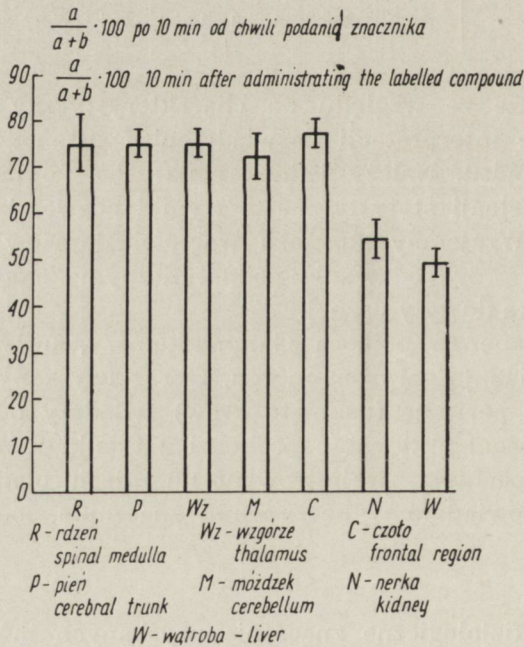
#### DYSKUSJA

Interpretując fizjologiczne znaczenie uzyskanych informacji o ilorazie  $a/c$ , należy podkreślić, że na wartości  $a$  składają się aktywności

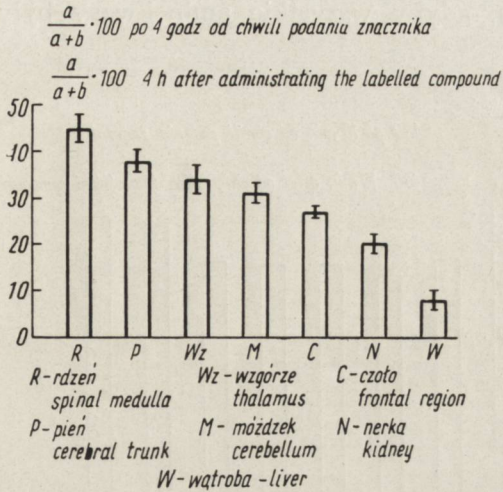
Tabela 6. Rozkład współczynnika  $\frac{a}{a+b} \cdot 100$  po podaniu  $^{75}\text{Se}$ -selenometioniny do zbiornika mózdkowo-rdzeniowego.

Table 6. Distribution of the coefficient  $\frac{a}{a+b} \cdot 100$  after administrating  $^{75}\text{Se}$ -selenometionine into the cerebellospinal cistern.

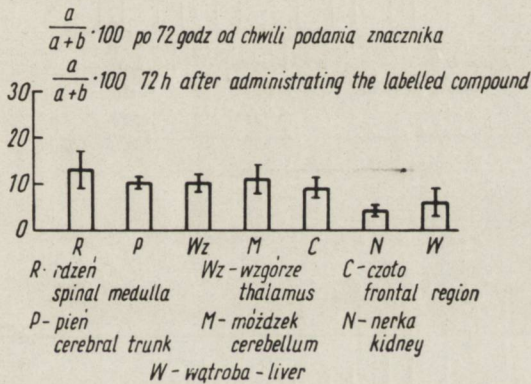
Okolica Region	Czas Time				
	10 min.	20 min.	40 min.	1 h	2 h
Rdzeń Spinal medulla	77	59	54	55	51
Pień Cerebral trunk	74	63	52	50	54
Wzgórze Thalamus	76	62	55	52	43
Mózdzek Cerebellum	76	59	55	51	41
Czolo Frontal region	77	70	54	52	24
Nerka Kidney	85	51	40	33	34
Wątroba Liver	87	44	23	23	14



Ryc. 1.



Ryc. 2.



Ryc. 3.

Ryc. 1, 2, 3. Histogram względnej aktywności aminokwasów w pobranych okolicach po podaniu  $^{75}\text{Se}$ -selenometioniny do żyły usznej.

Figs. 1, 2, 3. Histogram of the relative activity of amino acids in regions where  $^{75}\text{Se}$ -selenometionine was administrated to the auricular vein.

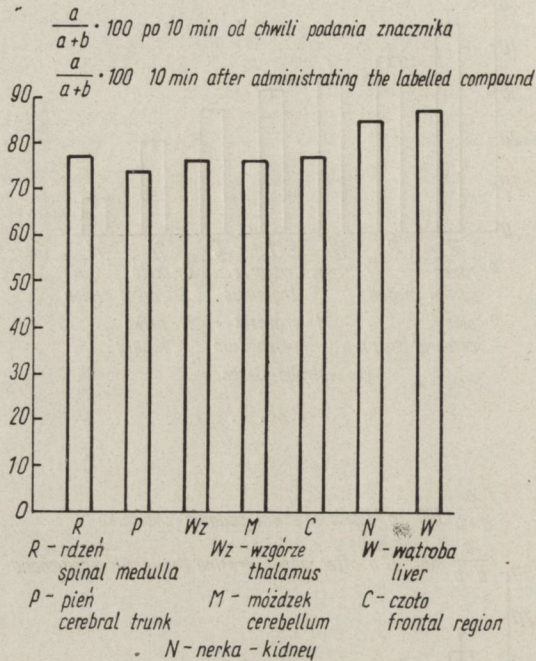
związków rozpuszczalnych w 10% kwasie trójchlorooctowym (10% TCA). Są to, jak zaznaczono wyżej, głównie wolne aminokwasy; wartość  $b$ , jak już wspomniano, reprezentuje aktywność oczyszczonych białek (ewentualnie z domieszką mukopolisacharydów, których nie można oddzielić). Wobec powyższego przy układzie, w którym istniałyby jedynie wolne aminokwasy

$$a/c = 1$$

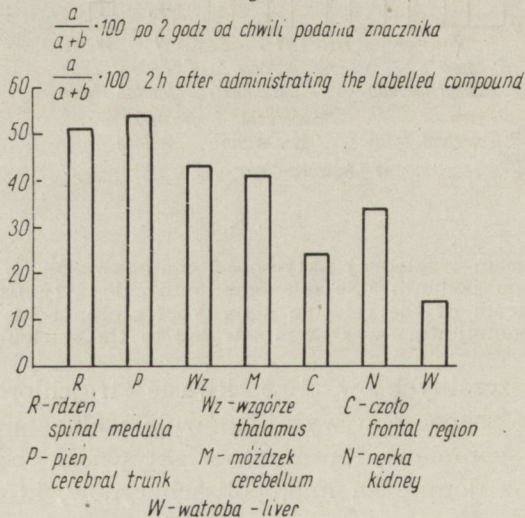
$$(a = c; c = a + b \text{ przy } b = 0 \text{ } c = a)$$

zaś w przypadku, gdyby wszystkie aminokwasy były wbudowane do białek

$$a/c = 0 \quad (a = 0)$$



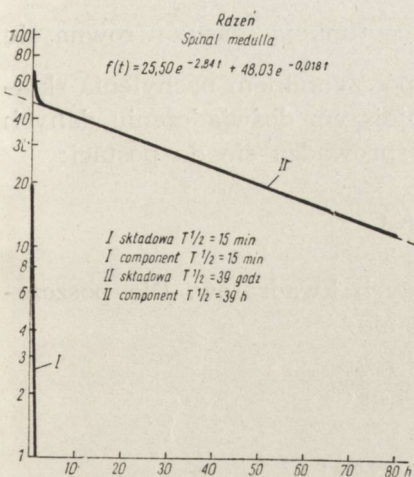
Ryc. 4.



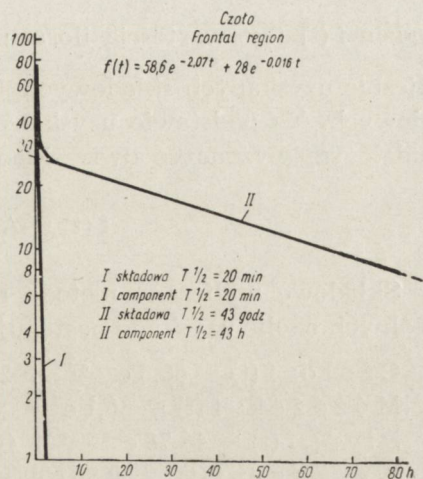
Ryc. 5.

Ryc. 4, 5. Histogram względnej aktywności aminokwasów w pobranych okolicach po podaniu  $^{75}\text{Se}$ -selenometioniny do zbiornika mózdkowo-rdzeniowego.

Figs. 4, 5. Histogram of the relative activity of amino acids after administrating  $^{75}\text{Se}$ -selenometionine to the cerebellospinal cistern.



Ryc. 6.



Ryc. 7.

Ryc. 6, 7. Rozkład krzywej kinetycznej na dwie składowe.

Figs. 6, 7. Kinetic curve distributed into two exponents.

Przy podaniu znacznika do żyły usznej w pierwszych 20 minutach pule wolnych aminokwasów są w badanych okolicach równe sobie. Zróżnicowanie, jakie występuje po 40 minutach według kolejności charakteryzuje się tym, że w okolicach zawierających przewagę istoty białej pule są większe. Należy podkreślić, że pule wolnych aminokwasów są większe dla układu nerwowego od puli wolnych aminokwasów w nerce i wątrobie. Przy podawaniu aminokwasów do zbiornika mózdkowo-rdzeniowego obserwowano tendencję do zróżnicowania puli wolnych aminokwasów w badanych okolicach dopiero po 2 godzinach. Ciekawy jest fakt, że w 10 minut po podaniu znacznika do zbiornika mózdkowo-rdzeniowego względne pule wolnych aminokwasów są wyższe w nerce i wątrobie niż w tkance nerwowej. Uwzględniając, że wartość

względnej puli wolnych aminokwasów jest ilorazem  $\frac{a}{a+b}$ , gdzie w mianowniku  $b$  reprezentuje aktywność aminokwasów wbudowanych do białek i że w przypadku podania do płynu mózgowo-rdzeniowego znacznik ma do przebycia dwa efekty barierowe (płyn mózgowo-rdzeniowy — mózg i mózg — krew) opóźnia się okres rozpoczęcia syntezy białek w nerce i wątrobie (opóźnia się względem czasu od chwili podania znacznika). Zakładając, że empirycznym odpowiednikiem procesu wbudowania znakowanych aminokwasów do białek jest reakcja I-rzędowa (Anker 1960), przeprowadzono analizę uzyskanych wyników układem równań różniczkowych liniowych, posiadających roz-

wiązanie w postaci sumy wykładniczej —  $f(t) = \sum_{i=0}^{i=n} A_i e^{-k_i t}$

gdzie  $f(t)$  jest wartością ilorazu  $\frac{a}{c}$ , będącą funkcją czasu;  $n$  równa się liczbie uzyskanych składowych,  $k$  jest współczynnikiem nachylenia składowych. Na podstawie uzyskanych w niniejszym doświadczeniu danych udało się wyznaczyć dwie składowe, co sprowadza się do postaci:

$$f(t) = A_1 C^{-k_1 t} + A_2 C^{-k_2 t}$$

Składowe wyliczono metodą najmniejszych kwadratów. Dla poszczególnych okolic uzyskano następujące równania:

Czoło:  $f(t) = 58,6 e^{-2,07 t} + 28 e^{-0,016 t}$

Móźdżek:  $f(t) = 35,1 e^{-1,80 t} + 32,0 e^{-0,015 t}$

Pień:  $f(t) = 46,78 e^{-2,69 t} + 40,72 e^{-0,019 t}$

Wzgórze:  $f(t) = 39,80 e^{-1,81 t} + 35,18 e^{-0,018 t}$

Rdzeń:  $f(t) = 25,50 e^{-2,84 t} + 48,03 e^{-0,018 t}$

Okresy połowicznych zaników poszczególnych składowych podano poniżej w tabeli 7.

Tabela 7.

Table 7.

Okolica Region	$T^{1/2}$ I składowa I component	$T^{1/2}$ II składowa II component
Czoło Frontal region	20 min.	43 godz./h
Móźdżek Cerebellum	23 min.	46 godz./h
Pień Cerebral trunk	16 min.	36 godz./h
Wzgórze Thalamus	23 min.	39 godz./h
Rdzeń Spinal medulla	15 min.	39 godz./h

Uzyskane dwie składowe różnią się od siebie o dwa rzędy wielkości o wartościach zbliżonych do siebie w badanych okolicach układu nerwowego. Pierwsza składowa ma okres półzaniku kilkunastominutowy, druga kilkudziesięciogodzinny. Wartości te wskazują na współistnienie dwóch procesów zanikania względnej puli wolnych aminokwasów. Procesu prędkiego i wolnego, przy czym różnią się one od siebie o przeszło 100 razy.

W pniu i rdzeniu pierwsze składowe mają okresy połowicznego trwania wynoszące około 15—16 min krótsze niż w pozostałych okolicach,



gdzie wynoszą 20—23 min. Nie wolno jednak wyciągać daleko idących wniosków na podstawie 45 informacji, dających 9 punktów wykreślających krzywą kinetyczną. Należy podkreślić, że przeprowadzono pomiary próbek, pochodzących z przestrzeni niecentralnych, to znaczy z przestrzeni, do których nie podawano bezpośrednio znacznika (<sup>75</sup>Se-l-selenometioninę podawano do łożyska naczyniowego, które stanowiło przestrzeń centralną).

Z praw kinetyki wynika, że w przypadku badania przestrzeni niecentralnych, obok składowych opadających występuje składowa narastająca. W niniejszym doświadczeniu brak było informacji koniecznych do wyznaczenia składowej narastania. Interpretacja kinetyczna pozwala jednak na wyciągnięcie wniosków na podstawie zbioru punktów pomiarowych wykreślających krzywe. Stwarza to możliwość uzyskania precyzyjnych danych, których nie daje dowolna interpretacja pojedynczych grup czasowych.

Tołwiński (1966) podaje szereg czynników, mających wpływ przy rozkładzie krzywej na poszczególne czynniki składowe:

a) niedostateczne zagęszczenie punktów pomiarowych, szczególnie w pierwszych dwóch dniach po podaniu znacznika, daje rozkład niepełny spowodowany brakiem wystarczającej liczby danych doświadczalnych;

b) trudności w ustaleniu, które punkty pomiarowe można jeszcze uwzględnić podczas wyznaczania składowych o najmniejszym nachyleniu w odniesieniu do wszystkich pozostałych składowych, prowadzą do błędów w wielkości współczynników przy prawidłowej liczbie wyznaczonych składowych;

c) krótki okres prowadzenia eksperymentu, spowodowany niską aktywnością ostatnich próbek, może wprowadzić odchylenia w wyznaczeniu ostatniej składowej, zniekształcając tym samym cały rozkład;

d) duży rozrzut błędów w pomiarach próbek biologicznych prowadzi do wieloznaczności otrzymanych wyników rozkładu, gubiąc w efekcie składowe o mało różniących się nachyleniach.

Rozkład na składowe w niniejszym doświadczeniu omawiano już powyżej. Podczas interpretacji okazało się, że brak punktów pomiarowych między 12. a 72. godziną zmniejszał precyzję przy wyznaczeniu ostatniej składowej (drugiej). Było to spowodowane tym, że grupy czasowe ustalono na podstawie literatury i wprowadzając nowy znacznik starano się inne parametry doświadczenia pozostawić nie zmienione i tym samym porównywalne z istniejącymi danymi dla innych znaczników.

Uzyskane wyniki na podstawie interpretacji kinetycznej dostarczały ciekawych informacji, zachęcając do prowadzenia doświadczeń usta-

wionych pod kątem tego typu interpretacji. Należy przypuszczać, że na półokresy zaniku poszczególnych składowych wpływa wbudowanie znacznika do białek, wobec czego mogłyby one wyrażać czas syntezy białek. W tym układzie można sądzić, że uzyskano szybkości syntezy dwóch grup białkowych: jednej o kilkunastominutowej syntezie, drugiej zaś znacznie wolniejszej kilkudziesięciogodzinnej syntezie. Jednak brak jest danych odnośnie miejsca przyłączenia  $^{75}\text{Se}$ -l-selenometioniny do białek mózgu, przez co nie można ostatecznie ustalić, czy obydwa procesy są natury enzymatycznej.

Jednym z głównych czynników, wpływających na pulę wolnych aminokwasów, jest bariera mózgowa (zależnie od rozpatrywanego układu krew-mózg lub płyn rdzeniowo-mózgowy — mózg).

W roku 1885 Ehrlich spostrzegł istnienie bariery krew-mózg: podczas podawania kwaśnych barwników do krwi, nie przenikały one do układu nerwowego. Jednak sformułowanie bariery krew-mózg pochodzi z prac, które prowadzili Stern i Gautier w latach 20-tych XX w. Zakładając, że każda substancja, która przenika z krwi do mózgu, musi znaleźć się w płynie mózgowo-rdzeniowym, stwierdzili, że liczne związki podane do krwi nie przenikały do płynu mózgowo-rdzeniowego. Skłoniło to do postawienia hipotezy o ochronnym mechanizmie istniejącym w mózgu, który nazwano „barierą krew-mózg” (Brierley 1957). Wpływ układu barierowego mózgu na metabolizm białek wykryli Friedberg i wsp. w 1948 r. (Lajtha 1964), obserwując, że po podaniu znakowanej metioniny dozbiornikowo, uzyskiwano większą aktywność białek mózgu niż po podaniu dożylnie. Wykazano, że podanie aminokwasu poza barierą krew-mózg pozwala na uzyskanie wyższej puli wolnych aminokwasów w mózgu. W pracach pochodzących z początku lat pięćdziesiątych (Lajtha 1957) spostrzeżono, że przy dożylnym podaniu kwasu glutaminowego szczurom i myszom, w mózgu nie zwiększał się poziom kwasów dwukarboksylowych, podczas gdy podawanie glutaminy zwiększało poziom amidów.

Pomimo licznych prac poświęconych badaniom bariery dla aminokwasów, których omówienie można znaleźć w opracowaniach zbiorczych (Edström 1964, Lajtha 1964), obok obszernego materiału faktologicznego istnieją jedynie hipotezy częściowo oparte na spekulacjach. Niżej podanych jest kilka faktów wynikających z działania bariery dla aminokwasów:

- 1) niejednakowo przechodzą poszczególne aminokwasy (Edström 1964, Lajtha i Toth 1962, Smith 1967);

- 2) łatwiej przechodzą formy lewoskrętne aminokwasów (Edström 1964, Lajtha i Toth 1962, Smith 1967);



Ryc. 8.



Ryc. 9.

Ryc. 8, 9. Zdjęcia wykonane Gamma-kamerą w 5 godzin po podaniu do żyły usznej 10 uCi/kg  $^{75}\text{Se}$ -selenometioniny królikowi, któremu wykonano perfuzję. Na zdjęciach widoczny zarys mózgu i ognisko wynaczynienia w uchu, do którego podano znacznik. — 8. Zdjęcie w płaszczyźnie horyzontalnej (rzut z góry). — 9. Zdjęcie w płaszczyźnie strzałkowej (rzut z boku).

Figs. 8, 9. Gamma-camera photoprgraph taken 5 h after administrating  $^{75}\text{Se}$ -selenometionine to the auricular vein of the rabbit in which perfusion was performed. The picture shows the outline of the brain and a focus of hemorrhage in the ear into which the labelled compound was injected. — 8. Picture on the horizontal plane (upward projection). — 9. Picture on the arrow plane (sideview projection).

3) trudno przechodzą aminokwasy obdarzone silnym ładunkiem ujemnym (Dingman i Sporn 1959);

4) łatwo przechodzą estry aminokwasów (Dingman i Sporn 1959);

5) bariera na ogół wzrasta z dojrzewaniem zwierzęcia (Lajtha i wsp. 1957);

6) na przepuszczalność dla aminokwasów wpływają leki i hormony (Lajtha 1964).

O roli pogranicza naczyniowego w barierze może świadczyć fakt, że podanie do płynu mózgowo-rdzeniowego znakowanego aminokwasu wzmaga wbudowanie tego aminokwasu do białek mózgu (Gaitonde i Richter 1957, Lajtha i Mella 1961). Jednak nie udało się dotychczas znaleźć morfologicznego obrazu, który uzasadniałby specyfikę barierową naczyń mózgowych. Niektórzy badacze sądzą, że główną rolę spełnia pogranicze glejowo-naczyniowe, uwzględniając, że nóżki glejowe pokrywają u dorosłego zwierzęcia 85% powierzchni kapilar mózgu, a obraz w mikroskopie elektronowym wykazuje duże rozwinięcie powierzchni pod postacią rąbka falującego.

Trudno jest osądzić rolę substancji PAS-dodatnich, które znajdują się w okolicy pogranicza naczyniowego. Można jedynie stwierdzić, że w pracach pochodzących z ostatnich lat, poświęconych barierze dla aminokwasów, nie wspomina się o nich.

Istotny wydaje się fakt znalezienia wokół kapilarnych nóżek glejowych ATP-azy, która, jak obecnie przypuszcza się, bierze udział w aktywnym transporcie. Dodatkowym argumentem, przemawiającym za barierowym znaczeniem gleju okołonaczyniowego, może być fakt korelacji w czasie pojawiania się glejowych nóżek okołonaczyniowych i bariery krew-mózg. Wreszcie istnieje ogólnie biologiczny pogląd, że komórki glejowe „opiekują się” komórkami nerwowymi. Z biologicznego punktu widzenia nie można mówić o lokalnej homeostazie narządu, dlatego wydaje się, że omijając łożysko naczyniowe wyklucza się filtrację przez tak istotne narządy jak wątroba i nerka, co nie jest bez wpływu na utylizację w mózgu podawanego aminokwasu.

W niniejszym doświadczeniu obserwowano, że po podaniu podpotylicznym znacznika, w pierwszych dwóch godzinach następowało zaburzenie pul wolnych aminokwasów dla poszczególnych okolic układu nerwowego. Z mechanicznego punktu widzenia można by sądzić, że jest to czas potrzebny do wymieszania, a następnie odpompowania nadmiaru aminokwasu. Na efekt barierowy mózgu wpływa jednak także sama tkanka nerwowa. Istnieje w niej tzw. aktywny transport, o czym może świadczyć fakt wytworzenia gradientu stężenia aminokwasów przy inkubacji *in vitro*, oraz to, że do utrzymania gradientu konieczny jest materiał energetyczny (Edström 1964, Smith 1967). Utrzymanie stałego

poziomu aminokwasów w układzie nerwowym jest o tyle istotne, że same aminokwasy oraz ich metabolity takie jak aminy wywierają wpływ na czynność neuronów (Demjanowich i wsp. 1960).

Ford i wsp. (1965) podawali szczurom D-l-lizyny  $^3\text{H}$ , a następnie izolowali neurony, w których określali aktywność w przeliczeniu na masę komórki. Wykazali oni, że bariera dla neuronów jest bardzo niska. Na tej podstawie sądzą, że efekt barierowy jest spowodowany tym, że aminokwasy w niewielkim stopniu wbudowują się do elementów glejowych. Edström (1964), omawiając przestrzeń pozakomórkową w ośrodkowym układzie nerwowym, pisze: „Tkankę O.U.N. można uważać za splot wypustek komórkowych, między którymi znajdują się ciała komórkowe”.

Badania w mikroskopie elektronowym wykazały szczelinowate przestrzenie o przekroju 150—200 Å. Jeśli przeliczyć te dane na objętość przestrzeni pozakomórkowej, to wynosiłaby ona 5—7% objętości mózgu (Edström 1964). Jednak badania ze znacznikami przestrzeni pozakomórkowej wykazały, że pod względem czynnościowym wynosi ona około 15% objętości mózgu (Edström 1964).

Z obserwacji morfologicznych mózgow z obrzękiem wiadomo, że do rozsunięcia elementów strukturalnych dochodzi jedynie w istocie białej. Można na tej podstawie sądzić, że w istocie białej dochodzi do gromadzenia płynu obrzękowego w przestrzeni pozakomórkowej. Luse (1961 cyt. wg Edström 1964) wspomina, że wąskie przestrzenie pozakomórkowe z długimi włóknami kolagenowymi występują jedynie w istocie białej. W świetle powyższych poglądów wydaje się, że występowanie większej puli wolnych aminokwasów w okolicach z przewagą istoty białej jest spowodowane występowaniem stosunkowo dużej przestrzeni pozakomórkowej w istocie białej. Jak już wspomniano, na pulę wolnych aminokwasów wpływa synteza białek. Chcąc przeliczyć uzyskaną w niniejszym doświadczeniu względną pulę wolnych aminokwasów na rzeczywistą pulę aminokwasów ( $^{75}\text{Se}$ -selenometioniny), należy wprowadzić współczynnik stężenia izotopowego białek (np. imp/mg. azotu). Oznaczając ten współczynnik przez  $Y$  i mając dane:

$$x = \frac{a}{c} = \frac{a}{a + b}$$

można ułożyć układ równań:

$$x = \frac{a}{a + b} \quad (1)$$

$$z \text{ (1) i (2)} \quad y = b \quad (2)$$

$$x = \frac{a}{a + y} \quad (3)$$

przekształcając (3)

$$a = \frac{xy}{1-x} \quad (4)$$

podstawiając wartość  $x$  z rozkładu na składowe:

$$x = A_1 C^{-k_1 t} + A_2 C^{-k_2 t} \quad (5)$$

podstawiając (5) w (4)

$$a = \frac{y_t (A_1 C^{-k_1 t} + A_2 C^{-k_2 t})}{1 - (A_1 C^{-k_1 t} + A_2 C^{-k_2 t})}$$

gdzie  $y_t$  jest aktywnością białek (imp/mg) w danym punkcie czasowym  $t_i$ .

#### WNIOSKI

1. Ustalono optymalny układ doświadczalny.
2. Ilość nie związanej  $^{75}\text{Se}$ -selenometioniny w ośrodkowym układzie nerwowym stale maleje od 10. minuty do 72. godziny od podania znacznika.
3. Przy podawaniu  $^{75}\text{Se}$ -selenometioniny do żyły usznej, począwszy od 40. minuty od chwili podania znacznika następuje charakterystyczne dla poszczególnych okolic układu nerwowego zróżnicowanie stosunku nie związanej formy aminokwasu do wbudowanej w białka. Ilorazy, wyrażające ten stosunek, układały się w następującej wzrastającej kolejności: czoło < mózdzek < wzgórze < pień < rdzeń.
4. U badanych zwierząt stosunek nie związanej do wbudowanej w białka  $^{75}\text{Se}$ -selenometioniny był niższy w nerce i wątrobie niż w ośrodkowym układzie nerwowym.
5. Za pomocą interpretacji kinetycznej udało się wyznaczyć dwie składowe o okresach  $T_{1/2}$ : 15—23 min i 36—46 godzin, wyznaczających szybkość przechodzenia aminokwasów nie związanych w formy związane z białkami.
6. Podając  $^{75}\text{Se}$ -selenometioninę można uzyskać obraz mózgu za pomocą pomiarów zewnętrznych.

В. Ливнич

#### КИНЕТИКА АМИНОКИСЛОТ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ, ИССЛЕДОВАННАЯ ПРИ ПОМОЩИ $^{75}\text{Se}$ -СЕЛЕНМЕТИОНИНА

#### Содержание

В исследованиях кинетики пространства аминокислот в мозгу использовали  $^{75}\text{Se}$ -селенметионин, являющийся меченой гамма эмитором аминокислотой. Для опыта использовали 53 кролика, вводя  $10 \mu\text{C}/\text{кг}$ .  $^{75}\text{Se}$ -селенметионина 48 живот-

ным в ушную вену и 5 животным — в мозжечково-спинномозговую цистерну. Непосредственно перед взятием материала производилась перфузия изотоническим раствором сахарозы. Кролики умерщвлялись через 10 минут, 20, 40 мин., час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 и 72 часа от момента введения меченой субстанции. Анализировали спинной мозг, мозговой ствол, таламус, мозжечок, лобные доли мозга, а также фрагменты почки и печени. Проведенный биохимический анализ позволил на сравнение активности функции белков растворимых в 10% ТСА и очищенных белков. Измерение радиоактивности проводилось при помощи отечественной аппаратуры, установленной на 10 тыс. исчислений. Соотношение активности свободных аминокислот и инкорпорированных в белки аминокислот подвергалось дифференциации начиная от 40 минут после введения меченого вещества и принимало следующий нисходящий ряд: спинной мозг ствол таламус мозжечок лобные доли мозга.

Это соотношение было ниже в почке и в печени, чем в центральной нервной системе. При помощи кинетической интерпретации удалось определить две составные с периодами  $T_{1/2}$  15—23 мин. и 36—46 часов.

Произведенные снимки гамма-камерой позволили получить очертание мозга.

B. H. Liwnicz

#### KINETICS OF AMINO ACIDS IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM STUDIED WITH THE USE OF <sup>75</sup>SE-SELENOMETHIONINE

##### Summary

Kinetic investigation of the compartments of amino acids in the brain were conducted with the use of <sup>75</sup>Se-selenomethionine labelled with a gamma emitter. The experiments were done with 53 rabbits, 10  $\mu$ Ci/kg of <sup>75</sup>Se-selenomethionine was injected into the auricular vein, and into the cerebello-medullary cistern of 48 animals. Immediately before drawing the substance, perfusion was performed with isotonic saccharose. The rabbits were killed after 10 min, 20 min, 40 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 12 h, and 72 h from the moment of administering the labelled compound. The spinal medulla, cerebral trunk, thalamus, cerebellum, frontal regions, and segments of the kidney and liver were drawn.

The performed biochemical procedure provided for the comparison of activity of the dissoluble function in 10% TCA and purified protein. Measurements of radioactivity were conducted with home produced units adjusted for 10,000 multiple tube counts.

The proportion of activity of free amino acids to the integrated proteins yield differentiation starting with the 40th min after administering the labelled compound, and formed the decreasing circuit as follows:

Spinal medulla cerebral trunk thalamus cerebellum frontal region. The quotients were lower in the kidney than in the cerebral regions of the CNS. The kinetic interpretation permitted to compute a fast component  $T_{1/2}$  15—23 min, and a slow component  $T_{1/2}$  36—45 h. The gamma-camera photograph displays a picture of the brain.

##### PIŚMIENNICTWO

1. Albert S. N., Albert C. A., Hirsch E. F., Brechr I. N., Numerof P.: Selenate as the substitute or sulfate in the measurement of extracellular fluid volumen. J. Nuc. Med., 1966, 7, 290.

2. Altman J.: Regional utilization of leucins  $^3\text{H}$  by normal rat brain: microdensitometric evaluation of autoradiograms. *J. Histochem. Cytochem.*, 1963, 11, 741—750.
3. Altman J.: Differences in the utilization of tritiated leucine by single neurones in normal and exercised rats: an autoradiographic investigation with microdensitometry. *Nature*, 1963, 199, 777—780.
4. Anker H. S.: The biosynthesis of plasma proteins. „The Plasma Proteins”. Putnam F. W. Acad. Press, 1960, 2.
5. Awwad H. K., Potchen E. J.:  $^{75}\text{Se}$  methionine incorporation into fibrinogen. *J. Nucl. Med.*, 1965, 6, 369.
6. Belik Ya. W., Tiuleniew W. I.: Metabolicskaja geterogennost bielkow tkani gołownego mozga. *Problemy Nejrochimii. Ind. „Nauka”*, 1966, 8—27.
7. Beierwaltes W. H.: Symposium of radioisotopes attempts at visualisation of the parathyroid and pancreas by photoscanning. *Northw. Med. (Seattle)*, 1964, 63, 771—776.
8. Berl S., Lajtha A., Wachs H.: Amino acid and protein metabolism. VI Cerebral compartments of glutamic acid metabolism. *J. Neurochem.*, 1961, 7, 186—197.
9. Bexter C. F.: Cerebral metabolism of some amino acids *in vivo*. *Fed. Proc.*, 1963, 22, 301.
10. Biagini C., Collela A. C., Pigorini F.: Sulla rappresentazione del pancreas mediante scintigrafia. Nota preventiva. *Nunt. Radiol.*, 1963, 29, 935—939.
11. Brierley J. B.: The blood-brain barrier structural aspects. „Metabolism of the Nervous System”. ed. Richer D. — Pergamon Press, 1957, 121—135.
12. Cavalieri R. R., Scott K. C., Sairenji E.: Selenita ( $^{75}\text{Se}$ ) as a tumor — localizing agent in man. *J. Nucl. Med.*, 1966, 7, 197—208.
13. Celander D. R., Celander E.: Utilization of inorganic radioselenium for biosynthetic labeling of „tracer” proteins. *Texas Reports Biol. Med.*, 1965, 23, 589—599.
14. Celander D. R., Jaque jr. M., Naschke M. O.: Biosynthetic labeling of fibrinogen and other proteins with radioselenium. *Ped. Proc.*, 1962, 21, 65.
15. Claycomb C. K., Gaterwood D.C., Sorenson F. M., Jump E. B.: Uresence of  $^{75}\text{Se}$  in rat saliva after intracardiac injection of radioactive sodium selenite. *J. Dent. Ras.*, 1960, 39, 1264.
16. Cohen G. N., Cowie D. B.: Remplacement total de la méthionine par la sélénométhionine dans les protéines d’*Escherichia coli*. *C.r. Acad. Sci.*, 1957, 244, 680—683.
17. Cohn P., Gaitonde M. K., Richer D.: The localization of protein formation in the rat brain. *J. Physiol. (London)* 1954, 126, 7P.
18. McConnell K. P., Dallam R. D.: Time-distribution examination of the *in vivo* incorporation of selenium into cytochrom C of the rat and turnover. *Nature*, 1962, 193, 746—748.
19. McConnell K. P., Kreamer A. E.: Incorporation of selenium — 75 into dog hair. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 1960, 105, 170—173.
20. McConnell K. P., Roth D. M., Dallam R. D.: Partition of selenium — 75 in the intracellular particulate matter of rat liver. *Nature*, 1959, 183, 183—184.
21. Coray K. R., Rotschild E. O., Weber D. A., Laird Myers W. P.: Tissue distribution and retention of selenium — 75 labeled selenomethionine in man. *J. Nucl. Med.* 1966, 7, 338.



