

292 2

PL ISSN 0028-3894

STOWARZYSZENIE
NEUROPATOLOGÓW POLSKICH

P. 105



NEUROATOLOGIA POLSKA

Nelivo, Mo

TOM 20

1982

ZESZYT 3—4

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

<http://rcin.org.pl>

NEUROPATHOLOGIA POLSKA

KWARTALNIK

TOM 20

1982

ZESZYT 3-4

KOMITET REDAKCYJNY

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

PRZY WSPÓLPRACY

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

REDAKCJA ŚCISŁA

Janusz Groniowski, Adam Kunicki, Mieczysław Wender, Irmina Zelman

REDAKCJA

Redaktor Naczelny: Mirosław J. Mossakowski
Sekretarz Redakcji: Halina Weinrauder

ADRES REDAKCJI

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

Wydano z pomocą finansową Polskiej Akademii Nauk

Zakład Narodowy im. Ossolińskich — Wydawnictwo. Wrocław 1983.
Nakład: 650 egz. Objętość: ark. wyd. 14,10, ark. druk. 12,75 ark. A₁-17.
Papier ilustr. kl. III, 70 g, 70 × 100. Oddano do składania
23 X 1982. Podpisano do druku 30 III 1983. Druk ukończono w kwietniu
1983. Wrocławska Drukarnia Naukowa. Zam. 1289/82—U-8 Cena
zł 120.—



BARBARA GAJKOWSKA, JERZY W. BOROWICZ

ULTRASTRUCTURAL STUDY OF THE
HYPOTHALAMO-NEUROHYPOPHYSEAL SYSTEM
IN RATS
AFTER COLCHICINE TREATMENT

Laboratory of Ultrastructure of the Nervous System, Medical Research Centre,
Polish Academy of Sciences, Warszawa

The plant alkaloid, colchicine is believed to split microtubules into their subunit structures and has been used in the study of processes considered to be dependent on microtubule function, such as axoplasmic transport (Dahlström 1968; Flament-Durand, Dustin 1972; Holmes et al. 1977). It has also been proven that colchicine prevents the secretion of neurotransmitters, in particular noradrenaline in the nerve fibers of the sympathetic nervous system (Thoa et al. 1972), and inhibits the secretion of catecholamines in the adrenal medulla (Poisner, Bernstein 1971), as well as depresses transmission in both cholinergic and noncholinergic *Aplysia* ganglionic synapses (Baux et al. 1981). It was concluded that the wide range of action of colchicine on the membrane properties should be taken into account when this drug is used in biological experiments (Stöeckel et al. 1975; Baux et al. 1981).

The influence of colchicine on protein synthesis has also been established, though the results of studies are controversial (Norström, Hansson 1973; Hingelang-Gertner et al. 1976). Its inhibitory effect on the secretion of insulin, thyroxin, histamin and the formation of collagen in osteoplasts is also well known (Borisly, Taylor 1967).

Stimulation of pituitary hormones action by the alkaloid was strongly suggested. The agent could stimulate the secretion of hormones particularly those of pituitary (Eigsti, Dustin 1955). Secretion of the pituitary gland is regulated by mediators (hypophysiotropic neurons) originating from the neurosecretory cells of the hypothalamus, which reach this gland through the portal system. This inclined us to study the effects of colchicine on the hypothalamo-neurohypophyseal system.

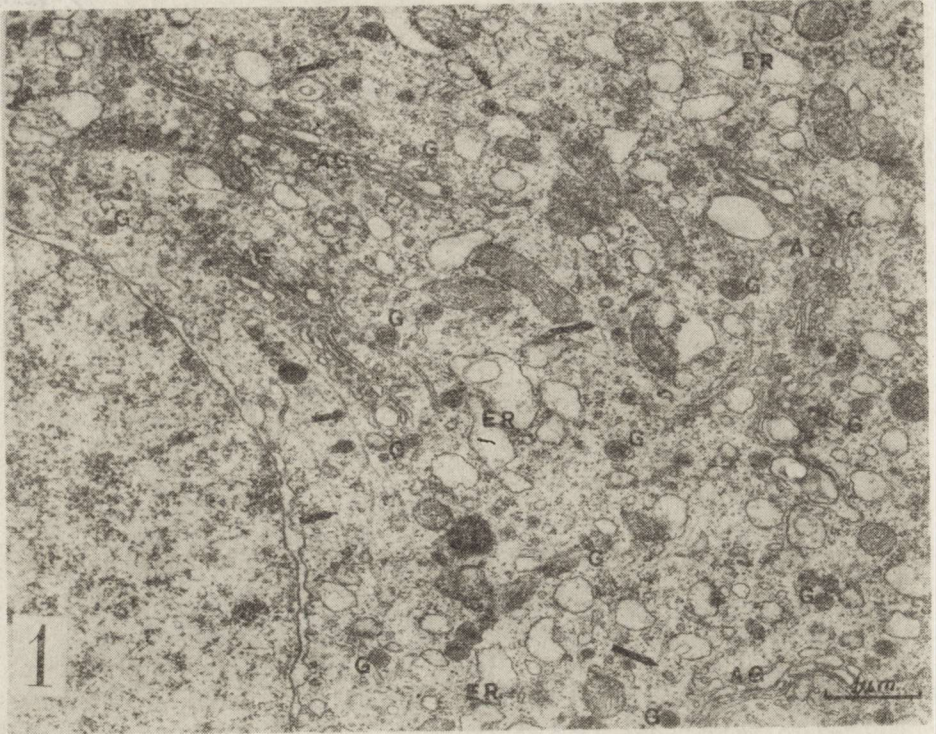


Fig. 1. Supraoptic nucleus — 4 hours after colchicine treatment. Well developed Golgi apparatus (AG), considerably enlarged rough endoplasmic reticulum channels (ER), some of them filled with floccular material, abundant neurosecretory granules (G) and neurotubules (arrows)

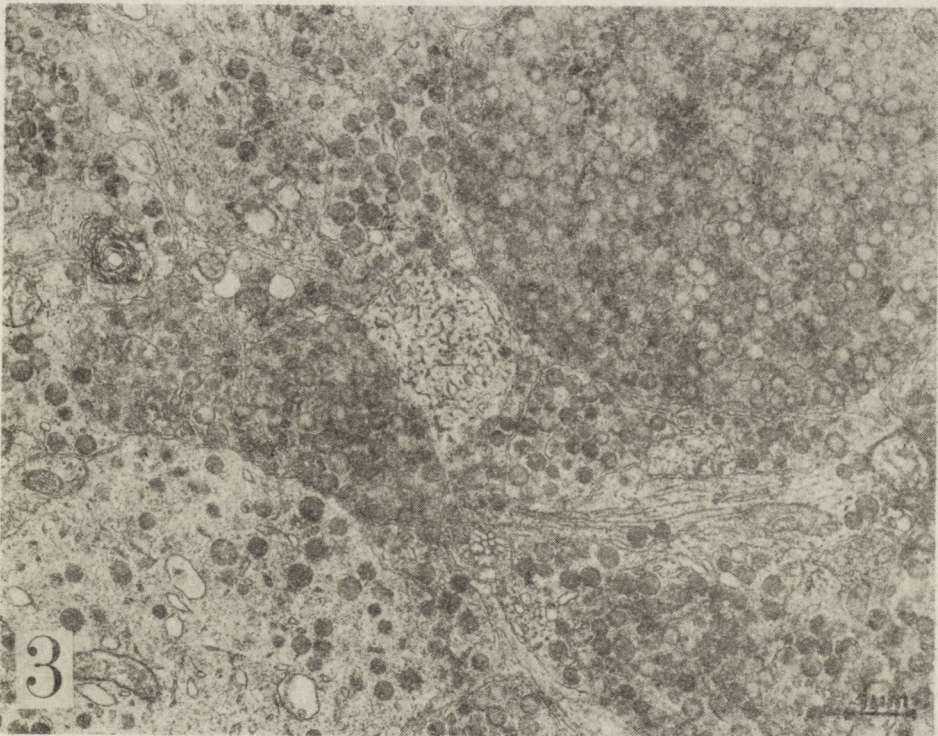
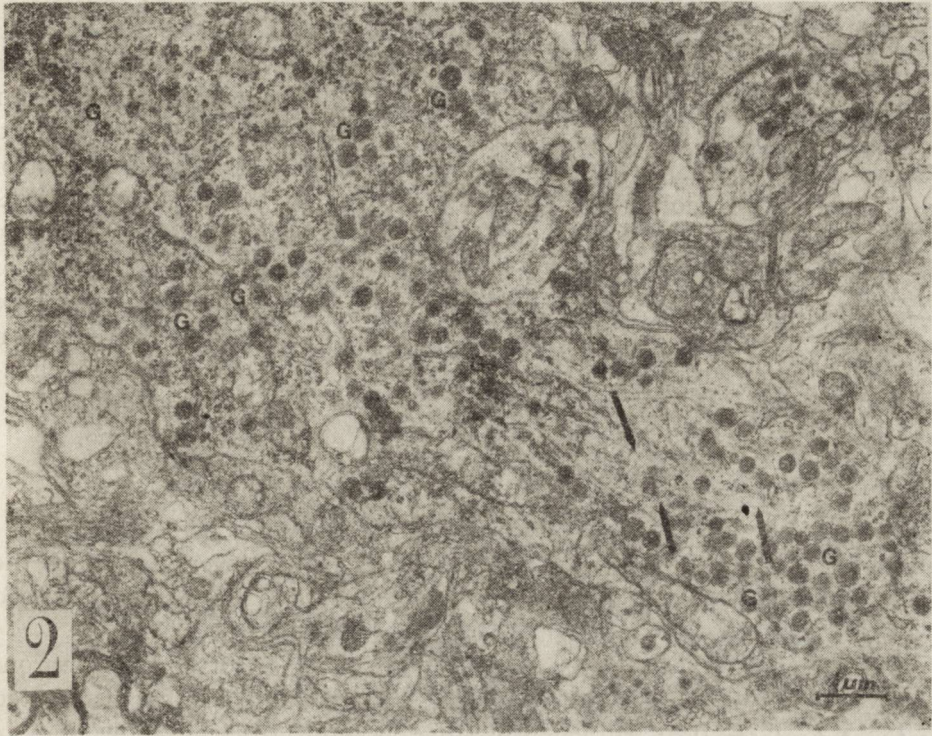
Ryc. 1. Jądro nadwzrokowe — 4 godz. po kolchicynie. Dobrze rozwinięty aparat Golgiego (AG), znacznie poszerzone kanały siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (ER), niektóre z nich zawierają kłaczkowaty materiał, duża ilość granul neurosekrecyjnych (G) i neurotubul (strzałka)

Fig. 2. Paraventricular nucleus — 4 hours after colchicine treatment. In the axonal hillock scraps of rough endoplasmic reticulum, mitochondria and a great abundance of neurosecretory granules (G) and neurotubules (arrows) are present

Ryc. 2. Jądro przykomorowe — 4 godz. po kolchicynie. W stożku aksonu obecne są fragmenty siateczki śródplazmatycznej szorstkiej, mitochondria i duża liczba neurosekrecyjnych granul (G) i neurotubul (strzałka)

Fig. 3. Neurohypophysis — 12 hours after colchicine treatment. Cross-section of nerve fiber with an abundance of neurosecretory granules of varying electron density. Practically devoid of microvesicles

Ryc. 3. Neuroprzysadka — 12 godz. po kolchicynie. Przekroje poprzeczne włókien nerwowych wypełnionych obficie granulami neurosekrecyjnymi o różnej gęstości elektronowej. Mikropęcherzyki prawie nieobecne



MATERIAL AND METHODS

The study was performed on 48 male Wistar rats weighing 180 to 200 g. One dose of 100 μg /0.05 ml of BDH colchicine in distilled water was administered to each rat by the Lindberg and Ernest method (1950) — intracranially in the vicinity of the optic chiasm. The control rats received physiological saline by the same method. The animals were decapitated 4, 6, 12, 24 and 48 hours after colchicine treatment. Sections of the supraoptic and paraventricular nuclei and sections of the neurohypophysis were fixed in 3% glutaraldehyde in phosphate buffer — pH 7.3, and postfixed in 2% OsO_4 in the same buffer. Then they were dehydrated in alcohols and embedded in Epon 812. The ultra-thin sections were contrasted on grids with uranyl acetate and lead citrate; photographs were taken in JEM - 7A electron microscope.

RESULTS

Since the morphological changes observed in the neurons of the supraoptic and paraventricular nuclei are similar, they are discussed jointly.

Four hours after colchicine treatment, in the majority of the neurons there appear abundant neurosecretory granules uniformly distributed in the cytoplasm (Fig. 1). Their number is significantly greater than in control material. The neurosecretory granules differ in size, ranging from 120 nm to 400 nm. The electron density of the granules differs as well. The Golgi apparatus is usually composed of numerous long channels and occupies large areas of the perikarya, its channels are often narrow. In the peripheral portions of the channels of the Golgi apparatus a great number of disconnected neurosecretory granules and small empty vesicles are observed. The rough endoplasmic reticulum is composed of short sometimes balloon-like channels covered with a small number of ribosomes. There is a considerable number of polyribosomes. The channels of rough endoplasmic reticulum are filled with floccular material of a low electron density. The number of mitochondria, their shape, size and distribution are normal. The same neurotubules. The neurotubules are running uninterrupted in the perikarya and axon cylinders (Fig. 2). A significant increase in the number of neurotubules in the neurosecretory neurons and axons is seen. The cell nuclei show considerable hypertrophy. A great number of nuclei with two hypertrophic nucleoli is present. Identical changes can be observed in the perikarya of neurons of the supraoptic and paraventricular nuclei 6 hours after colchicine treatment. In the axon cylinders of both the supraoptic and paraventricular nuclei there appear also abundant neurosecretory granules morphologically similar to those seen in their pe-

rikarya. The considerable number of continuous neurotubules is also present (Fig. 2).

Four and six hours after colchicine treatment, the majority of nerve fibers in the neurohypophysis show abundant membrane bound neurosecretory granules, containing material of varying electron density. There appear also abundant neurosecretory granules devoid of membrane. These fibers do not contain any microvesicles (Fig. 3). In addition to fibers filled with neurosecretory substance, some fibers with its small amount are seen. These are filled with a finely-granular substance of a low electron density. Scarce mitochondria and optically empty vacuoles, variable in size, may be encountered in the axoplasm of them.

Twelve hours after colchicine treatment perikarya and axons of neurons of the supraoptic and paraventricular nuclei, contain a great number of dense bodies and lysosomes (Figs 4, 5). The majority of the neurohypophyseal fibers are also filled with a great amount of neurosecretory granules. However, apart from the neurosecretory granules, a great number of these fibers contain a considerable number of lysosomal structures (Fig. 6). The ultrastructure of the pituicytes does not differ from that of the controls, but the channels of the endoplasmic reticulum are usually shorter and very often they show a balloon-like shape.

Twenty four and forty eight hours after colchicine treatment the majority of neurons of the supraoptic and paraventricular nuclei and neurohypophysis do not differ from normal (Figs 7, 8).

DISCUSSION

Above presented observations indicate that colchicine treatment results in accumulation of neurosecretory material in the hypothalamo-neurohypophyseal system. The accumulation of the neurosecretory granules in the neuronal perikarya and the axons of both supraoptic and paraventricular nuclei and in the neural lobe of the pituitary gland is higher between 4 and 6 hours after, colchicine treatment, and suggests that the drug exerts a definite inhibitory effect on the axoplasmic transport. This seems to be mostly connected with the inhibitory effect of colchicine on the secretion from neurohypophysis as no morphological indication of release of neurosecretory material is present.