22. Cremer J. E.: Amino acid metabolism in rat brain studied with  $^{14}\text{C}$  — labelled glucose. *J. Neurochem.*, 1964, 11, 165—185.
23. Defalco A. J., Davies R. K.: The synthesis of creatine by the brain of the intact rat. *J. Neurochem.*, 1961, 7, 308—312.
24. Demjanowich S., Feher D., Halasz P., Mechler F.: The effect of alfa-amino acids on ganglionic transmission. *Acta physiol. Acad. scient. hung.*, 1960, 18, 57—63.
25. Dingman W., Sporn M. B.: The penetration of proline and proline derivatives into the brain. *J. Neurochem.*, 1959, 4, 148—153.
26. Droz B.: Fate of newly synthesized proteins in neurons. „The Use of Radioautography in Investigating Protein Synthesis”, ed. Leblond C. P., Warron K. B.: Symposia of the International Society for Cell Biology. Academic Press 1965, 4, 159—175.
27. Droz B., Leblond C. P.: Axonal migration of proteins in the central nervous system and peripheral nervous as shown by radioautography. *J. Comp. Neurol.*, 1963, 121, 325—346.
28. Edström R.: Recent development of the blood — brain barrier concept. *International Review of Neurobiology*, 1964, 7, 153—190.
29. Filczagin N. M.: Wlijanije metionina na raspredelenie  $^{75}\text{Se}$  po organam i na wydiielenije jowo z moczoj u krysz zdorowych i z sarkomoj 45. *Patol. fizjol. eksperim. terapia*, 1960, 4, 46—49.
30. Fischer J., Koloušek J., Lodin Z.: Incorporation of methionine (Sulphur — 35) into the central nervous system. *Nature*, 1956, 178, 1122—1123.
31. Flexner J. B., Flexner L. B., Stellar E., de la Haba G., Roberts R. B.: Inhibition of protein synthesis in brain and learning and memory following puromycin. *J. Neurochem.*, 1962, 9, 595—605.
32. Folbergrova J.: Incorporation of labelled amino acids into the proteins of brain cortex slices *in vitro* in the presence of other non-radioactive amino acids. *J. Neurochem.*, 1966, 13, 553—562.
33. Ford D. H., Hirschman A.: The localization of  $^{35}\text{S}$ -labelled l-cysteine in the cellular fractions. *Anat. Record*, 1958, 130, 302.
34. Ford D. H., Rhines R., Harstein M., Rhodes A.: The uptake of DL-lysine- $\text{H}^3$  into the nervous system as compared with other tissues in euthyroid and dysthyroidal male rats. *Acta Neurol. Scandinav.* 1965, 41, 215—232.
35. Gaitonde M. K., Richter D.: The metabolic activity of the proteins of the brain. *Procs. Roy. Soc.*, 1956, 145, 83—99.
36. Gaitonde M. K., Richter D.: The metabolism of  $^{35}\text{S}$ -methionine in the brain. „Metabolism of the Nervous System”, ed. Richter D., Pergamon Press, 1957, 449—455.
37. Giulio di W.: Uptake of amino acid analogues by the parathyroid gland. *J. Nucl. Med.*, 1965, 6, 356.
38. Giulio di W., Beierwaltes W. H.: Parathyroid scanning with  $^{75}\text{Se}$  — labelled methionine. *J. Nucl. Med.*, 1964, 5, 417—427.
39. Giulio di W., Morales J.: An evaluation of parathyroid scanning using selenium 75 — methionine. *J. Nucl. Med.*, 1966, 7, 380.
40. Goidsenhoven van G. E., Denk A. F., Knight jr. W. A.: Pancreatic metabolism of  $^{75}\text{Se}$  selenomethionine. *J. Lab. Clin. Med.*, 1964, 64, 1014.
41. Gonzales R., Schwartz R. D., Briggs A. M., Belsky J.:  $^{75}\text{Se}$ -methionine as a diagnostic agent in malignant lymphoma. *J. Nucl. Med.*, 1965, 6, 792—804.
42. Gotowcewa O. P.: Intensywnist obminjunasti amidnich grup glutaminu ta

- bilkiw u mozku pri wwedenni N<sup>15</sup> — gliutaminowej kiołoti. Ukrain. Biochem. Żurnał, 1964, 36, 685—696.
43. Gottschalk A., Ranninger K., Paloyan E., Harper P. V.: Bilateral intra-arterial injection in the thyreocervical trunk. A technique to facilitate localization of parathyroid adenomas with selenium-75-methionine. J. Nucl. Med., 1966, 7, 374.
  44. Hansson E., Blau M.: Incorporation of <sup>75</sup>Se-selenomethionine into pancreatic juice proteins *in vivo*. Biochem. Biophys. Res. Comm. 1963, 18, 71—74.
  45. Hansson E., Jacobsson S. O.: Uptaka of <sup>75</sup>Se-selenomethionine in the tissue of the mouse studied by whole — body autoradiography. Biochim. Biophys. Acta, 1966, 175, 285—293.
  46. Haynie T. P.: Scanning. III Pancreas and kidney scanning. J. Nucl. Med., 1965, 6, 372.
  47. Haynie T. P., Svoboda A. C., Zuidema G. D.: Diagnosis of pancreatic disease by photoscanning. J. Nucl. Med., 1963, 4, 193.
  48. Herrera N. E., Gonzalez R., Schwartz R., Diggs A. M., Belksy J.: <sup>75</sup>methionine as a diagnostic agent in malignant lymphoma: A preliminary communication. J. Nucl. Med., 1965, 6, 355—356.
  49. Imbrasch A., Sternberg J.: Turnover studies and placental transfer of selenium — 75 componente in rats. J. Nucl. Med., 1966, 7, 368.
  50. Jacobsson S. O., Hansson E.: Distribution of selenium in mice studied by whole body autoradiography after injection of Se<sup>75</sup>—sodium selenite. Acta Vet. Scand. 1965, 6, 287—289.
  51. Jacobsson S. O., Oksanen H. E., Hansson E.: Excretion of selenium in the milk of sheep. Acta Vet. Scand. 1965, 6, 299—312.
  52. Johnson T. C., Luttses M. W.: The effects of maturation on *in vitro* protein synthesis by mouse brain cells. J. Neurochem., 1966, 13, 545—552.
  53. Klee C. B., Cason J., Sokoloff L.: Amino acid incorporation into protein in mature and immature rat brain. Ped. Proc., 1963, 22, 580.
  54. Lajtha A.: The development of the blood — brain „barrier”. J. Neurochem., 1957, 1, 216—227.
  55. Lajtha A.: Protein metabolism of the nervous system. Inter. Rev. Neurobiol., 1964a, 6, 1—98.
  56. Lajtha A.: Alteration and pathology of cerebral protein metabolism. Inter. Rev. Neurobiol., 1964b, 7, 1—40.
  57. Lajtha A.: Dynamics of protein metabolism in the nervous system. „Protides of Biological Fluids” 1965, Elsevier Publ. Comp. Amsterdam 1966, 237—246.
  58. Lajtha A., Furst S., Gevstein A., Waelsch H.: Amino acid and protein metabolism of the brain. I Turnover of free and protein bound lysine in brain and other organs. J. Neurochem., 1957, 1, 289—300.
  59. Lajtha A., Mella P.: The brain barrier system I. The exchange of free amino acids between plasma and brain. J. Neurochem., 1961, 7, 210—217.
  60. Lajtha A., Toth J.: The brain barrier system. III The exflux of intracerebrally administered amino acids from the brain. J. Neurochem., 1962, 9, 199—212.
  61. Lajtha A., Toth J.: Instability of cerebral proteins. Biochem. Biophys. Res. Comm., 1966, 23, 294—298.
  62. Lam K. W., Olson R. E.: A biosynthesized organic selenium with biological activity. Fed. Proc., 1964, 23, 183.

63. Liwnicz B. H.: Encefalopatia aluminowa u królika badana <sup>75</sup>Se-selenometioniną. *Neuropat. Pol.*, 1967, 5, 191—197.
64. Lodin Z., Koloušek A.: A histoautoradiographic study of the effect of section of facial nerve on the uptake of methionine — <sup>35</sup>S by the cells of the facial nerve nucleus. *Nature*, 1958, 181, 341—342.
65. Masłowa M. N., Afanasiewa G. S., Bałaszowa E. K., Rozengrat W. I.: Wlijanije sudarog na obmen bełkow w razlicznych otdełach gołownego mozga. *Problemy Nejrochimi*, Izd. „Nauka”, 1966, 40—45.
66. Mautner H. G., Günther W. H.: Studies of selenium compounds related to precursors of coenzyme A. *Fed. Procee* 1962, 21, 240.
67. Mase K., Takahashi Y., Ogata K.: The incorporation of (<sup>14</sup>C) glicyne into the protein of guinea pig brain cortex slices. *J. Neurochem.*, 1962, 9, 281—288.
68. Meister A.: *Biochemistry of the amino acids*. Academic Press, 1965, 1.
69. Mende T. J., Viamonte L. M.: A study of total body protein turnover in rats of different ages. *Gerontologia (Basel)* 1965, 11, 208—213.
70. Merei F. T., Gallyas F.: Quantitative determination of (<sup>35</sup>S) methionine incorporated into proteins of cell groups of nuclei of the CNS. *Neurochem.*, 1964, 11, 251—257.
71. Merei F. T., Gallays F.: Quantitative determination of the uptake of (<sup>35</sup>S) methionine in different regions of the normal rat brain. *J. Neurochem.* 1964, 11, 257—265.
72. Metzger H. P., Cuenod M., Grynbaum A., Waelsch H.: The effect of unilateral visual stimulation on synthesis of cortical proteins in each hemisphere of the split — brain monkey. *J. Neurochem.*, 1967, 14, 183—187.
73. Miale Jr. A., Penger H. O.: Pancreas visualization with the scintillation camera. *J. Nucl. Med.*, 1966, 7, 372.
74. Miani N., Rizzoli A., Bucciante G.: Metabolic and chemical changes in regenerating neurons. II *In vitro* rats of incorporation of amino acids into proteins of the nerve cell perikaryon of C 8 spinal ganglion of rabbit. *J. Neurochem.*, 1961, 7, 161—173.
75. Mokrash L. C.: Incorporation of (<sup>14</sup>C) amino acids into the proteolipid of subcellular preparations of rat brain *in vitro*. *J. Neurochem.*, 1966, 13, 49—58.
76. Mudd S. H., Cantoni G. L.: Selenomethionine in enzymatic transmethyations. *Nature*, 1957, 180, 1054.
77. Nachayeva S. A., Sadikova N. V., Skvortsvich V. A.: The rate of incorporation of amino acids into cerebral proteins during various functional states. „Problems of the Biochemistry of the Nervous System”, ed. Palladin A. V. Pergamon Press, 1964, 17—25.
78. Natori Y., Pan F., Tarver H.: Metabolism of selenomethionine in rat liver. *Fed. Proc.*, 1964, 23, 421.
79. Nelp W. B., Blumberg F.: A comparison of selenate and sulfate ions in man and dog. *J. Nucl. Med.*, 1965, 6, 822—830.
80. Oehlert W., Schultze B., Maurer W.: Autoradiographische Untersuchung der Grosse des Eiweisstoffwechsels der verschiedenem Zellen des Zentralnervensystems. *Beitr. path. Anat.*, 1958, 119, 343—376.
81. Palladin A. V.: Bełki nierwnej sistemy ich obmen i rol w nerwnej diejatei-nosti. „Problemy nejrochimi” Uzd. „Nauka” 1966.
82. Palladin A. V., Belik Ya. U., Polyahova N. M., Silich T. P.: Proteins of the nervous system. „Problems of Biochemistry of the Nervous System”, ed. Palladin A. V. Pergamon Press, 1964, 3—17.

83. Pan F., Natori Y., Tarver H.: Studies on selenium compounds. II Metabolism of selenomethionine and selenoethionine in rats. *Biochim. Biophys. Acta*, 1964, 93, 521—525.
84. Panczenko L. F.: Wkluczenie  $S^{35}$  metionina w białki centralnej nerwnej systemy i pečeni żywotnych razlicznego wzrosta. *Ucz. zap. 2-ij Mosk. meg. in-t* 1957, 6, 41—48.
85. Piha R. S., Uusitalo A. J.: Incorporation of  $^{14}C$  — labelled amino acids into proteins of organs, tissues and body fluids in foetal and newborn rats. *Ann. Med. Int. Fenn.*, 1964, 53, 167—178.
86. Pogodayew K. I.: K biochemiczskim osnovam utomlenija i istoszczenija centralnoj nerwnoj systemy. „Problemy Neirochimi” *Izd. „Nauka”*, 1966, 34—39.
87. Pogodayew K. I., Makedova A. Y.: Protein turnover and tissue respiration in different parts of the brain during and after drug — induced sleep. „Problems of Biochemistry of the Nervous System”, ed. Palladin A. V. Pergamon Press, 1964.
88. Powell M. R., Miale J. A., Ponger H. O.: Pancreas visualization with scintillation camera. *J. Nucl. Med.*, 1966, 7, 372.
89. Reiner J. M.: The study of metabolic turnover rates by means of isotopic tracers. I Fundamental relations. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1953, 46, 53—79.
90. Reiner J. M.: The study of metabolic turnover rates by means of isotopic tracers. II Turnover in a simple reaction system. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1953, 46, 80—99.
91. Rodríguez-Antúez A.: Pancreatic scanning utilizing  $^{75}Se$  — selenium — methionine and morphine. *J. Nucl. Med.*, 1965, 6, 3.
92. Rosenfeld J.: Effect of selenium on methionine formation *in vivo* and *in vitro*. *Fed. Proc.*, 1960, 19, 4.
93. Rosenfeld J., Beath O. A.: Selenium. Geobotany, biochemistry, toxicity and nutrition. Academic Press. New York, London 1964.
94. Schwarz K., Sweeney E.: Selenite binding to suflar amino acids. *Fed. Proc.*, 1964, 23, 421.
95. Singh S. J., Malhotra C. L.: Amino acid content of monkey brain. II Quantitative values of cystine, lalanine, serine and glycine. *J. Neurochem.*, 1962, 9, 585—588.
96. Smith S. E.: Kinetics of neural amino acid transport in rat brain *in vitro*. *J. Neurochem.*, 1967, 14, 291—300.
97. Sodee D. B.: Progress in medical radioisotope scanning pacreatography. *J. Nucl. Med.*, 1965, 6, 356—357.
98. Sporn M. B., Dingman W., Defalco A.: A method for studying metabolic pathways in the brain of intact animal. The conversion of proline to other amino acids. *J. Neurochem.*, 1959, 4, 141—147.
99. Śmiałek M.: Topografia ilościowa aluminium u królika z fibrylarnym zwyrodnieniem neuronów w doświadczałnej encefalopatii aluminiumowej. *Neuropat. Pol.*, 1967, 5, 159.
100. Talwar G. P., Chorpa S. P., Goel S. K., D'Monte B.: Correlation of the functional activity of the brain with metabolic parametere. III. Protein metabolism of the occipital cortex in relation to light stimulus. *J. Neurochem.*, 1966, 13, 109—116.
101. Taussky H. H., Washington A., Zubillaga E., Milhorat A. T.: Distribution of selenium in the tissues of the eye. *Nature*, 1966, 949—950.

102. Tołwiński J.: Kinetyka metabolizmu wapnia. Zastosowanie radioaktywnego wapnia-47 do badań nad przemianą mineralną w nowotworach kości. Red. J. Jasiński W., PZWL, 1966.
103. Waelsch H.: Metabolism of proteins and amino acids. Metabolism of the nervous system, ed. Richer D., Pergamon press, 1957.
104. Wiśniewska K., Thomas E.: Histochemisch Untersuchungen experimenteller Aluminium — Encephalopathie mit Neurofibrillaren Degeneration der Nervenzellen beim Kaninchen. Acta Neuropath., 1967, 8.
105. Wiśniewski H., Karczewski W., Wiśniewska K.: Neurofibrillary degeneration of nerve cells after intracerebral injection of aluminium cream. Acta Neuropath., 1966, 6, 211—219.
106. Wiśniewski H., Narkiewicz O., Wiśniewska K.: Topography and dynamic of neurofibrillary degeneration in rabbits after injection of aluminium phosphate suboccipitaly, intracerebraly and into the spinal cord. Acta Neuropath., 1967, 9, 129—133.

Adres autora: Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, Warszawa, ul. Pasteura 3.

JAN JONEK, JANUSZ KONECKI

BADANIA HISTOCHEMICZNE NAD WPŁYWEM ARECHINY  
NA KOMÓRKI RUCHOWE ROGÓW PRZEDNICH RDZENIA  
KRĘGOWEGO U SZCZURÓW

Z Katedry i Zakładu Histologii i Embriologii Śląskiej Akademii Medycznej  
Kierownik: doc. dr med. J. Jonek

Arechina jest pochodną chinololiny od szeregu lat szeroko stosowaną w leczeniu niektórych chorób gośćcowych. Mechanizm działania arechiny nie jest dokładnie poznany. Większość badaczy sugeruje jej bezpośredni wpływ na aktywność szeregu układów enzymatycznych (Erlinger 1965, Greilling 1962, Hopkinson 1964, Lecomte 1955). Scherbel i wsp. (1922) i Wright (1948) stwierdzili hamujące działanie arechiny na cholinesterazy. Na tej podstawie przypuszczają, że może ona wywołać zaburzenia w przewodzeniu impulsów nerwowych. Obserwacje te skłoniły nas do prześledzenia wpływu arechiny na niektóre enzymy w neuronach ruchowych rdzenia kręgowego.

MATERIAŁ I METODA

Do badań użyto 30 szczurów szczepu Wistar obojga płci, wagi 160 do 230 g. Zwierzęta podzielono na trzy grupy po 10 sztuk każda. Pierwszej grupie podawano przez 4 tygodnie codziennie dawkę 3 mg arechiny na kg wagi ciała w stałej objętości 0,1 ml na 100 g wagi. Grupie drugiej w tych samych warunkach dawkę 30 mg arechiny, a grupę trzecią stanowiły zwierzęta kontrolne, które otrzymywały roztwór fizjologiczny w objętości 0,1 ml/100 g wagi.

Po czterech tygodniach zwierzęta zabijano przez dekapitację. Część rdzeni kręgowych utrwalono w zimnym płynie wg Bakera przez 12 godzin. Drugą część skrawano w urządzeniu kriostatowym na skrawki grubości około 10  $\mu$ . Na skrawkach kriostatowych wykrywano glikozo-6-fosfatazę (G-6-F) metodą Wachstein-Meisel wg Pearse (1960). Materiał po utrwaleniu cięto na mikrotomie mrozeniowym na skrawki grubości około 15  $\mu$ , w których wykrywano fosfatazę kwaśną (FK) metodą Gomoriego wg Pearse (1960), dezoksyrybonukleazę (DNA-azę II) metodą Aronsona (1958) i tiaminową pyrofosfatazę (TPP-azę) metodą Novikoffa i Goldfischera (1961).

## WYNIKI

*Fosfataza kwaśna (FK)*

Grupa kontrolna. W neuronach ruchowych rogów przednich rdzenia odczyn na FK jest bardzo silny i ma charakter drobnoziarnisto-dyfuzyjny. Jest on zlokalizowany w cytoplazmie komórek nerwowych oraz w dużych odcinkach wypustek nerwowych (ryc. 1). Jądra i jąderka nie wykazują dodatniej reakcji.

Grupa doświadczalna. Po podaniu 3 mg arechiny charakter i nasilenie reakcji ulega zasadniczym zmianom. Odczyn staje się słabszy, gruboziarnisty, zlokalizowany głównie w obrębie ciała komórki nerwowej i tylko w początkowych odcinkach wypustek. Jądra i jąderka, podobnie jak w grupie kontrolnej, reagują ujemnie (ryc. 2).

Po dawce 30 mg arechiny odczyn na FK ulega ponownie nasileniu, ma charakter drobnoziarnisto-dyfuzyjny i zlokalizowany jest w ciele komórki oraz w dużych odcinkach wypustek nerwowych (ryc. 3).

*Dezoksyrybonukleaza II (DNA-aza II)*

Grupa kontrolna. Dodatni odczyn na DNA-azę II występuje w komórkach ruchowych rdzenia pod postacią ziarnistości, zlokalizowanych głównie na terenie jądra komórkowego (ryc. 4). W cytoplazmie występuje słaby odczyn pod postacią pojedynczych ziarenek, zlokalizowanych wyłącznie na terenie ciała komórki bez wypustek nerwowych.

Grupa doświadczalna. Pod wpływem 3 i 30 mg arechiny charakter, nasilenie i rozmieszczenie reakcji ulega zmianie. Odczyn staje się silniejszy, ma charakter drobnoziarnisto-dyfuzyjny, a jego szczególne nasilenie obserwuje się na terenie cytoplazmy (ryc. 5). W obrębie wypustek nerwowych odczyn jest negatywny.

*Tiaminowa pyrofosfataza (TPP-aza)*

Grupa kontrolna. Dodatni odczyn na TPP-azę wykazano w neuroplazmie komórek ruchowych z wyjątkiem wypustek nerwowych pod postacią różnej wielkości i kształtu ziaren, tworów blaszkowatych lub nitkowatych, często pofałdowanych i skręconych. Twory powyższe zlokalizowane są głównie w perikarionie. Obszar karioplazmy pozbawiony jest dodatniej reakcji na TPP-azę (ryc. 6).

Grupa doświadczalna. Po 3 i 30 mg arechiny następuje wyraźny wzrost nasilenia odczynu na TPP-azę. Na terenie neuroplazmy ciała komórki nerwowej występuje odczyn dyfuzyjny, a na jego tle widoczne są silnie wysyczone twory blaszkowate, nitkowate i ziarniste z dodatnią reakcją na TPP-azę (ryc. 7).

*Glikozo-6-fosfataza (G-6-F)*

Grupa kontrolna. Dodatni odczyn na G-6-F występuje w neuropilzie komórek ruchowych rdzenia pod postacią drobnych ziarnistości rozmieszczonych w całej cytoplazmie łącznie z początkowymi odcinkami wypustek nerwowych. Skupienie nieco większych i silniej zabarwionych ziarnistości obserwuje się w perikarionie (ryc. 8). Na terenie jądra i jąderka odczyn jest negatywny.

Grupa doświadczalna. Po podaniu arechiny ilość ziaren z dodatnią reakcją na G-6-F wzrasta (ryc. 9). Szczególnie w perikariozie obserwuje się duże silnie zabarwione ziarnistości (ryc. 10). Nieco większą ilość dodatnio reagujących tworów ziarnistych obserwuje się również na terenie wypustek nerwowych.

*Adenozynotrójfosfataza (ATP-aza)*

Grupa kontrolna i doświadczalna. W obu tych grupach odczyn na ATP-azę w obrębie komórek ruchowych rogów przednich rdzenia jest negatywny (ryc. 11). Dodatnią reakcję wykazano jedynie w śródbłonkach naczyń krwionośnych.

## DYSKUSJA

Pod wpływem arechiny obserwuje się na ogół nieznaczny spadek nasilenia reakcji na fosfatazę kwaśną. Odczyn z drobnoziarnistego staje się gruboziarnisty, odpowiadając pod względem wielkości cytolizosomom. W obrębie tych dużych lizosomów nasilenie odczynu jest duże. Interpretacja tego zjawiska nie jest łatwa. Jeśli jednak przyjmiemy, że lizosomy są miernikiem toczących się procesów katabolicznych w komórce, można by przyjąć, że arechina wpływa uszkadzająco na motoneurony. Za taką interpretacją przemawia również wzrost nasilenia reakcji na DNA-azę II z odczynem dyfuzyjnym w cytoplazmie komórek. Pojawienie się w cytoplazmie motoneuronów dyfuzyjnego odczynu na DNA-azę II, może świadczyć albo o przechodzeniu tego enzymu przez uszkodzone błony lizosomalne, albo, co wydaje się bardziej prawdopodobne, o wzmożonej jego syntezie na terenie ergastoplazmy. Podobne nasilenie odczynu na TPP-azę obserwowano w strefie Golgiego. Jest to zgodne z licznymi pracami wskazującymi na wzajemne powiązanie funkcjonalne lizosomów i strefy Golgiego (Barron 1956, Becker 1961, Novikoff, Essner 1962, Olkowski, Gubała 1964).

W grupie doświadczalnej po podaniu arechiny stwierdzono wyraźny wzrost aktywności TPP-azy, która lokalizuje się w strukturach strefy Golgiego. Według licznych autorów enzym ten może być miernikiem czynności tej strefy (Allen, Slater 1961, Meek, Bradbury 1963, Novikoff, Essner 1961, Olkowski, Gubała 1964).



Wzrost intensywności reakcji na TPP-azę w grupie doświadczalnej świadczy o wzmożonej czynności strefy Golgiego. Obserwowany pod wpływem arechiny równoczesny rozrost i wzmożona funkcja strefy Golgiego i lizosomów wskazuje na morfologiczne, a przede wszystkim funkcjonalne, powiązanie tych dwóch organelli komórkowych. Równolegle z obserwowanym wzrostem aktywności lizosomów i strefy Golgiego po podaniu arechiny wykazano również wyraźne wzmożenie odczynu a G-6-F w obrębie cytoplazmy. Interpretacja wzrostu odczynu na ten enzym nie jest łatwa. Jeśli przyjąć, że G-6-F jest zlokalizowana w ergastoplazmie i rozczepia glikozo-6-fosforan, należy sądzić, że powstała glikoza, jako substancja energetyczna, może służyć do wzmożonej syntezy białek enzymatycznych na terenie ergastoplazmy, potrzebnych do procesów detoksykacyjnych.

Całokształt zmian histochemicznych powstałych w wyniku działania arechiny wskazuje na wyraźnie uszkadzający wpływ tego związku na neurony ruchowe rdzenia kręgowego. Podobne zmiany obserwowano w toku chromatolizy spowodowanej zarówno czynnikami natury mechanicznej, chemicznej, toksycznej czy infekcyjnej (Bargman 1956, Dojnikow 1935, Dojnikow 1955, Goerttler 1963, Sikdar, Ghohs 1964, Tarmas 1963), jak i fizjologicznej chromatolizy związanej ze stanem funkcjonalnym neuronu.

И. Енек, И. Конецки

ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ АРЕХИНА  
НА ДВИГАТЕЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ПЕРЕДНИХ РОГОВ СПИННОГО МОЗГА  
У КРЫС

Исследовалось влияние длительного введения разных доз арехина на ФК, ДНК-азу II, ТФФ-азу и Г-6-Ф в двигательных нейронах спинного мозга.

Результаты исследований обнаружили пророст зоны Гольди, увеличение лизосомов, увеличение интенсивности ДНА-азы II и увеличение реакции на Г-6-Ф.

В дискуссии авторы предполагают токсическое влияние арехина на мотоневроны.

J. Jonek, J. Konecki

HISTOCHEMICAL STUDIES ON EFFECTS OF AREQUINE ON MOTORIC  
CELLS OF THE ANTERIOR SPINAL CORD HORNS IN RATS

Effects of extensive administration of different doses of arequine on DNA-ase II, TPP-ase, and glucose-6-phosphatase in motoric neurons of the spinal cord were the subject of this study. The findings of these investigations show hypertrophy of the Golgy region, increase in the number of lizosomes, growth of DNA-ase intensity, and increase in glucose-6-phosphatase reaction.

In the discussion the authors suggest toxic effects of arequine on the motoric neurons.

## PIŚMIENNICTWO

1. Allen J. M., Slater J. J.: A cytochemical study of Golgi associated thiamine pyrophosphatase in epididymis of the mouse. *J. Histochem. Cytochem.*, 1961, 4, 418—428.
2. Aronson J., Hempelmann L. H., Okada S.: Preliminary studies on the histological demonstration of desoxyribonuclease II by adaptation of the Gomori acid phosphatase method. *J. Histochem. Cytochem.*, 1958, 4, 255—259.
3. Bargman W.: *Histologie und Mikroskopische Anatomie des Menschen*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1956.
4. Barron K. D., Tuncbay T. O.: Histochemistry of acid phosphatase and thiamine pyrophosphatase during axon reaction. *Amer. J. Path.*, 1962, 40, 637—648.
5. Becker L. N., Novikoff A. B., Goldfischer S.: A cytochemical study of the neuronal Golgi apparatus. *Arch. Neurol.*, 1961, 5, 497—503.
6. Dojnikow B. S.: Morfologiczeskije izmjenienia nierwnoj sistemy pri chimizjeskoj traumie perifericeskowo nierwa formalinom. *Arch. Biol. Nauk*, 1935, 3, 51—86.
7. Dojnikow B. S.: *Izbrannyje trudy po neiromorfologii i neiropatologii*. Moskwa 1955.
8. Erlinger S.: Les phosphatases alcaliennes du serum en cours des maladies du foie. *La Presse Med.*, 1965, 73, 1—16.
9. Goerttler K.: *Lehrbuch der Histologie und der mikroskopische Anatomie des Menschen*. Jena 1963.
10. Greilling H., Dörner G.: Biochemische Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus des Resochins. *Zschr. Rheumaforschung*, 1962, 21, 316—324.
11. Hopkinson L., Jackson F. L.: Effects of chloroquine on growth and metabolism. *Nature (London)*, 1964, 202, 27—29.
12. Lecomte J.: Pouvoir histamino-libérateur de la chloroquine. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 1955, 149, 1639—1695.
13. Meek G. A., Bradbury S.: Localisation of thiamine pyrophosphate activity in the Golgi apparatus of a mollusc *Helix Aspersa*. *J. Cell Biol.*, 1963, 1, 73—85.
14. Novikoff A. B., Essner E., Goldfischer S.: The importance of fixation in cytochemical method for the Golgi apparatus. *J. Histochem. Cytochem.*, 1961, 9, 459—467.
15. Novikoff A. B., Essner E.: Pathological changes in cytoplasmic organelles. *Feder Proc.*, 1962, 6, 1130—1142.
16. Novikoff A. B., Goldfischer S.: Nucleosidediphosphatase activity in the Golgi apparatus and its usefulness for cytological studies. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1961, 47, 802—810.
17. Olkowski Z., Gubała Z.: Cytochemical studies on the functional and morphological interrelation between lysosomes and the Golgi apparatus in epididymis after ligation of blood vessels. *Fol. Biol.*, 1964, 2, 175—180.
18. Pearse A. G. E.: *Histochemistry. Theoretical and applied*. 2nd ed. J. Churchill Ltd, London 1960.
19. Scherbel A. L., Harrison J. W., Atdjian M.: Further observations on the use 4-aminoquinoline compounds in patients with rheumatoid arthritis of related diseases. *Clev. Clin. Quart.*, 1958, 25, 95—111.

20. Sikdar K., Ghosh J. J.: Histological changes in structural constituents of spinal motoneurons after picrotoxin, strychnine and tetanus toxin administrations. *J. Neurochem.*, 1964, 11, 545—548.
21. Tarmas J.: Wpływ dożylnie podawanego octanu ołowiu na zwoje rdzeniowe królików. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 1963, 17, 771—776.
22. Wright C. J., Sabine J. C.: Cholinesterases of human erythrocytes and plasma and their inhibition by antimaterial drugs. *J. Pharm. Exper. Therap.*, 1948, 93, 230—239.

Adres autorów: Śląska Akademia Medyczna, Zabrze, ul. K. Marksa 19.

#### PODPISY POD RYCINY

*Ryc. 1.* Silny odczyn na FK w cytoplazmie i wypustkach motoneuronu. Pow. 400x.

*Fig. 1.* Intensive reaction on acid phosphatase in the cytoplasm and in the axons of the motoric neuron. Magn. x400.

*Ryc. 2.* Negatywny odczyn na FK w jądrach motoneuronów. Pow. 400x.

*Fig. 2.* Negative reaction on acid phosphatase in the nuclei of the motoric neurons. Magn. x400.

*Ryc. 3.* Drobnodziarnisto-dyfuzyjny odczyn na FK w neuronach ruchowych rdzenia. Pow. 400x.

*Fig. 3.* Fine-grained diffusive reaction on acid phosphatase in the motoric neurons of the spinal cord. Magn. x400.

*Ryc. 4.* Ziarnisty odczyn na DNA-azę II zlokalizowany w jądrze i cytoplazmie motoneuronu. Pow. 400x.

*Fig. 4.* Granular reaction on DNA-ase II localized in the nucleus and cytoplasm of the motoric neuron. Magn. x400.

*Ryc. 5.* Motoneuron rdzenia z dyfuzyjno-ziarnistą reakcją na DNA-azę. Pow. 400x.

*Fig. 5.* Motoric neuron with a diffusive-granular reaction on DNA-ase. Magn. x400.

*Ryc. 6.* Reakcja na TPP-azę dodatnia w cytoplazmie, ujemna w jądrze neuronu ruchowego. Pow. 400x.

*Fig. 6.* Reaction on TPP-ase is positive in the cytoplasm, and negative in the nucleus of the motoric neuron. Magn. x400.

*Ryc. 7.* Twory blaszkowate, nitkowate, ziarniste z dodatnim odczynem na TPP-azę w cytoplazmie motoneuronu. Pow. 400x.

*Fig. 7.* Laminated thread-like, granular growth with a positive reaction on TPP-ase in the cytoplasm of the motoric neuron. Magn. x400.

*Ryc. 8.* Ziarnisty odczyn na G-6-F zlokalizowany głównie w perikoronie. Pow. 400x.

*Fig. 8.* Granular reaction on glucose-6-phosphatase localized in the pericorion mainly. Magn. x400.

*Ryc. 9.* Silny odczyn na G-6-F w cytoplazmie motoneuronu. Pow. 400x.

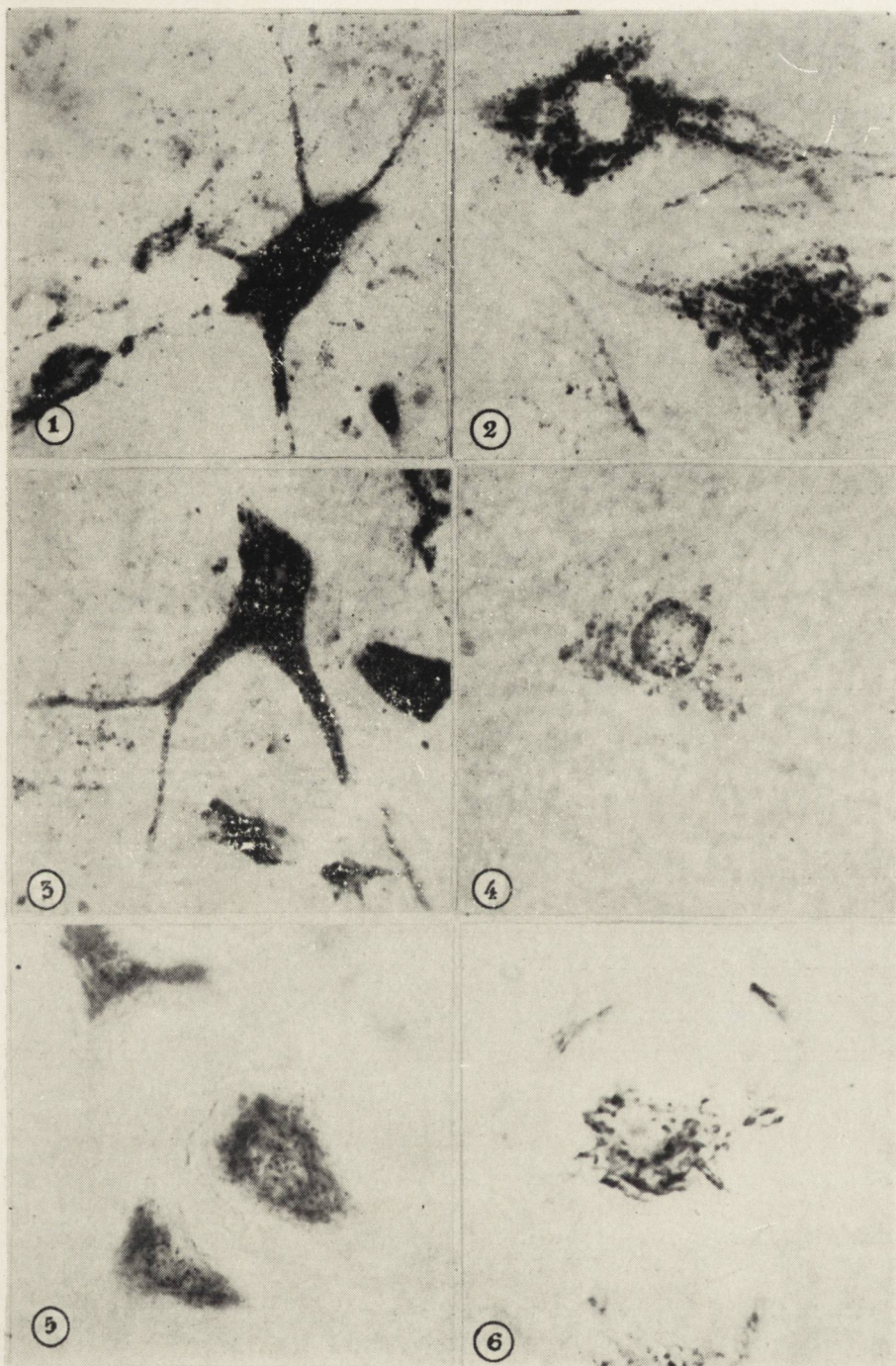
*Fig. 9.* Intensive reaction on glucose-6-phosphatase in the cytoplasm of the motoric neuron. Magn. x400.

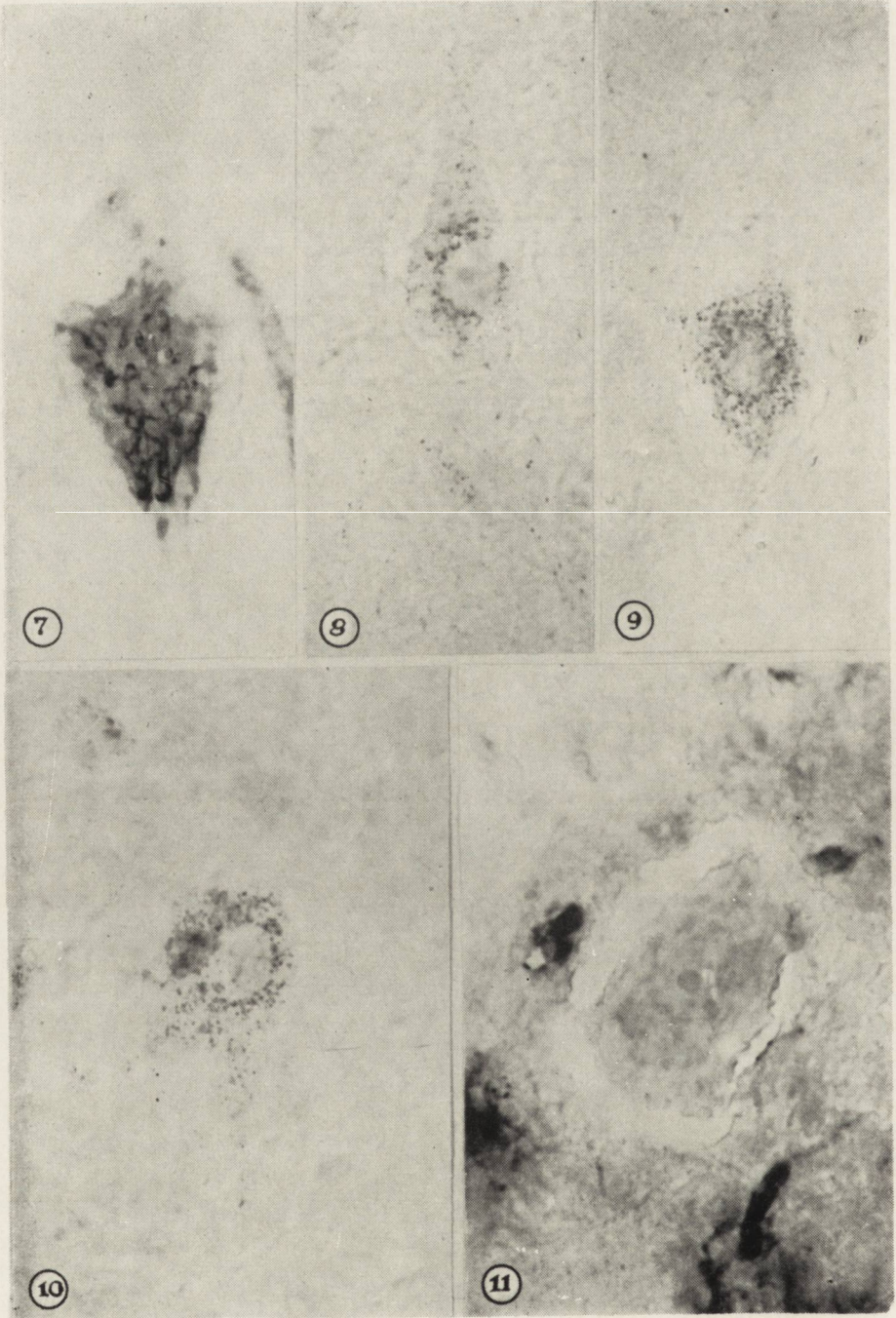
*Ryc. 10.* Grubozziarnista reakcja na G-6-F w perikoronie neuronu ruchowego. Pow. 400x.

*Fig. 10.* Coarse-grained reaction on glucose-6-phosphatase in the pericorion of the motoric neuron. Magn. x400.

*Ryc. 11.* Odczyn na ATP-azę negatywny w motoneuronie, pozytywny w drobnych naczyniach krwionośnych. Pow. 800x.

*Fig. 11.* Reaction on TPP-ase is negative in the motoric neuron, and positive in the fine blood vessels. Magn. x800.





MARIA OSTENDA, WŁADYSŁAW NOWAKOWSKI

ZMIANY LOKALIZACJI NIEKTÓRYCH ENZYMÓW OKSYDORE-  
DUKCYJNYCH I POJAWIANIE SIĘ CIAŁ PAS-DODATNICH  
W MÓZGACH NOWORODKÓW SZCZURZYCH PO NAPROMIENIE-  
NIU PROMIENIAMI GAMMA ( $^{60}\text{Co}$ )

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

Kierownik Zespołu: doc. dr M. Mossakowski

Dyrektor Centrum: prof. dr Z. Ruszczewski

Oddział Rentgenoterapii Instytutu Onkologii w Warszawie

Kierownik: dr med. D. Gajl

Dyrektor Instytutu: prof. dr med. W. Jasiński

Obserwacje tkanki mózgowej szczurów w przebiegu choroby popromiennej wykazały obecność dwojakiego rodzaju zmian: 1) naczyńiowych i naczyńiopochodnych, 2) zaburzeń mielinizacji. Zmiany te nie pozostawały w wyraźnym związku między sobą, a charakter ich i stopień zależny był od wielu czynników, jak np. wiek zwierzęcia, obszar napromieniania (całe ciało — pole ograniczone), wielkość dawki.

Celem obecnej pracy było zbadanie zmian popromiennych w ośrodkowym układzie nerwowym po niskiej dawce promieni gamma, działającej na ustrój młody, w okresie premyelinizacyjnym. Niska dawka promieniowania wydaje się bardziej celowa przy poszukiwaniu tych elementów układu nerwowego, które wykazują większą niż inne wrażliwość na promieniowanie. Wysokie dawki bowiem powodują zniszczenie wszystkich elementów komórkowych w polu działania. Zatraca się przy tym wszelka wybiórczość uszkodzenia i możliwość oceny „progowej” wrażliwości.

MATERIAŁ I METODA

Badania przeprowadzono na noworodkach szczurzych szczepu Wistar, pochodzących od 19 samic. Duże mioty zredukowano do liczby 8. W 4. dniu życia 59 noworodków poddano działaniu promieni gamma. Źródłem promieniowania była bomba kobaltowa  $^{60}\text{Co}$ , „Eldorado A”. Średnia moc dawki 100 r/min. Szczury otrzymywały dawkę 300 r na całe ciało.

Jedenaście noworodków z tych samych miotów, nie napromieniowanych, służyło jako kontrola. Po 21 dniach od napromieniania szczury dekapitowano, bez narkozy. Bloki z mózgów pobierano do badania histopatologicznego i histochemicznego.

Po krótkotrwałym utrwaleniu w acetonie (5 min.) bloczki skrawano na mikrotomie i wykonywano reakcje na dehydrogenazę bursztynową metodą Pearse'a (SDH) i dehydrogenazę mleczanową (LDH) metodą Novikoffa.

Mózgi utrwalane 24 godz. w formalinie Bakera skrawano na mikrotomie zamrożeniowym i badano w nich fosfatazę kwaśną czynną przy pH6 i zasadową, czynną przy pH9 metodą Gomori oraz barwiono ciała tłuszczowe Sudanem czarnym B i czerwienią oleistą. Ciała białkowe wybarwiono metodą FAN (skład substancji barwiącej: fuksyna zasadowa, czerń amidowa, żółcień naftolu).

Mózgi utrwalane w 10% formalinie zatapiano w parafinie i barwiono następującymi metodami: hematoksylina-eozyna, błękit toluidyny, Bodian, Heidenhein-Woelcke.

W mózgach utrwalonych w płynie Gendra badano odczyn PAS, kontrolując diastazą i dimedonem (5,5-dwumetylo-1,3-cykloheksadion).

Liczba mózgów badanych poszczególnymi metodami podana jest w tabeli 1.

Tabela 1.  
Table 1.

Utrwalacz Fixative	Baker	Formol	Aceton	Gendre
Metoda Method	FK, FZ Nonspecific Phosphatases  Sudan Czerwień oleista Oil red FAN	H-E Bł. toluidyny Toluidine blue Bodian Heidenhein- Woelcke	SDH LDH	PAS FAN
Liczba mózgów Number of brains (Kontrola) (Control)	19  (3)	13  (2)	20  (4)	18  (2)

## WYNIKI

**Hematoksylina-Eozyna.** W mózgach zwierząt napromieniowanych stwierdzano ogniska opustoszeń komórkowych nieliczne, o bardzo małych rozmiarach, bez predylekcji lokalizacyjnych. W ich części centralnej można znaleźć niejednokrotnie cień naczynia. Ogniska te są na ogół pozbawione odczynów reparacyjnych (ryc. 1). W warstwie ziarnistej mózdzku napotyka się pojedyncze komórki o pyknotycznych jądrach (ryc. 2).

**Błękit toluidyny.** Układ ziarnistości Nissla w neuronach i ich barwliwość nie odbiega od spotykanych w normie.

**Bodian.** Włókna nerwowe w mózgach zwierząt napromieniowanych mają prawidłową grubość i przebieg, podobnie jak u kontrolnych.

**Heidenhein-Woelcke.** Rozmieszczenie, ilość mieliny oraz intensywność jej zabarwienia w mózgach zwierząt napromieniowanych nie różni się od stosunków występujących u szczurów kontrolnych. Pół demielinizacji nie stwierdzono.

**Enzymy oksydoredukcyjne (SDH, LDH).** Aktywność tych enzymów zlokalizowana jest w normie zarówno w cytoplazmie komórek nerwowych i glejowych, jak i w neuropilu. W mózgach zwierząt napromieniowanych spotyka się niekiedy ogniska wzmożonej aktywności w neuropilu. Czasem otaczają one pola pozbawione aktywności enzymatycznej, w których można prześledzić cień naczynia (ryc. 3).

**Fosfataza kwaśna (FK).** Badano fosfatazę czynną przy pH6, tzn. zlokalizowaną w lizosomach. W badanym materiale stwierdzano niekiedy pola pozbawione aktywności tego enzymu (ryc. 4). W otaczających je komórkach aktywność była wzmożona. Dotyczyło to również sąsiadujących z ogniskiem naczyń krwionośnych, wykazujących zawsze odczyn bardzo żywy.

**Fosfataza zasadowa (FZ).** Nie stwierdzono zmian o istotnym znaczeniu.

**PAS.** W materiale ze zwierząt kontrolnych ziarnistości PAS-dodatnie występują tylko w naczyniach krwionośnych, splocie, oponach. Spotyka się również pojedyncze neurony o różowo-czerwonym zabarwieniu. W mózgach szczurów napromieniowanych odczyn PAS-dodatni pojawia się w dwu postaciach: 1) jednolitego ciemnoróżowego zabarwienia komórek nerwowych i glejowych, występującego, jak się wydaje, przeważnie w sąsiedztwie naczyń (ryc. 5), 2) ciemnoczerwonych drobnych ziarnistości w istocie białej; ziarnistości te układają się w nieduże grupy o nieregularnych zarysach, czasem w sąsiedztwie naczyń, czasem — wzdłuż przebiegu włókien nerwowych lub na pograniczu istoty szarej i białej. Ziarnistości te giną po blokadzie dimedonem.



Metody na tłuszczce i ciała tłuszczowe. (Sudan czarny B, czerwień oleista). Metody te nie wykazały odchyień o istotnym znaczeniu.

F A N. W mózgach zwierząt napromienianych znajdują się ziarnistości zielonkawo zabarwione, leżące pozakomórkowo, najczęściej wzdłuż włókien istoty białej. Odpowiadają one swoją strukturą i położeniem ziarnistościom PAS-dodatnim ginącym po dimedonie.

#### OMÓWIENIE

W mózgach 25-dniowych szczurów, napromienionych w 4. dniu życia dawką 300 r promieni gamma na całe ciało stwierdzono rozsiane ogniska ubytków komórkowych bardzo małe, nieliczne, bez predylekcji lokalizacyjnej, najczęściej związane z naczyniami. Odczyny reparacyjne w nich nie występowały, w sąsiedztwie jednak pojawiały się ziarnistości PAS-dodatnie i pasma wzmożonej aktywności SDH i LDH. W otaczających ogniska komórkach nerwowych i glejowych aktywność FK była wzmożona. Wykryto ponadto obficie występujące w istocie białej ziarnistości PAS-dodatnie, układające się wzdłuż przebiegu pęczków nerwowych, głównie na ich obwodzie, bądź też na pograniczu istoty szarej i białej (ryc. 6). Jedyne zmiany w obrazie morfologicznym komórek nerwowych w formacjach szarych ośrodkowego układu nerwowego była pyknoza jąder pojedynczych komórek warstwy ziarnistej mózdzku. Włókna nerwowe nie wykazywały zmian. Mielinizacja włókien była prawidłowa, zakończona.

Dotychczas prowadzone badania nad pochodzeniem ubytków komórkowych, względnie martwic pojawiających się w tkance mózgu po jej napromienieniu dały niejednolite wyniki.

Działanie promieni X na ograniczone pole układu nerwowego powoduje martwicę, dokładnie pokrywającą się z napromienianym polem. Występuje ona głównie w istocie białej (Scholtz 1962). Badania zmian występujących po cząsteczkach alfa wykazały występowanie w pasmie ich działania martwicy neuronów, poprzedzającej w czasie pojawienie się zmian naczyniowych (Zeman 1962).

Inny obraz otrzymali badacze po napromienianiu całego zwierzęcia doświadczalnego lub całej jego głowy. Występujące tu uogólnione zmiany miały charakter zmian naczyniowych i naczyniopochodnych. Przy napromienianiu samego tylko ciała zmiany oszczędzały mózg, przy napromienianiu wyłącznie głowy nie było zmian trzewnych (Cammeyer 1958). Wynikałby stąd wniosek, że szerzenie się zmian popromiennych ma bardzo ograniczony zasięg.

Ogniska martwicy występujące w naszym materiale były nieliczne, ich rozmiary były minimalne, łatwiejsze do uchwycenia metodami hi-

stochemicznymi, w których na ich obwodzie dawało się stwierdzić pasmo wzmożonej reaktywności enzymatycznej. W większości przypadków udawało się wykryć związek mikromartwic z naczyniem pod postacią jego cienia w części centralnej. Ścisły związek ognisk martwicy z naczyniami wykazującymi również cechy uszkodzenia sugeruje, że u ich podłoża leżą zaburzenia w krążeniu pod postacią przewlekłego obrzęku. Miałyby one charakter martwicy obrzękowej Jacoba, w której długo trwały przesiek prowadzi do martwicy tkanki nerwowej, niekiedy również i ścian naczyńowych.

Zmiany komórek nerwowych po napromienieniu, poprzedzające zmiany w naczyniach opisywano bardzo rzadko. Dojrzałe komórki nerwowe uważane są za jeden z najoporniejszych na promieniowanie elementów ustroju. Pierwotne zmiany w neuronach opisywano dotychczas jedynie w zwojach (Snider 1948, Masurovsky 1967). W ośrodkowym układzie nerwowym ze wszystkich rodzajów promieniowania tylko cząsteczki alfa wywołują zmiany komórkowe poprzedzające zmiany w naczyniach (Klatzo 1961, Zeman 1962). Wyjątek stanowią komórki warstwy ziarnistej mózdzku, w których niejednokrotnie opisywano występującą pod wpływem promieni X lub gamma pyknozę pojedynczych jąder komórkowych (Brownson 1963). Zmiany te występują i w naszym materiale. Nie są one jednak swoiste dla energii promienistej, występują bowiem i w innych stanach patologicznych, m.in. w obrzęku mózgu (Hager 1962). Zmian w pozostałych neuronach w naszym materiale nie stwierdzano, chociaż w okresie ekspozycji neurony u szczurów nie są jeszcze w pełni dojrzałe (de Vellis 1967).

Na szczególną uwagę zasługuje układ mielina-oligodendroglej, odznaczający się dużą wrażliwością na promieniowanie. Komórki oligodendrogleju ulegają zmianom popromiennym nieomal wybiórczo (Brownson 1964). Opisywano w nich zmiany przechodzące stopniowo różne fazy od zbijania chromatyny w grudki gromadzące się przy błonie jądrowej aż do *karriorhexis* (Brownson 1964). Znany jest związek oligodendrogleju z metabolizmem mieliny, zarówno w procesie jej tworzenia, jak i trwania. Być może więc demielinizacja popromienna jest tylko wynikiem niewydolności oligodendrogleju (Brownson 1964). Nie jest tu obojętny wiek napromienianego ustroju. W toku prawidłowego rozwoju szcztura mielina pojawia się stopniowo w różnych okolicach ośrodkowego układu nerwowego (Gilmore 1963). Dawka 300—500 r zastosowana przed 5. dniem życia wystarcza, aby u napromienionego zwierzęcia pojawiły się objawy neurologiczne; po 5. dniu objawy te występują tylko u połowy napromienianych zwierząt, a po 15. nawet dawka 1000 r okazuje się nieskuteczna (Diller 1964). Zmiany morfologiczne w 2—3 dni po ekspozycji mają charakter dysmielinizacji ograniczającej się tylko

do napromienianego pola, w którym spada również ilość oligodendrogleju, zmiany naczyniowe pojawiają się dopiero 9.—11. dnia po ekspozycji, równocześnie spada ilość gleju i mieliny, a następnie zaczyna narastać aż do całkowitego powrotu do normy (około 33. dnia po ekspozycji). Mniej więcej po 4 tygodniach mamy już stosunki najzupełniej prawidłowe z zakończoną mielinizacją, jakkolwiek nieco opóźnioną. Mielinizacja u szczurów trwa w normie 2 tyg. (Gilmore 1963).

Objawy kliniczne, często znacznego stopnia, w postaci masywnych porażań, rzadko znajdują odpowiednik w obrazie histopatologicznym. Być może przyczyną tego jest cofanie się zmian w czasie.

W naszym materiale nie stwierdzono zmian w obrazie morfologicznym mieliny. Stwierdzone miejscowe wzmożenie aktywności enzymów oksydoredukcyjnych, których aktywność wzrasta we włóknach mielini-zowanych w trakcie czynnej mielinizacji, nie może tu być wiązane z jej zaburzeniami, jest bowiem wyraźnie zlokalizowane w okolicy ubytków komórkowych. Czas naszej obserwacji przypada na okres cofania się zmian mieliny (Gilmore 1963). Różnice otrzymanych wyników mogą również wynikać z różnic w dawce i sposobie napromieniania: w naszym materiale noworodki szczepu Wistar napromieniano na całe ciało dawką 300 r, w doświadczeniu Gilmore (1966) noworodki Sprague-Dawley otrzymały 4000 r na jeden segment rdzenia.

Istotną zmianą stwierdzaną w naszym materiale wydaje się występowanie ziarnistości PAS-dodatnich w istocie białej u napromienianych szczurów.

W badaniach nad pojawianiem się martwic popromiennych w mózgu (76.—79. dzień po ekspozycji), stwierdzano pojawianie się ziarnistości PAS-dodatnich już w 7.—21. dniu po napromienieniu, zwykle w sąsiedztwie naczyń i w astrocytach (Brownson 1964). Pojawianie się ziarnistości PAS-dodatnich, niezależnie od ich charakteru chemicznego świadczyłoby o miejscowym uszkodzeniu tkanki mózgowej (Brownson 1964). Trudniejsze do wyjaśnienia wydaje się gromadzenie ziarnistości PAS-dodatnich około nie zmienionych w sposób uchwytny włókien istoty białej. W tkance nerwowej ziarnistości PAS-dodatnie mogą być: glikogenem, mukopolisacharydami, ciałami białkowymi. W zdrowej tkance mózgowej ssaków glikogen jest niewykrywalny histochemicznie poza kilku specjalnymi strukturami, takimi jak *area postrema*, *n. paraventricularis*, pojedyncze komórki nerwowe i glejowe (Klatzo 1961). W badaniach Klatzo ziarna glikogenu pojawiały się po napromienieniu w znacznych ilościach w nie zmienionych i prawidłowo funkcjonujących komórkach glejowych, poprzedzając objawy uszkodzenia bariery hema-to-encefalitycznej. Po napromienieniu cząsteczkami alfa złogi glikogenu otaczały „*Bragg peak band*” (strefę największego uszkodzenia) i zawar-

te były również prawie wyłącznie w komórkach glejowych (Wolfe 1962). Autorzy skłaniają się więc do hipotezy o uwalnianiu węglowodanów z uszkodzonej tkanki i wchłanianiu ich pod postacią glikogenu na drodze pinocytozy przez glej. Być może jednak jest to objaw uszkodzenia przez promieniowanie procesów enzymatycznych z zahamowaniem glikogenolizy. Taki wniosek wysnuwają autorzy, którzy napromieniali hodowlę ze zwoju międzykręgowego, a następnie obserwowali w mikroskopie elektronowym pojawianie się glikogenu w cytoplazmie neuronów i w obrębie aksonu. Równocześnie jednak stwierdzili zmiany w osłonce mielinowej w postaci rozszczepienia blaszek spotykanego w doświadczalnych stanach obrzękowych ośrodkowego układu nerwowego (Masurovsky 1967).

Obserwowane w naszym materiale ziarnistości PAS-dodatnie ginące po dimedonie, nie są glikogenem. Roztworem FAN barwią się zielono, można więc przypuszczać, że mają one charakter białek. Wydaje się, że ziarnistości te, nie wykazujące w mikroskopie świetlnym związku z żadnymi elementami komórkowymi mózgu, stanowią złożone wyznaczniki białka, związanego z obrzękami mózgu. Przemawia za tym również ich umiejscowienie i charakterystyczny rozkład — okołonaczyniowy i wzdłuż przebiegu pasm włókien nerwowych. W stanach obrzękowych, przy zwiększonej przepuszczalności naczyń — przenikające pozanaczyniowo białka surowicy krwi gromadzą się w największej ilości w okolicach o luźniejszym utkaniu, to jest pomiędzy pasmami włókien nerwowych, na pograniczu istoty białej i szarej itp.

Obserwacje nasze związane z pojawieniem się substancji PAS-dodatnich i ich prawdopodobnie białkowym charakterem mogą stanowić jeszcze jeden dowód na pojawianie się obrzęku mózgu pod wpływem promieni jonizujących. Być może cofanie się objawów neurologicznych, obserwowane przez niektórych autorów u zwierząt napromienianych i brak ich odpowiedników morfologicznych, wiązać należałoby z wystąpieniem i cofaniem się obrzęku.

#### PODSUMOWANIE

1. Noworodki szczurze w 4. dniu życia naświetlano promieniami gamma w dawce 300 r, podanej na całe ciało. Badanie morfologiczne i histochemiczne przeprowadzono po upływie 21 dni od napromienienia.

2. Charakter zmian morfologicznych i histochemicznych stwierdzanych w ośrodkowym układzie nerwowym wskazuje na pierwotne uszkodzenie naczyń, prowadzące do obrzęku tkanki nerwowej. Pozostałe zmiany morfologiczne, takie jak drobne okołonaczyniowe ogniska martwicy, pyknoza jąder komórek nerwowych warstwy ziarnistej mózdzku

oraz gromadzenie się PAS-dodatnich substancji, wykazujących cechy glikoproteidów pomiędzy pasmami istoty białej, stanowią, jak się wydaje, zmiany wtórne — następstwa lub zejście obrzęku mózgu.

3. Prawidłowy obraz zmielinizowanych struktur ośrodkowego układu nerwowego, pozwala przypuszczać, że w opisanych warunkach zastosowana dawka promieni gamma nie prowadzi do zakłócenia procesów mielinizacji.

М. Остенда, В. Новаковский

ИЗМЕНЕНИЯ ЛОКАЛИЗАЦИИ НЕКОТОРЫХ ОКСИРЕДУКЦИОННЫХ ЭНЗИМОВ И ПОЯВЛЕНИЕ ТЕЛ ПАС-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ В МОЗГАХ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС ПОСЛЕ РАДИАЦИИ ЛУЧАМИ ГАММА ( $^{60}\text{Co}$ )

Содержание

Новорожденные крысы подвергались радиации на четвертый день жизни дозой 300 р лучей гамма, воздействующей на все тело. Исследование центральной нервной системы животных, проведенное по истечении 21 дня после облучения, обнаружило гистологические и гистохимические изменения, указывающие на первичное повреждение сосудов мозга. Появление вдоль нервных волокон зернистостей ПАС-положительных, обнаруживающих свойства белков, являются, как кажется, следствием отека мозга.

M. Ostenda, W. Nowakowski

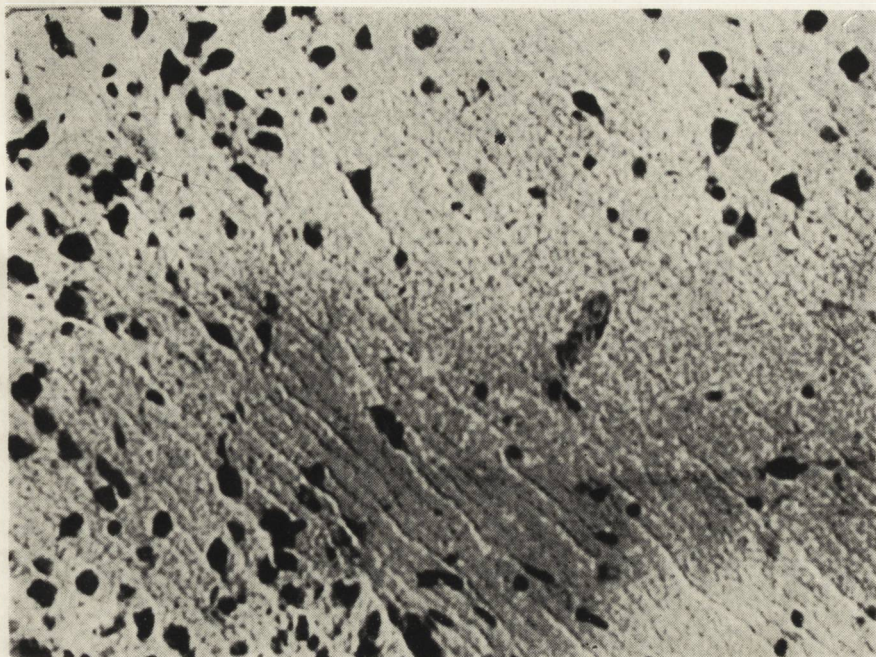
CHANGES IN LOCALIZATION OF SOME OXIDOREDUCTIVE ENZYMES AND THE OCCURRENCE OF PAS-POSITIVE SUBSTANCES IN THE BRAIN OF NEWBORN RATS IRRADIATED WITH GAMMA RAYS ( $^{60}\text{Co}$ )

Summary

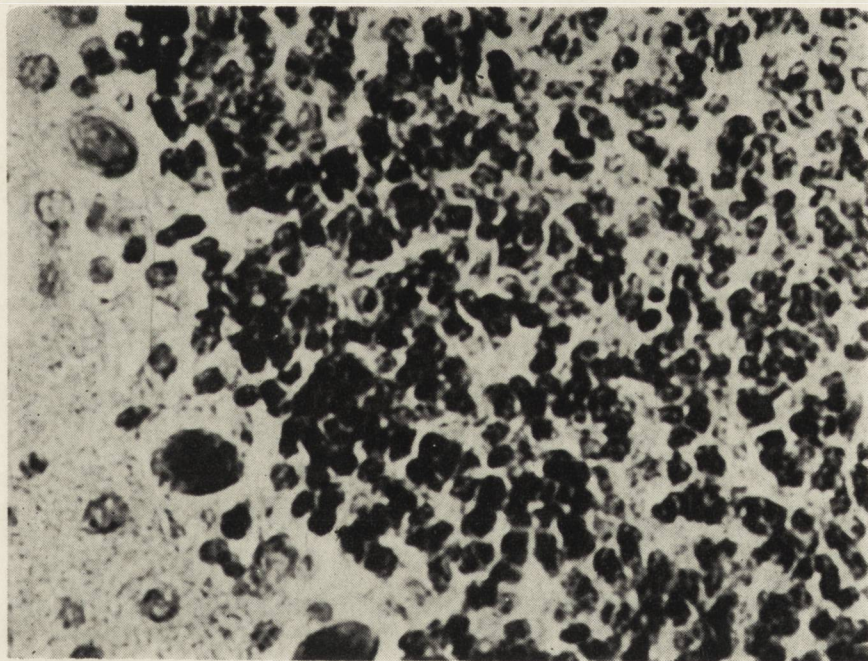
Newborn rats at the 4th day of their life were irradiated with a dose of 300 r of gamma rays administrated over the whole body. The examination of the CNS 21 days since the irradiation, showed histological and histochemical changes indicating a prim damage of the brain vessels. The occurrence of granules PAS-positive with properties of glycoproteins, localized along the nervous fibres, suggest the effect of brain edema.

PIŚMIENNICTWO

1. Brownson R. H., Shanklin W. M., Suter D. B.: A study in chronic brain radionecrosis, *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1964, 23, 4, 660—675.
2. Brownson R. H., Suter D. B., Oliver J. L., Diller D. A.: Acute brain damage induced by X-irradiation with special reference to rate and recovery factors, *Neurology (Minneap.)*, 1963, 13, 12, 1011—1019.