Possibly, colchicine inhibits exocytosis of the neurosecretory granules by affecting actomyosine-like proteins called neurostenines which have been described to occur in the brain tissue, first of all in the synaptosomal fraction. (Fine, Bray 1971; Mehendran et al. 1974). On the other hand, it was established that colchicine stimulates secretion of the glandular portion of the hypophysis, thus leading to the reaction of

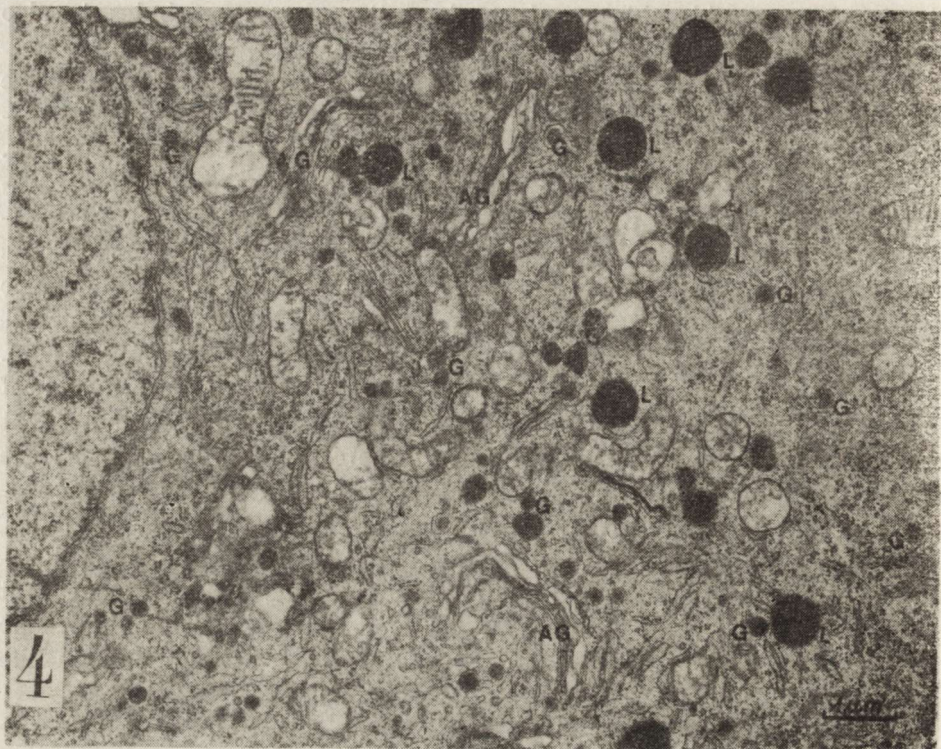


Fig. 4. Supraoptic nucleus — 12 hours after colchicine treatment. Abundant neurosecretory granules (G), dense bodies and lysosomes (L) and well developed Golgi apparatus (AG) in the cytoplasm of neuron

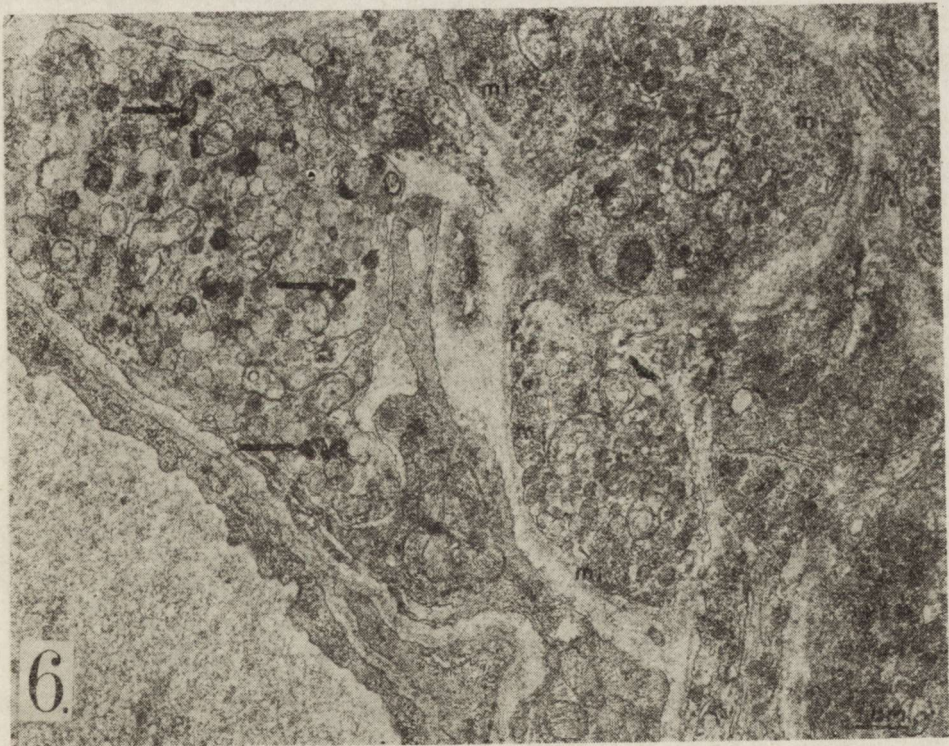
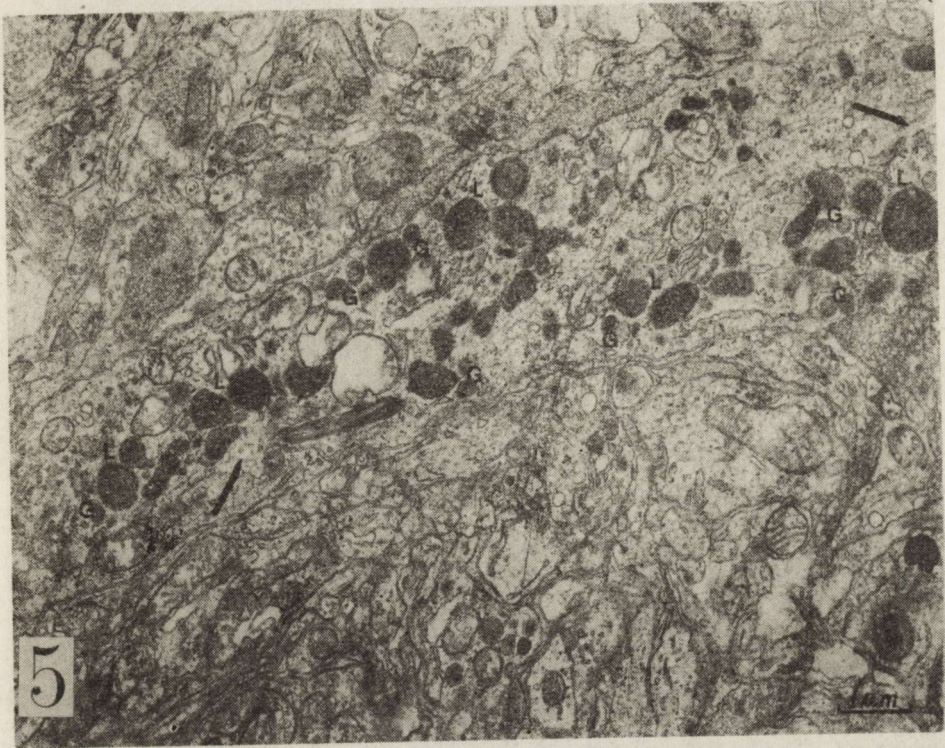
Ryc. 4. Jądro nadwzrokowe — 12 godz. po kolchicynie. W cytoplazmie neuronu duża ilość neurosekrecyjnych granul (G), ciałek gęstych, lizosomów (L) i dobrze rozwinięty aparat Golgiego (AG)

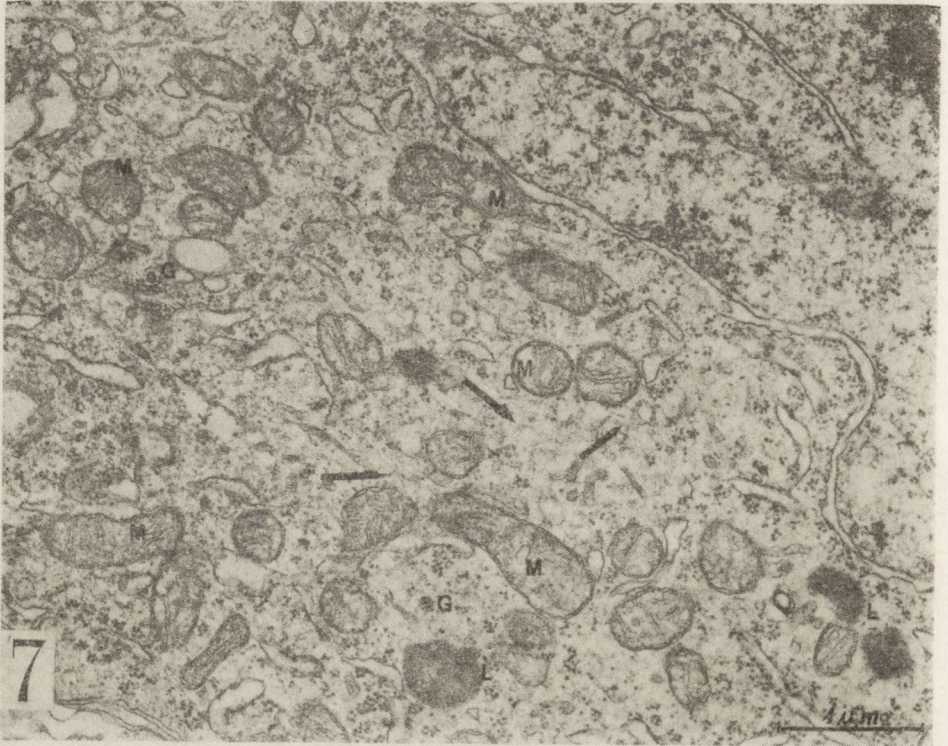
Fig. 5. Supraoptic nucleus — 12 hours after colchicine treatment. Longitude section of a fiber with abundant dense bodies, lysosomes (L), neurosecretory granules (G) and neurotubules (arrows) and mitochondria

Ryc. 5. Jądro nadwzrokowe — 12 godz. po kolchicynie. Przekrój podłużny włókna z dużą ilością ciałek gęstych, lizosomów (L) i granul neurosekrecyjnych (G). Obecne są neurotubule (strzałka) i mitochondria

Fig. 6. Neurohypophysis — 12 hours after colchicine treatment. Cross-section of different kinds of fibers of neurohypophysis. In some, a notable abundance of neurosecretory granules of variable electron density and few myelin figures (arrows), in others, few neurosecretory granules and a considerable number of microvesicles (mit)

Ryc. 6. Neuroprzysadka — 12 godz. po kolchicynie. Widoczne różne rodzaje włókien w przekroju poprzecznym. W niektórych obfitość granul neurosekrecyjnych o różnej gęstości elektronowej i nieliczne figury mielinowe (strzałki) w innych włóknach granule są mniej liczne, natomiast liczba mikropęcherzyków jest znaczna.





the hypophysiotropic neurons. It seems to be worth of mentioning that also in our material in a short time after colchicine treatment the majority of the neurons of the supraoptic and paraventricular nuclei showed morphological evidence of a some stimulation. This has been indicated by some hypertrophy of Golgi apparatus abundance of neurosecretory granules and ballooning of rough endoplasmic reticulum channels often containing material of medium electron density. Up till now, colchicine has been known as an inhibitor of exoplasmic transport, this being attributed mainly to its damaging effect on neurotubules (Norström et al. 1971; Boudier, Detieux 1972; Griffin et al. 1972; Flament-Durand, Dustin 1972). However, the general cytotoxic effect of this drug makes it difficult to establish whether its site of action are the neurotubules of the neurosecretory neurons. Morphological studies of Grainer and Sloper (1974; 1976) proved a significant increase in the number of neurotubules in the neurosecretory axons of animals with stimulated neurosecretory activity. This has been observed in our study. In the conventionally fixed material the appearance of the neurotubules was normal, their ultrastructure, number and distribution remained unchanged in the neurons of both the supraoptic and paraventricular nuclei. Hence, it seems probable that neurosecretory neurons contain neurotubules more resistant to depolymerization than myelinated peripheral nerves. Observations of Flament-Durand and Dustin (1972), Livingston and Wood (1977), and Livingston (1977) also support this hypothesis.

The presence of large numbers of dense bodies and lysosomes both in the perikarya and axons and in the neurohypophysis observed twelve hours after colchicine treatment deserves a special comment. Picard et al. (1972) established that the Golgi apparatus in the neurosecretory cell is functionally differentiated depending on the conditions of the experiment. Generally it produces lysosomes and neurosecretory granules simultaneously. The earliest studies by de Duve and Wattiaux (1966) established that lysosomes are responsible for granulolysis. This process may occur either by isolation of several neurosecretory granules in the

Fig. 7. Supraoptic nucleus — 48 hours after colchicine treatment. The neuronal perikaryon with invaginations of the nuclear envelope and numerous mitochondria (M), neurotubules (arrows), scarce neurosecretory granules (G) and lysosomes (L) in the cytoplasm

Ryc. 7. Jądro nadwzrokowe — 48 godz. po kolchicynie. W neuronie fragment jądra komórkowego z głęboką inwaginacją błony. W cytoplazmie liczne mitochondria (M), neurotubule (strzałki), nieliczne granule sekrecyjne (G) i lizosomy (L)

Fig. 8. Neurohypophysis — 48 hours after colchicine treatment. Nerve fibers with neurosecretory granules. In some fibers neurotubules (arrows) and microvesicles (mi) are irregularly distributed.

Ryc. 8. Neuroprzysadka — 48 godz. po kolchicynie. Włókna nerwowe z granulami sekrecyjnymi. W niektórych włóknach neurotubule (strzałki) i mikropecherzyki są nieregularnie rozproszone

autophagic vacuoles or by the way of mechanism, which is called "crinophagy", i.e. lysis of the granules directly in the primary lysosomes (Smith, Farquar 1966; Orci et al. 1968). It seems that both these processes are operating in the secretory neurons. Boudier and Picard's studies (1976) suggest that in the perikarya the crinophagy of the neurosecretory granules is prevailing though it is not very important quantitatively. The autophagic mechanism present seem to play an essential role in axons. Our observations give support to this concept.

Hypothalamo-hypophyseal system studied 24 and 48 hours after colchicine treatment showed an insignificant accumulation of neurosecretory granules. The majority of neurons of the supraoptic and paraventricular nuclei revealed no ultrastructural abnormalities. This leads to the conclusion that the effect of colchicine applied in a single dose on the hypothalamo-hypophyseal system is short-lasting and reversible.

CONCLUSIONS

1) After a single application of colchicine in a dose of 100 μg , accumulation of neurosecretory granules is observed in the whole hypothalamo-hypophyseal system.

2) The accumulation of neurosecretory granules is probably resulting from the inhibitory effect of colchicine on the neurohypophysis secretion.

3) Colchicine inhibits axonal flow without destroying structure of the neurotubules.

4) A single application of colchicine in a dose of 100 μg , does not cause irreversible changes in the hypothalamo-neurohypophyseal system.

REFERENCES

1. Baux, G., Simonneau, M., Tauc, L.: Action of colchicine on membrane currents and synaptic transmission in Aplysia ganglion cells. *J. Neurobiol.*, 1981, 12, 75—85.
2. Borisy, D. G., Taylor, E. W.: The mechanism of action of colchicine. Binding of colchicine 3-H to cellular protein. *J. Cell Biol.*, 1967, 34, 525—543.
3. Boudier, J. A., Detieux, Y.: Effets de la colchicine sur la recharge en neurosecretat de la neurohypophyse du rat après dépletion par privation d'eau. *J. Neurovisc. Relat.*, 1972, 32, 282—297.
4. Boudier, J. A., Picard, D.: Granulolysis in neurosecretory neurons of the rat supraoptico-posthypophyseal system. *Cell Tiss. Res.*, 1976, 172, 39—58.
5. Dahlström, A.: Effect of colchicine on transport of amine storage granules in the sympathetic nerves of rat. *Eur. J. Pharmacol.*, 1968, 5, 111—113.
6. De Duve, C. D., Wattiaux, R.: Function of lysosomes. *Ann. Rev. Physiol.*, 1966, 28, 435—492.
7. Eigsti, O. J., Dustin, P.: Colchicine in agriculture, medicine, biology and chemistry. The Iowa State College Press, Ames., Iowa, USA, 1955.

8. Fine, R., Bray, P.: Action in growing nerve cells. *Nature New Biol.*, (Lond.) 1971, 234, 115—118.
9. Flament-Durand, J., Dustin, P.: Studies on the transport of secretory granules in the magnocellular hypothalamic neurons. I — Action of colchicine on axonal flow and neurotubules in the paraventricular nuclei. *Z. Zellforsch.*, 1972, 130, 440—445.
10. Grainer, F., Sloper, J.: Correlation between microtubular number and transport activity of hypothalamo-neurohypophyseal secretory neurons. *Cell Tiss. Res.*, 1974, 153, 101—113.
11. Grainer, F., Sloper, J.: Microtubular number in the tractus hypophyseus of newborn normal rats and newborn rats with congenital diabetes insipidus. *Cell Tiss. Res.*, 1976, 168, 405—414.
12. Griffin, J., Keen, F., Livingston, A.: Effects of vinblastine and colchicine on oxytocin levels of the posterior pituitary of the rat after saline treatment. *J. Endocr.*, 1972, 52, 407—408.
13. Hingelang-Gertner, C., Stoeckel, M. E., Porte, A., Stutinsky, F.: Colchicine effects on neurosecretory neurons and other hypothalamic and hypophyseal cells, with special reference to changes in the cytoplasmic membranes. *Cell Tiss. Res.*, 1976, 170, 17—41.
14. Holmes, M. J., Turner, C. J., Fried, J. A., Cooper, E., Diamond, J.: Neuronal transport in salamander nerves and its blockade by colchicine. *Brain Res.*, 1977, 136, 31—34.
15. Lindberg, O., Ernest, L.: The turnover of radioactive phosphate injected into the subarachnoid space of the brain of the rat. *Biochem. J.*, 1950, 46, 43—47.
16. Livingston, A.: Microtubules in the neurosecretory neurons of the posterior pituitary of the rat. *Cell Tiss. Res.*, 1977, 180, 253—261.
17. Livingston, A., Wood, J.: Effects of depolymerizing stimuli on microtubules of neurosecretory neurons. *J. Endocr.*, 1977, 72, 61—62.
18. Mehendran, M., Nichlas, W., Bert, S.: Evidence for calcium sensitive component in brain actomyosin-like protein (neurostenin). *J. Neurochem.*, 1974, 23, 497—501.
19. Norström, A., Hansson, H. A., Sjöstrand, J.: Effects of colchicine on axonal transport and ultrastructure of the hypothalamo-neurohypophyseal system of the rat. *Z. Zellforsch.*, 1971, 113, 271—293.
20. Norström, A., Hansson, H. A.: Effects of colchicine on release of neurosecretory material from the posterior pituitary gland of the rat. *Z. Zellforsch.*, 1973, 142, 443—464.
21. Orci, L., Junod, A., Pictet, R., Renold, A., Rouiller C.: Granulolysis in A cells of endocrine pancreas in spontaneous and experimental diabetes in animals. *J. Cell Biol.*, 1968, 38, 462—466.
22. Picard, D., Michel-Secher, M., Atouel, A., Rus, S.: Granules neurosécrétoires, lysosomes et complexes GRL dans le noyau supra-optique du rat. Bipolarité des complexes golgiens. *Exp. Brain Res.*, 1972, 14, 331—353.
23. Poisner, A. M., Bernstein, J.: A possible role of microtubules in catecholamine release from the adrenal medulla: effects of colchicine, vinca alkaloides and deuterium oxide. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 1971, 177, 102—108.
24. Smith, R., Farquar, M.: Lysosome function in the regulation of neurosecretory process in cells of the anterior pituitary gland. *J. Cell Biol.*, 1966, 31, 319—347.
25. Stöeckel, M. E., Hingelang-Gertner, C., Delleman, H. D., Porte, A., Stutinsky, F.: Subcellular localization of calcium in the mouse hypophysis under normal conditions. *Cell Tiss. Res.*, 1975, 157, 307—322.

26. Thoa, N. B., Wooten, G. F., Axelrod, J., Kopin, J. J.: Inhibition of release of dopamine hydroxylase and norepinephrin from sympathetic nerves by colchicine, vinblastine or cytochalasin-B. Proc. nat. Acad. Sci., (Wash.) 1972, 69, 520—522.

ULTRASTRUKTURALNE BADANIA WPŁYWU KOLCHICYNY NA UKŁAD PODWZGÓRZOWO-PRZYSADKOWY SZCZURA

Streszczenie

Przeprowadzono badania ultrastrukturalne układu podwzgórzowo-przysadkowego zdrowych szczurów po jednorazowym podaniu kolchicyny w dawce 100 µg w okolicę skrzyżowania nerwów wzrokowych. Badania wykazały akumulację ziarnistości neurosekrecyjnych w jądrze nadwzrokowym, jądrze przykomorowym i w zakończeniach włókien nerwowego płata przysadki. Autorzy przypuszczają, że kolchicina wpływa hamująco na wydzielanie ziarnistości w części nerwowej przysadki. Wykazano również, że stosowana dawka kolchicyny nie powoduje zmian nieodwracalnych.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНОЙ СИСТЕМЫ КРЫСЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ КОЛХИЦИНА

Резюме

Авторы провели ультраструктурные исследования гипоталамо-гипофизарной системы здоровых крыс после однократного введения колхицина в дозе 100 мкг в область перекреста зрительных нервов.

Морфологические исследования обнаружили аккумуляцию невросекреционных зернистостей в супраоптическом ядре, в околожелудочковом ядре и в окончаниях волокон нервной доли гипофиза. Предполагается, что колхицин влияет сдержанно на секрецию зернистостей в нервной части гипофиза. Авторы доказали также, что применяемая доза колхицина не вызывает необратимых изменений.

Authors' address: Laboratory of Ultrastructure of the Nervous System, Medical Research Centre, 3, Dworkowa Str., 00—784 Warszawa

EWA MATYJA, KRYSZYNA RENKAWEK

OBRAZ MORFOLOGICZNY KOMÓREK GLEJOWYCH W HODOWLI ORGANOTYPOWEJ PRAŻKOWIA, PODDANEJ DZIAŁANIU KWASU KAINOWEGO

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

Kwas kainowy, strukturalny analog kwasu glutaminowego jest związkiem o silnych właściwościach neuropobudzających i neurotoksycznych (Shinozaki, Konishi 1970; Olney i wsp. 1974). Poprzez stereotaktyczne podanie kwasu kainowego do prądkowia u zwierząt uzyskano doświadczalny model choroby Huntingtona, w którym oprócz wybiórczych ubytków neuronów obserwowano nasiloną glejozę (Coyle, Schwarcz 1976; McGeer, McGeer 1976; Schwarcz i wsp. 1977; Coyle i wsp. 1978).

W badaniach nad toksycznym wpływem kwasu kainowego na hodowle organotypowe mózdzku szczura obserwowano masywne nagromadzenie włókien glejowych w cytoplazmie astrocytów przy nieznacznym jedynie uszkodzeniu komórek nerwowych (Renkawek i wsp. 1981). Intensywne wytwarzanie elementów włóknistych może więc być wyrazem bezpośredniej reakcji komórek glejowych na działanie toksyczne kwasu kainowego, nie zaś zjawiskiem wtórnym w stosunku do ubytku neuronów.

Celem przeprowadzonych badań była obserwacja zmian patologicznych astrogleju, występujących po podaniu kwasu kainowego do hodowli organotypowej prądkowia, a więc struktury najsilniej zajętej w przypadkach płasawicy Huntingtona.

MATERIAŁ I METODY

Badania prowadzono na hodowlach organotypowych prądkowia pobranego od noworodków szczurzych rasy Wistar. Izolowane fragmenty tkanki umieszczano na szkiełkach pokrytych kolagenem i utrzymywano w komorach Maximowa do 28 dnia *in vitro* (DIV). Płyn odżywczy składał się z 50% surowicy ludzkiej, 40% płynu wieloelektrolitowego Earle'a i 10% wyciągu z zarodków kurzych z dodaniem glukozy do końco-

wego stężenia w płynie 600 mg⁰/. Płyn odżywczy zmieniano dwa razy w tygodniu, hodowle utrzymywano w temperaturze 36°C.

Kwas kainowy (f-my Sigma) rozpuszczano w płynie wieloelektrolitowym bezpośrednio przed użyciem do doświadczenia. Hodowle w wieku 3, 7, 14 dni *in vitro* utrzymywano przez następne 3, 7, 14 dni w płynie odżywczym zawierającym 10⁻⁴ M kwasu kainowego. Równolegle prowadzono hodowle kontrolne w warunkach standardowych. Hodowle z poszczególnych grup doświadczalnych i kontrolnych utrwalano do badań w mikroskopie elektronowym w 2⁰% roztworze aldehydu glutarowego w buforze kakodylowym o pH 7,2 oraz w 1⁰% czterotlenku osmu, następnie odwadniano i zatapiano w Eponie 812. Ultracienkie skrawki krojono na ultramikrotomie LKB, kontrastowano octanem uranylu i cytrynianu ołowiu. Materiał oglądano i fotografowano w mikroskopie elektronowym JEM 100 B.

Hodowle z tych samych grup doświadczalnych i kontrolnych utrwalano w 10⁰% formalinie i barwiono hematoksyliną—eozyną, i metodą Bodiana.

WYNIKI

W hodowlach prążkowania wyrastanie komórek glejowych do strefy wzrostu występuje po 48 godz. utrzymywania hodowli *in vitro*. W pierwszych dniach obserwacji w mikroskopie świetlnym wieniec wzrostu jest niewielki, natomiast po pierwszym tygodniu ilość komórek glejowych wywędrowujących z eksplantatu do odległej strefy wzrostu jest znaczna. W pierwszym tygodniu wzrostu w mikroskopie świetlnym komórki glejowe mają obraz nieodróżnionego gleju z małą ilością wypustek. Między 7 a 14 dniem *in vitro* w pobliżu eksplantatu i w odległej strefie wzrostu występują typowe astrocyty.

W mikroskopie elektronowym komórki glejowe eksplantatu w pierwszym tygodniu *in vitro* charakteryzują się okrągłym lub owalnym jądrem, o nierównomiernie rozmieszczonej chromatynie, niekiedy z jej większym zagęszczeniem, przypominającym jąderko. Cytoplazma astrocytów jest jasna z małą ilością organelli komórkowych, takich jak rybosomy, mitochondria, siatka śródplazmatyczna szorstka (RER) oraz aparat Golgiego. W cytoplazmie tych komórek występują niekiedy pojedyncze lizosomy, nieliczne gliofilamenty i gliotubule. W okresie pierwszego tygodnia wzrostu *in vitro* komórki glejowe bywają niekiedy trudne do odróżnienia od mało dojrzałych komórek nerwowych, zwłaszcza gdy w komórkach glejowych w cytoplazmie nie występują gliofilamenty. Cechą najbardziej różnicującą komórki glejowe od komórek nerwowych jest znacznie większa gęstość elektronowa jądra i cytoplazmy komórek nerwowych związana zarówno z większą ilością chromatyny jądrowej jak i większą zawartością rybosomów wolnych i związanych oraz wyraźnym wykształceniem siatki śródplazmatycznej szorstkiej.

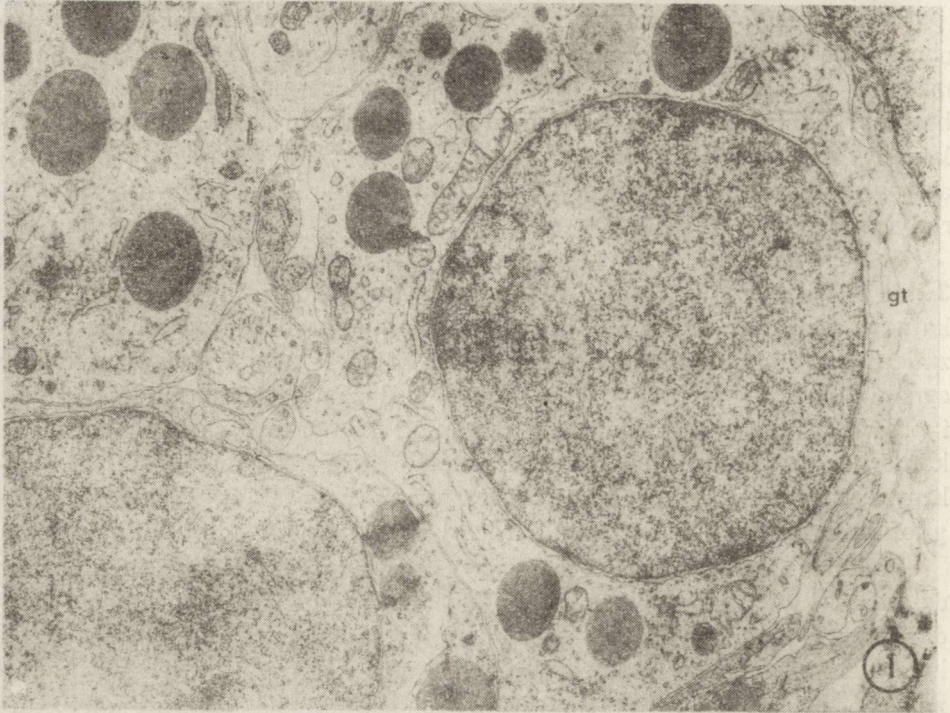
W okresie 7—14 dni *in vitro* komórki glejowe charakteryzują się obecnością owalnego lub okrągłego jądra z równomiernie rozłożoną chromatyną. Elektronowo jasna cytoplazma zawiera pojedyncze wolne rybosomy, dobrze rozbudowany aparat Golgiego oraz pojedyncze gliofilamenty i gliotubule (ryc. 1). Ten typ astrocytów odpowiada obrazowi astrogleju protoplazmatycznego, astrocyty włókniste obserwuje się sporadycznie.

W doświadczeniu z kwasem kainowym, w grupie hodowli rosnących 3 dni *in vitro* w warunkach standardowych poddanych działaniu kwasu kainowego przez okres 3 dni większość komórek glejowych jest niezmienną. Jedynie pojedyncze komórki astroglejowe wykazują wczesne oznaki toksycznego uszkodzenia. Ich cytoplazma jest znacznie obrzęta i prawie całkowicie pozbawiona organelli komórkowych. W niektórych komórkach występują uszkodzone mitochondria o ciemnej, zatartej strukturze macierzy, pojedyncze poszerzone kanały RER, niekiedy liczne gliofilamenty oraz mniej lub bardziej wykształcone gliotubule (ryc. 2).

Podobne zmiany patologiczne występują w hodowlach poddanych działaniu kwasu kainowego po okresie ich wzrostu w warunkach standardowych przez 7 dni *in vitro*. Po upływie 3 dni od momentu podania kwasu kainowego w poszczególnych komórkach glejowych występuje znaczne uszkodzenie mitochondriów, polegające na zataniu struktury macierzy i zaniku grzebieni mitochondrialnych, aż do wytworzenia okrągłych tworów otoczonych podwójną błoną. W większości komórek występuje poszerzenie RER, obecne są ciała wielobłoniaste i wielopęcherzykowe oraz gliofilamenty i gliotubule. Część uszkodzonych astrocytów ma jasną, prawie całkowicie pozbawioną organelli komórkowych cytoplazmę, zawierającą jedynie pojedyncze wolne rybosomy, zwyrodniałe mitochondria, liczne wakuole oraz pojedyncze włókienka glejowe (ryc. 3).

Po 7 dniach działania kwasu kainowego na hodowle w wieku 7 dni *in vitro* obserwuje się masywne nagromadzenie włókien glejowych. Nadal dominującym obrazem uszkodzenia komórek glejowych jest obrzęknięcie cytoplazmy astrocytów, skąpa ilość organelli komórkowych występujących w postaci zwyrodniałych mitochondriów i rozdętych kanałów szorstkiej siatki śródplazmatycznej. Znamiennej cechą jest również obecność obfitych włókien glejowych występujących zarówno w postaci cienkich gliofilamentów jak i pojedynczych gliotubul. Cytoplazma niektórych komórek glejowych jest prawie całkowicie wypełniona gliotubulami (ryc. 4).

Najbardziej nasilone zmiany patologiczne komórek glejowych dotyczące wyłącznie astrocytów powstają w hodowli utrzymywanej w warunkach standardowych przez 14 dni *in vitro* i poddanych działaniu kwasu kainowego przez okres 3 dni. Zmiany patologiczne obejmują większość komórek glejowych i polegają głównie na znacznym gromadzeniu włókien glejowych w cytoplazmie komórek. W cytoplazmie as-



Ryc. 1. Hodowla prążkowiec 14 DIV. Astrocyty z jasną cytoplazmą i owalnym jądrem. Pojedyncze, gliotubule (gt), mitochondria, kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej oraz wolne rybosomy. Pow. 16 000 ×

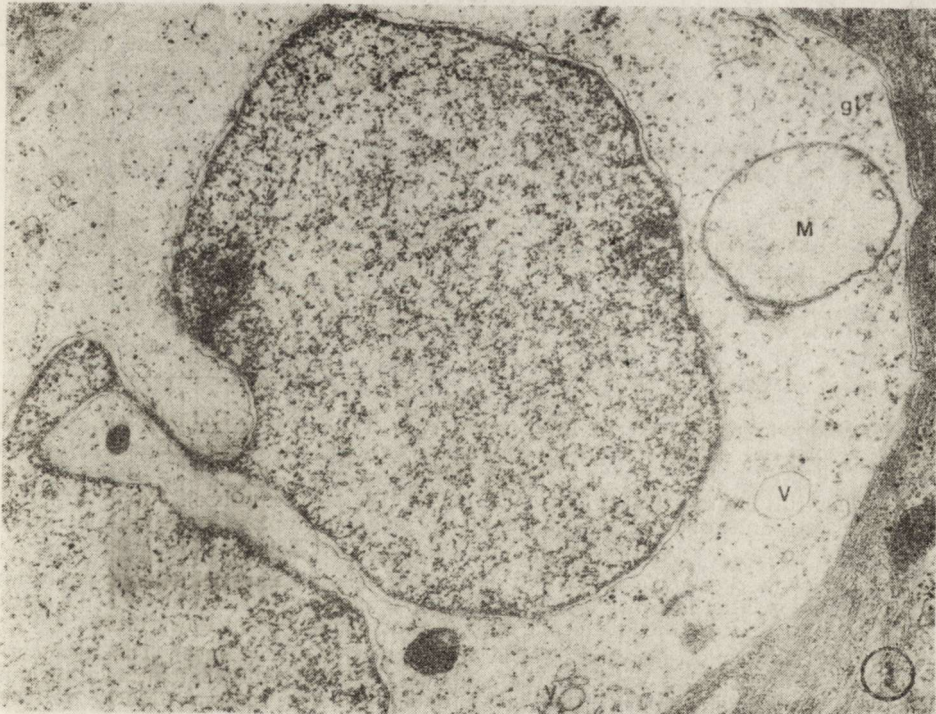
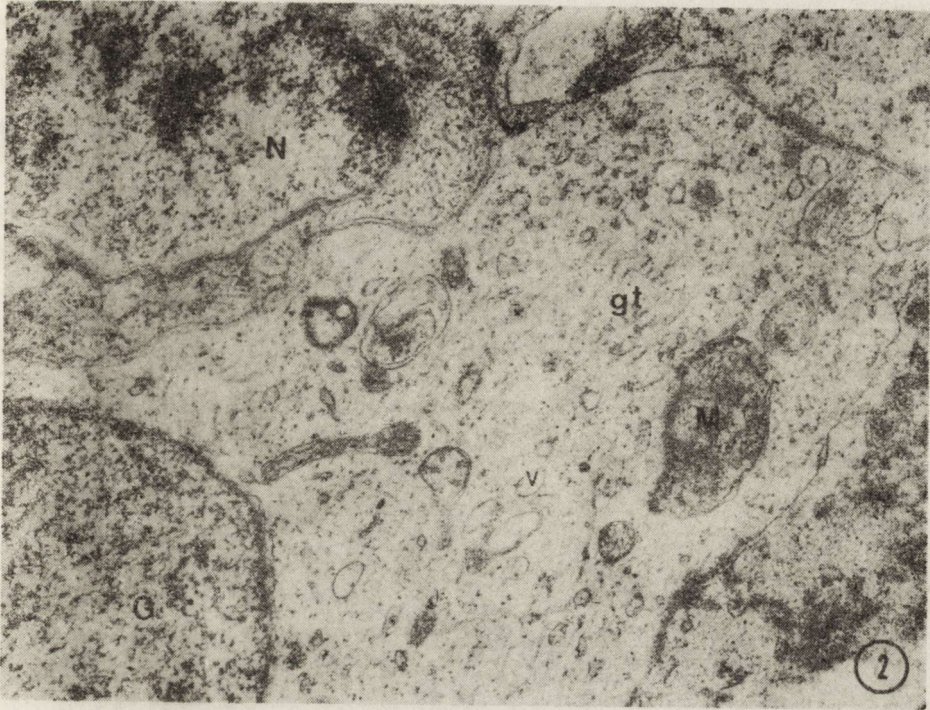
Fig. 1. The culture of striatum, 14 DIV. The astrocytes with pale cytoplasm and oval nucleus. Scarce gliotubules (gt), mitochondria, rough endoplasmic reticulum channels and free ribosomes. × 16 000

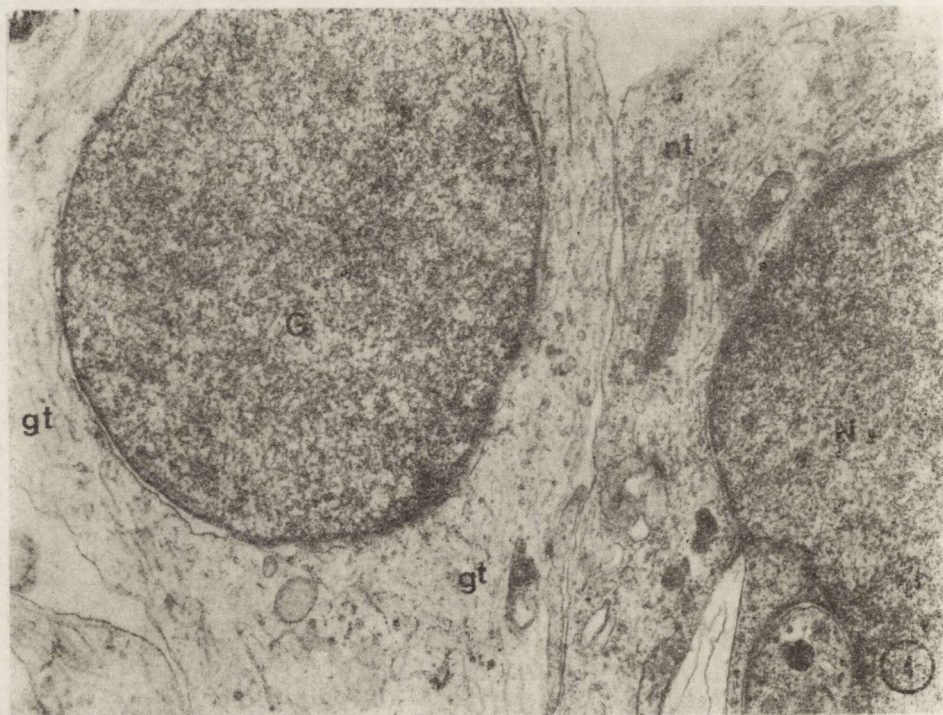
Ryc. 2. Hodowla prążkowiec 3 DIV (3 dni KA). W cytoplazmie komórki glejowej (G) liczne gliotubule (gt), wakuole (v) i uszkodzone mitochondria (M) N — neuron. Pow. 22 000 ×