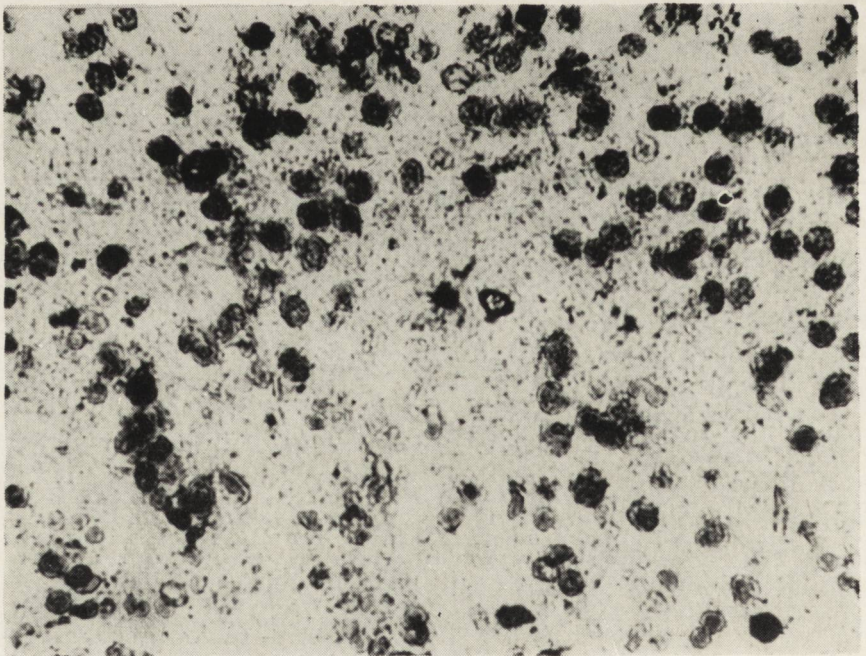
*Ryc. 1.*



*Ryc. 2.*



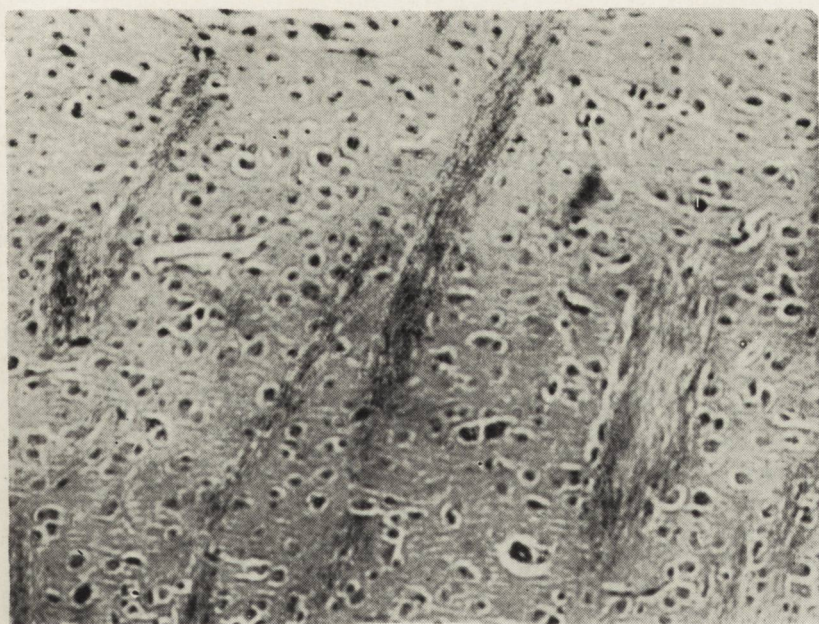
*Ryc. 3.*



*Ryc. 4.*



*Ryc. 5.*



*Ryc. 6.*



3. Cammermeyer J., Haymaker W., Vogel F. S.: Response of the alkaline glycerophosphatase in the macaque brain to cobalt radiation, *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1958, 17, 1.
4. Diller D. A., Brownson R. H., Suter D. B.: X-irradiation induced acute brain damage as a function of age. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1964, 23, 3, 446—456.
5. Gilmore S. A.: The effects of X-irradiation on the spinal cord of neonatal rats II p. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1963, 22, 2, 294—301.
6. Gilmore S. A.: Delayed myelination of neonatal rat spinal cord induced by X-irradiation, *Neurology (Minneapolis)*, 1966, 16, 8, 749—753.
7. Hager H., Hirschberger W., Breit A.: Electron microscope observation on the X-irradiated central nervous system of the Syrian hamster. Response of the Nervous System to ionizing radiation. *Academic Press*, 1962, 261—275.
8. Klatzo I., Miquel J., Tobias C., Haymaker W.: Effects of alfa particles radiation of the rat brain including vascular permeability and glycogen studies, *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1961, 20, 4, 459—486.
9. Masurovsky E., Bunge M. B., Bunge R. P.: Cytological studies of organotypic cultures of rat dorsal root ganglia following X-irradiation in vitro., *J. Cell Biol.*, 1967, 32, 2, 467—518.
10. Scholtz W., Schlote W., Hirschberger W.: Morphological effect of repeated low dosage and single dosage application of X-irradiation to the central nervous system. Response of the nervous system to ionizing radiation, *Academic Press*, 1962, 211—232.
11. Snider R. S.: *The Nervous System in Histopathology of Irradiation*, ed. Bloom, 1948.
12. de Vellis J., Schjeide O. A., Clemente C. D.: Protein synthesis and enzymic patterns in the developing brain following head X-irradiation of newborn rats, *J. Neurochem.*, 1967, 14, 5, 499—512.
13. Wolfe L. S., Klatzo I., Miquel J., Tobias C., Haymaker W.: Effect of alpha particle irradiation on brain glycogen in the rat, *J. Neurochem.*, 1962, 213—218.
14. Zeman W., Curtis H. J.: Metabolic and histochemical studies on direct radiation induced cell necrosis, IV International Congress of Neuropathology, München Georg Thieme 1962, Vol. I, 141—147.

Adresy autorów: *M. Ostenda* — Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN. Warszawa, ul. Dworkowa 3. *W. Nowakowski* — Oddział Rentgenoterapii Instytutu Onkologii. Warszawa, ul. Wawelska 15.

#### PODPISY POD RYCINY

*Ryc. 1.* Opustoszenie komórkowe. W części centralnej cień naczyń. Hematoksylina-eozyna. Pow. 80x.

*Fig. 1.* Cell deficit. In the central part a shadow of the vessel. H.E. Magn. x80.

*Ryc. 2.* Pyknotyczne jądra w warstwie ziarnistej mózdzku. Hematoksylina-eozyna. Pow. 200x.

*Fig. 2.* Picnotic nuclei in the granular layer of the cerebellum. H.E. Magn. x200.

*Ryc. 3.* Dehydrogenaza bursztynowa. Ognisko wzmożonej aktywności w neuropilu. W środku strefy o odczynie ujemnym cień naczyń. Pow. 80x.

*Fig. 3.* Succinate dehydrogenase. Focus of increased activity in the neuropil. A shadow of the vessel in the centre of the region with a negative reaction. Magn. x80.

*Ryc. 4.* Fosfataza kwaśna. Opustoszenie komórkowe. W otaczających komórkach wysoka aktywność enzymu. Pow. 80 x.

*Fig. 4.* Acid phosphatase. Cell deficit. In encompassing cells high activity of the enzyme. Magn. x80.

*Ryc. 5.* Ziarnistości PAS-dodatnie zgrupowane w sąsiedztwie naczyń. Pow. 100 x.

*Fig. 5.* Granules of PAS-positive grouped close of the vessel. Magn. x100.

*Ryc. 6.* Ziarnistości PAS-dodatnie, układające się pasmami wzdłuż włókien. Pow. 100x.

*Fig. 6.* Granules of PAS-positive forming bands along the fibres. Magn x100.

ANDRZEJ PAWŁOWSKI, JERZY WASYŁYSZYN, JERZY BEM

## BADANIA ELEMENTÓW NERWOWYCH ZMIAN SKÓRNYCH W CHOROBIE RECKLINGHAUSENA

Z Kliniki Dermatologicznej AM w Warszawie  
Kierownik: prof. dr S. Jabłońska

Choroba Recklinghausena, dobrze znana każdemu klinicyście (wg danych *British Medical Journal*, 1966 — 1 przypadek na 2 500 — 3 000 urodzin) i na ogół łatwo rozpoznawalna (Karwowska i Starzyńska 1965, Whitehouse 1966, Hadida i wsp. 1966), jest źródłem stałych dyskusji w zakresie jej etiologii i patogenez. Pogląd Recklinghausena (1882) na rozwój guzów z łącznotkankowych osłonek nerwów ma do dziś swoich zwolenników (Raimondi 1967). Wg przytaczanej często triady Landowskiego (Głuszczyk 1967) klasyczną postacią obwodową choroby Recklinghausena cechują włókniaki skóry; istnieją także poglądy, że elementy nerwowe wnikają wtórnie do guzków, pierwotnie zbudowanych z tkanki łącznej (Penfield 1930, Kitano 1965). Przeważa jednak koncepcja neuroektodermalnego pochodzenia guzków (Verocay 1910, Masson 1932, Stout 1953, Thies 1954, Winkelmann 1960, Winkelmann i wsp. 1962).

Uważa się, że schorzenie ma charakter genetyczny (Gostof 1965), a bodźcem bezpośrednim do powstawania guzów są urazy mechaniczne (Crowe 1956, Ross 1965).

Nerwiakowłókniaki udało się nawet wywołać sztucznie u zwierząt (Nelson 1942, Rigdon 1955), podobnie jak i inne guzy złożone z elementów nerwowych (Stefanko 1961, Causey 1960). Wybitna proliferacja komórek Schwanna zachodzi dopiero wtedy, kiedy dojdzie do przynajmniej częściowego zniszczenia włókien nerwowych (Masson 1932, Cajal 1960). Badania nad elementami nerwowymi skóry po urazach mechanicznych, w łuszczycy (Weddell i wsp. 1965, Allenby i wsp. 1966) oraz badania elementów nerwowych w nowotworach skóry pochodzenia nabłonkowego (Pawłowski i Weddell 1967) zachęciły nas do podjęcia badań nad elementami nerwowymi w guzkach i plamach barwnikowych skórnej postaci choroby Recklinghausena.

## MATERIAŁ I METODY

Materiał obejmuje 16 przypadków choroby Recklinghausena, z tego w 13 pobrano do badania guzki i guzy od 0,5 do 15 cm średnicy. Jeden z guzków umiejscowiony był w obrębie skóry zmienionej bielaczo. Wycinki z plam o charakterze *café au lait* pobrano w 6 przypadkach, a ze skóry nie zmienionej w 2.

Wycinki pobierano w znieczuleniu miejscowym chlorkiem etylu lub nowokainą, za pomocą wirującej sztancy, względnie chirurgicznie (większe guzy). Utrwalano w formaldehydzie Richardsona, 10% formalinie i płynie Bouina. Barwiono hematoksyliną-eozyną, azotanem srebra (Richardson 1960) celem uwidocznienia elementów nerwowych oraz błękitem toluidyny dla wykazania komórek tucznych. Dane dotyczące wieku badanych, czasu trwania choroby i przybliżonego czasu trwania usuwanych guzków podaje tabela 1.

Tabela 1.

Table 1.

Nr kolejny No.	Wiek chorego Age	Czas trwania choroby (w latach) Time of disease (years)	Czas trwania guzka (w latach) Time of nodes (years)
1	55	45	3
2	18	od urodzenia from birth	8
3	34	20	3
4	41	15	4
5	43	12	6
6	65	od urodzenia from birth	5
7	65	od urodzenia from birth	5
8	39	28	rok year
9	20	od urodzenia from birth	od urodzenia from birth
10	20	od urodzenia from birth	2
11	34	20	4
12	63	43	5
13	34	3	2

## WYNIKI

W utkaniu wszystkich guzków trwających mniej niż 6 lat elementy nerwowe (tzn. włókna i komórka Schwanna) przeważały wybitnie nad elementami łącznotkankowymi. W guzkach i guzach dłużej trwających przeważała tkanka łączna. Wiek chorych i czas trwania choroby nie wpływały w sposób wyraźny na utkanie guzków, w których we wczesnym okresie dochodzi do bardzo znacznej proliferacji komórek Schwanna. Na poprzecznych przekrojach małych nerwów skórnych, *endoneurium* ma znacznie większą średnicę niż w warunkach normalnych, a otoczka *perineurium* jest napięta (ryc. 1), lub nawet poprzerzywana. Przerwanie ciągłości *perineurium* zaznaczone jest wyraźniej na przekrojach skośnych i podłużnych. Komórki otoczki „odstają” jak gdyby na wszystkie strony od pnia macierzystego (ryc. 2), a w miejscu przerwania otoczki wydostają się poza jego obręb do otaczającej tkanki łącznej skóry właściwej (ryc. 3).

Poszczególne pęczki włókien wyzwolone ze wspólnej otoczki rozdzielają się nieco, co robi wrażenie ułożonych równolegle, w bardzo bliskiej odległości od siebie pni nerwowych, w których procesy proliferacji są różnie zaawansowane (ryc. 4). Stopniowo, w miarę rozwoju guzka, budowa ich i przebieg ulegają zatarciu. Wzrasta liczba komórek Schwanna, które przybierają najrozmaitsze kształty: od okrągłych i owalnych do wydłużonych, wrzecionowatych. Wielkości ich też są najrozmaitsze. Tworzą na ogół bezładne ogniska, zwykle bardzo rozległe, powstające głęboko w skórze właściwej i niemal nigdy nie dochodzące bezpośrednio pod naskórek. Układ komórek Schwanna może być jednak bardzo różny. Znalezienie struktur imitujących ciała Verocaya, zakończenia upostaciowane (głównie typu Vater-Pacini), kolumn i sznurów zbudowanych z tych komórek nie napotyka trudności.

Początkowo można jeszcze prześledzić związek komórek Schwanna ze starymi pniami, później zaczynają je przenikać nowo tworzące się włókna, cienkie, delikatne, słabo barwiące się srebrem, łączące się w grube o falistym przebiegu pęczki, lub związane z pojedynczymi komórkami Schwanna, albo też z ich grupą (ryc. 5). Powstają nieregularne ogniska przebiegających w różnych kierunkach elementów nerwowych, nie zawsze ze sobą powiązanych. W jednych polach widzenia przeważają komórki Schwanna, w innych włókna nerwowe lub twory wirowate (ryc. 6).

Po pewnym okresie trwania nad procesami proliferacyjnymi zaczynają przeważać zwyrodnieniowe, które najpierw dotyczą włókien nerwowych, a następnie komórek Schwanna. Często komórki Schwanna pozostają w układzie nerwu, chociaż włókna nerwowe uległy już rozpadowi (ryc. 7).

Prawdopodobnie pod wpływem zmiany warunków miejscowych rozpoczyna się proces kolagenizacji i tkanka łączna przerasta guz pierwotnie złożony z elementów nerwowych. Jednocześnie z procesem kolagenizacji lub nieco później może występować zwyrodnienie śluzowate (mukoidalne) w obrębie guza. Włókna wykazują nierównomierne przewężenia i zgrubienia na swoim przebiegu, pojedyncze włókna w jednym pniu barwią się niejednakowo, regularny, falisty przebieg zostaje zdeorganizowany (ryc. 8). Fragmenty włókien tracą łączność z towarzyszącymi komórkami Schwanna, które tymczasem grupują się w kolumny otoczone już tkanką łączną (ryc. 9), a część z nich wykazuje jeszcze większą wielokształtność niż w momencie wytwarzania się guzka. Obserwuje się komórki wieloboczne, kropłowate, potworowate (ryc. 10) i przypominające fibroblasty.

Otoczanie proliferujących elementów nerwowych przez grube włókna kolagenowe i tkankę łączną przebiega znacznie szybciej w zmianach plamistych typu *café au lait*. W 6 biopsjach uzyskanych z takich plam obrazy neurohistologiczne były niemal jednakowe. Początek proliferacji w obrębie pnia nerwowego zostaje nagle zahamowany. Niektóre komórki Schwanna są już wtedy poza pniem macierzystym, jednakże w bardzo bliskim jego sąsiedztwie. Nie gromadzą się w ogniska jak w guzkach, a cienkie, nowo powstałe włókna pozostają w obrębie pnia macierzystego. Struktury nerwowe wtapiają się jak gdyby w otaczającą tkankę łączną (ryc. 11).

Tylko w jednym przypadku w obrębie plam barwnikowych, tuż pod naskórkiem, stwierdzono wyraźne zwiększenie liczby elementów nerwowych (w przypadku, w którym występowały rozległe zmiany bielacze). W pozostałych brodawki skórne były spłaszczone, a tkanka łączna w górnej warstwie skóry właściwej niemal bezstrukturalna.

Bardzo często w przebiegu choroby Recklinghausena oprócz przebarwień pojawiają się odbarwienia o charakterze plam bielaczych, w których obrębie również powstają guzki. Utkanie neurohistologiczne takiego guzka jest identyczne z utkaniem guzków w skórze prawidłowo zabarwionej lub przebarwionej.

W skórze zdrowej, w przeciwieństwie do guzów, elementy nerwowe były bardzo bogato reprezentowane tuż pod naskórkiem. Przeważały komórki Schwanna, a włókna nerwowe wykazywały cechy zwyrodnienia. Głębiej w skórze właściwej — pnie nerwowe towarzyszące naczynom były stosunkowo ubogie w komórki Schwanna, bez cech zwyrodnienia w obrębie samych włókien.

Komórki tuczne grupowały się głównie w miejscach proliferacji komórek Schwanna, gdzie liczba ich dochodziła do 10 na jedno pole widzenia przy powiększeniu 40  $\times$ . W guzach wykazujących tendencję

do włóknienia lub zwyrodnienia śluzowatego, plamach barwnikowych i skórze zdrowej liczba komórek tucznych wahała się od 1 do 3 na 1 pole widzenia.

#### OMÓWIENIE

Badania neurohistologiczne przeprowadzone w chorobie Recklinghausena wskazują na to, że pierwotne zmiany w tworzących się guzkach dotyczą *endoneurium* i polegają na proliferacji komórek Schwanna i tworzeniu nowych włókien nerwowych. Zmiany dotyczące *perineurium* i otaczającej tkanki łącznej mają charakter wtórny.

Określanie przez niektórych autorów (Penfield 1930, Kitano 1965, Głuszczyk 1967) guzków w chorobie Recklinghausena jako włókniaków, lub tworów zbudowanych wyłącznie z osłonek nerwu (Raimondi 1967) nie wydaje się być uzasadnione. W guzku recklinghausenowskim można spotkać wszystkie struktury — począwszy od nerwiaka, poprzez znamię nerwowe, a kończąc na osłoniaku — które są wyrazem pierwotnej proliferacji elementów nerwowych. Zwiększenie liczby komórek Schwanna i kolejne przemiany zachodzące w obrębie guzka sugerują, że bezpośrednim czynnikiem wyzwalającym może być uraz mechaniczny, a wtórny przerost tkanką łączną jest procesem odpowiadającym bliznowaceniu.

Wiadomo, że w pewnych okolicznościach same komórki Schwanna mogą wytwarzać włókna kolagenowe (Causey 1960, Weddell 1965), a właśnie w okresie rozpadu struktur nerwowych w obrębie guzka rozróżnienie między pojedynczymi komórkami Schwanna a fibroblastami staje się niemożliwe. Na podstawie przeprowadzonych badań wydaje się, że okres rozwoju guzka w chorobie Recklinghausena wynosi średnio około 5—7 lat i w tym okresie struktura jego składa się głównie z elementów nerwowych. Później przeważają procesy łącznotkankowe i zwyrodnieniowe.

W plamach barwnikowych typu *café au lait* w 5 przypadkach na 6 było mniej elementów nerwowych niż w skórze zdrowej i wykazywały one cechy zahamowanej, niepełnej proliferacji, która w całej pełni występuje tylko w guzkach.

W skórze nie zmienionej w porównaniu z unerwieniem skóry osobnika zdrowego uderzało zwiększenie liczby komórek Schwanna tuż pod naskórką i zmniejszenie ich liczby głębiej w skórze właściwej.

Komórki tuczne, które w dużej ilości towarzyszą skupiskom komórek Schwanna, mają prawdopodobnie 2 źródła pochodzenia. Jednym z nich jest *endoneurium*, w którym znajdują się również w warunkach prawidłowych (Causey 1960), a drugim tkanka łączna skóry właściwej.

## WNIOSKI

1. Zmiany w skórze właściwej w chorobie Recklinghausena dotyczą pierwotnie elementów nerwowych leżących w obrębie *endoneurium*.
2. Guzki skórne w chorobie Recklinghausena wykazują charakterystyczny cykl rozwojowy.
3. Na podstawie zbadanego materiału wydaje się, że przerost tkanki łącznej w obrębie guzków ma charakter wtórny i zachodzi nie wcześniej niż w 5 — 8 lat od chwili powstania guzka.
4. W plamach barwnikowych typu *café au lait* proliferacja elementów nerwowych ma charakter poronny.
5. Układ elementów nerwowych w skórze zdrowej u osobników z chorobą Recklinghausena wykazuje pewne odchylenia od normy.
6. W obrębie ognisk proliferacji komórek Schwanna zwiększa się wybitnie liczba komórek tucznych.

A. Павловски, Й. Васылышин, Й. Бем

ИССЛЕДОВАНИЯ НЕРВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КОЖНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ  
ПРИ БОЛЕЗНИ РЕКЛИНГАУЗЕНА

Содержание

Исследовали 16 случаев болезни Реклингаузена, в которых проявлялись кожные изменения, определяя гистологические свойства нервных элементов кожи. Узелки обнаруживали характерный цикл развития, который начинался пролиферацией внутри эндонеуриум нервных стволов глубоко в корииуме, а кончался перерастанием соединительной ткани. В пигментных пятнах типа „кофе с молоком” пролиферация кожных элементов имела abortивный характер.

A. Pawłowski, J. Wasylszyn, J. Bem

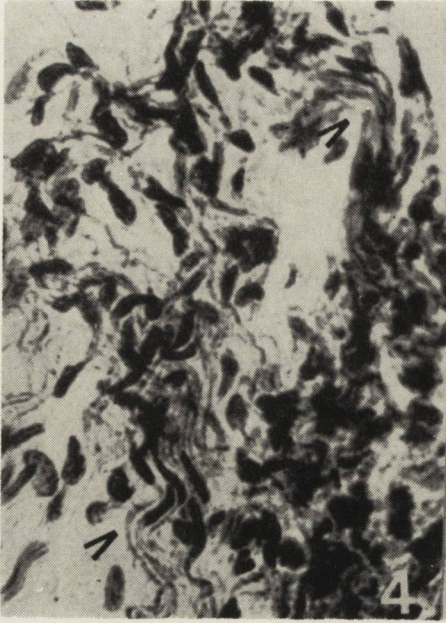
INVESTIGATIONS ON CUTANEOUS NERVOUS CHANGES  
IN THE RECKLINGHAUSEN DISEASE

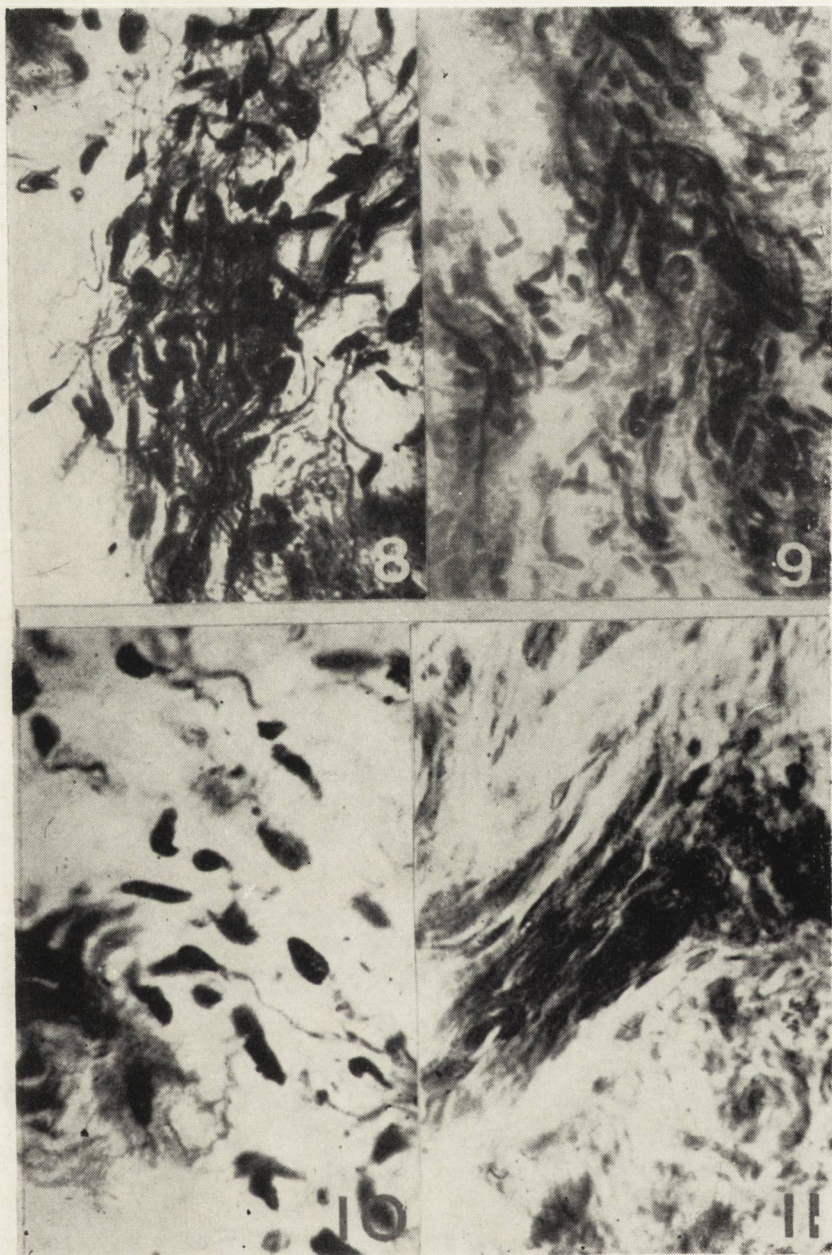
Summary

There were studied 16 cases of Recklinghausen disease with the occurrence of cutaneous changes, and the characteristics of the skin histological nervous elements were defined. The nodules showed a distinctive developmental cycle, which started with proliferation inside the endoneurium of the nerve trunk, deep in the proper skin, and ended in hypertrophy of the connective tissue. In the pigmental spots of a *café au lait* type, the proliferation of nervous elements had an abortive character.









## PODPISY POD RYCINY

*Ryc. 1.* Od góry — przekrojony poprzecznie pień nerwowy z proliferacją wewnątrz *endoneurium*. Poniżej — duże naczynie krwionośne. Przypadek nr 13. Barw. azotanem srebra. Pow. 500 X.

*Fig. 1.* From the top — transverse section of the nerve trunk with proliferation of the *endoneurium*. Below — large blood vessel. Case No. 13. Silver nitrate stained. Magn. X 500.

*Ryc. 2.* Komórki otoczki „odstają” jak gdyby od pnia macierzystego. Przypadek nr 3. Barw. azotanem srebra. Pow. 500 X.

*Fig. 2.* The cells of the capsule are "detached" as if off the mother trunk. Case No. 3. Silver nitrate stained. Magn. X 500.

*Ryc. 3.* Liczne komórki Schwanna w pobliżu miejsca, w którym ciągłość otoczki nerwu została przerwana. Przypadek nr 1. Barw. azotanem srebra. Pow. 1000 X.

*Fig. 3.* Numerous Schwann cells close to the location where the continuity of the nerve capsule was disrupted. Case No. 1. Silver nitrate stained. Magn. X 1,000.

*Ryc. 4.* Poszczególne pęczki włókien wyzwolone ze wspólnej otoczki rozdzielają się nieco, co robi wrażenie ułożonych równolegle pni nerwowych. Przypadek nr 1. Barw. azotanem srebra. Pow. 500 X.

*Fig. 4.* Released from the common capsule, individual fascicles of fibres sever themselves somewhat, giving the impression of a parallel composition of nerve trunks. Case No. 1. Silver nitrate stained. Magn. X 500.

*Ryc. 5.* Nowo tworzące się włókna nerwowe przenikają skupienia komórek Schwanna (oznaczone gwiazdką). Na prawo włókno wykazujące cechy zwyrodnienia z nielicznymi komórkami Schwanna. Przypadek nr 4. Barw. azotanem srebra. Pow. 500 X.

*Fig. 5.* The forming nerve fibres infiltrate the concentration of Schwann cells (marked with an asterisk). To the right a fibre indicating qualities of degeneration, with few Schwann cells there. Case No. 4. Silver nitrate stained. Magn. X 500.

*Ryc. 6.* Beład w układzie elementów nerwowych. Skupienia komórek Schwanna na przebiegu nerwów (A), włókna nerwowe pozbawione na długim odcinku komórek Schwanna (B), twory wirowate, przypominające ciała Vater-Pacinięgo (C). Przypadek nr 11. Barw. azotanem srebra. Pow. 500 X.

*Fig. 6.* Disorder in the nervous elements structure. On the course of the nerves is the concentration of Schwann cells (A), nerve fibres on a long segment lacking Schwann cells (B), whirl like formations resembling Vater-Pacini corpuscle (C). Case No. 11. Silver nitrate stained. Magn. X 500.

*Ryc. 7.* Komórki Schwanna pozostają w układzie nerwu, chociaż włókna nerwowe uległy już rozpadowi. Przypadek nr 7. Barw. azotanem srebra. Pow. 500 X.

*Fig. 7.* Schwann cells remained in lines although the nerve fibres disintegrated already. Case No. 7. Silver nitrate stained. Magn. X 500.

*Ryc. 8.* Włókna nerwowe wykazują nierównomierne przewężenia i zgrubienia na swoim przebiegu, pojedyncze włókna jednego pnia barwią się niejednakowo, ich falista symetria rozpada się. Przypadek nr 5. Barw. azotanem srebra. Pow. 500 X.

*Fig. 8.* Nerve fibres show unequal chokes and callosity on their course, separate fibres of the same trunk acquire stain differently, their corrugated symmetry disintegrated. Case No. 5. Silver nitrate stained. Magn. X 500.

*Ryc. 9.* Fragmenty włókien tracą łączność z towarzyszącymi komórkami Schwanna, które grupują się w kolumny i linie otoczone tkanką łączną. Przypadek nr 5. Barw. azotanem srebra. Pow. 500 X.

*Fig. 9.* Segments of fibres lose connection with the accompanied Schwann cells, which concentrate in columns and lines encompassed with the connective tissue. Case No. 5. Silver nitrate stained. Magn. X 500.

*Ryc. 10.* Wielokształtne komórki Schwanna, z których tylko część związana jest ze zwyrodniałymi włóknami nerwowymi. Przypadek nr 2. Barw. azotanem srebra. Pow. 500 X.

*Fig. 10.* Multiformed Schwann cells out of which only a part is connected with the degenerated nerve fibres. Case No. 2. Silver nitrate stained. Magn. X 500.

*Ryc. 11.* Struktury nerwowe w obrębie *café au lait* wtapiają się jak gdyby w otaczającą tkankę łączną. Przypadek nr 2. Barw. azotanem srebra. Pow. 500 X.

*Fig 11.* In the *café au lait* area the nervous structures are as if sinking into the encompassing connective tissue. Case No. 2. Silver nitrate stained. Magn. X 500.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Allenby C. F., Palmer E., Weddell G.: Changes in the dermis of human hairy skin resulting from stripping the keratinized layer off the epidermis. *Zeitschr. f. Zellforsch.*, 1966, 69, 566—572.
2. *British Medical Journal*, Leading Articles, 1966, 5, 1025—1026.
3. Cajal S. R.: *Studies on vertebrate neurogenesis*, Ch. C. Thomas Publ. Springfield 1960.
4. Causey G.: *The cell of Schwann*, E. and S. Livingstone LTD, Edinborough and London 1960.
5. Crowe F. W., Schull W. J., Neel J. V.: *Multiple neurofibromatosis*, Ch. C. Thomas Publ., 1956.
6. Głuszcz A.: Patomorfologia ośrodkowej postaci choroby Recklinghausena na podstawie analizy własnego przypadku. *Neuropatol. Pol.*, 1965, 3, 71—86.
7. Gostof R., Stovicek J., Pur J., Beran J.: Neurofibromatoza u 5 deti. *Ceskoslov. Ped.*, 1965, 20, 970—975.
8. Hadida M. E., Sayag J., Táso M. F.: Neurofibromatose de Recklinghausen. *Bull. de la Soc. Franc. de Derm. et de Syph.*, 1966, 73, 296—297.
9. Karwowska-Stauberowa L., Starzyńska R.: Przypadek współistnienia szpiczaka mnogiego i choroby Recklinghausena. *Pol. Tyg. Lek.*, 1965, 20, 1508—1510.
10. Kitano Y.: Recklinghausen disease. *Cytology in tissue culture*. *Skin Res.* (Osaka), 1965, 7/2, 228—236.
11. Masson P.: Experimental and spontaneous schwannomas. *Amer. J. of Path.*, 1932, 8, 367—415.
12. Nelson A. A., Fitzhugh O. G., Morris H. J., Calvery H. O.: Neurofibromas of rat ears produced by prolonged feeding of crude ergot. *Cancer Res.*, 1942, 2, 11—15.
13. Pawłowski A., Weddell G.: The lability of cutaneous neural elements. *Brit. J. of Derm.*, 1967, 79, 14—19.
14. Penfield W., Young A. W.: The nature of von Recklinghausen's disease and the tumors associated with it. *Arch. of Neurol. and Psych.*, 1930, 23, 320—344.
15. Raimondi A. J.: Perineural fibroblastomas. Their fine structure and biology. *J. Neuropath. and Exp. Neurol.*, 1967, 26, 138—140.
16. Recklinghausen F. D.: *Über die multiplen Fibrome der Haut und ihre Beziehung zu den multiplen Neuromen*. Berlin 1882.
17. Richardson K. C.: Studies on the structure of autonomic nerves in the small intestine, correlating the silver — impregnated image in light microscopy with the permanganate — fixed ultrastructure in electronmicroscopy. *J. of Anatomy*, 1960, 94, 457—473.

18. Rigdon R. H.: Neurogenic tumors produced by methylocholanthrene in the white pekin duck. *Cancer*, 1955, 8, 906—915.
19. Ross D. E.: Skin manifestation of von Recklinghausen's disease and associated tumors. *Am. Surg.*, 1965, 31, 729—740.
20. Stefanko S.: Badania doświadczalne nad budową nerwiaków pourazowych i nad sposobami ograniczenia ich wzrostu. *Rozprawy Wydz. Nauk Med.*, R. V. — T. II, 37—82.
21. Stout A. P.: Tumors of the soft tissues. *Atlas of tumor pathology*, sect. II., fasc. 5. Washington, D. C. Nat. Res. Council 1953.
22. Thies W.: Beitrag zur Histogenese der Recklinghausenschen Neurofibromatose der Haut unter besonderer Berücksichtigung der vegetativen Nervensystem. *Arch. f. Derm. und Syph.*, 1954, 198, 619—633.
23. Verocay J.: Zur Kenntnis der Neurofibrome. *Beitr. path. Anat. u. allg. Path.*, 1910, 48, 1—10.
24. Weddell G., Cowan M. A., Palmer E., Ramaswamy S.: Psoriatic skin *Arch. Derm.*, 1965, 91, 252—266.
25. Whitehouse D.: Diagnostic value of the *café au lait* spot in children. *Arch. dis. Childh.*, 1966, 41, 316—319.
26. Winkelmann R. K.: Nerve endings in normal and pathologic skin. Ch. C. Thomas Publ. Springfield 1960.
27. Winkelmann R. K., Johnson L. A.: Cholinoesterases in neurofibromas. *Arch. of Derm.*, 1962, 85, 106—114.

Adres autorów: Klinika Dermatologiczna AM. Warszawa, ul. Koszykowa 82 A.

ANNA FIDZIAŃSKA, IRENA HAUSMANOWA-PETRUSEWICZ

## MIOPATIA U 19-LETNIEJ DZIEWCZYNKI ROZPOZNANA POŚMIERTNIE JAKO GLIKOGENOZA

Z Kliniki Neurologicznej AM w Warszawie

Kierownik: prof. dr med. I. Hausmanowa-Petrusewicz

W 1932 r. Pompe opisał glikogenozę (nazwaną później II typem) z przerostem mięśnia sercowego. Cechą charakterystyczną dla tej choroby było odkładanie się glikogenu w różnych tkankach, przede wszystkim w mięśniu sercowym i mm. szkieletowych. Opisane później przypadki cechowało klinicznie również osłabienie mm. szkieletowych (Günther 1939, Childs 1952, Krivit 1953, Zellweger 1952). Obecnie wiemy, że opisane zaburzenie zależy od braku lizosomalnego enzymu alfa-1,4-glukozydazy i że defekt ten dziedziczny się w sposób recesywny autosomalny.

Typ II glikogenozy jest w ogóle dość rzadki; oblicza się, że dotychczas w piśmiennictwie światowym opisano około 100 przypadków (Smith i in. 1967), ale szczególną rzadkością są chorzy, którzy przeżyli okres wczesnego dzieciństwa. Takie przypadki rzucają w pewnym sensie nowe światło na charakter glikogenozy Pompe'go i zmuszają do rewizji szeregu uprzednio przyjętych pewników. W związku z powyższym obserwowany przez nas przypadek wydaje się mieć szczególne znaczenie.

Chora A. S., lat 19, zgłosiła się do Kliniki Neurologicznej z powodu osłabienia kończyn dolnych, narastających trudności w chodzeniu i postępującego zniekształcenia kręgosłupa i kończyn dolnych. Urodzona o czasie z prawidłowej ciąży i porodu, siadać zaczęła w 10. miesiącu życia, chodzić w 16. miesiącu życia. Do 12. roku życia rozwój ruchowy dziecka w zasadzie prawidłowy, chociaż nigdy nie była dzieckiem ruchliwym. Między 12. a 14. rokiem życia dziewczynka straciła apetyt, przestała rosnać. Od 14. roku obserwowano szybko narastające zniekształcenia kostne, głównie kręgosłupa i kończyn dolnych, postępujące szczuplenie kończyn (dolnych i górnych) i spadek ogólnej wagi ciała. Pierwsza miesiączka w 17. roku życia, ale w ciągu dwu lat tylko trzykrotnie miesiączkowała. Jest jedynaczką, rodzice zdrowi.

Badaniem przedmiotowym stwierdzono: wzrost chorej 144 cm, waga 27 kg (niedobór  $\pm 15$  kg w stosunku do wzrostu), uogólniony zanik tkanki tłuszczowej z uwidocznieniem układu żylnego na kończynach. Lekka sinica warg i paznokci. Powiększenie sylwetki serca w całości z przewagą prawej komory. Czynność serca miarowa, przyśpieszona 110–120/min., tony serca głuche. Pozostałe narządy wewnętrzne bez odchyłań. Twarz chorej trójkątna, bardzo szczupła, z powstającymi w czasie mimiki licznymi zmarszczkami wokół ust i oczu. Nadmierna lordoza kręgosłupa szyjnego. Ruchomość kręgosłupa szyjnego ku tyłowi zachowana, ruchy ku przodowi i w bok wybitnie ograniczone. Skrzywienie kręgosłupa piersiowego wypukłością zwrócone w stronę prawą, znaczne uwypuklenie klatki piersiowej po stronie lewej. Kończyny górne bardzo szczupłe, łopatki odstojące, dolki nad- i podobojczykowe nadmiernie wydrążone. Nieznaczny przykurcz zgięciowy w obu stawach łokciowych. Siła i napięcie mięśni prawidłowe, odruchy ścięgniste bardzo słabe, okostnowe zniesione. Kończyny dolne bardzo szczupłe, kolana szpotawe, stopy końsko-szpotawe. Przykurcz obustronny w stawach biodrowych, kolanowych i skokowych. Wybitne osłabienie siły mm. zginaczy ud oraz zginaczy i prostowników stóp obustronnie, odruchy kolanowe i skokowe obustronnie zniesione. Chodzi tylko z podparciem. Czucie powierzchniowe i głębokie zachowane. Pacjentka jest małowówna, apatyczna, płacziwa, rozwój umysłowy na poziomie wieku.

W badaniach dodatkowych stwierdzono: poziom cukru we krwi 116 mg%, przy obecności typowej krzywej cukrzycowej. Frakcje białkowe nie wykazały zmian poza zwiększeniem  $\alpha_2$ -globulin 11,21% (n. 4,2–8,6%) i  $\beta$ -globulin 16,31% (n. 8,5–13,1%) w elektroforetycznym badaniu białek surowicy krwi. Nieorganiczny fosfor w surowicy krwi 4,01 mE/L (n. 1,1–2,9 mE/L) przy prawidłowych wartościach sodu, potasu, chlorku i wapnia. Poziom w surowicy krwi transaminazy szczawiooctowej 94 j. (n. 8–40 j.) i pirogronowej 87 j. (n. 5–30 j.), kreatynofosfokinazy 8,5 j. (n. — do 2 j.), aldolazy okresowo od 19 do 100 j. (n. — do 8 j.). Poziom kwasu cytrynowego w surowicy krwi 0,88 (n. 1,5–3,0 mg%). Przeciwciał mięśniowych i jądrowych w surowicy nie stwierdzono. W moczu poziom aminokwasów 672 mg/d (n. 200–600), wydalanie kreatyny 232 mg/d, poziom 17 ketosteroidów w pierwszym badaniu 2,97 mg w drugim — 9,02 mg/d. Kariotyp prawidłowy. Badanie jodochwytności tarczycy za pomocą  $J^{131}$  (wykonane dwukrotnie) wykazało gromadzenie nieco przyspieszone z prawidłowym rozkładem aktywności. Badanie rtg wykazało opóźniony wiek kostny, skoliozę kręgosłupa szyjnego i piersiowego. Ekg wykazywał cechy przerostu prawej komory i przeciążenie prawego przedsionka. W badaniu elektromiograficznym stwierdzono zapis wysiłkowy z m. naramiennego prawego interferencyjny z nieznacznymi zaburzeniami gradacji, o amplitudzie 500–4000  $\mu$ v i prawidłowym czasie trwania potencjałów. Znacznie zwiększona ilość potencjałów wielofazowych do 55%. Zapis wysiłkowy z m. czworogłowego uda prawego pośredni o amplitudzie 500–2300

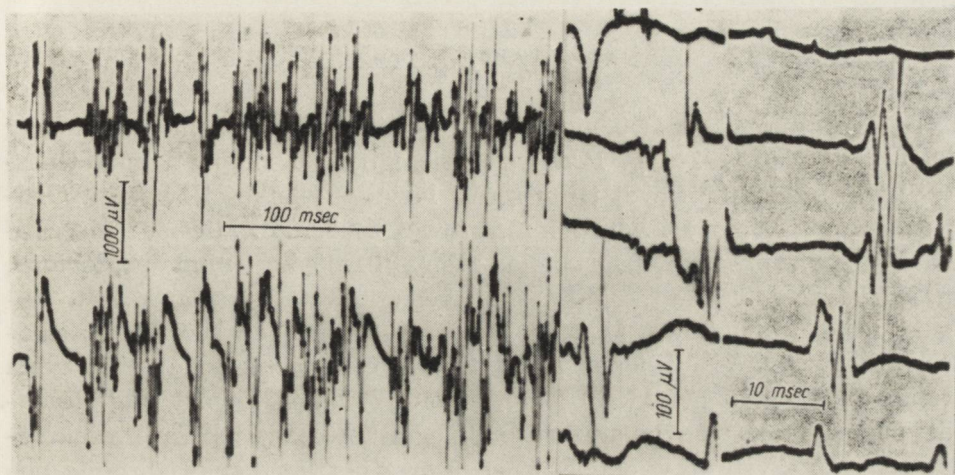


Ryc. 1. Fotografia 19-letniej pacjentki.

Fig. 1. Photo of patient at 19 years of age.



$\mu\text{V}$  i czasie trwania potencjałów w granicach normy ze znacznie zwiększoną ilością potencjałów wielofazowych do 55%. W spoczynku krótkie niskie wyładowania dwufazowe. Zapis wysiłkowy z m. międzykostnego I prawego pośredni bogaty o amplitudzie 500—3000  $\mu\text{V}$  i prawidłowym czasie trwania potencjałów. Potencjałów wielofazowych 30%. Po włączeniu elektrod występują ciągi wyładowań. Próba ischemiczna w kierunku tężyczki wypadła ujemnie.



Ryc. 2. Zapis elektromiograficzny z mięśnia naramiennego prawego. Po lewej zapis wysiłkowy, po prawej zapis poprzeczny pojedynczych potencjałów.

Fig. 2. Electromyogram from m. deltoideus dex. Left — maximal effort pattern (contin. record). Right — individual polyphasic potentials (intermitt. record).

Badaniem histopatologicznym w mikroskopie świetlnym stwierdzono w mięśni naramiennym prawym różną szerokość włókien mięśniowych, z nieznacznym przerostem tkanki łącznej w *endomysium*, niektóre włókna mięśniowe wykazywały zatarcie poprzecznego prążkowania. W m. piszczelowym przednim poza nieznacznym rozrostem tkanki łącznej w *endomysium* stwierdzono jedno włókno uległe zwyrodnieniu wodniczkowemu.

W badaniu histochemicznym w.w. mięśni stwierdzono dodatnią aktywność enzymów utleniających (DHB, DHM, CYO). Tendencja do słabszego odczynu wewnątrz licznych włókien mięśniowych. W jednym włóknie całkowite opustoszenie w centrum — pełny brak mitochondriów. Aktywność fosforylasy „a” zachowana, miernie wyrażona. Uaktywnianie fosforylasy „b” zarówno przez AMP jak i fosforylazo-b-kinazę zachowana. Odczyn na UDPG-glikogen-transferazę dodatni. Barwienie metodą PAS z trawieniem diastazą i z dimedonem nie wykazało nadmiernego gromadzenia się substancji PAS-dodatnich trawionych przez diastazę.

U chorej na podstawie obrazu klinicznego, badania elektromiograficznego, biochemicznego i histopatologicznego rozpoznawaliśmy miopatię, szukając tła hormonalnego lub defektu enzymatycznego. W trakcie badań chora nagle zmarła wśród objawów niewydolności krążenia.

Sekcję zwłok wykonano w 24 godziny po śmierci w Zakładzie Anatomii Patologicznej AM.

W badaniu anatomopatologicznym, włączając badanie mikroskopowe, zwróciliśmy szczególną uwagę na narządy wewnętrzne, układ nerwowy, układ mięśniowy.

#### NARZĄDY WEWNĘTRZNE

**Serce:** makroskopowo nieznacznie powiększone (rozmiary wynosiły  $10 \times 9 \times 4$ ), waga 240 g. Pod wsierdziem bardzo skąpa tkanka tłuszczowa. Poszerzenie prawej jamy serca, lewa — wielkości zwykłej. Grubość mięśnia komory lewej 7 mm, prawej 2—3 mm. Mięśnie beleczkowate komory prawej pogrubiałe, zachyłki między nimi pogłębione, m. brodawkowate nieco kopulaste. M. beleczkowate i brodawkowate komory lewej prawidłowe. Mięsień serca na przekrojach spoisty o zachowanym rysunku włókienkowym barwy ciemnoczerwonej. Naczynia wieńcowe serca o gładkiej kremowo-żółtej błonie wewnętrznej. Badaniem histopatologicznym stwierdzono: ogniskowo występujące włóknienie przede wszystkim w okolicy naczyń oraz obrzęk tkanki łącznej z pojedynczymi naciekami drobnokomórkowymi, złożonymi głównie z limfocytów i histiocytów. W m. sercowym obydwu komór spostrzegano cechy przerostu, najbardziej nasilone w wycinkach z prawej komory. Włókna mięśniowe były wyraźnie pogrubiałe. Na przekrojach poprzecznych widoczne były wodniczki, występujące pojedynczo lub po kilka. Niektóre wodniczki wypełnione były bardzo drobnymi ziarnistościami, podobnymi do obserwowanych w m. szkieletowych. Mięśnie te dodatkowo barwione met. PAS z trawieniem diastazą wykazywały nieznaczne gromadzenie się substancji PAS dodatkowo wytrawianych przez diastazę.

**Wątroba** wagi 660 g o nieco zmniejszonej spoistości i zatartym rysunku zrazikowym na przekrojach. Komórki miększu o wyraźnych obrysach z dużymi hiperchromatycznymi jądrami, ziarnistą cytoplazmą z widocznymi gdzieś ziarnami barwiłka (lipofuscyna) oraz obrzmieniem komórek Browicza.

**Nerki:** budowa mikroskopowa zachowana. Widoczne wyraźne przepojenie płynem tkanki łącznej w piramidach, złogi wapniowe w kanałkach zbiorczych i śródmiększu z pewnymi cechami nerki sublimatowej.

**Nadnercza:** widoczne wszystkie warstwy. Naczynia w torebce i tkance łącznej wypełnione obficie krwią, widoczne drobne wybroczynki.

**Trzustka** bez zmian.

**Tarczycyca:** utkanie bez widocznych odchyłeń od prawidłowej budowy. Pęcherzyki różnej wielkości wypełnione koloidem kwasochłonny.

W wycinkach pobranych z płuc stwierdzono obrzęk i świeże przekrwienie oraz zmiany zapalne w różnym stadium.

Badanie makroskopowe mózgu wykazało obrzęk mózgu i przekrwienie opon. Badaniem mikroskopowym stwierdzono objawy obrzęku i niedotlenienia pod postacią niewielkich opustoszeń komórkowych w korze mózgu, ischemicznych zmian komórkowych w części komórek jąder podstawy i pnia mózgowego, rozlanej glejzozy (i paru grudek — prawdopodobnie w związku z zapaleniem płuc), poszerzeniu przestrzeni okołonaczyniowych oraz zastoju. Ponadto w niektórych komórkach oliwy dolnej, jądra wielkokomórkowego opuszki oraz rogów przednich odcinka lędźwiowego rdzenia kręgowego widoczne było nagromadzenie lipofuscyny. Zabarwiono w kierunku obecności glikogenu skrawki z odcinka szyjnego, piersiowego i lędźwiowego rdzenia kręgowego. Zabarwiono skrawki metodą: PAS, PAS-diastraza, PAS-Dimedon. Wykazały one, najwyraźniejsze w skrawkach z okolicy lędźwiowej, nagromadzenie związków PAS-dodatnich. Ponieważ analogiczne zmiany stwierdzono w przypadku kontrolnym, w którym komórki rogów przednich rdzenia zawierały dużą ilość lipofuscyny — przeprowadzono barwienia w kierunku lipofuscyny. Zarówno metoda Huecka z błękitem Nilu jak też metoda chromowo-ałunowa wykazały obecność lipofuscyny. Należy więc przyjąć, że PAS-dodatnie ciała w komórkach rogów przednich odpowiadają lipofuscynie.

Obwodowy układ nerwowy nie wykazywał uchwytłych odchyłeń.

Mięśnie poprzecznie prążkowane. Do badania mikroskopowego pobrano wycinki z następujących mięśni: języka, sutkowo-mostkowo-obojęzykowego, czworobocznego, naramiennego, piersiowego większego, dwugłowego i trójgłowego ramienia, ramiennie-promieniowego, m. kłębu, międzyżebrowego, prostego brzucha, przepony, lędźwiowego, czworogłowego uda, brzuchatego łydki, prostownika powierzchniowego palców stopy.

W mikroskopie świetlnym poza mięśniami prostownikiem powierzchniowym palców stopy i kłębu stwierdzono zmiany charakteryzujące się różną szerokością włókien mięśniowych (przy czym włókna szersze i węższe były nieregularnie przemieszane) oraz rozrostem tkanki łącznej i tłuszczowej w *endo-* i *perimysium*. Liczne włókna mięśniowe wykazywały zmiany szkliste oraz zmiany zwyrodnieniowe różnego rodzaju. Tak więc prawie we wszystkich mięśniach stwierdzono zmiany charakterystyczne dla uszkodzenia pierwotnie mięśniowego. Różnice pomię-

dzy poszczególnymi mięśniami polegały na różnym stopniu zaawansowania procesu chorobowego z wystąpieniem w niektórych mięśniach martwicy z fagocytozą, nacieków zapalnych oraz odczynu regeneracyjnego. Najbardziej jednak charakterystyczną zmianą, obserwowaną w niektórych mięśniach, była obecność wodniczek różnego kształtu i wielkości (ryc. 6) występujących pojedynczo lub po kilka w jednym włóknie, pustych lub wypełnionych drobnoziarnistą substancją. Na przekroju podłużnym wodniczki te kształtu wrzecionowatej szczeliny wypełnione były piankową kwasochłonną substancją (ryc. 7) albo bardzo drobnymi ziarnistościami kwasochłonnymi (ryc. 8) lub nieco większymi zasadochłonnymi (ryc. 9). Mięśnie zawierające wodniczki barwione dodatkowo fioletem Hoffmanna, Sudanem czarnym B, metodą Hale'a oraz metodą Feulgena na obecność amyloidu, tłuszczu, kwaśnych mukopolisacharydów i kwasów nukleinowych. Wszystkie powyższe barwienia wypadały ujemnie. Natomiast barwienie metodą PAS oraz PAS z trawieniem diastazą, mimo pewnego upływu czasu po śmierci, wykazało obecność w mięśniach substancji barwiących się PAS-dodatnio i trawionych diastazą.

Charakter i intensywność zmian w poszczególnych mięśniach (ryc. 6, 7, 8, 9) przedstawia załączona tabela nr 1. Jak wynika z tabeli poza nie zmienionymi mięśniami kłębu i m. prostownikiem powierzchownym palców stopy najmniej zaawansowane zmiany widoczne były w m. brzuchatym łydki, ramiennie-promieniowym i w naramiennym, polegały one na nieznacznym rozroście tkanki łącznej, zmianach szklistych i nieznacznym zaniku włókien mięśniowych. Największe zmiany z obecnością martwicy, odczynu regeneracji i wodniczek stwierdzono w mięśniach: sutkowo-mostkowo-obojezykowym, dwugłowym i trójgłowym ramienia, w m. lędźwiowym i czworogłowym uda, przy czym najbardziej nasilone zmiany zwyrodnieniowe z obecnością nacieku zapalnego, złożonego głównie z limfocytów, stwierdzono w m. dwugłowym ramienia. Mięśnie czworoboczny, piersiowy wielki, międzyżebrowy, prosty brzucha i przepona wykazywały przede wszystkim różnego stopnia zanik włókien mięśniowych, przerost tkanką łączną i tłuszczową oraz zmianami zwyrodnieniowymi z obecnością wodniczek tylko w pojedynczych włóknach mięśniowych.

Badanie mikroskopowo-elektronowe tkanki mięśniowej wykonano na materiale zabezpieczonym jeszcze za życia chorej. Badanie mikroskopowo-elektronowe mięśnia piszczelowego przedniego wykazało zachowany układ miofibrilli znajdujących się w stanie skurczu (niewidoczne prążki I i M). Szerokość ich jednak była bardzo różna, obok miofibrilli o prawidłowej szerokości widoczne były miofibrille bardzo wąskie, oddzielone od siebie szerokimi przestrzeniami

Tabela 1. Charakter i intensywność zmian histologicznych w poszczególnych mięśniach

Table 1. Type and degree of histological changes in muscle

Mięsień Muscle	Rozrost tk. łącznej i tłuszczowej w endo- i rermysium Proliferation of connective and fat tissue in endomysium-perimys.	Zanikłe włókna mięśniowe Atrophy of muscle fibres	Zmiany zwyrodnieniowe wł. mięśniowych Degenerative changes of muscle fibres	Martwica z fagocytozą włókien mięśniowych Necrosis with fagocytosis of muscle fibres	Obecność wodniczek Vacuoles	Nacieki Infiltration	Regen. włókna Regenerated muscle fibres
M. języka Tongue	++ ++	++	+	-	-	-	-
Sutkowo-mostkowo- kowo-obojęzyk. Sterno-cleido mastoid	+++ +++	+++	++	+	++	-	-
Czworoboczny Qudratus	++ ++	++	+++	-	+	-	-
Piersiowy wielki Pectoralis major	++ ++	++	++	+	+	-	+
Naramienny Deltoideus	+ +	+	+	-	-	-	-
Dwugłowy ramienia Biceps brachii	++ ++	++	+++	++	+++	+	++
Trójgłowy ramienia Triceps brachii	++ ++	++	++	++	++	-	++
Ramienno-promieniowy Brachio-radialis	+ +	+	+	-	-	-	-
M. kłębu I palca Thenar	- -	-	-	-	-	-	-
Międzyżebrowy Intercostal	++ ++	++	++	-	-	-	+
Prosty brzucha Rectus abdomin	++ ++	++	+	-	-	-	-
Przepona Diaphragma	+++ +++	+++	+	+	+	-	-
Lędźwiowy Lumbalis	++ ++	++	++	+	+	-	-
Czworogłowy uda Quadriceps femoris	++ ++	+	++	++	++	-	++
Brzuchaty łydki Gastrocnemius	+ +	+	-	-	-	-	-
Prostownik powierzchowny palców stopy Extensor digitorum Superfic	- -	-	-	-	-	-	-

+ nieznaczny, pojedyncze  
slight, single  
+++ znaczny, wiele  
significans, many

++ średniego stopnia, kilkanaście  
moderate, several

międzywłókienkowymi. W przestrzeniach tych widoczne były duże ilości ciemnych skupionych cząstek wielkości od 150—500 Å. Cząstki te, będące glikogenem, widoczne są w niewielkiej ilości w prawidłowych włóknach mięśniowych w przestrzeniach międzywłókienkowych (ryc. 10) oraz w okolicy prążka Z. Rozległe skupiska glikogenu w przestrzeniach międzywłókienkowych powodowały w niektórych miejscach przerwanie ciągłości miofibrilli z ich niszczeniem i powstawaniem przestrzeni wypełnionych glikogenem z zatopionymi w nich mitochondriami i elementami siatki sarkoplazmatycznej. Nadmierne gromadzenie glikogenu widoczne było także w okolicy podotoczkowej (ryc. 11) z powstawaniem rozległych skupień tworzących uwypuklenie sarkolemy. Ponadto glikogen widoczny był w przestrzeniach między filamentami w obrębie sarkomeru oraz w okolicy prążka Z. Niektóre włókna mięśniowe wykazywały wyraźny zanik, a na przekroju podłużnym otoczone nie zmienioną sarkolemmą zawierały kilka bardzo wąskich miofibrilli miejscami o przerwanej ciągłości (ryc. 12) przez nadmierne gromadzący się glikogen. Poza cząstkami glikogenu, leżącymi wolno we włóknach mięśniowych, widoczne były skupiska cząstek glikogenu otoczone dobrze widoczną pojedynczą błoną. Struktury te, prawdopodobnie lizosomy, różnego kształtu i wielkości widoczne były w przestrzeniach międzywłókienkowych i pod otoczką. Ułożone były pojedynczo (ryc. 13), lub po kilka (ryc. 14), często zawierały wodniczki trawienne. W obrębie systemu poprzecznego siatki sarkoplazmatycznej nie stwierdzono zmian, natomiast kanały podłużne siatki były miejscami nadmiernie poszerzone i tworzyły duże wodniczki (ryc. 15), zawierające osmofilną substancję. Mitochondria różnej wielkości o dobrze zachowanych grzebieniach mitochondrialnych i macierzy widoczne były w przestrzeniach międzywłókienkowych na wysokości prążka Z lub zatopione w skupiskach glikogenu międzywłókienkowego. Nie stwierdzono zmian w obrębie jąder leżących typowo na obwodzie komórki oraz otaczającej włókno mięśniowe sarkolemmie.

#### PODSUMOWANIE PRZYPADKU

Postępujące w ciągu 5 lat osłabienie mięśni z narastającymi niekształceniami kostnymi, wysoki poziom transaminaz, aldolazy, kreaty노fosfokinazy surowicy, zapis EMG o cechach uszkodzenia mięśniowego, zwyrodnienie wodniczkowe mięśni w mikroskopie świetlnym obok innych cech pierwotnie mięśniowych pozwala rozpoznać miopatię. Utrzymująca się zmieniona krzywa cukrowa po obciążeniu glukozą, powiększenie serca z cechami niewydolności w ekg oraz stwierdzona w mikroskopie elektronowym obecność glikogenu w mięśniach (z lizoso-

mami naładowanymi glikogenem), pozwala na rozpoznanie glikogenozy, mimo braku potwierdzenia histochemicznego i biochemicznego, którego nie zdążono za życia pacjentki uzyskać.

#### DYSKUSJA

Glikogenoza mm. szkieletowych z kardiomegalią jest, jak powiedzieliśmy na wstępie, charakterystyczna dla typu II Pompe (Pompe 1932, Garancis 1965, Cardiff 1966). Przypuszczenie co do istnienia w naszym przypadku tego typu glikogenozy potwierdzać może przede wszystkim obraz mikroskopowo-elektronowy, w którym stwierdziliśmy nadmierne gromadzenie się glikogenu w przestrzeniach międzywłókienkowych oraz obecność struktur otoczonych błoną, naładowanych glikogenem, prawdopodobnie lizosomów.

Obecność glikogenu w mięśniach w mikroskopie elektronowym opisywana była dotąd w trzech typach glikogenozy, a mianowicie w II, III i V.

Prawidłowa struktura glikogenu w mięśniach w omawianym przypadku pozwalała brać pod uwagę tylko te rodzaje glikogenoz, dla których jest charakterystyczna właśnie prawidłowa struktura, a więc typ II i V. Nadmierne gromadzenie się glikogenu tak w przestrzeniach międzywłókienkowych jak i w obrębie samego sarkomeru obserwowana była zarówno w chorobie McArdle'a (Schotland 1965, Delwaide i in. 1967) jak i chorobie Pompego. Glikogenozę typu McArdle'a pozwala nam jednak wykluczyć nietypowy dla tego schorzenia przebieg, brak osłabienia i bólów mięśniowych po wysiłku, a przede wszystkim w sposób decydujący prawidłowa aktywność fosforylazy. Zarówno w klasycznej postaci Pompego z kardiomegalią (Baudhuin i in. 1964, Garancis i in. 1965, Cardiff 1966, Hug 1966, 1967) jak i w przypadkach bez zmian w m. sercowym (Zellweger 1965, Courtecuissf i in. 1965, Smith 1967) poza gromadzeniem się glikogenu w przestrzeniach międzywłókienkowych obserwowano obecność licznych lizosomów naładowanych cząsteczkami glikogenu. Struktury te zgodnie z dokumentacją mikroskopowo-elektronową były opisywane we wszystkich przypadkach choroby Pompego. Nadmierna ilość glikogenu jest tu prawdopodobnie zależna od defektu mechanizmu lizosomów. Eksperymentalne prace de Duve (1963) wykazują, że enzymy lizosomalne kontrolują i przyspieszają śródkomórkowe trawienie eliminujące złoże glikogenu. Niedobór alfa 1-4 glukozydazy, enzymu lizosomalnego jest prawdopodobnie przyczyną gromadzenia się glikogenu wewnątrz lizosomów, struktur charakterystycznych dla choroby Pompego. Lizosomalny depozyt glikogenowy nie był obserwowany w chorobie McArdle'a (Schotland 1965, Delwaide i in. 1967) van Gierke czy Cori (Garancis i in. 1965).

Dla rozpoznania w naszym przypadku z całą pewnością choroby Pompego brak nam oczywiście podstawowego dowodu, jakim jest badanie bio- i histochemiczne.

Jeżeli chodzi o osobliwość kliniczną omawianego przypadku, to należy podkreślić wyjątkowo długi okres przeżycia i bardzo późne ujawnienie się defektu, niezwykle w piśmiennictwie, dotyczącym glikogenozy typu II. Przypadki o dłuższym niż klasycznie się przypuszczało okresie przeżycia opisywali Holmes (1960), Zellweger (1965), Courteuissf (1965), Smith (1967). Nie znaleźliśmy jednak poza opisem Holmesa i in. (1960) przypadku o tak długim jak nasz okresie przeżycia. Smith i wsp. (1967) uzależniają dłuższy okres przeżycia od mniejszego niż w klasycznych przypadkach uszkodzenia mięśnia sercowego i być może układu nerwowego. W każdym razie znani nam z piśmiennictwa chorzy, którzy przeżyli wczesne dzieciństwo, nie wykazywali klinicznie cech ciężkiego uszkodzenia serca. Wyjątek stanowi przypadek Antopola i wsp. (1940), gdzie rodzeństwo wykazywało kliniczne objawy sercowe bez cech uszkodzenia mm. szkieletowych. Natomiast Hers (1963) a następnie Garancis i in. (1965), Zellweger i in. (1965) i Smith i in. (1967) opisali przypadki glikogenozy typu II bez zmian w mięśniu sercowym.

Nasza chora klinicznie i elektrokardiograficznie wykazywała objawy uszkodzenia mięśnia sercowego, jednakże ustępowały one bezwzględnie na plan dalszy wobec wybitnie wyrażonego zespołu miopatycznego. Z tym faktem wiązać się może długi okres przeżycia. Opisany przypadek, tak jak i nieliczne przypadki z nowszego piśmiennictwa, pozwalają zmienić pogląd na szybką dynamikę i wczesne zejście śmiertelne, jako cechy charakteryzujące chorobę Pompego. Być może istnieje łagodniejsza odmiana tej glikogenozy, której odrębność od typu klasycznego może zależeć od szeregu nieznanych jeszcze czynników. Można również rozważać, czy nie jest to inny typ glikogenozy, podobny tylko pod wieloma względami do choroby Pompego, ale różniący się od niej jakimś defektem, którego — być może — nie zdołaliśmy wykryć.

А. Фидзяньска, И. Хаусманова-Петрусевих

МИОПАТИЯ У 19-ЛЕТНЕЙ ДЕВУШКИ, С ПОСМЕРТНЫМ ДИАГНОЗОМ  
ГЛИКОГЕНОЗА

С о д е р ж а н и е

Описан случай 19-летней девушки с контрактурами и признаками повреждения скелетных мышц и сердечной мышцы. Электромиографические исследования и биопсия мышцы обнаружили миопатические изменения.



Посмертное исследование мышц, кроме других признаков, первичного мышечного повреждения, обнаружило наличие многочисленных вакуолей в сердечной и скелетных мышцах. Ультраструктурная картина характеризовалась наличием частиц гликогена в межфибрилярных пространствах и под сарколеммой, а также скоплениями гликогена, окруженными одинарной оболочкой — лизосомами. Дискутируется наличие гликогена внутри лизосомов. Известно, что присутствие гликогена внутри лизосомов связано с дефектом  $\alpha$  глюкозидазы, характерным для II типа гликогеноза. Описанный случай кажется интересным ввиду довольно долгого периода жизни больной, что является редкостью для болезни Помпе.

A. Fidziańska, I. Hausmanowa-Petrusewicz

NINETEEN-YEAR GIRL WITH MYOPATHY DIAGNOSED POST MORTEM  
AS GLYCOGEN DISEASE

Summary

The case of 19-year girl with cardio-skeletal myopathy and muscles contractures is described.

EMG examination and muscle biopsies showed a myopathic changes. The post mortem examination revealed presence of numerous vacuoles in the myocardium and skeletal muscle fibres. Moreover, the other myopathic changes in skeletal muscles were seen. Electron microscopic examination of the muscle revealed a dual localization of glycogen deposits. Many of glycogen granules were disappeared in the sarcoplasm between the myofibrils and under the sarcolemma. The others formed aggregats which were surrounded by a single membrane (lysosomes?). The localization of glycogen inside lysosomes is discussed. It is known, that deposits of glycogen inside lysosomes are connected with defect of a lysosomal  $\alpha$ -glucosidase and that it is characteristic for II type of glycogenosis. Described case seems to be interesting because of unusual for glycogenosis of type of Pompe, long duration of the disease.

PIŚMIENICTWO

1. Antopol W., Boas E. P., Levison W., Tuchman L. R.: Cardiac storage disease in a 15-year-old boy. *Amer. Heart J.*, 1940, 20, 546—557.
2. Baudhuin P., Hers H. G., Loeb H.: An electron microscopic and biochemic study of type II glycogenosis. *Labor. Invent.*, 1964, 13/9, 1139—1152.
3. Cardiff R. D.: A histochemical and electron microscopic study of skeletal muscle in case of Pompe's disease (glycogenosis II). *Pediatrics*, 1966, 37/2, 249—259.
4. Childs A. W., Crose R. F., Henderson P. H.: Glycogen disease of the heart. *Pediatrics*, 1952, 10, 208—218.
5. Courtecuissif K., Royer P., Habib R., Monnier C., Demos J.: Glycogenose musculaire par deficit d'alpha 1,4-glucoSIDase simulant une dystrophie musculaire progressive. *Arch. franc. Pediat.*, 1965, 22/10, 1153—1164.
6. Delwaide P. J., Reznik M., Lemaire R., Lelievre P., Bonnet F.: A propos d'une nouvelle observation d'absence de phosphorylase dans le muscle strie. *Rev. Neurol.*, 1967, 116/2, 119—140.

7. Duve de C.: The lysosome. *Sci Amer.*, 1963, 208, 64—87.
8. Garancis J., Hug G., Schubert W., Kaplan S.: Comparative electron microscopy of generalized glycogen storage disease (Pompe's) and of amylo-1,6-glucosidase deficiency (Coris). *Clin. Res.*, 1965, 13/2, 322—335.
9. Günther R.: Beitrag zur Kenntnis der glykogen Speicherkrankheit. *Virchows. Arch. path. Anat.*, 1939, 304, 87—103.
10. Hers H. G.: Alpha 1,4-glucosidase deficiency in generalized glycogen storage disease (Pompe disease). *Biochem. J.*, 1963, 86, 11.
11. Holmes J. M., Houghton C. R., Woolf A. L.: A myopathy presenting in adult life with features suggestive of glycogen storage disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psych.*, 1960, 23, 302—312.
12. Hug G., Garancis J. C., Schubert W. M., Kaplan S.: Glycogen storage disease. Types II, III, VIII and IX. A biochemical and electron microscopic analysis. *Amer. J. Dis. Child.*, 1966, 111/5, 457—474.
13. Hug G., Schubert W. K.: Glycogenosis Type II. Glycogen distribution in tissues. *Arch. Path.*, 1967, 84/2, 141—152.
14. Krivit W., Polgase W. J., Gunn F. D., Tyler F. H.: Studies in disorders of muscle IX. *Pediatrics*, 1953, 12, 165—176.
15. Pompe J. C.: Over idiopathische hypertrophie van het hart. *Nederl. Tijdschr. Geneesk.*, 1932, 76, 304—311.
16. Schotland D. J., Spiro D., Rowland L. P., Carmel P.: Ultrastructural studies of muscle in McArdle's disease. *J. Neuropath. Ex. Neur.*, 1965, 24/4, 629—644.
17. Smith J., Zellweger H., Afifi A. K.: Muscular form of glycogenosis, type II (Pompe). *Neurol.*, 1967, 17/16, 537—549.
18. Zellweger H.: Glykogenspeicher Krankheiten. *Dtsch. med. Wschr.*, 1956, 81, 1907—1917.
19. Zellweger H., Brown B. J., Mc Cormick W. F., Jun-Bi Tu.: A mild form of muscular glycogenosis in two brothers with alpha 1,4-glucosidase deficiency. *Ann. paediat.*, 1965, 205, 413—437.