Fig. 2. The culture of striatum, 3 DIV (3 days of KA exposure). In the cytoplasm of glial cell (G) numerous gliotubules (gt), vacuoles (v) and damaged mitochondria (M). N — neuron. × 22 000

Ryc. 3. Hodowla prążkowiec 3 DIV (7 dni KA). Obrzmienie cytoplazmy astrocytu, uszkodzone mitochondria (M), wakuole (v) oraz pojedyncze gliotubule (gt). Pow. 19 000 ×

Fig. 3. The culture of striatum 3 DIV (7 days of KA exposure). Swollen astrocytic cytoplasm with damaged mitochondria (M), vacuoles (v) and some gliotubules (gt). × 19 000





Ryc. 4. Hodowla prążkowiec 7 DIV (7 dni KA). Cytoplazma astrocytu (G) wypełniona licznymi filamentami i gliotubulami (gt). Brak zmian w neuronie (N). Pow. 15 000 \times

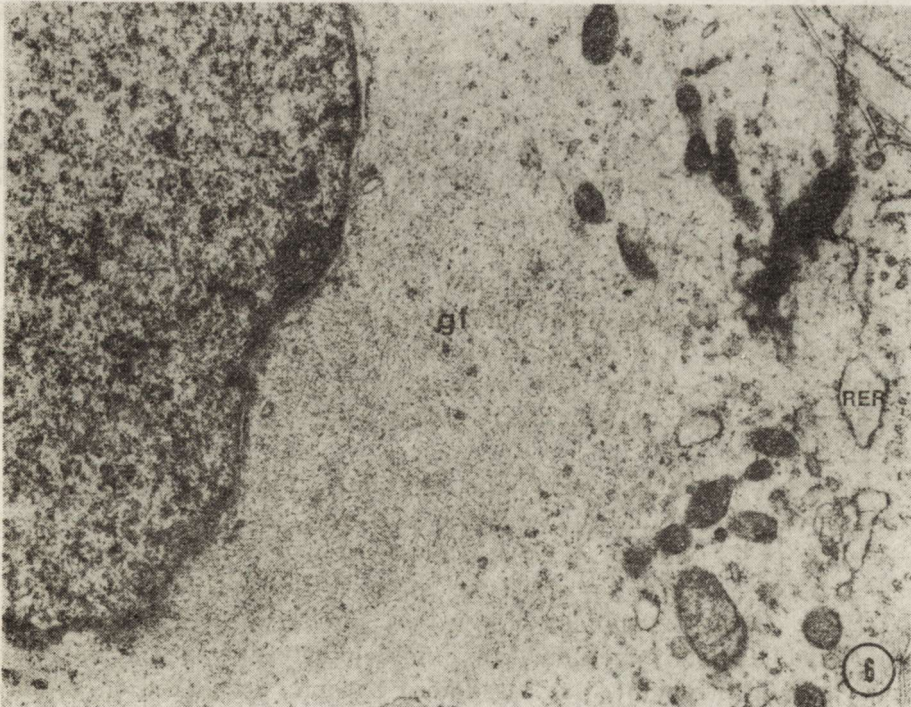
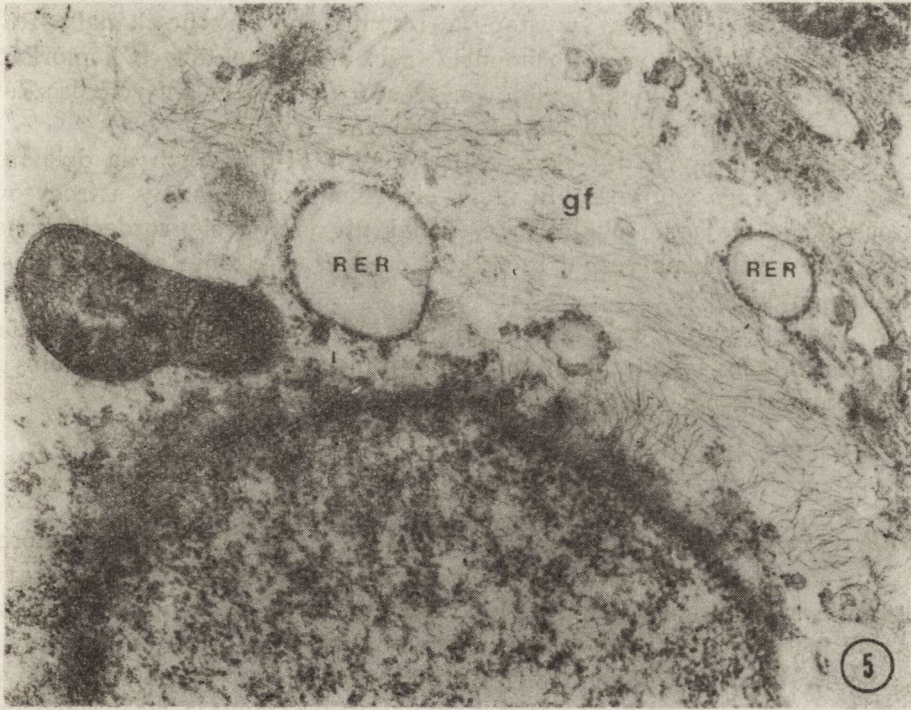
Fig. 4. The culture of striatum, 7 DIV (7 days of KA exposure). The astrocytic cytoplasm (G) with numerous filaments and gliotubules (gt). Normal appearance of neuron (N). $\times 15\,000$

Ryc. 5. Hodowla prążkowiec 14 DIV (3 dni KA). Liczne gliofilamenty (gf), rozszerzone kanały szorstkiej siateczki śródplazmatycznej (RER) w cytoplazmie astrocytu. Pow. 22000 \times

Fig. 5. The culture of striatum, 14 DIV (3 days of KA exposure). Numerous gliofilaments (gf) and dilated channels of the rough endoplasmic reticulum (RER) in the astrocytic cytoplasm. $\times 22\,000$

Ryc. 6. Hodowla prążkowiec 14 DIV (3 dni KA). Całkowite wypełnienie cytoplazmy astrocytu przez gliofilamenty (gf), znacznie uszkodzone mitochondria i poszerzone kanały szorstkiej siateczki śródplazmatycznej (RER). Pow. 13000 \times

Fig. 6. The culture of striatum 14 DIV (3 days of KA exposure). The astrocytic cytoplasm entirely filled with gliofilaments (gf). Considerably damaged mitochondria and dilated channels of the rough endoplasmic reticulum (RER). $\times 13\,000$



trocytów poza włóknami występują również poszerzone kanały RER i pojedyncze uszkodzone mitochondria (ryc. 5). W niektórych komórkach glejowych liczne włóknienka glejowe, często o układzie zbitych pęczków włókien, wypełniają całkowicie ich cytoplazmę (ryc. 6).

W ciągu kolejnych dni ekspozycji hodowli 14-dniowych na działanie kwasu kainowego zmniejszeniu ulega obrzmienie cytoplazmy astrocytów, mitochondria stają się obkurczone, nadal utrzymuje się rozcięcie kanałów siatki śródplazmatycznej szorstkiej oraz gromadzenie znacznej ilości gliofilamentów.

W żadnej grupie doświadczalnej nie obserwowano istotnych zmian morfologicznych świadczących o uszkodzeniu struktury poszczególnych typów komórek nerwowych prądkowia.

OMÓWIENIE

Charakterystyczną i powtarzalną cechą ultrastrukturalną komórek glejowych po podaniu kwasu kainowego do hodowli prądkowia jest gromadzenie się znacznej ilości włókien glejowych, prowadzące do powstania obrazu odpowiadającego glejozie włóknistej. W hodowli prądkowia już po krótkim, 3-dniowym okresie działania kwasu kainowego, nawet w mało zróżnicowanych komórkach glejowych pojawiają się uszkodzone mitochondria, wakuole, pojedyncze gliofilamenty i gliotubule. Włóknienka glejowe, znacznie rzadziej struktury tubularne, są charakterystyczną częścią składową cytoplazmy komórek dojrzałego gleju astrocytarnego zarówno *in vitro* jak *in vivo* (MacIntyre i wsp. 1972; Raine 1973; Vaughn, Pease 1967; Murabe, Sano 1981), natomiast występują sporadycznie w niedojrzałych komórkach glejowych zarówno w naszym materiale kontrolnym jak i w dojrzewającym układzie nerwowym u zwierząt (Palay 1964; Wendle-Smith i wsp. 1966; Vaughn, Peters 1967). Wyjątkowo rzadko w hodowli, jak również *in vivo*, obserwuje się glej włóknisty w takich strukturach szarych jak prądkowie, w którym liczba astrocytów plazmatycznych znacznie przewyższa liczbę komórek gleju włóknistego (Calay, Maxwell 1968; King, Schwyn 1970). Pojawienie się więc nadmiernej ilości gliofilamentów i gliotubul w komórkach niedojrzałego gleju w hodowlach prądkowia, po podaniu kwasu kainowego, należy ocenić jako zmianę metaboliczną wywołaną bezpośrednim jego działaniem.

Najbardziej nasiloną produkcję śródplazmatycznych struktur włóknienkowych obserwuje się w hodowlach poddanych działaniu kwasu kainowego po 14 dniach wzrostu *in vitro*, a więc w okresie dokonanego różnicowania komórek glejowych na astrocyty i oligodendrocyty (Renkawek 1972). Zmiany morfologiczne, w tym przede wszystkim proces tworzenia śródplazmatycznych struktur włóknienkowych w prądkowiu, dotyczą wyłącznie astrocytów i są zasadniczo podobne do uszkodzeń komórek

glejowych opisanych w hodowli organotypowej mózdzku poddanej działaniu kwasu kainowego (Renkawek i wsp. 1981). W hodowli prądkowia nadmierne tworzenie filamentów i tubuli występuje szybciej niż w analogicznych grupach wiekowych komórek glejowych mózdzku, a obraz glejozy włóknistej jest bardziej nasilony tzn. obejmuje większą populację rosnących komórek glejowych, niż po podaniu tej samej dawki kwasu kainowego do płynu wzrostowego hodowli mózdzku. Oprócz intensywnego narastania ilości włókienek w komórkach glejowych występują równocześnie cechy ich zwyrodnienia i obrzmienia.

Glejoza włóknista w ośrodkowym układzie nerwowym jest zjawiskiem patologicznym, uważanym za proces wtórny bądź też następny w stosunku do pierwotnego uszkodzenia komórek lub włókien nerwowych, występujący głównie choć nie wyłącznie w licznych chorobach zwyrodnieniowych (Oppenheimer 1976). Nadmierne tworzenie się włókien glejowych występuje również w innych chorobach układu nerwowego o różnej etiopatogenezie, takich jak zapalenia, uszkodzenia anoksyjne niedokrwienne i chemiczne (Colonnier 1964; Cavanagh 1970; Kruger, Hamori 1970; Vaughn, Skoff 1972; Osetowska 1974), w których uszkodzenie neuronów nie jest dominujące, bądź też nie występuje w ogóle w ich obrazie neuropatologicznym.

Pojawienie się znacznej ilości komórek gleju włóknistego w poszczególnych strukturach mózgu po podaniu kwasu kainowego *in situ* (Hattori, McGeer 1977; Wuerthéle i wsp. 1978), jak i namnażanie się komórek glejowych w hodowli komórkowej pochodzącej z prądkowia uszkodzonego przez kwas kainowy (Singh, Alstynne 1978) nie rozstrzyga jednak czy proces patologiczny dotyczący astrogleju jest reakcją pierwotną, czy też stanowi reakcję wtórną do ubytku neuronów. W warunkach *in vivo* reakcja glejowa w prądkowiu (Coyle i wsp. 1978), czy też rogu Amona (Murabe i wsp. 1981) występuje w miejscu ubytku neuronów i nasila się z czasem obserwacji po doświadczalnym uszkodzeniu tkanki przez kwas kainowy. Wraz z pojawieniem się glejozy narasta synteza białka w strukturach uszkodzonych między 3 a 10 dniem od podania kwasu kainowego (Singh i wsp. 1978; Jakubovic i wsp. 1979). Zjawisko to w świetle naszych obserwacji *in vitro* można wiązać ze wzrostem ilości struktur białkowych w komórkach glejowych.

W naszym materiale obejmującym zarówno mieszaną populację komórek glejowych i nerwowych eksplantatu, jak i „czystą” populację glejową strefy wzrostu hodowli, zmiany włókniste występują w astrocytach tkanki eksplantowanej oraz wyrastającej od odległej strefy wzrostu. W żadnym okresie wzrostu hodowli, niezależnie od nasilenia zmian glejowych w obserwacjach naszych, jak i w analogicznych hodowlach prądkowia, prowadzonych przez Panulę i wsp. (1979) nie obserwowano wyraźnych uszkodzeń komórek nerwowych. Brak odpowiedzi ze strony komórek nerwowych w hodowli może wynikać z nieo-

becności połączeń glutaminergicznych korowo—prążkowiowych, których przerwanie uważane jest za przyczynę uszkodzeń neuronów po podaniu kwasu kainowego *in vivo* (Bizzere, Coyle 1978; McGeer, McGeer 1978). Nasilenie zmian glejowych przy braku wyraźnych uszkodzeń komórek nerwowych, zarówno w hodowli prążkowiej, jak i mózdku, pozwala przypuszczać, że tworzenie włókien glejowych wynika z toksycznego wpływu kwasu kainowego doprowadzającego do zaburzeń w przemianie białkowej astroglii. Pozostaje jednak nadal otwarte zagadnienie, czy zmiany glejowe, prowadzące do powstania obrazu glejozy włóknistej są związane wyłącznie z zaburzeniami metabolicznymi astrocytów. Dla uzyskania pełnej odpowiedzi należałoby wykonać badania na czystych komórkowych hodowlach glejowych.

PIŚMIENNICTWO

1. Biziere K., Coyle J. T.: Influence of corticostriatal afferents on striatal kainic acid neurotoxicity. *Neurosci. Lett.*, 1978, 8, 303—310.
2. Calay D. W., Maxwell D. S.: An electron microscope study of the neuroglia during postnatal development of the rat cerebrum. *J. Comp. Neurol.*, 1968, 133, 45—69.
3. Cavanagh J. B.: The proliferation of astrocytes around needle wound in the rat. *J. Anat.*, 1970, 106, 471—487.
4. Colonnier M.: Experimental degeneration in the cerebral cortex. *J. Anat.*, 1964, 98, 47—53.
5. Coyle J. T., Schwarcz R.: Lesion of striatal neuron with kainic acid provides a model for Huntington's chorea. *Nature.*, 1976, 263, 244—246.
6. Coyle J. T., Molliver M. E., Kuhar M. J.: In situ injection of kainic acid: a new method for selectively lesioning neuronal cell bodies while sparing axons of passage. *J. Comp. Neurol.*, 1978, 180, 301—324.
7. Hattori T., McGeer E. G.: Fine structural changes in the rat striatum after local injections of kainic acid. *Brain Res.*, 1977, 129, 174—180.
8. Jakubovic A., Lin D., McGeer E. G.: Protein and RNA synthesis in kainic acid-injected striata. *Brain Res.*, 1979, 163, 289—294.
9. King J. S., Schwyn R. C.: The fine structure of neuroglia cells and pericytes in the primate red nucleus and substantia nigra. *Z. Zellforsch.*, 1970, 106, 309—321.
10. Kruger L., Hámori J.: An electron microscopic study of dendritic degeneration in the cerebral cortex resulting from laminar lesions. *Exp. Brain Res.*, 1970, 10, 1—16.
11. MacIntyre E. H., Ponten J., Vatter A. E.: The ultrastructure of human and murine astrocytes and of human fibroblasts in culture. *Acta Path. Microbiol. Scand. Sec. A*, 1972, 80, 267—283.
12. McGeer E. G., McGeer P. L.: Duplication of biochemical changes of Huntington's chorea by intrastriatal injection of glutamic and kainic acid. *Nature.*, 1976, 263, 517—519.
13. McGeer E. G., McGeer P. L., Singh K.: Kainic acid-induced degeneration of neostriatal neurons: dependency upon cortico-striatal tract. *Brain Res.*, 1978, 139, 381—383.
14. Murabe Y., Sano Y.: Morphological studies on neuroglia. I. Electron micro-

- scopic identification of silver-impregnated glial cells. *Cell Tiss Res.*, 1981, 216, 557—568.
15. Murabe Y., Ibata Y., Sano Y.: Morphological studies on neuroglia. II. Response of glial cells to kainic acid-induced lesions. *Cell Tiss. Res.*, 1981, 216, 569—580.
 16. Olney J. W., Rhee V., Ho O. L.: Kainic acid: a powerful neurotoxic analogue of glutamate. *Brain Res.*, 1974, 77, 507—512.
 17. Oppenheimer D. R.: Diseases of the basal ganglia, cerebellum and motor neurons. W: Greenfield's Neuropathology. Red. W., Blackwood J. A. N. Corseillis London 1976, 608—652.
 18. Osetowska E.: Tissue neuropathology of viral and allergic encephalitides. PZWL, Warszawa 1974.
 19. Palay S. L.: An electron microscopical study of neuroglia. W: Biology of neuroglia. Red. Windle W. F. Springfield 1964, 24—38.
 20. Panula P., Rechart L., Hervonen H.: Ultrastructure of cultured rat neostriatum. *Neuroscience* 1979, 4, 1441—1452.
 21. Raine C. S.: Ultrastructural applications of cultured nervous system tissue in neuropathology. *Progr. Neuropath.*, 1973, 2, 27—67.
 22. Renkawek K.: On the histochemical and enzyme-histochemical differences between various types of glia cells cultured in vitro. *Neuropat. Pol.*, 1972, 10, 308—315.
 23. Renkawek K., Matyja E., Mossakowski M. J.: Glial fibrillary changes induced by kainic acid in organotypic culture of the rat cerebellum. *J. neurol. Sci.*, 1982, 53, 321—330.
 24. Schwarcz R. C., Bennett J. P., Coyle J. T.: Loss of striatal serotonin synaptic receptor binding induced by kainic acid lesions: correlation with Huntington's disease. *J. Neurochem.*, 1977, 28, 867—869.
 25. Shinozaki H., Konishi S.: Actions of several anthelmintics and insecticides on rat cortical neurones. *Brain Res.*, 1970, 24, 368—371.
 26. Singh V. K., Alastyne D. V.: Glial cells from normal adult rat brain established in continuous culture. *Brain Res.*, 1978, 155, 418—421.
 27. Singh V. K., McGeer E. G., McGeer P. L.: Changes of (³H) colchicine binding and protein synthesis in rat striatum following kainic acid lesions. *Brain Res.*, 1978, 146, 195—199.
 28. Vaughn J. E., Pease D. C.: Electron microscopy of classically stained astrocytes. *J. Comp. Neurol.*, 1967, 131, 143—154.
 29. Vaughn J. E., Peters A.: Electron microscopy of the early postnatal development of fibrous astrocytes. *Am. A. Anat.*, 1967, 121, 131—153.
 30. Vaughn J. E., Skoff R. R.: Neuroglia in experimentally altered central nervous system. W: The structure and function of the nervous system. Red. G. Bourne, Academic Press, 1972, 39—72.
 31. Wendle-Smith C. P., Blunt M. J., Baldwin F.: The ultrastructural characteristics of macroglia cell types. *J. comp. Neurol.*, 1966, 127, 219—237.
 32. Wuerthele S. M., Lovell K. L., Jones M. Z., Moore K. E.: A histological study of kainic acid-induced lesions in the rat brain. *Brain Res.*, 1978, 149, 489—497.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА ГЛИОЗНЫХ КЛЕТОК
В ОРГАНОТИПИЧНОЙ КУЛЬТУРЕ ПОЛОСАТОГО ТЕЛА
ПОДВЕРГНУТОЙ ДЕЙСТВИЮ КАИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Резюме

Органотипичные культуры полосатого тела крысиных новорожденных в возрасте от 3 до 14 дней *in vitro* были подвергнуты действию каиновой кислоты (Kainic acid) в дозе 10^{-4} Моля. Наиболее интенсивную трансформацию глии в направлении фиброзной глии авторы получили в культурах подвергнутых действию каиновой кислоты после 14 дня роста *in vitro* также само, как и в культурах мозжечка в периоде дифференциации глиозных клеток на астроциты и олигодендроциты. Возникновение глиозных волокон в астроцитах в 3-7-дневных культурах предшествуется повреждением митохондрий и шероховатой интраплазматической сетки и образованием вакуолей. Интенсивные глиозные изменения при одновременном отсутствии отчетливых повреждений нервных клеток как в культурах полосатого тела, так в мозжечке позволяют заключать, что патологическая реакция образования глиозных волокон вытекает из токсического влияния каиновой кислоты доводящей до расстройств в белковом обмене астроцитарной глии.

MORPHOLOGY OF STRIATAL GLIAL CELLS IN ORGANOTYPIC TISSUE
CULTURE SUBMITTED TO KAINIC ACID

Summary

Organotypic cultures of rat striatum at the age from 3 — 14 days *in vitro* were treated with kainic acid in a dose of 10^{-4} M. The most intensive production of gliofibrils was observed in cultures 14-day old when the glial cells differentiate into astrocytes and oligodendrocytes. The glial fibrils formation is preceded by a damage of mitochondria, dilation of RER and appearance of vacuoles: Enhanced glial changes without concomitant or preceding neuronal abnormalities observed both in the striatal and cerebellar cultures allow to suppose that the pathological reaction in the form of fibrillary gliosis results from the toxic action of kainic acid inducing disturbances in protein metabolism of astroglial cells.

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

LESŁAW J. MAZIARZ, ANTONI GODLEWSKI

ZMIANY MORFOLOGICZNE I HISTOENZYMATYCZNE W KORZE AMONALNEJ I W KORZE MÓZDŻKU ZACHODZĄCE POD WPŁYWEM DUŻYCH DAWEK CHLORKU CYNKU

Zakład Neuropatologii AM, Poznań

Od dawna znana jest rola cynku w metabolizmie ustroju. Cynk jest aktywatorem lub inhibitorem wielu enzymów, bierze udział w metabolizmie wielu innych metali: miedź, żelazo, kadm (Julsham i wsp. 1977), ma istotne znaczenie w syntezie niektórych hormonów (ACTH, insulina).

Istnieje szereg zespołów objawów niedoboru cynku w organizmie (Szmigielski, Litwin 1964; Caggiano i wsp. 1969), zwłaszcza w rozwijającym się ośrodkowym układzie nerwowym. Niedobór cynku powoduje liczne zmiany (O'Neal i wsp. 1974; McKenzie i wsp. 1975; Fosmire i wsp. 1975; Sandstead i wsp. 1977). Prace dotyczące wpływu nadmiaru związków cynku na tkankę nerwową są nieliczne, być może dlatego, że cynk i jego sole uważa się za substancje mało toksyczne (Moeschlin 1960).

Wcześniej opublikowane prace dotyczące wpływu dużych dawek związków cynku: chlorku (Kozik 1979; 1980), tlenku (Kozik i wsp. 1980) i cynkotoxu (Godlewski 1981, Maziarz 1981) na układ nerwowy, wykazały szereg zmian morfologicznych i histoenzymatycznych w tkance nerwowej. W obecnej pracy postanowiono skoncentrować się na zmianach patologicznych w korze amonalnej i w korze mózdku, ponieważ struktury te są znane ze swojej szczególnej wrażliwości na różne czynniki szkodliwe oraz charakteryzują się zróżnicowaną zawartością cynku (Fjerdingsstad i wsp. 1977).

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 20 dojrzałych szczurach rasy Wistar, samicach i samcach, o ciężarze ciała od 160 do 180 g. Zwierzętom podawano codziennie przez okres 3 tygodni po 50 mg chlorku cynku w postaci wodnego roztworu dożołądkowo.

Po przeprowadzeniu doświadczenia szczury uśmiercano w narkozie eterowej przez przecięcie serca i wykrwawienie. Następnie wyjmowano mózgowia i utrwalano je w płynie Bakera przez 16 godzin w temp. 4°C. Część materiału po zatopieniu w parafinie przeznaczono do badań morfologicznych. Skrawki parafinowe barwiono hematoksyliną i eozyną, metodą Nissla, na niektórych wykonano również reakcję PAS. Resztę materiału przeznaczono do badań histoenzymatycznych. Po pocięciu na mikrotomie mrozeniowym, na wolno pływających skrawkach wykonano oznaczenia aktywności następujących fosfataz i esteraz: pyrofosfatazy tiaminowej (TPPazy) — E.L. 2.5.1.3. *, wg metody Novikoff'a i Goldfischer'a (1961). Czas inkubacji 30 min w temp. pokojowej, esterazy nieswoistej (NsE) — E. L. 3.1.1.1., wg metody Nachlas'a i Seligmann'a (1949). Inkubacja w temp. 37°C przez 15 min, acetylocholinoesterazy (AChE) — E. L. 3.1.1.7., wg metody Gerebtzoff'a (1953). Inkubacja w temp. 37°C przez 120 min, butyrylotiocholinoesterazy (BuTJ) — E.L. 3.1.1.8., wg metody Gerebtzoff'a (1953). Inkubacja w temp. 37°C przez 180 min, fosfatazy zasadowej (FZ) — E. L. 3.1.3.1., wg metody Gomori'ego (1953). Inkubacja w temp. 37°C przez 30 min, fosfatazy kwaśnej (FK) — E.L. 3.1.3.2., wg metody Gomori'ego (1953). Inkubacja w temp. 37°C przez 50 min, adenozynotrójfosfatazy (ATPazy) — E.L. 3.6.3.1., wg metody Wachstein'a i Meisel'a (1957). Inkubacja w temp. 37°C przez 45 minut.

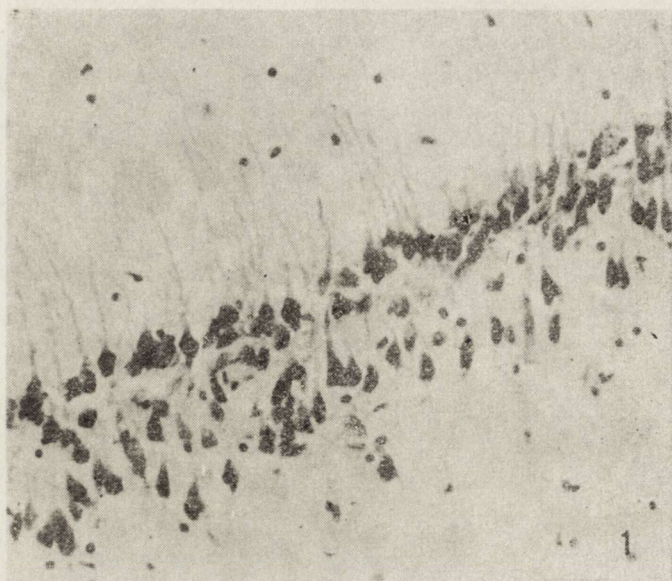
Osobną grupę stanowiło 6 szczurów kontrolnych, którym zamiast wodnego roztworu chlorku cynku podawano wodę destylowaną. Dalszy tok postępowania z materiałem kontrolnym nie różnił się od opisanego powyżej.

WYNIKI

Zmiany morfologiczne

Pod wpływem dużych dawek chlorku cynku dochodzi w korze amonalnej i korze mózdku do uogólnionych zmian tkankowych, dotyczących neuronów, gleju i naczyń krwionośnych. W licznych neurocytach kory amonalnej stwierdza się cechy schorzenia przewlekłego. Komórki te są małe, obkurczone, ciemne, często o poskręcanych wypustkach. W niektórych dochodzi do tigrolizy i zmian rozplywnych. Obserwuje się drobne, nieregularne pola ubytków neuronalnych. Zmiany neuronów o największym nasileniu występują w polach CA3 (ryc. 1) i CA4, a także w płycie końcowej; mniejsze zmiany spotyka się w polach CA1 i CA2 oraz w komórkach ziarnistych zawoju zębatego. W całej korze amonalnej dochodzi do rozplemu komórek glejowych, zwłaszcza oligodendrogleju (ryc. 2). Ponadto obserwuje się obrzmienie komórek śródbłonna w licznych naczyniach włosowatych.

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



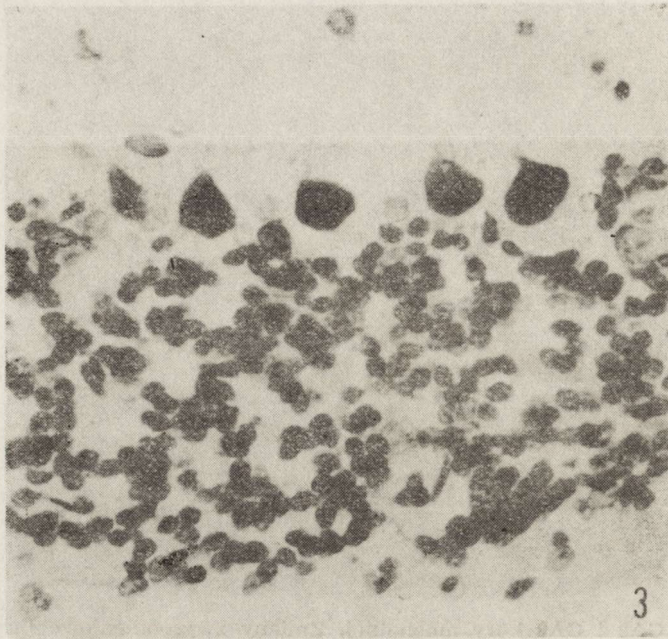
Ryc. 1. Pole CA2 i CA3 kory amonalnej. Zmiany zwyrodnieniowe licznych komórek piramidowych. Fiolet krezyłu. Pow. 200 ×

Fig. 1. CA2 and CA3 sector of the Ammon's horn. Degeneration of numerous pyramidal cells. Cresyl-violet. × 200

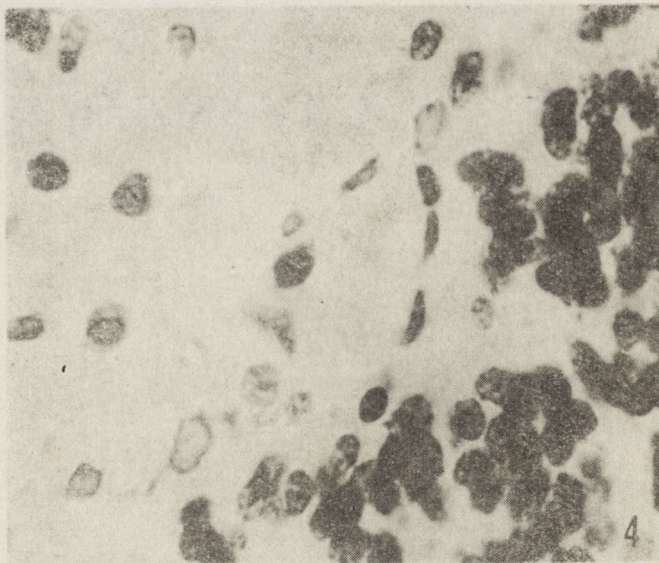


Ryc. 2. Płytką końcowa rogu Amona. Rozrost oligodendrocytów. Fiolet krezyłu. Pow. 510 ×

Fig. 2. End-plate of the Ammon's horn. Proliferation of oligodendrocytes. Cresyl-violet. × 510



Ryc. 3. Kora mózdzku. Zmiany neuronalne o typie schorzenia przewlekłego w komórkach Purkiniego. Przerzedzenie warstwy ziarnistej. Fiolet krezyłu. Pow. 510 \times
Fig. 3. Cerebellar cortex, chronic neuronal changes of Purkinje cells. Rarefaction of the granular layer. Cresyl-violet. \times 510



Ryc. 4. Kora mózdzku. Obrzęk komórek śródbłonna ściany naczynia włosowatego w warstwie ziarnistej. Fiolet krezyłu. Pow. 760 \times
Fig. 4. Cerebellar cortex. Swelling of the capillary endothelium in the granular layer. Cresyl-violet. \times 760

W korze mózdzku zmiany dotyczą głównie warstwy komórek Purkiniego. Spotyka się ich odcinkowe ubytki, natomiast duża część zachowanych komórek Purkiniego wykazuje cechy schorzenia przewlekłego (ryc. 3). Równocześnie obserwuje się przerost gleju Bergmanna. Neurocyty warstwy drobinowej i ziarnistej wydają się niezmienione, gdzieś widoczne jest tylko niewielkie przerzedzenie i ścięczenie warstwy ziarnistej. Podobnie jak i w korze amonalnej, zmiany glejowe polegają na niewielkiego stopnia rozplemie komórek glejowych, zwłaszcza oligodendrogleju, zmiany naczyniowe manifestują się obrzmieniem komórek śródbłonna w niektórych naczyniach włosowatych (ryc. 4).

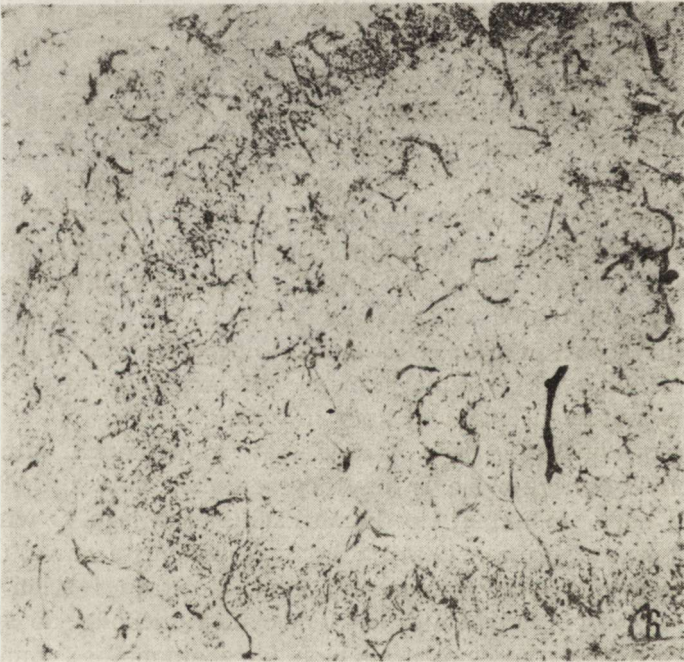
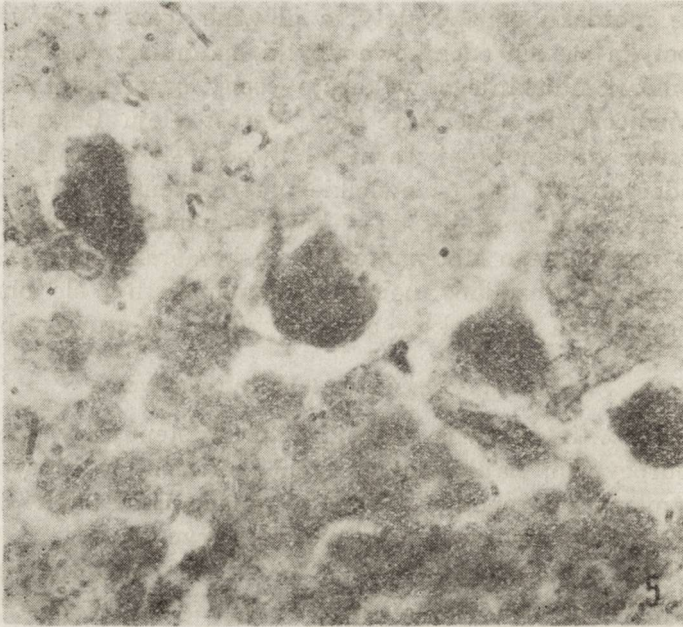
Zmiany histochemiczne i histoenzymatyczne

Reakcja PAS. Intensywna reakcja PAS występuje w wielu obkurczonych neurocytach, najliczniej w tych okolicach, w których największe były zmiany neuronalne, a więc w polach CA3 i CA4 kory amonalnej i w warstwie zwojowej kory mózdzku (ryc. 5).