Adres autorów: Klinika Neurologiczna AM. Warszawa, ul. Oczki 6.

*Ryc. 3.* Przekrój poprzeczny mięśnia piszczelowego przedniego. Włókna mięśniowe różnej wielkości z proliferującą tkanką łączną wykazują zmiany szkliste, w jednym włóknie widoczne małe wodniczki. Barwienie hematoksyliną-eozyną. Powiększenie 400 X.

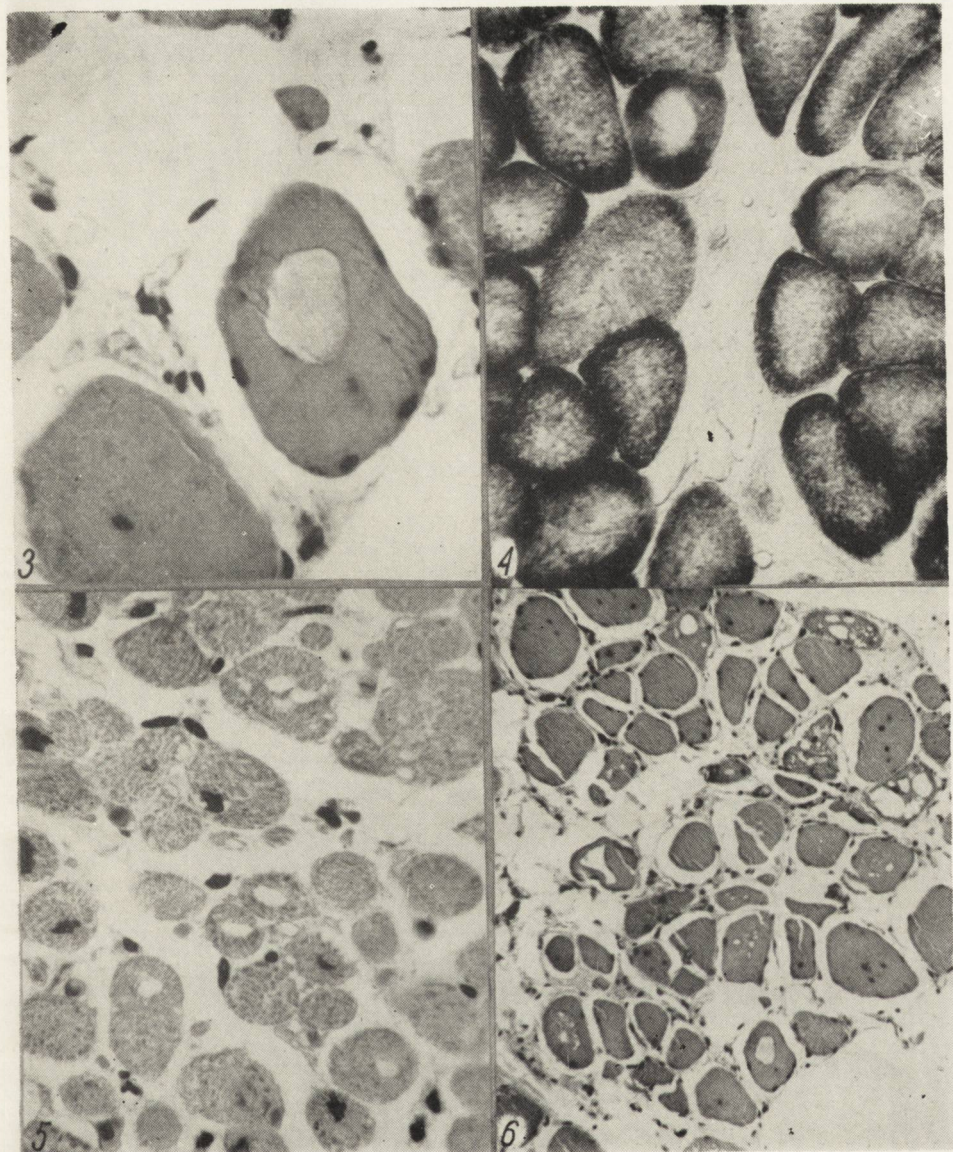
*Fig. 3.* Gross section of tibialis anterior muscle. Variation in fibre diameter and proliferation of endomysial connective tissue. Hyalinization of muscle fibres, one of them shows vacuoles. Hematoxylin-eosin. Mag. X 400.

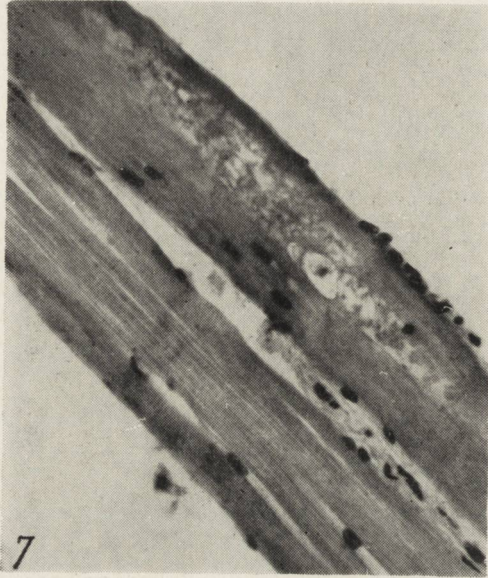
*Ryc. 4.* Przekrój poprzeczny mięśnia piszczelowego przedniego. Obniżona aktywność enzymów utleniających wewnątrz włókien. Jedno włóknko pozbawione całkowicie aktywności enzymatycznej w centrum. Dehydrogenaza 120 X.

*Fig. 4.* Cross section of tibialis anterior muscle. Decrease activity of the oxidative enzymes in all muscle fibres. At the central part of one muscle fibre activity of the oxidative enzymes are completely absent. Succinic dehydrogenase X 120.

*Ryc. 5.* Przekrój podłużny m. sercowego. Włókna mięśniowe różnej wielkości. W wielu włóknach widoczne liczne wodniczki. Barwienie hematoksyliną-eozyną. Powiększenie 400 X.

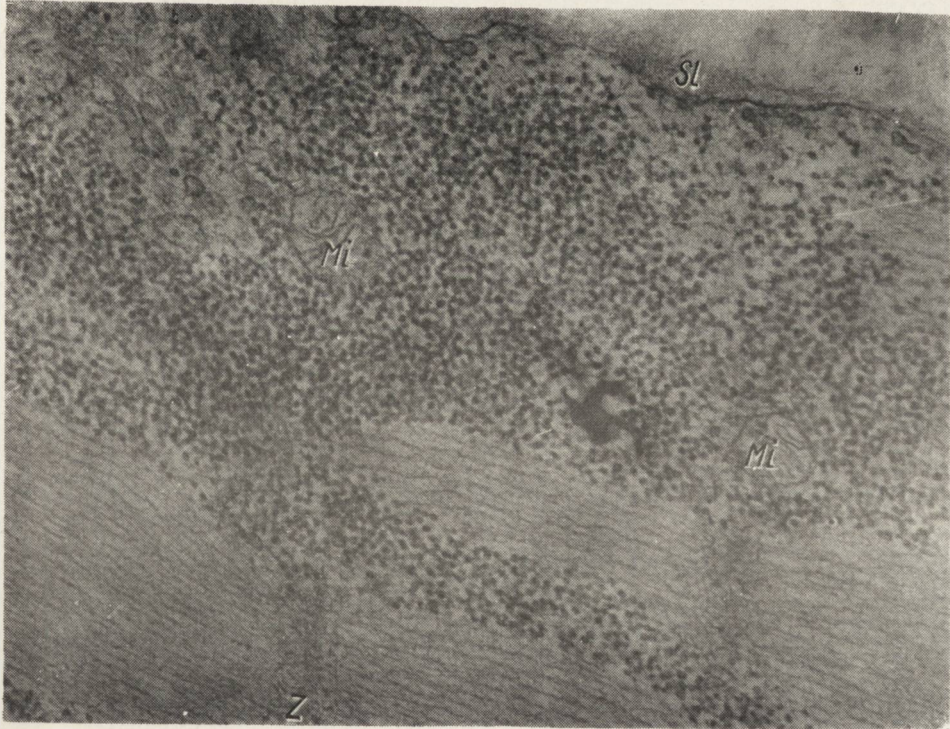
*Fig. 5.* Cross section of cardiac muscle. Variation in fibre diameter of muscle fibres. In many muscle fibres numerous vacuoles are seen. Hematoxylin-eosin. Magn. X 400.







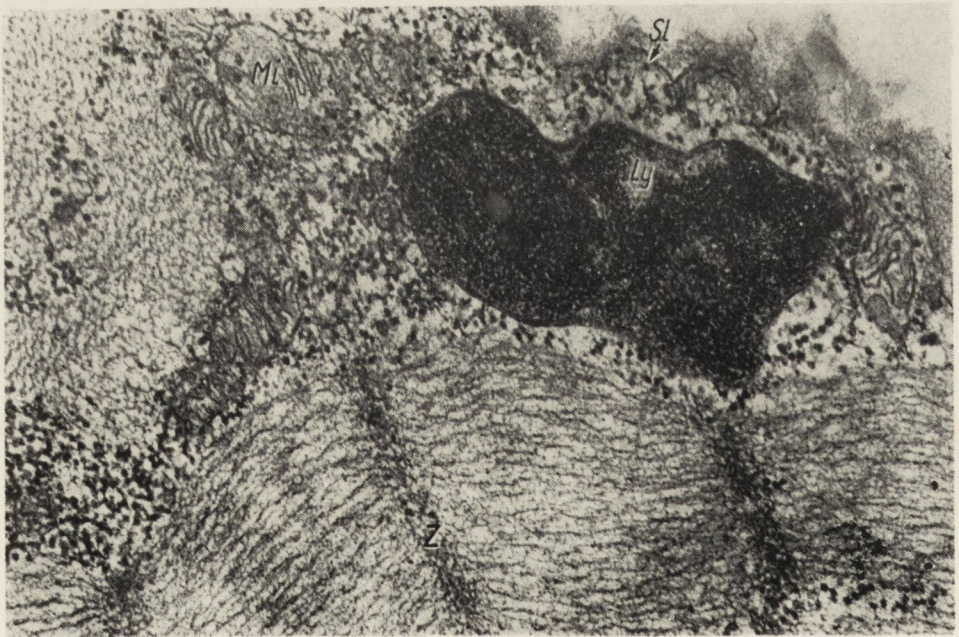
Ryc. 10.



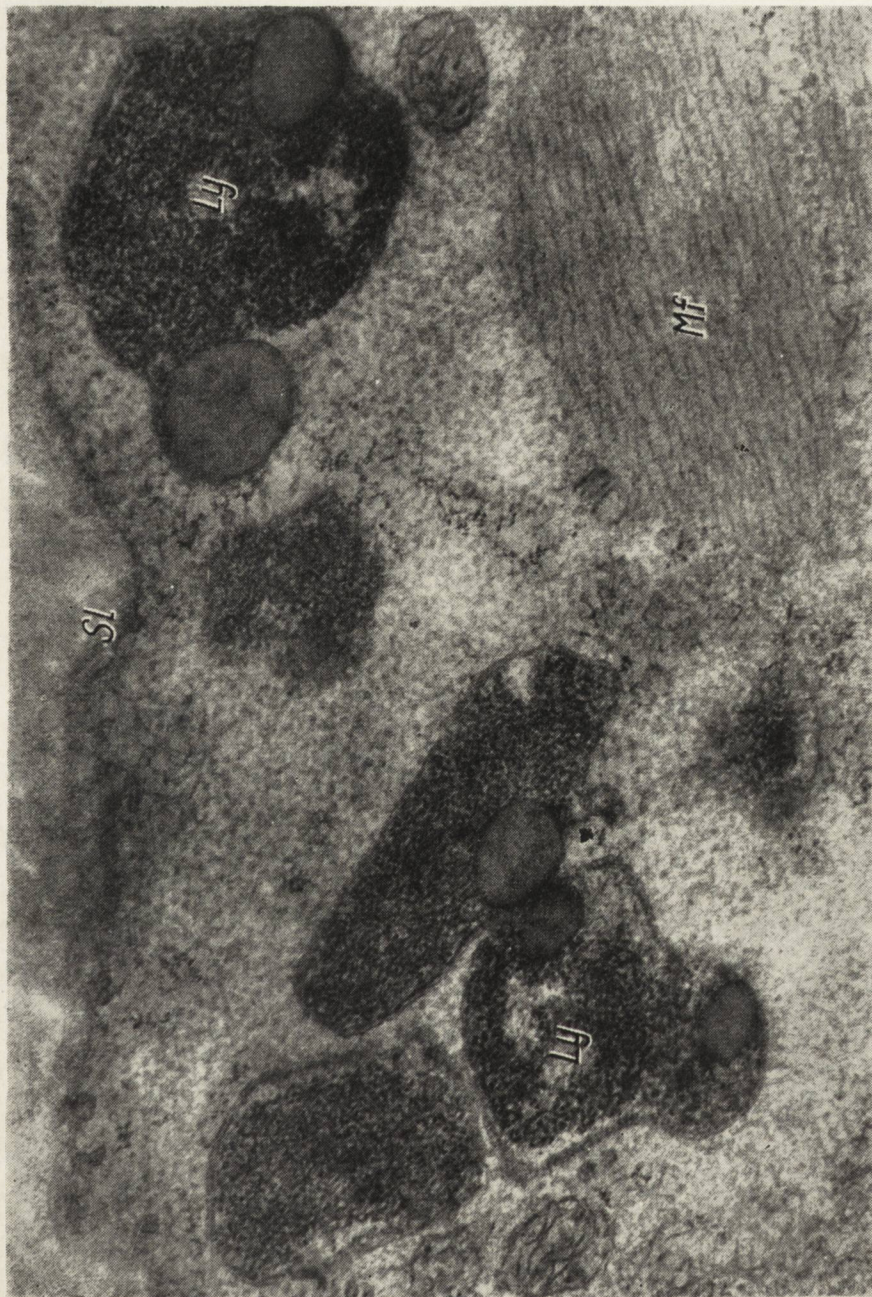
Ryc. 11.



Ryc. 12.



Ryc. 13.



Ryc. 14.



Ryc. 15.



*Ryc. 6.* Przekrój poprzeczny mięśnia dwugłowego ramienia. Włókna mięśniowe różnej wielkości wśród rozrastającej się tkanki łącznej w endomysium. W wielu włóknach widoczne liczne wodniczki. Barwienie hematoksyliną-eoźną. Powiększenie 100 X.

*Fig. 6.* Cross section of biceps muscle. Variation in fibre diameter and proliferation of endomysial connective tissue. In many muscle fibres numerous vacuoles are seen. Hematoxylin-eosin. Magn. X 100.

*Ryc. 7.* Przekrój podłużny mięśnia dwugłowego ramienia. W części centralnej wł. mięśniowego widoczna piankowata kwasochłonna substancja. Barwienie hematoksyliną-eoźną. Powiększenie 200 X.

*Fig. 7.* Longitudinal section of biceps muscle. In the centre part of muscle fibre are seen foamy acidophylic substance. Hematoxylin-eosin. Magn. X 200.

*Ryc. 8.* Przekrój podłużny mięśnia czworogłowego uda. Widoczna duża wodniczka z licznymi kwasochłonnymi ziarnistościami. Barwienie hematoksyliną-eoźną. Powiększenie 400 X.

*Fig. 8.* Longitudinal section of quadriceps muscle. A large vacuole contained numerous acidophylic granules are seen. Hematoxylin-eosin. Magn. X 400.

*Ryc. 9.* Przekrój podłużny mięśnia sutkowo-mostkowo-obojęzykowego. W części środkowej włókna mięśniowego z zachowanym charakterystycznym prążkowaniem widoczne wodniczki z zasadochłonnymi ziarnistościami. Barwienie hematoksyliną-eoźną. Powiększenie 800 X.

*Fig. 9.* Longitudinal section of sterno-cleido-mostoid muscle. A large vacuole contained basophilic granules are seen inside muscle fibre which shows normal cross strations. Hematoxylin-eosin. Magn. X 800.

*Ryc. 10.* Przekrój podłużny prawidłowego mięśnia czworogłowego uda. Prawidłowa ilość glikogenu w przestrzeniach międzywłókienkowych i w okolicy prążka Z. Powiększenie 36,000 X.

*Fig. 10.* Longitudinal section of normal quadriceps femoris muscle taken from the healthy girl aged 8. Normal number of glycogen granules are seen within the intramusculare spaces and Z-band. Electron micrograph X 36,000.

*Ryc. 11.* Przekrój podłużny m. piszczelowego przedniego; nagromadzenie glikogenu pod sarkolemmą (S1) i w przestrzeniach międzywłókienkowych. Powiększenie 48,000 X.

*Fig. 11.* Longitudinal section of tibialis anterior muscle in our patient. Large glycogen areas are seen under the sarcolemma (S1) and within the intramusculare spaces. Electron micrograph X 48,000.

*Ryc. 12.* Przekrój podłużny mięśnia piszczelowego przedniego. Bardzo wąskie włókno mięśniowe z widoczną z obu stron sarkolemmą (S1). Nagromadzenie glikogenu w przestrzeniach międzywłókienkowych z przerwaniem ciągłości miofibrilli (Mf). Widoczne lizosomy naładowane glikogenem (Ly). Powiększenie 48,000 X.

*Fig. 12.* Longitudinal section of tibialis anterior muscle. Very narrow muscle fibre with normal sarcolemma (S1). Glycogen deposits within the intramusculare spaces, and loss of continuity of myofilament (Mf) may be observed. Lysosomes (Ly) contained plenty of granules of glycogen. Magn. 48,000 X.

*Ryc. 13.* Przekrój podłużny m. piszczelowego przedniego. Pod sarkolemmą (S1) widoczne skupisko glikogenu otoczone pojedynczą błoną — prawdopodobnie lizosom (Ly). Powiększenie 56,000 X.

*Fig. 13.* Longitudinal section of tibialis anterior muscle. Under the sarcolemma (S1) are seen aggregates of glycogen granules surrounded by a single membrane (lysosom) (Ly). Electron micrograph X 56,000.

*Ryc. 14.* Olbrzymie lizosomy (Ly) z glikogenem i wokuolami trawiennymi w okolicy podotoczkowej. Powiększenie 56,000 X.

*Fig. 14.* Longitudinal section of tibialis anterior muscle. Under the sarcolemma large lysosomes (Ly) with aggregates of glycogen granules and digestive vacuoles can be seen. Electron micrograph X 56,000.

*Ryc. 15.* Przekrój podłużny m. piszczelowego przedniego. Nadmierne gromadzenie glikogenu w przestrzeniach międzywłókienkowych i w okolicy prążka Z. Rozdęty kanał podłużny siatki sarkoplazmatycznej (Sr) z osmofilną substancją. Powiększenie 48,000 X.

*Fig. 15.* Longitudinal section of tibialis anterior muscle. Glycogen deposits within the intramusculare spaces and in the region of Z — band are seen. Longitudinal cannales of sarcoplasmic reticulum (Sr) are enlarged and contained osmophilic substance. Electron micrograph X 48,000.

M. DAMBSKA, M. BERARD-BADIER, M. TOGA, N. PINSARD

A PROPOS DES MALFORMATIONS COMPLEXES DU CORTEX,  
DES VENTRICULES ET DU NOYAU CAUDÉ DANS UN CAS  
D'UNE FRATRIE DES MICROCEPHALES

Department de Neuropathologie, Centre Scientifique de Médecine Experimentale  
et Clinique d l'Academie Polonaise des Sciences à Varsovie

Dir. Prof. dr Z. Ruszczewski

Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Prof. dr H. Gastaut

Service de Clinique des Maladies Infantiles de la Faculté de Médecine  
de Marseille, Prof. dr Bernard

Laboratoire de l'INSERM — Service d'Anatomie Pathologique CHU — Nord  
Prof. dr P. Laffargue

Le cas que nous décrivons dans ce travail présente des malformations complexes du système nerveux central. De telles anomalies ont déjà été décrites à plusieurs reprises, mais les conclusions concernant la pathogénèse et la période d'installation de chacune d'elles diffèrent selon les auteurs. Leurs coexistence dans un même cerveau ainsi que les données relatives à leur caractère familial peuvent, à notre avis, apporter une contribution nouvelle à la connaissance de ce problème.

Il s'agit d'un enfant F. M. âgée de 16 mois, première née chez des parents cousins germains. Après la mort de notre malade est née une autre fille, actuellement âgée de 18 mois, qui présente cliniquement le même aspect. Dans les antécédents, nous retenons une syphilis chez le père à l'âge de 15 ans et chez la mère un traitement avant et pendant la grossesse à base de tranquillisants et d'extraits thyroïdiens. Dès la naissance, l'enfant est hypotrophique et par la suite, présente un retard psycho-moteur important avec crises convulsives latéralisées à gauche, suivies d'une hémiparésie du même côté. L'examen clinique met en évidence une cataracte nucléaire et capsulaire bilatérale ainsi qu'une surdité. L'examen EEG montre des signes irritatifs du côté droit.

L'encéphalographie gazeuse décèle une asymétrie ventriculaire importante. La présence d'un syndrome hémorragique surajouté fait envisager le diagnostic d'hématome intra-cérébral du côté droit. Le malade meurt pendant la tentative d'anesthésie. L'autopsie n'a pu être pratiquée complètement, seul le cerveau a pu être prélevé.

L'examen macroscopique: Le cerveau pèse 535 g., il montre une atrophie corticale généralisée, prédominant dans les régions hémisphériques antérieures. Le cervelet et le tronc cérébral sont normaux.

Les coupes vertico-frontales confirment la présence d'une asymétrie ventriculaire prédominant sur le ventricule latéral gauche. Les cornes antérieures des deux côtés paraissent mal développées alors que les cornes inférieures, postérieures ainsi que le III ventricule sont fortement dilatés.

L'examen microscopique est pratiqué sur les coupes à la paraffine vertico-frontales et bi-hémisphériques, passant par les pôles occipitaux, le tronc cérébral et le cervelet. Les techniques suivantes de coloration ont été utilisées: crésyl-violet, méthode de Heidenhain, hémateïne-éosine, trichrome de Masson, PAS, Kossa, méthode de Glees. Sur les coupes à la congélation: Soudan rouge.

L'étude histologique du cervelet et du tronc cérébral ne décèle pas d'altération. Par contre les hémisphères cérébraux présentent des modifications intéressant les ventricules, les noyaux caudés et le cortex.

Les ventricules sont asymétriques (fig. 1) au niveau du lobe frontal (fig. 2) le septum lucidum et le pilier du trigone sont déplacés vers la droite, le ventricule latéral droit est réduit à une simple fente verticale, le gauche est beaucoup plus grand. Leur portion horizontale n'est pas visible, elle est remplacée par une soudure qui unit le noyau caudé et le corps calleux. L'épendyme à ce niveau reste visible, représenté par une travée cellulaire bi-stratifiée, formant par places des rosettes ou des cavités pseudo-kystiques (fig. 3). En certains points le revêtement a complètement disparu, remplacé par la glie sous épendymaire. Cette asymétrie se poursuit d'avant en arrière; le corps calleux est très mince, il reste soudé au noyau caudé des deux côtés par sa portion ventrale; du côté gauche, il fait corps avec le cingulum par sa portion dorsale. Une asymétrie des circonvolutions est ainsi réalisée le long de la scissure interhémisphérique gauche. La partie centrale de la cavité ventriculaire est dilatée; le trigone repoussé vers le corps calleux laisse un large passage béant à l'union des ventricules latéraux et du III ventricule. Les cornes inférieures et postérieures sont dilatées, surtout du côté gauche, leurs parois sont constituées soit par l'épendyme, soit par la glie sous-épendymaire telles qu'on les observe dans les hydrocéphalies. Les noyaux caudés sont aussi malformés, on observe fréquemment appendus à leur masse, des filots de cellules nerveuses rappelant la structure des formations striées. D'autres filots ronds, hétérotopiques qui leur ressemblent beaucoup sont parsemés dans l'axe blanc de F, et F<sub>2</sub> (fig. 4).

Les préparations myéliniques mettent bien en évidence aussi des paleurs à contours mal définis, prédominant dans la circonvolution F<sub>3</sub>

gauche; elles correspondent à l'arrêt de migration d'un contingent neuronal peu dense.

En outre, dans les circonvolutions cérébrales, différents types d'anomalies sont observées:

1. On note la présence de petites verrucosités situées à la surface de plusieurs gyrus (fig. 6), invisibles à l'oeil nu, comprenant du tissu glial et quelques neurones bien développés (fig. 7). Le leptoméninge susjacente est épaissie. Dans la moléculaire, on peut noter aussi de petits amas de cellules nerveuses provenant des couches II et III. Certains de ces ilots sont parcourus par un fin capillaire.

2. Il existe des formations de micropolygyries caractéristiques au niveau de TI (fig. 5).

3. Des soudures complètes de quelques circonvolutions dans leur portion distale réalisent des ponts intermoléculaires.

En dehors de ces malformations, on est frappé par une gliose isomorphe développée dans tout l'axe blanc, composée d'astrocytes protoplasmiques et fibrillaires avec participation de l'oligodendrogliose. Cette dernière forme souvent des amas autour des vaisseaux dont les parois sont discrètement épaissies. Des dépôts de pseudo-chaux sous forme de grains ou d'amas coralliformes parsèment la substance blanche et le noyau caudé. Ils prédominent au niveau de l'angle virtuel des ventricules latéraux.

Notons enfin une disparition complète, bilatérale et symétrique du secteur de Sommer de la corne d'Ammon.

#### COMMENTAIRES

Etant donnés leurs caractères macroscopiques et microscopiques, les modifications observées au niveau du système ventriculaires doivent être considérées comme des malformations. Elles appartiennent à un groupe décrit par Davidoff (1946), Epstein (1953), Bates et Netzký (1955), Castoulos (1958). Récemment, elles ont fait l'objet d'un travail suivant les données de la pneumoencéphalographie (Kozłowski, Dymecki 1967). Seuls Norman et McMenemey (1955) ont soulevé dans certains cas, l'hypothèse du rôle favorisant du traumatisme obstétrical dans l'apparition de telles adhérences. Ces soudures peuvent se rencontrer aux divers niveaux des ventricules. Dans les cornes antérieures, leur morphologie et leur étendue sont variables. Dans notre cas elles atteignent un degré d'intensité extrême dans l'un des hémisphères. On discute encore à quelle période de l'organogénèse ces accolements apparaissent. Castoulos

les situe entre la 9e et la 15e semaine, ils seraient en rapport avec les plis radiés existant à cette époque dans la partie antérieure des ventricules latéraux (Barbé 1938). Pour Bates et Netzky ces malformations se produiraient entre le 4e et le 6e mois de la vie intra-utérine lorsque le développement des hémisphères cérébraux rapproche le noyau caudé du corps calleux.

Ce type de malformations, d'après les cas rapportés dans la littérature, serait en général, isolé. Norman et McMenemey (1955) font mention d'un seul de leurs cas qui présentait cette coarctation associée à une micropolygyrie comme nous l'avons décrit dans notre observation. Ranke a décrit des anomalies corticales en 1910 sous le terme de *status corticis verrucosus deformis*. Jacob (1959) les considère comme moins rares. Morel et Wildi (1955) ont voulu distinguer la „dysgénésie nodulaire disséminée de l'écorce frontale” liée à un trouble très précoce du développement du mésenchyme angioformateur. Bertrand et Gruner (1955) Grecevic et Robert (1961) en s'appuyant sur quelques observations, ont tenté de rapprocher le *status verrucosus deformis* des micropolygyries et de la dysgénésie nodulaire disséminée de l'écorce en les considérant comme appartenant au même groupe. Le cas que nous venons de rapporter vient à l'appui de cette thèse. Pour ces derniers auteurs, ainsi que pour Ostertag (1956) ces anomalies se constitueraient vers le 5e mois du développement foetal au stade où le *status verrucosus simplex* passe à une autre étape de l'organisation de l'écorce. Cette période s'accorde aussi avec celle que Lyon et Robain (1967) indiquent pour une microgyrie secondaire à une lésion d'origine circulatoire.

Dans notre observation, la présence de plusieurs types de malformations nous pousse à rechercher la période commune du développement foetal au cours de laquelle ces différentes anomalies pourraient se développer. Etant donné la présence d'hétérotopies, cette période doit commencer avant la 15e semaine et peut se prolonger jusqu'au 5ème mois. C'est à cette époque que le *status verrucosus simplex* subit les remaniements physiologiques et que les cornes antérieures des ventricules latéraux commencent à dominer du fait de la croissance des hémisphères et de la formation définitive du corps calleux (Larroche 1966). Dans cette période, Bertrand et Gruner ainsi que Grecevic et Robert situent l'apparition des malformations gyrales et Bates et Netzky celles des ventricules.

Dans l'observation que nous venons de présenter l'étude du système nerveux central permet ainsi de confirmer le caractère malformatif des anomalies observées dans un cas d'une fratrie de microcéphales.

М. Домбска, М. Берар-Бадье, М. Тога, Н. Пенсар

ПО ПОВОДУ СЛУЧАЯ СЛОЖНЫХ ДЕФЕКТОВ КОРЫ, ЖЕЛУДОЧКОВ  
И ХВОСТАТОГО ЯДРА ПРИ РОДСТВЕННОЙ МИКРОЦЕФАЛИИ

Содержание

Работа касается случая сложных дефектов центральной нервной системы у ребенка с гидроцефалией, врожденной катарактой и глухотой. Аномалия охватывает систему желудочков и желудочковые структуры мозговых полушарий. Желудочковая система не симметрична. Между головкой хвостатого ядра и большой спайкой находится, в районе передних рогов, обширное соединение, особенно с левой стороны. В белом веществе полушарий находятся весьма многочисленные клеточные гетеротропии, частично связанные с хвостатыми ядрами, частично — подкорковые. В районе самой коры видны аномалии в виде 1. микрополигирий, 2. соединений между вершинами некоторых извилин и 3. зернистости на поверхности коры, содержащей в строении глиальные и нервные клетки. Формирование вышеуказанных дефектов должно было начаться с трех и пол месяца внутриутробного развития. Близкое родство родителей исследованного ребенка и подобная клиническая картина у его остающейся в живых единственной сестры указывают на семейный, может быть наследственный характер описываемых изменений.

M. Dąbska, M. Berard-Badier, M. Toga, N. Pinsard

PRZYPADK ZABURZEŃ ROZWOJOWYCH UKŁADU NERWOWEGO, KORY,  
KOMÓR I JĄDRA OGONIASTEGO. RODZENSTWO Z MIKROCEFALIA

Streszczenie

Opracowanie dotyczy przypadku złożonych wad ośrodkowego układu nerwowego u dziecka z wodogłowiem, zaćmą wrodzoną i głuchotą. Zaburzenie obejmuje układ komorowy oraz struktury komórkowe półkul mózgowych. Układ komorowy jest niesymetryczny, między głową jądra ogoniastego a spoidem wielkim istnieje w obrębie rogów przednich rozległe zespolenie szczególnie po stronie lewej. W istocie białej półkul znajdują się dość liczne heterotopie komórkowe, częściowo związane z jądrami ogoniastymi, częściowo podkorowe. W obrębie samej kory widać zaburzenie pod postacią: 1) mikropoligirii, 2) zespoleń między szczytami niektórych zwojów oraz 3) ziarnistości na powierzchni kory, zawierających w utkaniu komórki glejowe i nerwowe.

Kształtowanie się powyższych wad musiało rozpocząć się około trzech i pół miesiąca życia płodowego.

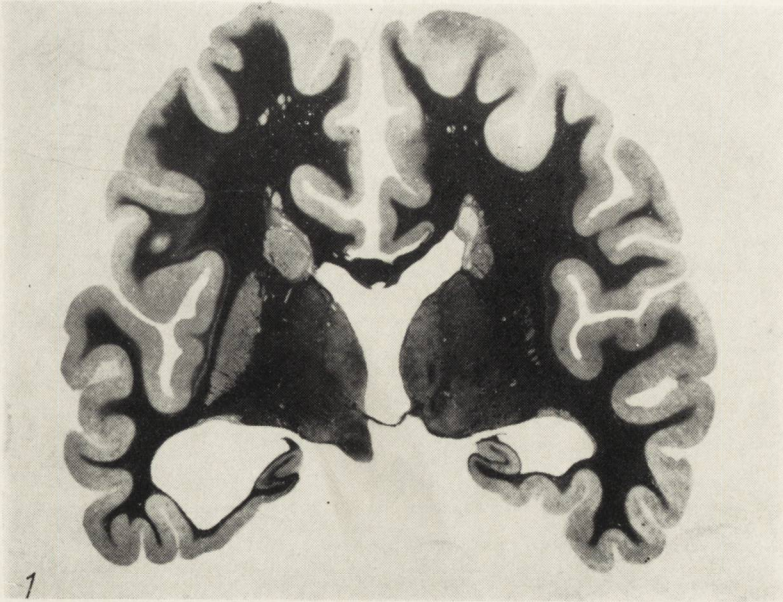
Bliskie pokrewieństwo rodziców badanego dziecka, podobny obraz kliniczny u jego żyjącej jedynej siostry wskazują na rodzinny, być może dziedziczny, charakter opisywanych zmian.

REFERENCES

1. Barbé A.: Recherches sur l'embryologie du système nerveux central de l'homme. Paris, Masson 1938.
2. Bates J. I., Netzky M. G.: Developmental anomalies of the horns of the lateral ventricles. J. Neuropath. Exp. Neurol., 1955, 14, 316—325.
3. Bertrand I., Gruner J.: The status verrucosus of the cerebral cortex. J. Neuropath. Exp. Neurol., 1955, 14, 331—347.

4. Castoulos G.: Un type peu connu d'anomalies des ventricules cerebraux. Les goniosynapses (étude anatomo-clinique et statistique). *Ann. anat. path.*, 3, 268—293.
5. Davidoff L. M.: Coarctation of the walls of the lateral angles of the cerebral ventricles. *J. Neurosurg.*, 1964, 3, 250—256.
6. Epstein J. A.: Coarctation of the walls of the lateral angles of the lateral cerebral ventricles a comparative anatomical study. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1953, 12, 302—309.
7. Grcevic N., Robert F.: Verrucose dysplasia of the cerebral cortex. (Dygénésie nodulaire disséminée of Morel et Wildi). *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1961, 20, 399—411.
8. Jacob H.: Considération statistique et évolutives sur les malformations du système nerveux central. Malformations congénital du cerveau. Paris, Masson 1959, 107—120.
9. Kozłowski P., Dymecki J.: Deformation of lateral ventricles of the brain due to ependymal fusions: Radiological and neuropathological study. *Acta Radiol. Materiels of VIII Symposium Intern. Neuroradiologicum 25—30.IX.1967 Paris.*
10. Laroche J. C.: Quelques aspects anatomiques du développement cérébral. *Biol. Neonat.*, 1962, 4, 126—153.
11. Lyon G., Robain O.: Etude comparative des encephalopathies circulatoires prénatales et para-natales (hydranencéphalies, parencephalies et encephalomalacies kystique de la substance blanche). *Acta Neuropath.*, 1967, 9, 79—98.
12. Morel F., Wildi E.: Dygénésie nodulaire disséminée de l'écorce frontale. *Rev. Neurol.*, 1955, 87, 251—270.
13. Norman R. M., McMenemey W. H.: Transventriculare adhaesion in association with birth injury of the caudate nucleus. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1955, 14, 85—91.
14. Ostertag B.: Die einzelformen der Verbildungen. *Hdb. Spez. Path. Anat. u. Histol.* XIII/4, 363—601 Springer Verlag, Berlin 1956.

Adres autora redagującego: Doc. M. Dąbbska — Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN. Warszawa, ul. Pasteura 3.

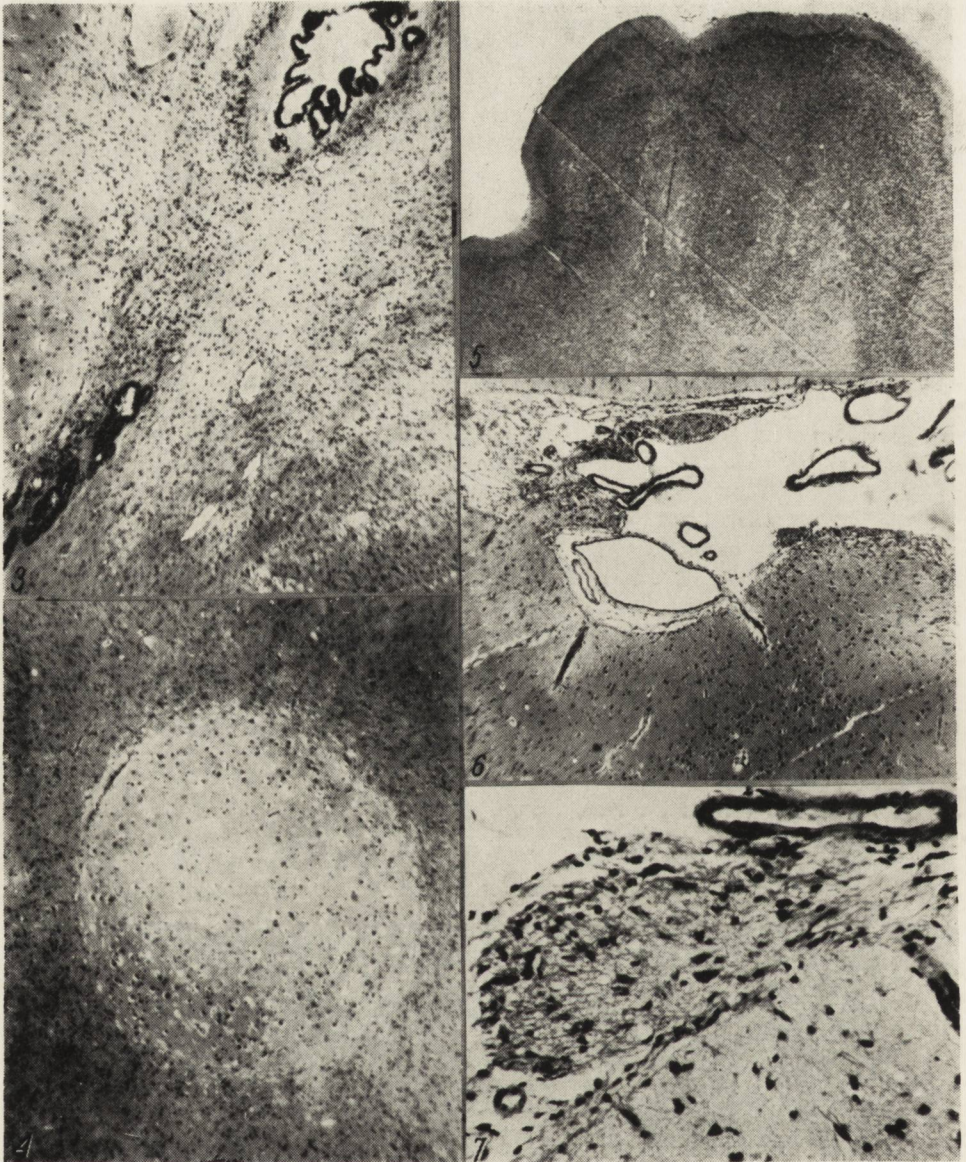


*Fig. 1.* Vue générale des hémisphères: assymétrie ventriculaire, hétérotopie et soudures entre les sommets des circonvolutions. Heidenhain.



*Fig. 2.* Assymétrie des cornes frontales de ventricules méthode. Hémateine—eosine.





*Fig. 3.* Soudure entre le corps calleux et noyau caudé. Crésil-violet.

*Fig. 4.* Un îlot hétérotopique dans la substance blanche du lobe frontal. Hémateine-eosine.

*Fig. 5.* Micropolgyrie au niveau du T1. Hémateine-eosine.

*Fig. 6.* Les verrucosités corticales. Crésil-violet.

*Fig. 7.* Les cellules nerveuses dans une verrucosités souspiale. Crésil-violet.

ANNA TARASZEWSKA

## SPONTANICZNY GUZ PRZYSADKI U PSA STARCZEGO

Z Pracowni Neuropatologii Porównawczej

Kierownik: prof. dr med. E. Osetowska

Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN w Warszawie

Dyrektor: prof. dr med. Z. Ruszczewski

Postępujący rozwój badań eksperymentalnych nad guzami ośrodkowego układu nerwowego pociąga za sobą wzrost zainteresowania spontanicznymi nowotworami mózgu u zwierząt. Ostatnio coraz liczniejsze prace w tej dziedzinie podważają wcześniejsze poglądy o rzadkości występowania u zwierząt pierwotnych guzów ośrodkowego układu nerwowego (Luginbühl 1964). U psów np. ogólnie nowotwory są schorzeniem zajmującym jedno z pierwszych miejsc w patologii tego zwierzęcia (Zembrzycka 1967), a nowotwory ośrodkowego układu nerwowego występują z podobną częstością i różnorodnością jak u ludzi (Luginbühl 1964). W odniesieniu do guzów przysadki te ogólne stwierdzenia potwierdzają się przy porównaniu badanych serii w materiale ludzkim i u psów. U ludzi guzy przysadki stanowią wg różnych autorów od 7%—17,8% guzów wewnątrzczaszkowych (Zülch 1957, Bakay 1950, Henderson 1939). Dane dotyczące psów są podobne. McGrath (1957) podaje liczbę 10% w serii 50 przypadków, a Luginbühl (1964) 15% na 330 przypadków zweryfikowanych guzów ośrodkowego układu nerwowego. Najczęstszym typem występującym u psów podobnie jak u ludzi są gruczolaki chromofobne i one też stanowią przeważnie przedmiot doniesień kazuistycznych (Clarkson i wsp. 1959, Frankhauser, Wyler 1954, Hare 1932).

Przedstawienie przypadku własnego uważamy za celowe nie tylko ze względu na pewne szczególne cechy obrazu histopatologicznego, ale również dla podkreślenia ważności wnikliwej interpretacji klinicznej objawów patologicznych u zwierzęcia będącego w obserwacji z innego względu. Wykluczenie mylnej interpretacji często nie jest możliwe na podstawie tylko obserwacji zachowania się i stanu fizycznego zwierzęcia i poniższy przypadek stanowi skromny przyczynek również do tego zagadnienia. Ponadto w polskiej literaturze weterynaryjnej nie na-

trafiłam na neuropatologiczne szczegółowe opracowanie guza przysadki u psa.

Przypadek: Pies, mieszaniec, wielkość i pokrój owczarka alzackiego, maść czarnopodpalana, wiek około 16 lat, przeznaczony był do badań neurogerontologicznych i pozostawał w obserwacji na kolonii psów starczych przez okres dwóch lat. Przy badaniu wstępnym (zapis w karcie ewidencyjnej psa) kondycja dobra, usposobienie spokojne, chód na szerszej podstawie z lekkim ugięciem kk. tylnych, odruchy głębokie kk. tylnych i przednich nieco wzmożone. Obustronne zmętnienie soczewek, w oku lewym całkowite, źrenica lewa szeroka, nie reaguje na światło, okiem prawym widzi. Z badań dodatkowych wykonywana była morfologia krwi i badanie kału na pasożyty. Morfologia: Hb — 13,6 g%, erytr. 6 600 000, wsk. 1,0, leuk. 12 800: kwasochł. 9, pałecz. 2, wielojądrz. 64, limf. 21, mon. 4. Kilkakrotnie odrobaczany za pomocą: „Kamala” i „Vermitox”. W obserwacji własnej z ostatnich dwóch miesięcy klinicznie pies wykazywał podobne objawy, jak większość psów starczych, ale w stopniu o wiele silniej wyrażonym przy ogólnie gorszym stanie fizycznym. Pies był bardzo mocno spowolniony, ociążał apatyczny, słabo reagował na otoczenie, albo reagował w sposób bojaźliwy. Łaknienie miał upośledzone, zauważono również osłabienie węchu i prawie całkowitą ślepotę. Neurologicznie stwierdzano osłabienie kończyn ze wzmożeniem odruchów głębokich. Morfologia krwi: Hb — 13,3%, erytr. 4 400 000, leuk. 14 200: kwasochł. 19, wielojądrz. 64, limf. 15, mon. 2. Żadnych innych badań laboratoryjnych nie wykonywano. W ostatnich dniach pies zupełnie nie zbliżał się do pokarmu, samorzutnie nie wstawał, zmuszany podnosił się niechętnie tylko na krótką chwilę, wykazując mocno chwiejny chód z krzyżowaniem kończyn przednich. W tym stanie zdecydowano się na uspienie i wykonano perfuzję.

Na sekcji ogólnej przy wyjmowaniu mózgu znaleziono na podstawie guz w okolicy przysadki, dolną powierzchnią leżący w obrębie poszerzonego siodełka tureckiego, górną wciskający się w głąb podwzgórza. Od przodu guz zachodził na skrzyżowanie nn. wzrokowych, ku tyłowi sięgał do konarów śródmózgowia (ryc. 1). Ograniczony, pokryty cienką torebką, dał się łatwo w całości wyłuskać, nie wykazując nigdzie naciekania tkanki mózgowej. Wymiary guza  $2 \times 2 \times 1,5$  cm, powierzchnia nierówna, zabarwienie szaroróżowe. W podwzgórzu odpowiadające objętości guza wgłobienie o ścianach gładkich, komunikujące się poszerzonymi otworami międzykomorowymi i ujściem wodociągu z układem komorowym. Na przekrojach czołowych mózgu układ komorowy poszerzony, komora III otwarta ku dołowi przechodzi bezpośrednio w szerokie półkoliste wydrążenie w podwzgórzu (ryc. 2). Do badania histopatologicznego otrzymano materiał utrwalony w 10% formolu. Preparaty parafinowe z guza zabarwiono hematoksyliną-eozyną, met. van Gieson, met. Collina.

Badanie histopatologiczne. Dominującym elementem utkania guzowego są komórki chromofobne przysadki, wykazujące dość znaczny polimorfizm w niejednorodnych układach strukturalnych. Tylko

w częściach obwodowych gruczolaka występuje utkanie o częściowo zachowanym rysunku cew gruczołowych. W obszarze tym obok komórek chromofobnych znajduje się stosunkowo liczne komórki kwasochłonne. Oba typy komórek układają się szerokimi pasmami wzdłuż obfitego w tych miejscach zrębu łącznotkankowego lub dookoła pustych pęcherzykowatych przestrzeni. To utkanie, mogące być traktowane jeszcze jako hyperplazja tkanki gruczołowej, bardzo szybko wyczerpuje się w kierunku dośrodkowym. Zrąb łącznotkankowy ubożeje, zanika domieszka komórek kwasochłonnych, komórki chromofobne stają się drobniejsze, tworząc miejscami układy papilarne typu „płodowego” (ryc. 3), „fetal” typ Krausa (cyt. wg Zülch 1957), w części centralnej natomiast występuje już utkanie zbite. Pola rozlanych zagęszczeń komórkowych zajmują największą część guza i odznaczają się dużą zmiennością morfologiczną. Komórki nie zawierają w cytoplazmie widocznych ziarnistości chromofilnych, ale różnią się między sobą wielkością, kształtem, intensywnością zabarwienia, objętością jądra i cytoplazmy, nierzadko jądra wykazują obrazy mitoz (ryc. 4). Widoczne są więc komórki większe z protoplazmą lekko różową, homogenną o zatartych granicach z dużym jasnym jądrem, komórki maczugowato wydłużone układające się czasem w rozetki, wieloboczne komórki o lekko drobnoziarnistej jasnej cytoplazmie z pęcherzykowatym jądrem lub o cytoplazmie zamazanej, raczej skąpej, natomiast z jądrem owalnym lub okrągłym o ciemnym zrębie chromatynowym, a niekiedy z chromatyną zupełnie zbitą. Te ostatnie typy komórek tworzą lite skupienia przybierając nierzadko prawie że nabłonkowy charakter utkania. W otoczeniu wciskającej się od obwodu w głąb gruczolaka wnęki zawierającej grube zeszkliwiałe pasma tkanki łącznej spotyka się miejscami obrazy o podobnym rysunku jak w *craniopharyngeoma*, różniące się jednak strukturą komórkową. Lite utkania komórek chromofobnych tworzą groniaste uwypuklenia do światła nieregularnie rozgałęzionych szczelin i uchylków wysłanych nabłonkiem kostkowym typu gardłowego (ryc. 5). W świetle kilku większych tworów cystowatych znajduje się drobnoziarnisty detryt lub blaszkowato rozwarstwione bezpostaciowe masy, tylko sporadycznie w pojedynczych pęcherzykach zawarta jest substancja homogenna, kwasochłonna o charakterze koloidu. Ściany tych jamistych przestrzeni nie zawsze wykazywały obecność wyściółki nabłonkowej, czasem widoczna była ona tylko fragmentarycznie na brzegach zbitego utkania komórek chromofobnych. Odmienny jeszcze typ utkania występuje w jednym z pól obwodowych na pograniczu układów gruczołowych. Drobne komórki chromofobne ze zbitego utkania rozprzestrzeniają się wzdłuż zrębu łącznotkankowego do części gruczołowej, tworząc układy sinusoidalne (ryc. 6), natomiast pozostałe komórki

wykazują zmiany degeneracyjne: są duże, spęczniałe z drobnoziarnistą, często zwakuolizowaną protoplazmą, niekiedy dwujądrowe z jądrami pęcherzykowatymi o ubogim zrębie chromatynowym, często z obecnymi jąderkami, pojedynczo spotyka się również rozrzucone komórki kwasochłonne.

Poza tą zmianą podstawową, w mózgu stwierdza się zaniki komórkowe w korze, szczególnie duże opustoszenia w *gyrus ectosylvius sup.* i *gyrus sylvius*, oraz zmiany komórkowe typu przewlekłego w komórkach piramidowych kory. Istota biała rozluźniona, zgębszała w pograniczu naczyniowo-tkankowym, przestrzenie okołonaczyniowe poszerzone, naczynia cienkościenne szerokie o ścianach jednolicie zwłókniałych.

W drogach wzrokowych stwierdzono w dolnej części skrzyżowania nn. wzrokowych ubytki włókien nerwowych z zastępczą proliferacją włóknistą, łącznotkankowo-glejową, na pograniczu opon zrośniętych z poszerzoną warstwą glepu podoponowego. Wśród rozrastających się odoponowo włókien łącznotkankowych liczne naciekowe komórki plazmatyczne. W obrębie pasm wzrokowych i ciał kolankowatych bocznych grzbietowych wzmożona glejoza komórkowa.

#### OMÓWIENIE

Niejednolity obraz morfologiczny przedstawionego gruczolaka przysadki odpowiada najbardziej koncepcji nowotworowego rozrostu z części pośredniej. U psów część pośrednia przysadki stanowi często źródło gruczolaków przysadki, a być może, że ma większe nawet znaczenie patologiczne w powstawaniu guzów niż płąt przedni (Jubb, Kennedy 1963). Rozwija się podobnie jak cała część gruczolowa z kieszonki Rathkego, osiągając, zależnie od rasy, różny stopień zróżnicowania, niekiedy zachowując podobieństwo do nabłonka gardłowego (Kingsbury, Roemer 1940). Pomiędzy płatem przednim pozostaje resztkowy, lejkowaty uchyłek kieszonki Rathkego, przekształcający się nieraz w koloidalne pęcherzyki. Stanowią one jedne z najczęstszych postaci cyst znajdujących w wysokim odsetku — 52,7% w materiale rutynowo badanych przysadek różnych ras psów (Schiefer, Hänichen 1967). Natomiast z *epithelium* wyścielającego resztkowy lejkowaty uchyłek między częścią pośrednią i dystalną mogą rozwijać się guzy części pośredniej, tworzące ugrupowania wielobocznych komórek pod postacią groniatych struktur pokrytych nabłonkiem typu oddechowego (Jubb, Kennedy 1963). Nowotworowo rozrastające się komórki typu chromofobnego mogą występować w różnych kombinacjach z komórkami chromofilnymi, naciekając płąt przedni. Częste są mitozy. Stwierdzane w naszym przypadku analogiczne cechy morfologicznego obrazu gruczolaka, a szczególnie znamienne nieregularnie rozgałęzione lite układy komórek chro-

mofobnych, pokryte nabłonkiem kostkowym, nie są spotykane w opisach gruczolaków chromofobnych płata przedniego. Obecność obok komórek chromofobnych również komórek kwasochłonnych nasuwać mogłoby rozpoznanie mieszanego typu gruczolaka, jednak ograniczone występowanie obu typów tych komórek tylko miejscowo w polach o najbardziej uporządkowanym rysunku struktur gruczołowych przemawia raczej za wyrównawczą hyperplazją zachowanych jeszcze wysepek nie nacieczonej tkanki płata przedniego. Nieregularność ugrupowań komórkowych, polimorfizm komórkowy, obecność figur mitotycznych brane są pod uwagę przy rozpoznawaniu złośliwych odmian gruczolaków przysadki. Występowanie ich stanowi ciągle przedmiot dyskusyjny. Przypuszcza się, że złośliwe pierwotne nowotwory przysadki rozwijają się z gruczolaków chromofobnych w wyniku ich złośliwej metaplastji (Feiring i wsp. 1953, Bailey, Cutler 1940). Autorzy podkreślają jednak, że sama anaplastja, polimorfizm i mitozy komórkowe nie są wystarczającym kryterium złośliwości i według Jeffersona (1940) mogą być znajdowane również w gruczolakach chromofobnych. Brak naciekania sąsiadujących tkanek i nieobecność przerzutów nie upoważnia do rozpoznania guza złośliwego. Interesującą obserwacją są badania doświadczalne Cheathama (1963), który po karcinogennych środkach, podawanych wewnątrzprzysadkowo, u szczurów uzyskiwał proliferację nabłonka wyściełającego przegrodę pomiędzy płatem przednim i pośrednim i jego rozrost o cechach nowotworowych w obręb tkanki gruczołowej aż do typowych postaci rakowych. Jakkolwiek przypadek nasz nie ma cech guza złośliwego, to jednak żywiołowy, wyrażający się obecnością mitoz rozrost komórkowy i różnorodność morfologiczna ugrupowań świadczy o jakiejś dużej labilności i chyba potencjalnie dużej zdolności do wielokierunkowej metaplastji.

Zgodnie podkreślana przez wielu autorów rzadkość mitoz w zwykłych gruczolakach przysadki, a częstsze ich występowanie właśnie z części pośredniej, które cechuje ponadto nietypowość obrazów, wymaga być może zwrócenia większej uwagi na ewentualną rolę tej szczątkowej części gruczołu przysadkowego w rozwoju złośliwych postaci guzów przysadki. Guzy części pośredniej u psów nie są hormonalnie aktywne (Jubb, Kennedy 1963), co również przemawia za niskim stopniem ich zróżnicowania.

Klinicznie występują objawy niedoczynności i *cachexia* przysadkowa. Często jednak skutek ucisku na *neurohypophysis* obserwuje się typowe dla guzów przysadki zaburzenia w równowadze wodnej manifestujące się moczówką prostą.

Przypadek nasz nie był rozpoznany przyżyciowo, ponieważ większość objawów pokrywała się z klinicznym obrazem „psa starczego”. Zabru-

рения wzroku, które obserwowano, przypisywano współistniejącej obustronnie katarakcie. Wydaje się, że rozpoznanie przyżyciowe byłoby jednak możliwe, gdyby w laboratoryjnej opiece nad zwierzętami obowiązywało również rutynowe badanie moczu, mimo iż jest kłopotliwsze w wykonaniu niż badanie krwi.

A. Taraszewska

#### СПОНТАНИЧЕСКАЯ ОПУХОЛЬ ГИПОФИЗА У СТАРЧЕСКОЙ СОБАКИ

##### Содержание

Представлен случай аденомы гипофиза, обнаруженной при секции старческой собаки. Случай не обнаружен при жизни, так как большинство наблюдаемых симптомов были идентичны с клинической картиной „старческой собаки”. В гистопатологической картине опухоль гипофиза характеризовалась большой структурной изменчивостью систем и значительным клеточным полиморфизмом опухолевого строения хромофобных клеток с наличием митозов. Характерный тип сплошных клеточных систем, разветвляющихся в гроздевидные структуры покрытые мостовидным эпителием говорят о том, что аденома происходит из промежуточной части гипофиза. Представленное наблюдение является редким в польской ветеринарной литературе. Трудность клинической дифференциации указывает на необходимость повышения уровня основных добавочных исследований экспериментальных собак.

A. Taraszewska

#### SPONTANEOUS TUMOR OF THE HYPOPHYSIS IN A SENILE DOG

##### Summary

A case of hypophysis adenoma sectionally diagnosed in a senile dog is reported. The case had not been diagnosed supravivally, since the majority of noticed symptoms coincide with the clinical picture of a „senile dog”. The histopathological picture of the tumor of the hypophysis characterized a great structural lability of composition, and significant cell polymorphism of a cancerous felt-work of chromophobic cells in the presence of mitoses. The significant type of solid cell structures branching into grape-like structures covered with a cuboidal epithelium, suggest the origin of the adenoma from the intermediate part of the hypophysis.

The illustrated observations are apart from the veterinary literature. The difficulty in clinical differentiation indicates the necessity of advancing the progress of additional routine examinations with experimental dogs.

## PIŚMIENNICTWO

1. Bailey O. T., Cutler E. C.: Malignant adenomas of the chromophobe cells of the pituitary body. *Arch. Path.*, 1940, 29, 368—399.
2. Bakay L.: The results of 300 pituitary adenoma operations (Professor Herbert Olivecrona's series). *J. Neurosurg.*, 1950, 7, 240—255.
3. Cheatham H. D.: Experimental squamous metaplasia and squamous epithelioma formation in the pituitary of the rat. *Brit. J. Cancer*, 1963, 17, 657—662.
4. Clarkson T. B., Netsky M. G., de la Torre E.: Chromophobe adenoma in a dog: angiographic and anatomic study. *J. Neuropath. exper. Neurol.*, 1959, 18, 559—562.
5. Feiring E. H., Davidoff L. M., Zimmerman H. M.: Primary carcinoma of the pituitary. *J. Neuropath. exper. Neurol.*, 1953, 12, 205—223.
6. Frankhauser R., Wyler R.: Chromophobes Adenom der Hypophyse bei einem Hund. *Schv. Arch. Tierheilk.*, 1954, 96, 181—188.
7. McGrath J. T.: Primary brain tumors in the dog. *J. Neuropath. exper. Neurol.*, 1957, 16, 108.
8. Hare T.: Chromophobe adenoma of pituitary gland associated with dystrophia adiposo-genitalis in maiden bitch. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1932, 25, 1493—1932.
9. Henderson W. R.: The pituitary adenomata. A follow-up study of the surgical results in 338 cases (Dr. Harvey Cushing's series). *Brit. J. Surg.*, 1939, 26, 809—921.
10. Jefferson G.: Extrasellar extensions of pituitary adenomas. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1940, 33, 433—458.
11. Jubb K. V. E., Kennedy P. C.: Pathology of domestic animals. Academic Press. New York and London 1963, 340—350.
12. Kingsbury B. F., Roemer F. J.: The development of the hypophysis of the dog. *Amer. J. Anat.*, 1940, 66, 449—481.
13. Luginbühl H.: A comparative study of neoplasms of the central nervous system in animals. In: Zülch K. J. and Woolf A. L.: Classification of brain tumors. *Acta Neurochir. (Suppl. X.)*. Vienna 1964, 30—42.
14. Schiefer B., Hänichen T.: Zur Kenntnis möglichen Bedeutung von Hypophysencysten beim Hund. *Acta Neuropath.*, 1967, 7, 232—241.
15. Zembrzycka H.: Analiza 231 przypadków choroby nowotworowej u psów. *Pat. Pol.*, 1967, 18, 45—56.
16. Zülch K. J.: Brain tumors. Their biology and pathology. Springer Publishing Company, INC. New York 1957, 218—222.

Adres autora: Pracownia Neuropatologii Porównawczej Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, Warszawa, ul. Pasteura 3.



## PODPISY POD RYCINY

*Ryc. 1.* Podstawa mózgu: guz przysadki wciskający się w podwzgórze między skrzyżowaniem nn. wzrokowych i śródmózgowiem. Powierzchnia guza nierówna, guzkowa, pokryta cienką torebką. Wielkość naturalna.

*Fig. 1.* Cerebral base: tumor of the hypophysis intruding between the optic nerves and the mesencephalon. Uneven, nodal, covered with a thin capsule. Life size.

*Ryc. 2.* Przekrój czołowy przez mózg. Na podstawie ubytek w podwzgórze tworzący wraz z komorą III szeroką półkolistą jamę. Komory boczne poszerzone, istota biała ścięczała, kora zawojów wąska. Parafina. Fiolet krezyłu. Wielkość naturalna.

*Fig. 2.* Frontal section through the cerebrum. On the cerebral base a damage in the hypothalamus, forming together with the ventricle III, a semicircular cavity. Lateral ventricles transversed, the white substance thinned out, cortex of the gyrus narrow. Paraffin. Cresyl violet. Life size.

*Ryc. 3.* Drobne komórki chromofobne w układach papilarnych typu „płodowego” z obfitym zrębem łącznotkankowym. Parafina. Hematoksylina-eozyna. Pow. 100 X.

*Fig. 3.* Chromophobic micro cells in papillary structures of a „fetal” type, and with an abounding connective tissue stroma. Paraffin. H. E. Magn. X 100.

*Ryc. 4.* Rozlane utkanie wielobocznych komórek chromofobnych. Liczne komórki z jądrami ciemnymi. Obrazy mitoz. Parafina. Hematoksylina-eozyna. Pow. 400 X.

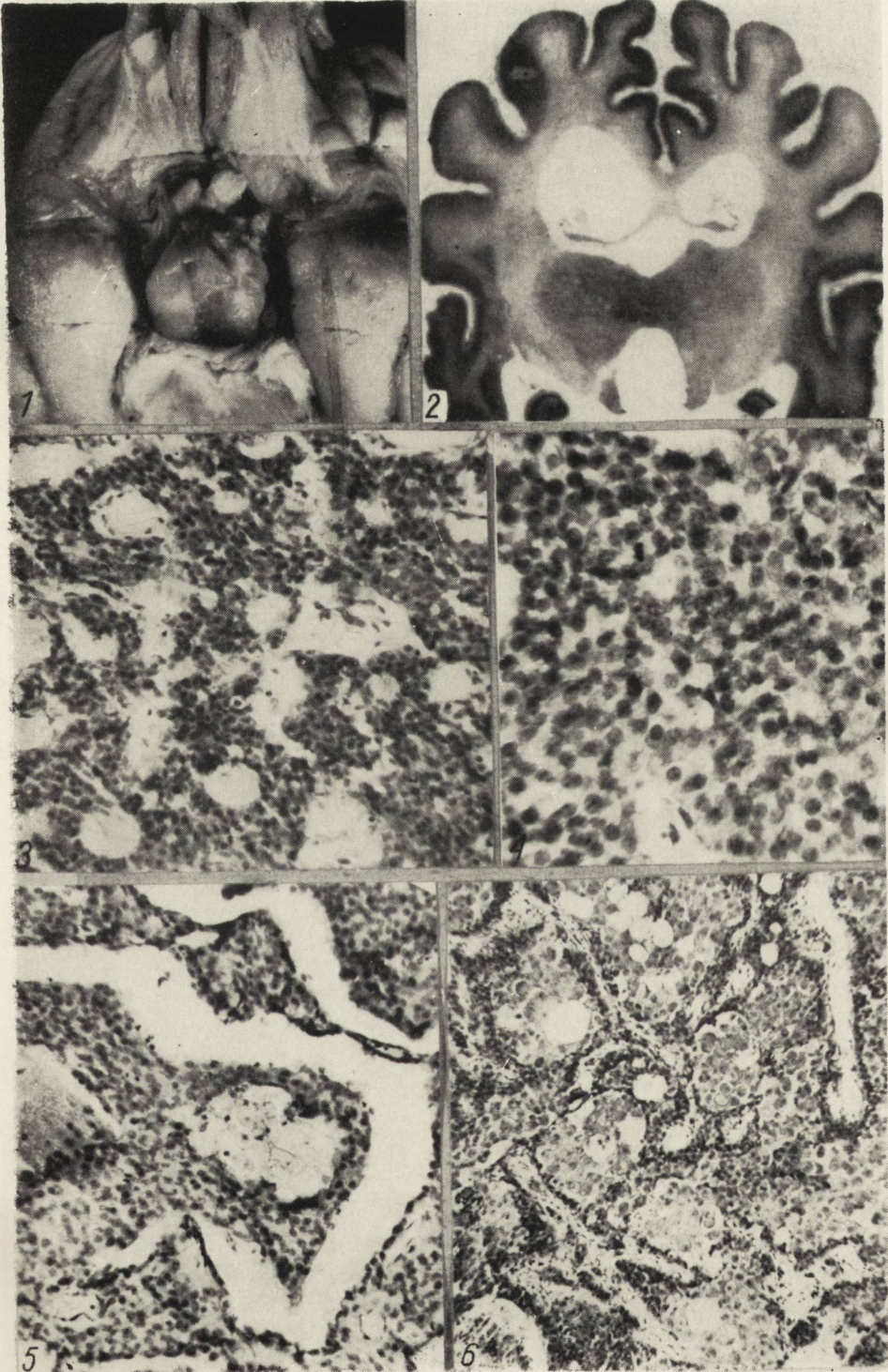
*Fig. 4.* Diffused compact of polygonal chromophobic cells. Numerous cells with dark nuclei. Pictures of mitoses. Paraffin. H. E. Magn. X 400.

*Ryc. 5.* Groniasty rozrost zbitego utkania komórek chromofobnych do światła jamistych przestrzeni pokrytych warstwą nabłonkową. Parafina. Hematoksylina-eozyna. Pow. 100 X.

*Fig. 5.* Grape-like growth of a compact felt-work of chromophobic cells towards the clearance of the cavernous areas covered with an epithelial layer. Paraffin. H. E. Magn. X 100.

*Ryc. 6.* Zmiany degeneracyjne komórek gruczołowych przysadki pomiędzy sinusoidalnymi układami drobnych komórek chromofobnych rozprzestrzeniających się z utkania zbitego. Parafina. Hematoksylina-eozyna. Pow. 60 X.

*Figs. 6.* Degenerative changes of the glandular cells of the hypophysis between sinusoidal structures penetrating from the compact interlacing of chromophobic micro cells. Paraffin. H. E. Mag. X 60.



Z. STOCKA-MUSZYŃSKA \*, M. AFEK-KAMIŃSKA, Z. KARŁOWICZ

## MIELOPATIA O CECHACH ZWYRODNIENIA UKŁADOWEGO W CARDIAC ARREST

Z Pracowni Neuropatologii Porównawczej Centrum Medycyny  
Doświadczalnej i Klinicznej PAN

Kierownik Pracowni: prof. dr med. E. Osetowska

Z Pracowni Anatomii Patologicznej Szpitala Zakaźnego nr 1 w Warszawie

Kierownik Pracowni: dr med. M. Afek-Kamińska

Z Oddziału Dziecięcego Szpitala Bielańskiego w Warszawie

Ordynator Oddziału: dr med. K. Karłowicz

Schorzenia, przebiegające z wybiórczym uszkodzeniem neuronów ruchowych rdzenia kręgowego oraz jąder ruchowych pnia mózgu, możemy podzielić na schorzenia o charakterze zapalnym lub zwyrodnieniowym. Dla obu typów schorzeń znajdujemy swoiste cechy zarówno w przebiegu klinicznym jak i w badaniu histopatologicznym. Opiswany przypadek wydaje się zasługiwać na poddanie pod dyskusję ze względu na istnienie pewnych rozbieżności pomiędzy obserwacją kliniczną a otrzymanym obrazem histopatologicznym.