Pyrofosfataza tiaminowa (TPPaza). W grupie kontrolnej intensywną aktywność enzymatyczną obserwuje się w ściankach naczyniowych, w komórkach Purkiniego w korze mózdzku, nieco mniejszą w komórkach nerwowych kory amonalnej, zwłaszcza w dużych komórkach piramidowych (ryc. 6). Śladowa aktywność TPPazy występuje w niektórych komórkach glejowych, niewielką aktywność enzymatyczną obserwuje się w neurocytach warstwy ziarnistej i drobinowej kory mózdzku. W grupie doświadczalnej dochodzi do znacznego wzrostu aktywności TPPazy. Wzrost ten zaznacza się najwyraźniej w komórkach piramidowych pól CA2 i CA3 kory amonalnej (ryc. 7) i w komórkach Purkiniego, w których odczyn ma gruboziarnisty, grudkowy charakter. Nieznacznie wzrasta aktywność enzymatyczna TPPazy w komórkach ziarnistych zawoju zębatego oraz w ścianach naczyniowych. Podobnie niewielki wzrost odczynu enzymatycznego obserwuje się w pojedynczych komórkach warstwy drobinowej kory mózdzku.

Esteraza nieswoista (NsE). U zwierząt kontrolnych silny odczyn enzymatyczny obserwuje się w neurocytach pola CA2 i CA3 warstwy piramidowej kory amonalnej i w komórkach Purkiniego. O wiele słabszą aktywność enzymatyczną wykazują komórki ziarniste zawoju zębatego, niektóre komórki warstwy ziarnistej kory mózdzku i ścian naczyniowych. Pod wpływem zatrucia chlorkiem cynku dochodzi do spadku aktywności enzymatycznej w neurocytach kory amonalnej. Zmniejsza się również odczyn enzymatyczny w komórkach Purkiniego, komórkach ziarnistych zawoju zębatego i w perycytach.

Acetylocholinoesteraza (AChE). Dochodzi do niewielkiego spadku aktywności enzymatycznej AChE na całym obszarze kory amonalnej (ryc. 8, 9) i kory mózdzku. Odczyn enzymatyczny umiejscowiony jest podobnie jak w grupie kontrolnej. Występuje głównie w ściankach na-

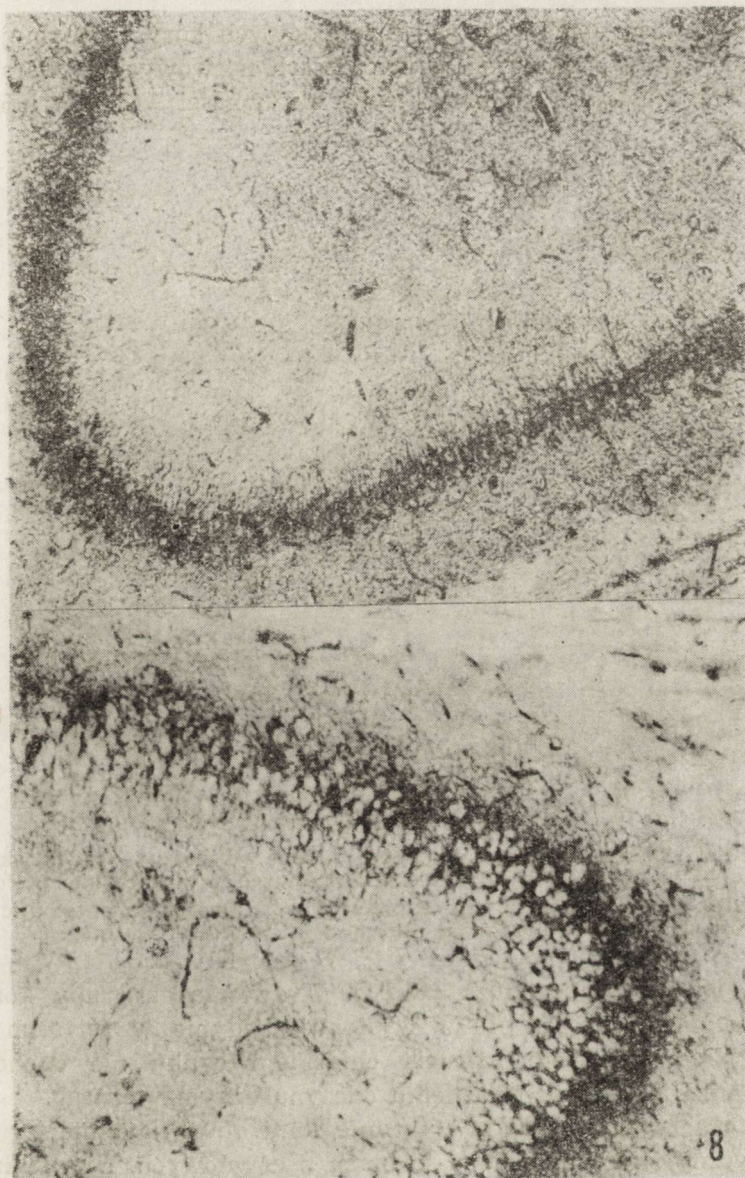


Ryc. 5. Kora mózdzku. PAS-dodatnie komórki Purkinjego. Pow. 760 \times

Fig. 5. Cerebellar cortex. PAS-positive Purkinje cells. $\times 760$

Ryc. 6. TPPaza. Grupa kontrolna. Pole CA3 kory amonalnej. Wyrażna aktywność w ścianach naczyńiowych, delikatny odczyn enzymatyczny w komórkach piramidowych. Pow. 80 \times

Fig. 6. TPPase. Control group. CA3 sector of the Ammon's horn. Distinct activity in the vascular walls, discrete enzymatic reaction in the pyramidal cells. $\times 80$



Ryc. 7. TPPaza. Grupa doświadczalna. Znaczny wzrost aktywności enzymatycznej w komórkach piramidowych kory amonalnej, aktywność w ścianach naczyńwowych również ulega wzmożeniu. Pow. 80 ×

Fig. 7. TPPase. Experimental group. Significant increase of enzymatic activity in the pyramidal cells of the Ammon's horn. Enhanced activity of the vessel walls. × 80

Ryc. 8. AChE. Grupa kontrolna. Róg Amona. Aktywność enzymatyczna w ścianach naczyńwowych i w neuropilu. Pow. 80 ×

Fig. 8. AChE. Control group. Ammon's horn. Enzymatic activity in the vessel walls and neuropil. × 80

czyniowych, dendrytach komórek piramidowych kory amonalnej i opaski zębatej, oraz w niektórych zakończeniach nerwowych II warstwy kory mózdzku. Nigdzie nie obserwuje się aktywności AChE w komórkach glejowych.

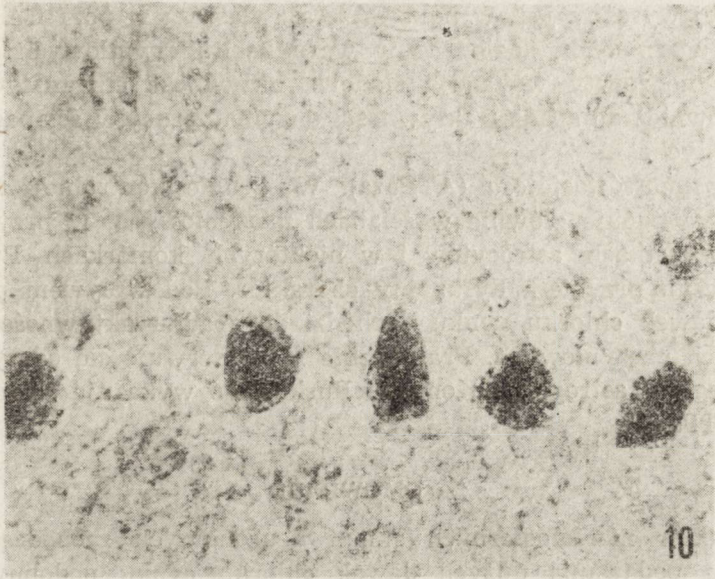


Ryc. 9. AChE. Grupa doświadczalna. Róg Amona. Widoczny spadek aktywności enzymatycznej w dendrytach komórek piramidowych i w naczyniach. Pow. 80 ×
 Fig. 9. AChE. Experimental group. Ammon's horn. Decreased enzymatic activity in dendrites of pyramidal cells and in the vessel walls. × 80

Butyrylotiocholinoesteraza (BuTJ). U zwierząt z grupy kontrolnej aktywność enzymatyczna BuTJ występuje jedynie w ścianach naczyń. Pod wpływem zatrucia chlorkiem cynku nie dochodzi do zmian w umiejscowieniu i nasileniu odczynu enzymatycznego.

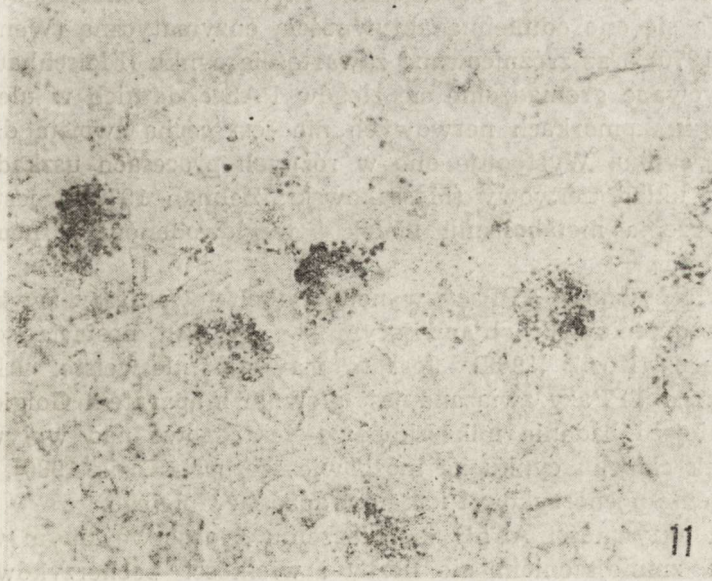
Fosfataza zasadowa (FZ). W grupie kontrolnej najsilniejszy odczyn enzymatyczny widoczny jest w ścianach naczyń. Niewielki, dyfuzyjny odczyn na FZ występuje w niektórych komórkach piramidowych kory amonalnej, głównie w polach CA2 i CA3 oraz w komórkach Purkiniego. Warstwa ziarnista i drobinowa kory mózdzku nie wykazuje aktywności enzymatycznej. W grupie doświadczalnej nie obserwuje się zmian aktywności FZ.

Fosfataza kwaśna (FK). U zwierząt poddanych działaniu dużych dawek chlorku cynku obserwuje się w porównaniu z grupą kontrolną uogólniony, niewielkiego stopnia spadek aktywności FK (ryc. 10, 11). Spadek aktywności enzymatycznej FK widoczny jest zwłaszcza w komórkach Purkiniego oraz w neurocytach pola CA2 i CA3 kory amonal-



Ryc. 10. FK. Grupa kontrolna. Znaczna aktywność enzymatyczna w komórkach Purkinjego kory mózdzku. Pow. 510 \times

Fig. 10. AcPhase. Control group. Significant enzymatic activity in Purkinje cells. \times 510



Ryc. 11. FK. Grupa doświadczalna. Wyraźny spadek aktywności enzymatycznej w komórkach Purkinjego kory mózdzku. Pow. 510 \times

Fig. 11. AcPhase. Experimental group. Distinct decrease of enzymatic activity in Purkinje cells. \times 510

nej, mniej wyraźny jest w polu CA4, a zwłaszcza w polu CA1 i w komórkach ziarnistych, gdzie już w warunkach prawidłowych tylko pojedyncze neurocyty wykazują śladową aktywność enzymatyczną. Dochodzi również do spadku aktywności enzymatycznej w ścianach naczyń krwionośnych.

Adenozynotrójfosfataza (ATPaza). W grupie kontrolnej aktywność ATPazy występuje głównie w ścianach naczyńiowych, w przynaczyniowych wypustkach astrocytów i w niektórych komórkach Purkiniego, gdzie odczyn przybiera dyfuzyjny charakter. Pod wpływem podawania dużych dawek chlorku cynku dochodzi do spadku aktywności ATPazy w ścianach naczyńiowych. Praktycznie nie obserwuje się odczynu enzymatycznego w astrogleju. Komórki Purkiniego wykazują śladową aktywność ATPazy.

OMÓWIENIE

Charakter morfologicznych zmian neuronalnych zachodzących pod wpływem podawania dużych dawek chlorku cynku podobny jest do opisywanych w przypadku zatrucia tlenkiem cynku (Kozik i wsp. 1980) i cynkotoxem (Godlewski 1981, Maziarz 1981). Wydają się one jednak bardziej nasilone. Największe nasilenie zmian w polach CA3 i CA4 kory amonalnej wynika z faktu wybiórczej wrażliwości poszczególnych obszarów kory amonalnej na działanie czynników szkodliwych i dobrze koreluje z wielokrotnie podkreślaną największą wrażliwością właśnie tych odcinków kory amonalnej na działanie czynników uszkadzających. Charakteryzują się one odmienną aktywnością enzymatyczną (Wender, Kozik 1968; 1970) oraz zróżnicowaną zawartością cynku (Fleischhauer 1959).

Obserwowane gromadzenie się złogów PAS-dodatnich w ulegających zwyrodnieniu komórkach nerwowych nie jest cechą swoistą dla zatrucia solami cynku. Występuje ono w różnych procesach uszkadzających ośrodkowy układ nerwowy (Mossakowski, Zelman 1979) i jest przejawem zaburzenia metabolizmu białek i węglowodanów w neurocytach (Kozik 1975).

Wzrost aktywności TPPazy w neurocytach towarzyszy zwykle zmianom zwyrodnieniowym objawiającym się np. pod postacią schorzenia przewlekłego (Kozik 1969). Jest to zjawisko nieswoiste. Aktywność enzymatyczna TPPazy związana jest głównie z aparatem Golgiego. Nieco wcześniejsze badania mikroskopowo-elektronowe nad wpływem dużych dawek chlorku cynku na mózgowie szczura (Kozik 1980), wykazały poszerzenie pęcherzyków i kanałów aparatu Golgiego.

Spadek aktywności AChE w połączeniu z obserwowanym wcześniej wyraźnym zmniejszeniem się liczby i wielkości pęcherzyków synaptycznych w zakończeniach presynaptycznych pod wpływem zatrucia chlorkiem cynku (Kozik 1980), może potwierdzać znany fakt, że chociaż cynk jest niezbędny w procesie prawidłowego przekazywania bodźców

w obrębie kory amonalnej (Matsuura i wsp. 1976), to jego nadmiar hamuje przekazywanie impulsów nerwowych przez synapsy tej okolicy (Crawford, Connor 1972).

W obu badanych strukturach obserwuje się uogólniony rozplem oligodendrogleju. W tym miejscu należy podkreślić, że zjawisko to opisywane poprzednio w pracach, dotyczących działania dużych dawek chlorku cynku (Kozik 1980) i innych jego związków (Kozik i wsp. 1980), wydaje się być jednym z najbardziej charakterystycznych elementów obrazu histopatologicznego zmian, zachodzących pod wpływem zatrucia solami cynku.

Zmiany naczyniowe, manifestujące się obrzękiem śródbłonek naczyń włosowatych mogą stwarzać możliwości powstawania zakrzepów, tym bardziej, że istnieją doświadczone przesłanki wskazujące na występowanie tendencji do nadkrzepliwości krwi w zatruciu cynkiem (Guja 1977; Guja, Wycisło-Guja 1978). W badanym materiale nie obserwowano jednak zmian zakrzepowych w mózgu.

Patomechanizm wpływu dużych dawek chlorku cynku na układ nerwowy pomimo nagromadzenia szeregu obserwacji jest nadal niejasny, nie wiadomo nawet czy zmiany obserwowane w układzie nerwowym w zatruciu związkami cynku są pierwotne czy wtórne. Niezależnie od istniejących wątpliwości, można przypuszczać, że opisane przez nas zmiany są związane z zaburzeniem metabolizmu białkowego w komórkach nerwowych. Za takim poglądem przemawiają znane właściwości aktywowania lub hamowania czynności wielu enzymów przez cynk.

WNIOSKI

1. Wielokrotne podawanie dużych dawek chlorku cynku powoduje zmiany neuronalne o typie schorzenia przewlekłego w korze amonalnej (największe w polach CA3 i CA4) oraz w komórkach Purkiniego kory mózdzku.

2. W omawianych warunkach doświadczalnych dochodzi do rozplemu oligodendrogleju i obrzęknięcia śródbłonek naczyń włosowatych w korze amonalnej i korze mózdzku.

3. Pod wpływem zatrucia chlorkiem cynku dochodzi do wzrostu aktywności enzymatycznej TPPazy w omawianych strukturach.

4. Przewlekłe podawanie dużych dawek chlorku cynku powoduje spadek aktywności enzymatycznej ATPazy, NsE, FK i AChE.

PIŚMIENICTWO

1. Caggiano V., Schnitzer R., Strauss W., Baker R. K., Carter A. C., Josephson A. S., Wallach S.: Zinc deficiency in a patient with retarded growth, hypogonadism, hypogammaglobulinemia and chronic infection. *Am. J. Med. Sci.*, 1969, 257, 305—309.