Obserwowany przypadek dotyczył chłopca urodzonego w 1960 r., w chwili rozpoczęcia obserwacji szpitalnej liczącego 6 lat. Dziecko było urodzone z 4. ciąży; przebieg ciąży i porodu prawidłowy. Rodzeństwo w wieku 10, 9, 7, 2 lata fizycznie rozwinięte prawidłowo. Chłopcy 10- i 9-letni wykazują zahamowanie rozwoju umysłowego, ponadto pozostają pod stałą opieką dermatologa z powodu uczulenia na promienie słoneczne. Matka poronień nie podaje. Oboje rodzice zdrowi. W wywiadzie zebrany od matki dotyczącym obserwowanego dziecka dowiadujemy się, iż przed zachorowaniem jego rozwój fizyczny i umysłowy był bardzo dobry. Dziecko było bardzo silne, przewyższało swoich rówieśników. Z przebytych chorób matka wymienia tylko odrę. Dziecko przeżyło szczepienia typowe dla wieku dziecięcego. Przed zachorowaniem nie miało kontaktu z chorymi zakaźnie.

Dziecko przyjęte na Oddział Dziecięcy Szpitala Bielańskiego w drugiej dobie choroby, objawiającej się wymiotami, a od 4 dni wyciekami ropnym z prawego ucha.

\* St. asystent Kliniki Neurochirurgii AM w Lublinie (Kierownik: Doc. dr med. H. Koźniewska) oddelgowany na staż naukowy do Zakładu Neuropatologii PAN (IV—VI. 1966 r.).

Stan dziecka w chwili przyjęcia był bardzo ciężki. Dziecko było zamroczone, pobudzone ruchowo, jedynie chwilami udawało się nawiązać z nim kontakt. W przewodzie zewnętrznym ucha prawego obfita wydzielina ropna. Badaniem fizykalnym — dziecko budowy prawidłowej. Stwierdzono znacznego stopnia odwodnienie. Wokół ust szary cień. Osluchiowaniem — szmer pęcherzykowy osłabiony. Akcja serca niemiaraowa, przyspieszona, tony głośne. Powłoki brzuszne wiotkie, zapadnięte. Temperatura ciała 36,7°C, tętno 100/min., oddechy 28/min., ciśnienie krwi 110/70.

Podczas badania neurologicznego z odchyień od stanu prawidłowego stwierdzono: obustronne zniesienie odruchów brzusznych, wybitne obniżenie napięcia i siły wszystkich mięśni. W kończynach górnych zachowane śladowe ruchy czynne, odruchy ścięgniste obecne równe, słabe. W kończynach dolnych wybitne obniżenie napięcia mięśniowej i siły mięśniowej oraz zniesienie odruchów ścięgnistych. Nie stwierdzono zaników ani drzeń mięśniowych. Czucie powierzchniowe wydawało się nie zaburzone; przy próbach klucia obserwowano poruszanie kończynami górnymi. Objaw Babińskiego obustronnie ujemny.

Po 12 godzinach obserwacji wystąpiły objawy szybko nasilającej się duszności. Początkowo oddechy uległy przyspieszeniu i spłyceciu, następnie zwolnieniu i dalszemu spłyceciu. Stwierdzono postępujące porażenie mięśni oddechowych, a następnie uczynnienie pomocniczych mięśni oddechowych. Po wystąpieniu bezdechu i zatrzymaniu akcji serca dziecko zaintubowano. Wprowadzono oddech kontrolowany. Otworzono klatkę piersiową i przystąpiono do bezpośredniego ręcznego masażu serca. Po 3 minutach masażu pojawiła się akcja serca, miarowa przyspieszona około 120/min. Następnie dziecko przewieziono do Szpitala Zakaźnego nr 1 (oddz. VII). Wykonano tracheostomię. Dziecko było przytomne.

W trzeciej dobie wystąpiła gorączka do 40°C utrzymująca się do końca choroby. Dołączyły się objawy opuszkowe pod postacią zniesienia odruchów wykrztuśnych i polykania. W czwartej i piątej dobie choroby wystąpiło dwukrotnie kilkuminutowe zatrzymanie akcji serca, która powracała po masażu pośrednim. W 6. dobie nastąpił zgon, poprzedzony pojawieniem się szarej sinicy, mimo stosowania oddechu kontrolowanego.

Badania dodatkowe: OB 36/66. Płyn mózgowo-rdzeniowy wypływał pod normalnym ciśnieniem, białko 0,165‰, leukocyty 2/mm<sup>3</sup>. Ekg wykonany po pierwszym zatrzymaniu akcji serca wykazał jedynie zmiany niespecyficzne odcinka ST-T. Rtg klatki piersiowej wykonany w 4. dobie pobytu dziecka w szpitalu wykazał istnienie procesu zastoinowego w obu płucach oraz ogniska bronchopneumoniczne w obu polach nadprzeponowych. Rtg czaszki bez zmian, poza nikłym upowietrzeniem wyrostków sutkowych. Badaniem laryngologicznym stwierdzono w prawym uchu obfita wydzielina ropna. Po jej usunięciu na dnie zewnętrznego przewodu słuchowego znajdowała się tętniąca wydzielina ropna.

Poza wymienionymi odchyleniami badania fizykalnego i badań dodatkowych bez zmian.

Rozpoznanie choroby zasadniczej: *Encephalitis. Insuffitientia respiratoria et circulatoria. Quadriplegia.*

Rozpoznanie choroby współistniejącej: *Otitis media purulenta bilateralis precipue dextra.*

Jako powikłanie rozpoznano: *Cardiac arrest. Tracheostomia. Respiratio artificialis. Bronchopneumonia bilateralis.*

Rozpoznanie sekcyjne: *Pneumonia lobularis inferior dextri. Intumescensio levi gradu lienis. Status post tracheotomiam et thoracotomiam recente factam.*

Sekcja mózgu utrwalonego w formalinie: mózg prawidłowej wielkości, symetryczny, wagi 1300 g. Istota biała na przekrojach nastrożona. Rdzeń kręgowy prawidłowej spistości.

Do badania mikroskopowego pobrano skrawki z typowych okolic mózgu, rdzenia przedłużonego i mózdzku oraz z trzech poziomów rdzenia kręgowego. Zastosowano technikę parafinową. Barwiono metodami: kreził-fioletem, metodą Heidenheina, Holzera, Foot'a i van Giesona.

W oponach na podstawie mózdzku i pnia mózgowego stwierdzono nieznaczny rozplem fibroblastyczny. W tych obszarach stwierdzono jedno- lub dwuwarstwowe nacieki zapalne. W skład tych nacieków wchodziły jedynie limfocyty. Nie stwierdzono obecności leukocytów (ryc. 1). Poza tymi zmianami opon podstawy mózdzku i pnia mózgu w całym badanym histopatologicznie materiale nie stwierdzono objawów czynnego zapalenia. Na pierwszy plan wysuwały się zmiany spotkane w rdzeniu i opuszce. Miały one charakter pierwotnego postępującego zaniku neuronów ruchowych. W opuszce zmiany dotyczyły głównie zaniku neuronów ruchowych jąder nerwu podjęzykowego (ryc. 2) i nerwu błędnego (ryc. 3). Pozostałe komórki tych jąder wykazywały zmiany o charakterze schorzenia homogenego. W oliwach komórki były znacznie przerzedzone. Zanikowi neuronów ruchowych w jądrach nerwu podjęzykowego, nerwu błędnego oraz oliw towarzyszył niewielkiego stopnia wyrównawczy rozplem gleju o charakterze glejozy izomorficznej.

Badaniem histopatologicznym rdzenia kręgowego na poziomie rdzenia szyjnego i lędźwiowego stwierdzono wybitnie nasilony zanik neuronów ruchowych rogów przednich. Na tych poziomach zachowana była jedynie mała przyśrodkowa grupa neuronów ruchowych, także z przerzedzeniami (ryc. 4). Tego samego typu zmiany wyrażające się zanikiem neuronów ruchowych o nieco mniejszym nasileniu stwierdzono w odcinku piersiowym rdzenia kręgowego. We wszystkich trzech poziomach rdzenia kręgowego opisanym wyżej zmianom towarzyszył niewielkiego stopnia wyrównawczy rozplem gleju również o charakterze glejozy izomorficznej (ryc. 5). W korze mózgu, mózdzku oraz jądrach podstawy stwierdzono znacznie nasilone ubytki komórkowe. Zmiany te były równomiernie rozmieszczone we wszystkich badanych okolicach. Prócz ubytków komórkowych stwierdzono w niektórych okolicach kory mózgu zatarcie układu warstwowego. Komórki kory wykazywały ponadto cechy uszkodzenia ischemicznego. W niektórych obszarach istoty białej obserwowano pobudzenie gleju oraz cechy obrzęku.

W korze mózdzku stwierdzono rozległe zaniki komórek Purkinjego. Pozostałe komórki Purkinjego wykazywały cechy schorzenia homogenne-go. W niektórych odcinkach kory mózdzku obserwowano poszerzenie warstwy gleju Bergmana. Warstwa ziarnista kory mózdzku jedynie w niektórych odcinkach była przerzedzona na skutek obrzęku. W całym badanym materiale stwierdzono miernego stopnia przerost ścian naczyńiowych polegający na pobudzeniu śródbłonek oraz przepełnieniu układu żylnego. W moście znaleziono liczne przynaczyniowe krwotoczki.

Rozpoznanie mikroskopowe: *Atrophia spinalis et medullae oblongatae. Encephalopathia secundaria anoxica. Cardiac arrest. Morbus Werdnig-Hoffmann?*.

#### DYSKUSJA

Choroba wystąpiła u dziecka w 6. roku życia. Okres przeżycia wynosił 6 dni. W chwili przyjęcia dziecka do szpitala stwierdzono znacznego stopnia odwodnienie oraz uogólnione obniżenie napięcia i siły mięśniowej. W 12. godzinie po przyjęciu dziecka do szpitala wystąpiła szybko nasilająca się duszność i postępujące porażenie mięśni oddechowych. W 12. godzinie, 4. i 5. dobie wystąpiło zatrzymanie akcji serca. W 4. dobie do istniejącego już bezwładu czterokończynowego dołączyły się objawy opuszkowe oraz hypertermia. Zgon nastąpił w 6. dobie.

Na podstawie danych, wynikających z obserwacji szpitalnej, przebieg choroby można by więc nazwać „ostрым”.

W badaniu histopatologicznym zwracając uwagę trzy elementy: zmiany zapalne opon, cechy typowe dla przebycia *cardiac arrest* oraz zmiany spotkane w rogach przednich rdzenia kręgowego i w opuszce.

W badanym materiale stwierdzono niewielkiego stopnia przerost opon na podstawie mózdzku i pnia mózgu. Przerostowi opon towarzyszyło jedno- lub dwuwarstwowe nacieczenie limfocytami. W innych obszarach opony były nie zmienione. Ze względu na umiejscowienie i limfocytarny charakter nacieku zmiany te wydają się odpowiadać przewlekłemu procesowi zapalnemu ucha środkowego i nie mogą być interpretowane jako uogólnione zapalenie opon, a w żadnym wypadku jako odpowiedzialne za obserwowany przebieg kliniczny.

Trzykrotne przebycie zatrzymania akcji serca znajduje odpowiednik w typowych obrazach histopatologicznych i typowej topografii nie odbiegających od licznych opisów, spotykanych w piśmiennictwie (Scholz 1957, Dąmbska i wsp. Paprocki, Hołyst). Zmiany te dotyczą kory mózgu, mózdzku i jąder podstawy.

Nieoczekiwany wynikiem w omawianym przypadku były zaniki neuronalne o charakterze zaników pierwotnych w jądrze ruchowym nerwu podjęzykowego, jądrze ruchowym nerwu błędnego i w rogach przednich rdzenia kręgowego. W rdzeniu kręgowym te zaniki najsilniej były wyrażone w odcinkach lędźwiowym i szyjnym, w nieco mniejszym stopniu w odcinku piersiowym. Niewielkiego stopnia towarzyszący rozplem gleju miał charakter procesu wyrównawczego.

Wiadomo jest, że neurony ruchowe jąder pnia mózgowego i rdzenia kręgowego należą do układów najbardziej opornych na zespół szkodliwych czynników działających w następstwie *cardiac arrest*. Również na wpływy toksyczne ewentualnie działające „z sąsiedztwa” (proces zapalny w uchu środkowym) struktury tych okolic są odporne. Wobec dwu lokalizacji uszkodzeń wydaje się uzasadnione postawienie pytania: czy dziecko miało specjalnie wrażliwy układ ruchowy opuszki i rdzenia na wpływ czynników po *cardiac arrest*, który objął okolice w przypadkach typowych zaoszczędzone, czy też ma się tu do czynienia z dwoma różnymi procesami?

Gdyby przyjąć, że niezwykle rozległe topograficznie skutki są wynikiem zadziaływania czynników po *cardiac arrest*, nie można by pominąć współdziałania czynnika indywidualnej wrażliwości podłoża mózgowego. Natomiast w drugim przypadku współistnienia dwu różnych procesów należałoby przypuszczać, że pierwotnie zwyrodniający i przewlekły proces musiał w takim razie toczyć się „podklinicznie”, uszkadzając neurony ruchowe funkcjonalnie przy równoczesnym utrzymaniu możliwości wyrównawczych ze strony ocalałych komórek (Osetowska, Kraśnicka 1961). W takim przypadku można przypuszczać, że w chwili zadziaływania dodatkowego czynnika szkodliwego, pod postacią zapalenia ucha środkowego i odczynu ze strony opon, nastąpiło gwałtowne załamanie funkcji wyrównawczej ocalałych neuronów i w wyniku tego powstał obserwowany przebieg kliniczny o charakterze ostrym. W warunkach braku badań ze strony układu mięśniowego trudno sugerować sprecyzowane rozpoznanie. Wydaje się jednak, że analogii należałoby poszukiwać na pograniczu późnych, atypowych postaci choroby Werdnig-Hoffmanna oraz dziecięcych postaci *sclerosis lateralis amyotrophica* opisywanych już w wieku 5 lat (Ford 1948). Można by też myśleć o przewlekłym zapaleniu rogów przednich rdzenia, jednak tej jednostki chorobowej nie spotykano w tak wczesnym wieku. Wiadomo jest zresztą, że pogranicza wymienionych powyżej procesów chorobowych nie są ostre. Znane są liczne postaci przejściowe i atypowe, szczególnie przy występowaniu w nietypowych dekadach wieku (Wilson). Wybiórcze zaburzenie układów funkcjonalnych ruchowych w rdzeniu i opuszce znowu w dalszych rozważaniach musiałoby prowadzić do

bliższych lub dalszych analogii z procesami zwyrodnieniowymi, wymienionymi wyżej. Nie należy także pomijać momentu, iż w anamnezie rodzinnej, przy braku przypadków pokrewnych, występuje wyraźne obciążenie u dwu braci pod postacią niedorozwoju umysłowego i uczulenia skórnegо. Wiadomo także, że w schorzeniach rodzinnych atypowe postaci uszkodzeń należą niemal do reguły.

Na podstawie posiadanych danych wydaje się niemożliwe rozstrzygnięcie, czy mamy do czynienia z nietypowym zasięgiem jednego procesu, czy też z współistnieniem dwu procesów. Obie interpretacje prowadzą jednak nieuchronnie do przyjęcia układowej nadwrażliwości jąder pnia mózgowego i rdzenia istniejącej przed ostrym incydentem chorobowym.

З. Стоцка-Мушиньска, М. Афек-Каминьска, К. Карлович

#### ЗАБОЛЕВАНИЕ СПИННОГО МОЗГА СО СВОЙСТВАМИ СИСТЕМНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ В *CARDIAC ARREST*

##### Содержание

Описанный случай касался шестидневного наблюдения болезни с острым течением у 6-тилетнего ребенка. Первыми симптомами были — воспаление среднего правого уха с гнойной течью из этого уха, затем значительной степени обезвоживание и снижение тонуса и силы всех мышц. Начиная со вторых суток, в связи с нарастающей отдышкой и прогрессирующим параличом дыхательных мышц, было введено контролируемое дыхание. На вторые, четвертые и пятые сутки трикратно наступил *cardiac arrest*. На четвертые сутки к имеющемуся уже параличу четырех конечностей присоединились медуллярные симптомы и гипертермия. В гистопатологическом исследовании были найдены: 1. воспалительные лимфоцитные инфильтраты оболочек основания мозжечка и ствола мозга, 2. типичные гистопатологические изменения с типичной локализацией для *cardiac arrest*, 3. нейронная атрофия с характером примарной атрофии в двигательных ядрах подязычных нервов, двигательных ядрах блуждающих нервов и в передних рогах спинного мозга.

В связи с локализацией и характером инфильтратов в оболочках изменения эти по всей вероятности связаны с воспалительным процессом среднего уха и не могут обуславливать течение болезни. В связи с расхождением между клиническим течением болезни и полученными гистопатологическими показателями, кажется правильным постановка вопроса — был ли описанный случай связан с гиперэстезией двигательной системы продолговатого и спинного мозга на влияние факторов после *cardiac arrest*, или имели место два сосуществующие процессы.

При рассмотрении этих обеих возможностей кажется неизбежным принятие системной гиперэстезии ядер мозгового ствола и спинного мозга, имеющей место перед острым инцидентом болезни (острым заболеванием).



Z. Stocka-Muszyńska, M. Afek-Kamińska, K. Karłowicz

MYELOPATHY WITH CHARACTERISTICS OF SYSTEMIC  
DEGENERATION IN „CARDIAC ARREST”

Summary

The case described here concerns a 6-day observation on an acute course of the disease in a 6 years old child. The first symptoms was otitis media with a purulent discharge from the right ear, subsequently occurred a significant dehydration and decrease in tension and vigour of all the muscles. Beginning with the 2nd day, in concern to the exacerbation of dyspnea and the progress in paralysis of the respiratory muscles, controlled breath was started. On the 2nd, 4th and 5th day thrice occurred the „cardiac arrest”. Within the 4th day to the existent paralysis of the four extremities came up bulbous symptoms and hyperthermy. The histological findings show: 1) inflammatory lymphocyte infiltrations of the meninges cerebellum base, and the cerebral trunk; 2) characteristic histological changes and also a typical localization of the past „cardiac arrests”; 3) neuronc decay with a characteristic of premordial atrophy in the motoric nuclei of the hypoglossal nerves, motoric nuclei of the vagus nerves, and the anterior horns of the medulla.

Considering the localization and character of the infiltrations in the meninges, the changes are probably connected with the process of otitis media and cannot bear responsibility for the course of the disease.

In view of the divergence between the clinical picture and obtained histological findings, it seems reasonable to set the question whether in the described case we had to do with hypersensitivity of the motoric system of the bulbus and the medulla effecting the post-„cardiac arrest” agent, or were there two coexistent processes.

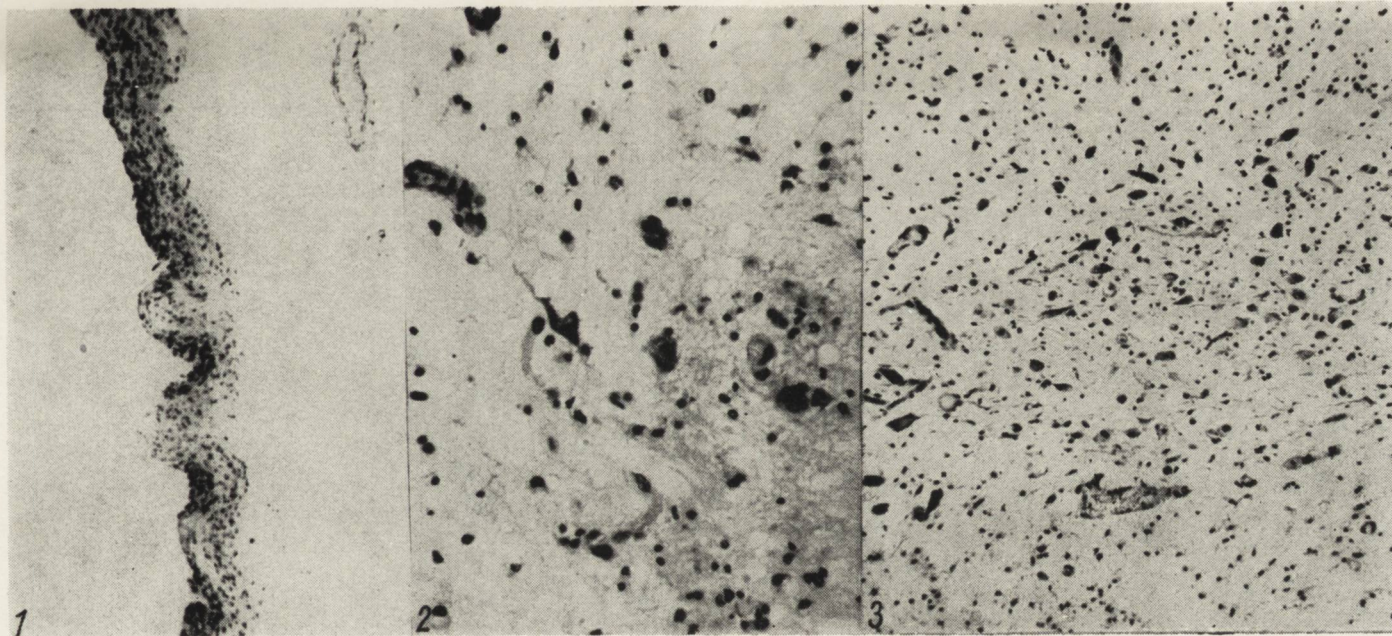
After viewing both possibilities, it seems inevitable to accept systemic hypersensitivity of the cerebral trunk nuclei and the spinal cord existent before the acute disease incident.

PIŚMIENNICTWO

1. Brain R.: Disease of the nervous system. Oxford University Press. VI Edition, 1962.
2. Chusid J. G., McDonald J. J.: Correlative neuroanatomy and functional neurology. Lange Medical Publications. Los Altos, California, IX Edition, 1958.
3. Dąbbska M., Kahl-Kunstetter J.: Topografia uszkodzeń komórek nerwowych w przypadkach *cardiac arrest*. Neuropatologia Polska, 1964, II: 225—236.
4. Ford F. R.: Diseases of the nervous system in infancy, childhood and adolescence. Charles C. Thomas, Publisher, II Edition, III Printing, 1948.
5. Friedrich G.: Erkrankungen motorischer Leitungsbahnen und Kerne (Symptomatische Formen der Spinalen Muskelatrophien). Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie und Histologie. XIII. Nervensystem I/A. Springer-Verlag: 1957, 1016—1020.

6. Herman E.: Diagnostyka chorób układu nerwowego. PZWL, Wyd. III, 1967.
7. Hołyst J., Doluba W., Orłowski T.: Zaburzenia i zmiany mózgowe po zatrzymaniu czynności serca. *Przegląd Lekarski*, 1962, 18/II, 11: 428—430.
8. Jędrzejowska H., Dąbbska M.: W sprawie tzw. *Poliomyelitis anterior chronica*. *Neurol. Neurochir. i Psychol. Pol.*, 1960, X, 6: 769—778.
9. Osetowska E., Kraśnicka Z.: Sur le syndrome sous-bulbaire d'Opalski avec une étude anatomique (contribution aux aspects paradoxaux du syndrome de Wallenberg). *Revue Neurolog.* 1961, t. 104, 4: 314—320.
10. Paprocki M., Szczygieł R.: Zmiany morfologiczne w mózgu chorego po krótkotrwałym zatrzymaniu akcji serca. *Patolog. Pol.* 1966, t. XVII 4: 571—576.
11. Scholz W.: Un nervöse Systeme gebundene (topistische) Kreislanfschüden. Henke-Lubarsch. *Handbuch der Speziellen pathologischen Anatomie*. Berlin 1957, B. 13. I/B.
12. Wilson K. S. A.: *Neurology*. Edvard Arnold and Co. London 1947, VII, 1006—1034.

Adres autorki: Klinika Neurochirurgii AM, Lublin, ul. Staszica 16.



*Ryc. 1.* Rozplęm fibroblastyczny z niewielkimi naciekami limfocytarnymi w oponie na podstawie pnia mózgu. Krezyl-fiolet. Pow. 60 X.

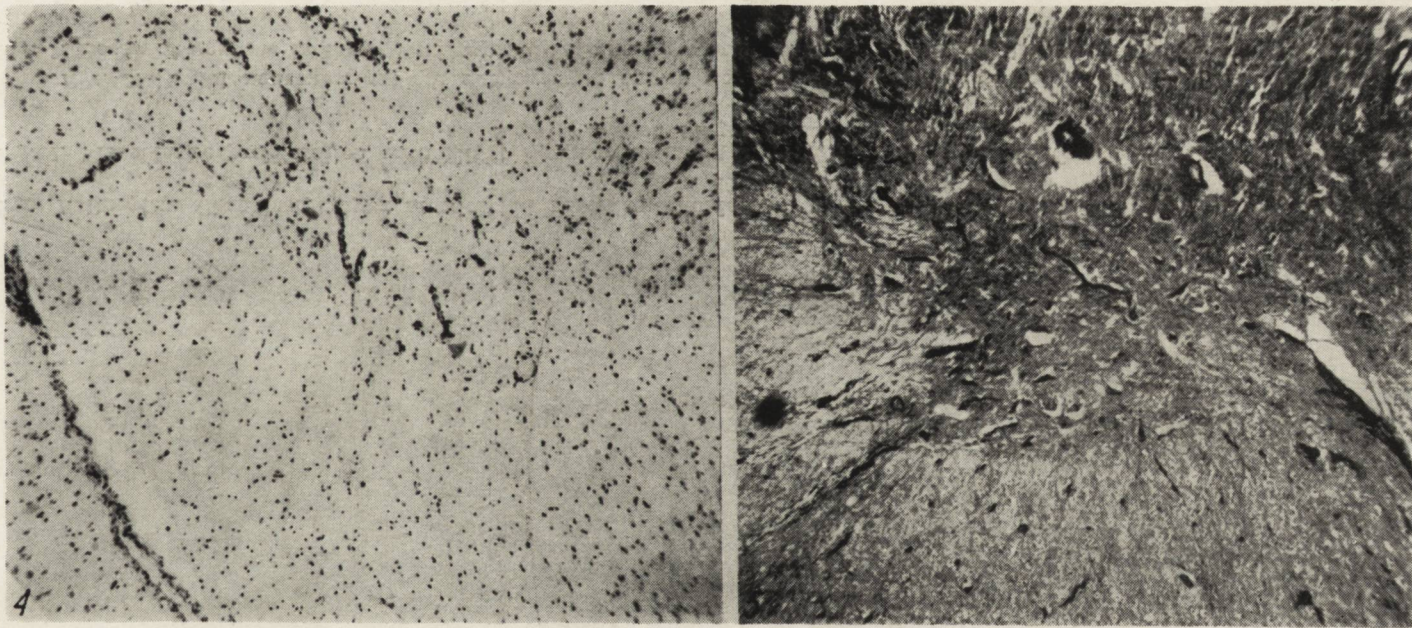
*Fig. 1.* Fibroblastic proliferation with slight lymphocyte infiltrations in the meninges of the cerebral trunk base. Cresyl-violet. Magn. X 60.

*Ryc. 2.* Zaniki neuronów w jądrze ruchowym nerwu podjęzykowego. Obrzęk podłoża. Krezyl-fiolet. Pow. 200 X.

*Fig. 2.* Decay of neurons in the motoric nucleus of the hypoglossal nerve. Edema of the substratum. Cresyl-violet. Magn. X 200.

*Ryc. 3.* Zaniki neuronów w jądrze ruchowym nerwu błędnego. Krezyl-fiolet. Pow. 100 X.

*Fig. 3.* Decay of neurons in the motoric nucleus of the vagus nerve. Cresyl-violet. Magn. X 100.



Ryc. 4. Zaniki neuronów ruchowych w rogach przednich rdzenia kręgowego. Krezyl-fiolet. Pow. 60 X.

Fig. 4. Decay of the motoric neurons in the anterior horns of the cerebral cord. Cresyl-violet. Magn. X 60.

Ryc. 5. Glejoza o charakterze wyrównawczym w rogach przednich rdzenia kręgowego. Holzer. Pow. 60 X.

Fig. 5. Gliosis of a compensative character in the anterior horns of the cerebral cord. Stained by Holzer metod. Magn. X 60.

## SPIS TREŚCI

E. Osetowska, A. Taraszewska: Charakterystyka genetyczna szczepu królików „Łomna”	229
J. Korthals: Przepuszczalność bariery krew-mózg dla Na <sup>131</sup> J po ostrym niedokrwieniu mózgu u królików szynszyli	241
B. Liwnicz: Kinetyka aminokwasów w ośrodkowym układzie nerwowym badana przy pomocy <sup>75</sup> Se-selenometioniny	251
J. Jonek, J. Konecki: Badania histochemiczne nad wpływem arechiny na komórki ruchowe rogów przednich rdzenia kręgowego u szczurów	279
M. Ostenda, W. Nowakowski: Zmiany lokalizacji niektórych enzymów oksydoredukcyjnych i pojawianie się ciał PAS-dodatnich w mózгах noworodków szczurzych po napromienieniu promieniami gamma ( <sup>60</sup> Co)	285
A. Pawłowski, J. Wasylszyn, J. Bem: Badania elementów nerwowych zmian skórnych w chorobie Recklinghausena	295
A. Fidziańska, I. Hausmanowa-Petrusewicz: Miopatia u 19-letniej dziewczynki rozpoznana pośmiertnie jako glikogenoza	305
M. Dąbbska, M. Berard-Badier, M. Toga, N. Pinsard: A propos des malformations complexes du cortex, des ventricules et du noyau caude dans un cas d'une fratrie des microcephales	319
A. Taraszewska: Spontaniczny guz przysadki u psa starczego	325
Z. Stocka-Muszyńska, M. Afek-Kamińska, K. Karłowicz: Mielopatia o cechach zwyrodnienia układowego w <i>cardiac arrest</i>	333

## СОДЕРЖАНИЕ

E. Осетовска, А. Тарашевска: Генетическая характеристика штамма кроликов „Ломна”. Дальнейшие клинические и невропатологические наблюдения	229
Й. Кортхальс: Проницаемость барьера кровь-мозг для Na <sup>131</sup> J после острой ишемии мозга у кроликов шиншилла	241
В. Ливнич: Кинетика аминокислот в центральной нервной системе, исследованная при помощи <sup>75</sup> Se-селенметионина	251
Й. Енек, Й. Конечки: Гистохимические исследования влияния архина на двигательные клетки передних рогов спинного мозга у крыс	279
М. Остенда, В. Новаковски: Изменения локализации некоторых оксидоредукционных ферментов и появление тел ПАС-положительных в мозгах новорожденных крыс после радиации лучами гамма ( <sup>60</sup> Co)	285
А. Павловски, Й. Васильшин, Й. Бем: Исследования нервных элементов кожных изменений при болезни Реклингаузена	295
А. Фидзянска, И. Хаусманова-Петрусевич: Миопатия у 19-летней девушки с посмертным диагнозом гликогеноза	305
М. Домбска, М. Берар-Бадье, М. Тоба, Н. Пенсар: По поводу случая сложных дефектов коры, желудочков и хвостатого ядра при родственной микроцефалии	319
А. Тарашевска: Спонтаническая опухоль гипофиза у старческой собаки	325
З. Стоцка-Мушиньска, М. Афек-Каминьска, К. Карлович: Заболевание спинного мозга со свойствами системной дегенерации в <i>cardiac arrest</i>	333

## CONTENTS

E. Osetowska, A. Taraszewska: Genetic characteristics of the „Łomna” strain rabbits	229
J. Korthals: Permeability of the blood-brain barrier for Na <sup>131</sup> I after severe ischaemia of the cerebrum in the chinchilla rabbit	241
B. Liwnicz: Kinetics of amino acids in the central nervous system studied with the use of <sup>75</sup> Se-selenomethionine	251
J. Jonek, J. Konecki: Histochemical studies on effects of arequine on motoric cells of the anterior spinal cord horns in rats	279
M. Ostenda, W. Nowakowski: Changes in localization of some oxidoreductive enzymes and the occurrence of PAS-positive substances in the brain of newborn rats irradiated with gamma rays ( <sup>60</sup> Co)	285
A. Pawłowski, J. Wasylyszyn, J. Bem: Investigations on cutaneous nervous changes in the Recklinghausen disease	295
A. Fidziańska, I. Hausmanowa-Petrusewicz: Nineteen-year girl with myopathy diagnosed post mortem as glycogen disease	305
M. Dąbska, M. Berard-Badier, T. Toga, N. Pinsard: A propos d'un cas de malformations complexes du cortex, des ventricules et de noyau caudé dans un cas d'une fratrie des microcephales	319
A. Taraszewska: Spontaneous tumor of the hypophysis in a senile dog	325
Z. Stocka-Muszyńska, M. Afek-Kamińska, K. Karłowicz: Myelopathy with characteristics of systemic degeneration in „cardiac arrest”	333

## WARUNKI PRENUMERATY

Cena prenumeraty krajowej:

półrocznie	— 50.—
rocznie	— 100.—

Prenumeraty przyjmowane są do 10 dnia miesiąca poprzedzającego okres prenumeraty.

Prenumeratę na kraj dla czytelników indywidualnych przyjmują urzędy pocztowe oraz listonosze.

Czytelnicy indywidualni mogą dokonywać wpłat również na konto PKO Nr 1-6-100020 — Centrala Kolportażu Prasy i Wydawnictw „Ruch” Warszawa, ul. Wronia 23.

Wszystkie instytucje państwowe i społeczne mogą zamawiać prenumeratę wyłącznie za pośrednictwem Oddziałów i Delegatur „Ruch”.

Prenumeratę ze zleceniem wysyłki za granicę, która jest o 40% droższa od krajowej, przyjmuje Biuro Kolportażu Wydawnictw Zagranicznych „Ruch” Warszawa, ul. Wronia 23 konto PKO Nr 1-6-100024 tel. 20-46-88.

Exemplarze zdezaktualizowane można nabyć w Punkcie Wysyłkowym Prasy Archiwalnej „Ruch” — Warszawa, ul. Nowomiejska 15/17, na miejscu lub na zamówienie za zaliczeniem pocztowym.