2. Crawford I. L., Connor J. D.: Zinc in maturing rat brain: Hippocampal concentration and localization. *J. Neurochem.*, 1972, 19, 1451—1458.
3. Fjerdingstad E., Danscher G., Fjerdingstad E. J.: Changes in zinc and lead content of rat hippocampus and whole brain following intravital dithizone treatment as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. *Brain Res.*, 1977, 130, 369—373.
4. Fleischhauer K.: Zur Chemoarchitektonik der Ammonsformation. *Nervenarzt.*, 1959, 30, 305—309.
5. Florkin M., Stotz E. H.: Enzyme nomenclature. W: *Comprehensive Biochemistry*, vol. 13, Elsevier, Amsterdam 1973.
6. Fosmire G. J., AL - Ubaidi Y. Y., Sandstead H. H.: Some effects of postnatal zinc deficiency on developing rat brain. *Pediat. Res.*, 1975, 9, 89—93.
7. Gerebtzoff M.: Recherches histochimiques sur les acetylcholine et choline esterases. *Acta Anat.*, (Basel), 1953, 19, 366—379.
8. Godlewski A.: Zmiany morfologiczne i histoenzymatyczne neurogleju w mózgu szczura pod wpływem wysokich dawek cynkotoxu. *Neuropat. Pol.*, 1981, 19, 389—398.
9. Gomori G.: *Microscopic histochemistry*. Univ. Press., Chicago 1953.
10. Guja A.: Urokinaza w moczu i aktywność fibrynolityczna krwi w doświadczalnym zatruciu cynkiem. *Pat. Pol.*, 1977, 28, 201—209.
11. Guja A., Wycisło-Guja E.: Test parakoagulacji w doświadczalnym zatruciu cynkiem. *Pat. Pol.*, 1978, 29, 165—169.
12. Julsham K., Utne T., Brackkan O. R.: Interactions of cadmium with copper, zinc and iron in different organs and tissues of the rat. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 1977, 41, 515—524.
13. Kozik M.: Cytochemistry of chronic Nissl disease. *Acta Med. Pol.*, 1969, 10, 401—403.
14. Kozik M. B.: Histochemistry of neuronal degenerative changes. *J. Hirnforsch.*, 1975, 16, 351—370.
15. Kozik M. B.: Morfologia mikroskopowo-światlna i ultrastrukturalna mózgu w zatruciu chlorkiem cynku. *Neuropat. Pol.*, 1980, 18, 431—445.
16. Kozik M. B.: The effect of $ZnCl_2$ ingestion on the activity of various phosphatases and esterases of the rat brain. *Activ. nerv sup.*, 1979, 21, 277—278.
17. Kozik M. B., Maziarz L. J., Godlewski A.: Morphological and histochemical changes occurring in the brain of rats fed large doses of zinc oxide. *Folia Histochem. Cytochem.*, 1980, 18, 201—206.
18. Matsuura T., Ibata Y., Sano Y.: The zinc iodide-osmium tetroxide (ZIO) reaction on nerve endings in the median eminence of the rat under normal and experimental conditions. *Cell Tiss. Res.*, 1976, 173, 279—286.
19. Maziarz L. J.: Zmiany neuronalne w mózgu szczura spowodowane zatruciem cynkotoxem. *Neuropat. Pol.*, 1981, 19, 537—550.
20. McKenzie J. M., Fosmire G. J., Sandstead H. H.: Zinc deficiency during the latter third of pregnancy: Effects on fetal rat brain, liver and placenta. *J. Nutr.*, 1975, 105, 1466—1475.
21. Moeschlin S.: *Intoxications. Clinic and treatment*. PZWL, Warszawa 1960.
22. Mossakowski M. J., Zelman I. B.: Glycogen deposition as an indicator of glucose metabolism disturbances in the brain due to various damaging factors. *Neuropat. Pol.*, 1979, 17, 85—96.
23. Nachlas M., Seligmann A.: The histochemical demonstration of esterase. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1949, 9, 415—425.
24. Novikoff A., Goldfischer B. S.: Nucleoside diphosphatase activity in the Golgi apparatus and its usefulness for cytological studies. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1961, 9, 47—61.

25. O'Neal R. M., Pla G. W., Sivey Fox M. R., Gibson F. S., Fry B. E.: Effect of zinc deficiency and restricted feeding on protein and ribonucleic acid metabolism of rat brain. *J. Nutr.*, 1974, 100, 491—497.
26. Sandstead H. H., Fosmire G. J., Halas E. S., Jacob R. A., Strobel D. A., Marks E. O.: Zinc deficiency: effects on brain and behavior of rats and rhesus monkeys. *Teratology* 1977, 16, 229—234.
27. Szmigielski S., Litwin J.: Cynk w fizjologii i patologii człowieka. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 1964, 18, 613—635.
28. Wachstein M., Meisel E.: Histochemistry of hepatic phosphatases of a physiologic pH with special reference to the demonstration of bile canaliculi. *Amer. J. Clin. Path.*, 1957, 27, 13—23.
29. Wender M., Kozik M. B.: Zur Chemoarchitektonik des Ammons Gebietes während der Entwicklung des Mausehirns. *Acta Histochem.*, 1968, 31, 166—170.
30. Wender M., Kozik M. B.: Studies of histoenzymatic architecture of the Ammons horn in the developing rabbit brain. *Acta Anat.*, 1970, 25, 248—262.

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИСТОЭНЗИМАТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ
В КОРЕ АММОНОВА РОГА И В КОРЕ МОЗЖЕЧКА
ВОЗНИКАЮЩИЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ БОЛЬШИХ ДОЗ ХЛОРИСТОГО ЦИНКА**

Резюме

В статье представлены морфологические и гистоэнзиматические изменения в коре аммонова рога и в коре мозжечка возникающие под влиянием введения больших доз хлористого цинка. Хлористый цинк вводился в желудок 20 крыс в течение 21 дня в дозе по 50 мг в сутки.

В результате проведенных исследований авторы констатировали неврональные изменения, главным образом типа хронического заболевания в коре аммонова рога и в клетках Пуркинье в коре мозжечка. Самую большую интенсивность этих изменений они наблюдали в полях CA3 и CA4 коры аммонова рога. Этим изменениям сопутствовала умеренная пролиферация олигодендроглии и отек эндотелиев капилляров. Кроме того наблюдались изменения энзиматической активности этих областей заключающиеся в росте активности тиаминовой пиродифосфатазы и в снижении активности неспецифической эстеразы, аденозинтрифосфатазы, ацетилохолинэстеразы и кислой фосфатазы.

В результате проведенных наблюдений сделано предложение, что главным фактором обуславливающим морфологическую и гистопатологическую картину отравления хлористым цинком являются расстройства белкового метаболизма.

**MORPHOLOGICAL AND HISTOENZYMATIC CHANGES IN THE AMMON'S
HORN AND CEREBELLAR CORTEX DUE TO THE INFLUENCE OF THE HIGH
ZINC CHLORIDE DOSES**

S u m m a r y

Morphological and histoenzymatic changes in the Ammon's horn and in cerebellar cortex due to chronic action of the high doses of zinc chloride are demonstrated. Zinc chloride in a dose of 50 mg per day was given through the gastric tube to 20 rats during the period of 21 days. Neuronal changes, mostly of the chronic type were found in the Ammon's horn and Purkinje cells. The most intensive changes were observed in CA₃ and CA₄ sectors of the Ammon's horn.

These changes were accompanied by moderate proliferation of oligodendroglia and swelling of capillary endothelium. Moreover, in the same regions the changes in enzymatic activity were observed. They consisted in increase of TPPase activity and decrease of NsE, ATPase, AChE and AcPhase activities.

Basing on the presented observations the authors are inclined to suppose that the disturbances in protein metabolism are the main factors determining the morphological and histoenzymatic abnormalities resulting from the zinc chloride intoxication.

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

ELŻBIETA KIDA, KRYSZYNA RENKAWEK, ILIA VICTOROV

OCENA DOJRZEWANIA ISTOTY CZARNEJ W HODOWLI ORGANOTYPOWEJ

I. BADANIA W MIKROSKOPIE ŚWIETLNYM I FLUORESCENCYJNYM

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN
Instytut Mózgu Akademii Nauk Medycznych ZSRR, Moskwa

Wykrycie w latach sześćdziesiątych dopaminy w ośrodkowym układzie nerwowym (Carlsson i wsp. 1958; Hornykiewicz 1962), zapoczątkowało badania nad jej rolą w fizjologii i patologii ludzkiej, oraz doprowadziło do poznania powiązanych z nią struktur i ich wzajemnych połączeń funkcjonalnych. Zawartość dopaminy stwierdzono w istocie czarnej, składającej się z dwu części: bogatokomórkowej warstwy zbitej oraz ubogokomórkowej, zawierającej liczne wypustki nerwowe warstwy siatkowatej. W obu warstwach istoty czarnej wyróżniono obecność trzech typów komórek nerwowych (Juraska i wsp. 1977). Najliczniejsze są komórki piramidowe średniej wielkości, o rozmiarach 19—46 μm . Ich aksony nie oddają na swoim przebiegu odgałęzień bocznych, a dendryty, posiadające liczne typowe zgrubienia, tworzą bogate rozgałęzienia, które nie wywędrowują poza obręb istoty czarnej. Stwierdzono przy tym, że cienkie, delikatne dendryty oraz dendryty komórek istoty czarnej zwierząt młodych wykazują większe bogactwo wrzecionowatych rozszerzeń na ich przebiegu. Przyjmuje się, że w zgrubieniach tych znajduje się szczególnie obfite nagromadzenie katecholamin. Komórki tego typu dają początek drodze czarno-prądkowiowej. Preston i wsp. (1981) wyróżniają wśród nich jeszcze dwa odrębne podtypy. Część komórek posiada długie, nierozgałęzione aksony, które podążają w pęczku podłużnym do poszczególnych struktur kresomózgowia. Pozostałe komórki o krótkich aksonach nie opuszczają warstwy zbitej i siatkowatej istoty czarnej.

Inne komórki obecne w istocie czarnej stanowią mniej liczne neurony duże, różnokształtne, o rozmiarach 45—74 μm , oraz neurony drobne, okrągłe, o rozmiarach 11—26 μm , uznawane na ogół za neurony wstawkowe.

Połączenia istoty czarnej są bardzo bogate i nie całkowicie jeszcze poznane. Istnienie drogi czarno-prążkowiowej wykazano za pomocą metody histofluorescencji (Anden i wsp. 1964; Lindvall, Björklund 1974). Wiadomo również o połączeniach prążkowiego z istotą czarną, gdzie rolę przekaźników synaptycznych spełniają kwas gamma-amino-masłowy i substancja P (Kim i wsp. 1971; Gale i wsp. 1977), oraz istoty czarnej ze wzgórzem i węchomózgowiem (Fallon i wsp. 1978; Bentivoglio i wsp. 1979). Stwierdzono przy tym, że nie wszystkie włókna opuszczające istotę czarną są włóknami dopaminergicznymi (Hedreen 1978).

Badania dopaminergicznych neuronów istoty czarnej prowadzone były również w warunkach organotypowej i zdysocjowanej hodowli tkankowej (Hösli i wsp. 1971; Coyle i ws. 1973; Schlumpf i wsp. 1977; Prochiantz i wsp. 1979). Wykazały one zdolność do długiego przeżywania i rozwoju neuronów istoty czarnej w warunkach hodowli tkankowej. Dzięki temu stanowić ona może wygodny model do badania różnicowania morfologicznego i biochemicznego monoaminergicznych neuronów ośrodkowego układu nerwowego.

Przedstawione badania miały na celu ocenę prawidłowego rozwoju i dojrzewania neuronów istoty czarnej w warunkach hodowli organotypowej.

MATERIAŁ I METODY

Badania prowadzono na hodowlach organotypowych istoty czarnej pobieranej od 17—19 dniowych zarodków myszy czarnych szczepu C 57/6J. Wyodrębnione w powiększeniu lupowym fragmenty istoty czarnej z obu stron pnia mózgu dzielono na skrawki o rozmiarach $1 \times 1,5$ mm, uzyskując po 8—10 eksplantatów. Eksplantaty umieszczano na szkiełkach pokrytych żelifikowanym kolagenem, dodawano 1 kroplę płynu odżywczego i utrzymywano w komorach Maximowa do 15 dni. Środowisko odżywcze zawierało 30% surowicy (w równym stosunku surowicę płodów cielęcych i surowicę łożyskową ludzką), 70% płynu Eagle'a, 800 mg glukozy, 294 mM glutaminy oraz 0,2 j/ml insuliny.

Na części szkiełek, poza eksplantatami istoty czarnej umieszczano również eksplantaty prążkowiego, starając się zachować między eksplantatami odległość w granicach 1—2 mm.

Płyn odżywczy zmieniano co 72 godziny. Hodowle inkubowano w ciepłarni w temperaturze 37°C i przeglądano codziennie w mikroskopie fazowo-kontrastowym. W trzydniowych odstępach czasu hodowle oceniano w mikroskopie fluorescencyjnym f-my Leitz. Do wykrywania dopaminy opracowano metodę histofluorescencji, opierając się na metodach podanych przez Lindvalla i Björklunda (1974) oraz de la Torre i Surgeona (1976), z użyciem kwasu glioksalowego i par paraformaldehydu. Przy inkubacji dodawano do roztworu na 15 min przed utrwaleniem pargili-

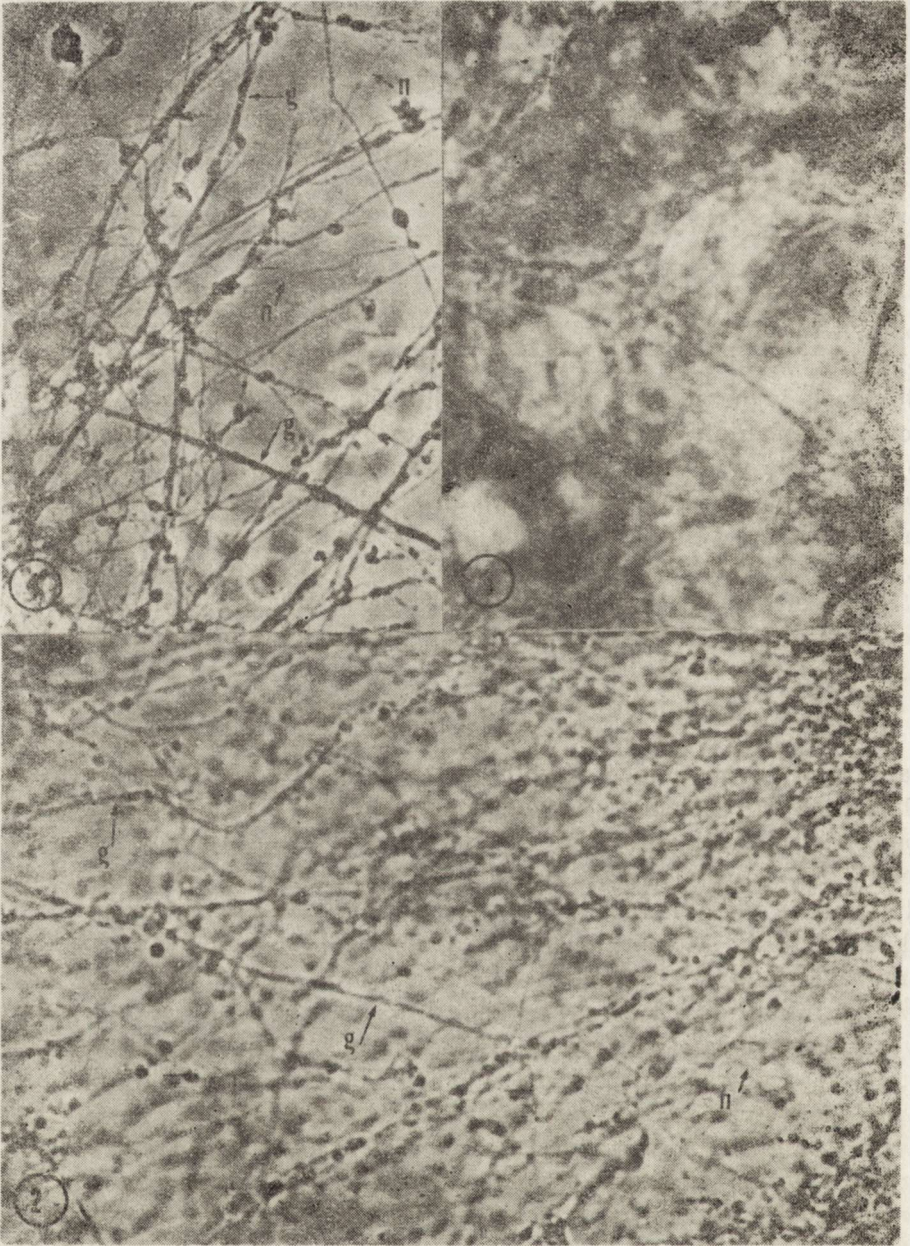
nę w stężeniu 10^{-4} M, oraz do części hodowli także dopaminę w stężeniu 10^{-5} M. Jako kontrolę swoistości metody stosowano rozerpinę dodawaną do roztworu inkubacyjnego w stężeniu 10^{-5} M.

WYNIKI

W większości eksplantatów istoty czarnej po 20 godz. obserwacji hodowli *in vitro* pojawiała się strefa wzrostu utworzona przez cienkie, delikatne włókienka otaczające równomiernie eksplantat. Wyrastanie włókienek wyprzedzało migrację gleju. Komórki glejowe wywędrowujące z eksplantatu i tworzące początkowo niewielką warstwę wzrostu pojawiały się w drugiej dobie utrzymywania hodowli *in vitro*. W kolejnych dniach ilość komórek glejowych szybko wzrastała tworząc szeroką strefę wzrostu, wśród której znajdowały się delikatne włókienka (ryc. 1). Dynamiczny i szybki wzrost włókienek obserwowano do 8 dnia *in vitro*. Tworzyły one wokół eksplantatu gęstą sieć wzajemnie przenikających się włókien. Wśród nich można było wyróżnić szerokie wypustki glejowe oraz makrofagi (ryc. 2).

W pierwszych dniach obserwacji *in vitro* identyfikacja neuronów istoty czarnej była trudna ze względu na znaczną grubość warstwy eksplantatu. W tych dniach również metoda histofluorescencji nie pozwalała na ich wyróżnienie, z powodu nakładania się na siebie kilku warstw komórek i licznych, krzyżujących się włókien, wykazujących intensywną zieloną fluorescencję. Identyfikacja komórek nerwowych była możliwa od 7 dnia *in vitro*, a więc w okresie znacznie luźniejszego układu komórek eksplantatu. Komórki nerwowe położone były dość luźno, pomiędzy nimi obecne były liczne wypustki nerwowe. Komórki miały kształt owalny lub piramidowy oraz ekscentrycznie położone jądro z wyraźnym, dużym jąderkiem (ryc. 3). Populacja neuronów była raczej jednorodna, zdecydowanie przeważały w niej komórki średniej wielkości, jedynie sporadycznie obserwowano drobne komórki okrągłe.

Po zastosowaniu techniki histofluorescencji uwidoczniło się w strefie wzrostu liczne, delikatne włókienka wykazujące intensywne zielone świecenie (ryc. 4). Cechowały się one obecnością brodawkowatych rozszerzeń występujących na ich przebiegu (ryc. 5) oraz wyraźnym stożkiem wzrostu na szczycie włókien (ryc. 6). Między 8 a 9 dniem *in vitro* rozpoczynał się proces mielinizacji włókien. Od 8 dnia w strefie wzrostu hodowli obserwowano dalsze wydłużanie się wypustek nerwowych, tworzących bogate rozgałęzienia. Obfita była również ilość wypustek i komórek glejowych otaczających włókna. Po 14 dniach obserwacji *in vitro* pojawiały się zwłaszcza w miejscu eksplantatu liczne makrofagi oraz zmiany w komórkach, świadczące o narastającym procesie zwyrodnienia. Wiele neuronów zawierało ziarniste złoże w cytoplazmie, obrysy jąder stawały się zatarte, wypustki ulegały fragmentacji. Zmiany te



Ryc. 1. Hodowla 3-dniowa. Liczne delikatne wypustki nerwowe (n) pomiędzy wypustkami glejowymi (g) w strefie wzrostu hodowli. Mikroskop fazowo-kontrastowy. Pow. 400 ×

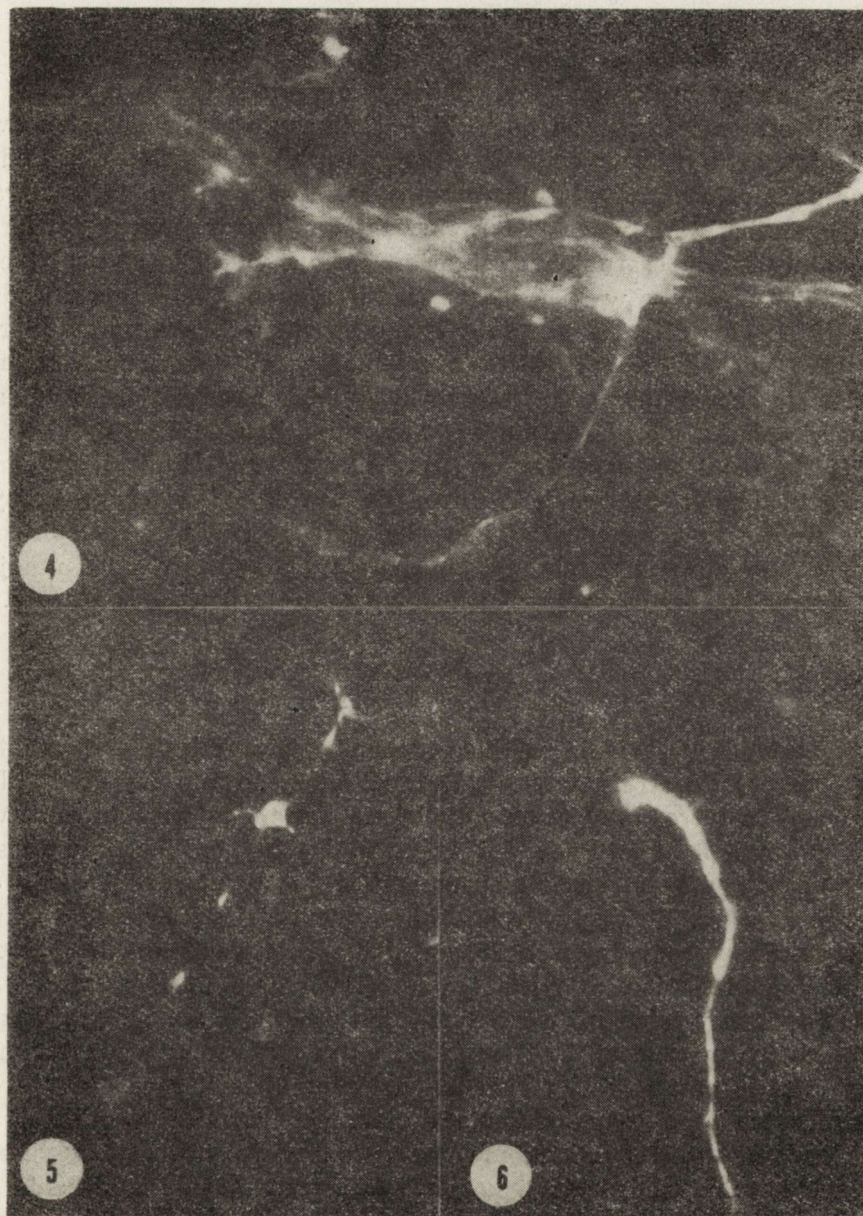
Fig. 1. 3-day-old culture. Numerous neuronal processes (n), intermingled with glial ones (g) in the outgrowth zone. Phase-contrast microscopy. × 400

Ryc. 2. Hodowla 6-dniowa. Gęsta sieć wypustek nerwowych i glejowych. Mikroskop fazowo-kontrastowy. Pow. 200 ×

Fig. 2. 6-day-old culture. Dense network of neuronal and glial processes in the outgrowth zone. Phase-contrast microscopy × 200

Ryc. 3. Hodowla 13-dniowa, eksplantat. Komórki nerwowe z delikatnie ziarnistą cytoplazmą i ekscentrycznie położonym jądrem. Mikroskop fazowo-kontrastowy. Pow. 800 ×

Fig. 3. 13-day-old culture. Nerve cells with fine granular cytoplasm and extracentrically situated nuclei. Phase-contrast microscopy. × 800



Ryc. 4. Hodowla 6-dniowa. Włókna nerwowe w strefie wzrostu wykazują intensywną fluorescencję. Pow. 500 ×

Fig. 4. 6-day-old culture. Neuronal processes in the outgrowth zone revealing intensive fluorescence. × 500

Ryc. 5. Hodowla 4-dniowa. Wypustki komórek nerwowych w odległej strefie wzrostu z charakterystycznymi zgrubieniami na ich przebiegu. Histofluorescencja. Pow. 500 ×

Fig. 5. 4-day-old culture. Neuronal processes with typical varicosities on their course in the distant part of the outgrowth zone. Histofluorescence. × 500

Ryc. 6. Hodowla 6-dniowa. Stożek wzrostu włókna dopaminergicznego. Histofluorescencja. Pow. 1000 ×

Fig. 6. 6-day-old culture. Growth cone of a dopaminergic nerve process. Histofluorescence. × 1000

w równym stopniu dotyczyły włókienek w obrębie strefy wzrostu. W obrazie histofluorescencyjnym komórki i włókna ulegające zmianom zwyrodnieniowym wykazywały bardzo znaczne osłabienie świecenia. Podobny obraz morfologiczny i dynamikę wyrastania włókien obserwowano w hodowlach, które na tym samym szkiełku podstawowym zawierały eksplantaty istoty czarnej i prądkowia. Włókna wychodzące z obu eksplantatów wyrastały w kierunku sąsiadujących eksplantatów z jednakową intensywnością. W strefie wzrostu występowało wzajemne przemieszanie włókien, a w pobliżu eksplantatów obserwowano wrastanie włókien do eksplantatów, do których były ukierunkowane. Ilość włókien wyrastających z istoty czarnej w przypadku hodowli mieszanych nie różniła się znacząco w porównaniu do hodowli samej tylko istoty czarnej. Po 14 dniach obserwacji *in vitro*, również w hodowlach mieszanych pojawiały się w eksplantatach i strefie wzrostu zmiany zwyrodnieniowe, podobne do poprzednio opisanych, ale obejmowały one mniejszą ilość neuronów, niż w przypadku hodowli samej tylko istoty czarnej.

OMÓWIENIE

Intensywne wyrastanie włókien dopaminergicznych z eksplantatów istoty czarnej do strefy wzrostu hodowli utrzymywało się do 14 dnia obserwacji *in vitro*, przy czym największą dynamikę wzrostu obserwowano w ciągu 8 pierwszych dni *in vitro*. Delikatne, cienkie wypustki nerwowe pojawiały się wokół eksplantatów już w pierwszej dobie obserwacji *in vitro*. Wykazywały one intensywne zielone świecenie w mikroskopie fluorescencyjnym w drugiej dobie obserwacji *in vitro*. Jest to zgodne z doniesieniami Coyle'a i wsp. (1973) oraz Prochiantza i wsp. (1979) i świadczy o bardzo wczesnym i dynamicznym wzroście wypustek neuronów istoty czarnej. Taki szybki i aktywny wzrost wypustek nerwowych może przemawiać za ich dużymi zdolnościami regeneracyjnymi. Potwierdzenia tego przypuszczenia dostarczają również wyniki pracy Björklunda i wsp. (1980), któremu udało się z powodzeniem przeszczepić otrzymane techniką dysocjacji komórki istoty czarnej do prądkowia dorosłych szczurów, po uprzednim zniszczeniu połączeń istoty czarnej z prądkowiem. Komórki istoty czarnej nie tylko przeżywały w prądkowiu przez 5-tygodniowy okres trwania doświadczenia, ale wytworzyły prawidłowe połączenia w obrębie prądkowia.

Wydłużanie się wypustek, zgrubienia na ich przebiegu, których ilość wzrastała w miarę obserwacji *in vitro* oraz widoczny od 8 dnia obserwacji proces mielinizacji włókien świadczą o dalszym ich dojrzewaniu. Charakterystyczne zgrubienia występujące na przebiegu włókien, jak również obecne na ich szczytach kolbkowate rozszerzenia reprezentujące stożki wzrostu, wykazujące intensywnie zieloną fluorescencję, wskazują na szczególnie obfite nagromadzenie w nich katecholamin.

Populacja neuronów istoty czarnej obecnych w eksplantatach nie wykazuje wyraźnego zróżnicowania. Wyraźnie dominują neurony średniej wielkości o kształcie owalnym lub piramidowym, zawierające ekscentrycznie położone, duże jądro z wyraźnym jąderkiem. Komórki ułożone są przeważnie luźno, oddzielone od siebie pęczkami wypustek. Ich obraz morfologiczny wykazuje znaczne podobieństwa do opisanego przez Schlumpfa i wsp. (1977).

Trudnym do wytłumaczenia zjawiskiem jest proces zwyrodnieniowy obejmujący zarówno komórki nerwowe jak i ich wypustki, obserwowany od 14 dnia wzrostu hodowli *in vitro*. Odgrywać tu mogą rolę takie czynniki jak zbyt szybka regeneracja wypustek nerwowych doprowadzająca w krótkim czasie do wyczerpywania się potencjału komórek, lub też przerwanie połączeń aferentnych neuronów istoty czarnej, które mogą być konieczne dla ich prawidłowego rozwoju i dojrzewania. Na korzystny wpływ wywierany na eksplantaty istoty czarnej przez prądkowie, gdzie w warunkach fizjologicznych ulega zakończeniu jedna z dróg wiodących z istoty czarnej zwrócił uwagę Levitt i wsp. (1976). Prochiantz i wsp. (1979) potwierdzili to spostrzeżenie wykazując, że w przypadku hodowli mieszanych istoty czarnej i prądkowia synteza dopaminy była w 15 dniu obserwacji hodowli *in vitro* znacznie większa w porównaniu do hodowli zawierających tylko komórki istoty czarnej. Stwierdzono również szybszy i bogatszy wzrost wypustek nerwowych i ich wcześniejsze dojrzewanie. Stymulujący wpływ prądkowia autorzy tłumaczą obecnością hipotetycznego czynnika wyzwalanego w komórkach prądkowia oraz powstawaniem specyficznych wzajemnych interakcji między neuronami obu struktur.

Obserwacje nasze nie potwierdzają doniesień o obfitszym wzroście włókien dopaminergicznych w obecności neuronów prądkowia. Należy jednak uwzględnić fakt, że w przypadku hodowli organotypowej, obiektywna ocena ilości wyrastających z eksplantatów wypustek jest niezmiernie trudna, ze względu na ograniczone możliwości przeprowadzenia weryfikacji morfometrycznej z powodu obecności gęstej sieci przebiegających i rozgałęziających się we wszystkich kierunkach wypustek nerwowych, występującej zwłaszcza przy dłuższych okresach obserwacji hodowli *in vitro*. W naszym materiale hodowle mieszane wykazywały natomiast znacznie mniejszy stopień zwyrodnienia komórek i wypustek niż hodowle izolowanej istoty czarnej w tym samym okresie wzrostu *in vitro*. Można więc sądzić, że komórki hodowli prądkowia wpływają na zdolność syntezy dopaminy i obraz morfologiczny średnich neuronów istoty czarnej, mimo że część ich włókien ulega zwyrodnieniu. Pełna ocena właściwości morfologicznych komórek nerwowych w hodowlach istoty czarnej i w hodowlach mieszanych wymaga jednak uzupełniających badań w mikroskopie elektronowym.

PISMIENICTWO

1. Anden N. E., Carlsson A., Dahlström, A., Fuxe K., Hillarp N. A., Larsson K.: Demonstration and mapping out of nigrostriatal dopamine neurons. *Life Sci.*, 1964, 3, 523—530.
2. Bentivoglio M., Van Der Kooy D., Kuypers H. J.: The organization of the efferent projection of the substantia nigra in the rat: a retrograde fluorescence double labeling study. *Brain Res.*, 1979, 174, 1—17.
3. Björklund A., Schmidt R. H., Stenevi U.: Functional reinnervation of the neostriatum in the adult rat by use of intraparenchymal grafting of dissociated cell suspension from the substantia nigra. *Cell Tiss. Res.*, 1980, 212, 39—45.
4. Carlsson A., Lindquist M., Magnusson T. N., Waldeck B.: On the presence of 3-hydroxytyramine in the brain. *Science* 1958, 127, 471.
5. Coyle J. T., Jacobowitz D., Klein D., Axelrod J.: Dopaminergic neurons in explants of substantia nigra in culture. *J. Neurobiol.*, 1973, 5, 461—470.
6. Fallon J. H., Riley J. N., Moore R. Y.: Substantia nigra dopamine neurons: separate populations project to neostriatum and allocortex. *Neurosci. Lett.*, 1978, 7, 157—162.
7. Gale K., Hong J. S., Guidotti A.: Presence of substance P and GABA in separate striatonigral neurons. *Brain Res.*, 1977, 136, 371—376.
8. Hedreen J.: Nondopaminergic and dopaminergic nigrostriatal pathway in rats. *Neurosci. Abs.*, 1978, 4, 45.
9. Hornykiewicz O.: Dopamin (3-hydroxytyrramin) in Zentralnervensystem und seine Beziehung zum Parkinson Syndrom des Menschen. *Deutsch. med. Wschr.*, 1962, 82, 1807—1810.
10. Hösl E., Meier-Ruge W., Hösl L.: Monoamine-containing neurons in cultures of rat brain stem. *Experientia*, 1971, 27, 310.
11. Juraska J. A., Wilson C. J., Groves P. M.: The substantia nigra of the rat: a Golgi study. *J. Comp. Neurol.*, 1977, 172, 585—594.
12. Kim J. S., Hassler R., Hong P., Paik K. S.: Role of gamma-aminobutyric acid (GABA) in the extrapyramidal motor system. *Exp. Brain Res.*, 1971, 14, 95—104.
13. Levitt P., Moore R. Y., Garver B.: Selective cell association of catecholamine neurons in brain aggregates in vitro. *Brain Res.*, 1976, 111, 311—320.
14. Lindvall O., Björklund A.: The glyoxylic acid fluorescence histochemical method: a detail account of the methodology for the visualization of the central catecholamine neurons. *Histochemistry* 1974, 39, 97—127.
15. Preston R. J., McCrea R. A., Chang H. T., Kitai S. T.: Anatomy and physiology of substantia nigra and reticulobulbar neurons studied by extra and intracellular recording and by horseradish peroxidase labeling. *Neuroscience*, 1981, 3, 331—344.
16. Prochiantz A., Di Porzio U., Kato A., Berger B., Głowiński J.: In vitro maturation of mesencephalic dopaminergic neurons from mouse embryos is enhanced in presence of their striatal target cells. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 1979, 76, 5387—5391.
17. Schlumpf M., Shoemaker W. B., Bloom F. E.: Explant cultures of catecholamine-containing neurons from rat brain: Biochemical histofluorescence and electronmicroscopic study. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1977, 74, 4471—4475.
18. Torre de la J. C., Surgeon J. W.: A methodological approach to rapid and sensitive monoamine histofluorescence using a modified glyoxylic acid technique: the SPG method. *Histochemistry* 1976, 49, 81—93.

ОЦЕНКА СОЗРЕВАНИЯ ЧЕРНОГО ВЕЩЕСТВА
ВО ВНЕОРГАНИЧЕСКОЙ ОРГАНОТИПИЧНОЙ КУЛЬТУРЕ

Резюме

Авторы проводили морфологические наблюдения в фазно-контрастном микроскопе и после применения метода гистофлюоресценции они изучали структурную организацию, рост и созревание черного вещества среднего мозга мышей в органотипичной культуре.

С первых дней наблюдения *in vitro* авторы наблюдали массивное вырастание из эксплантата дофаминэргических волокон, опережающее миграцию глии. Как в культурах черного вещества, так и в смешанных культурах черного вещества и полосатого тела динамика роста и число волокон были похожи. Смешанные культуры проявляли значительно меньшую степень дегенерации клеток и отростков чем культуры изолированного черного вещества в том самом периоде роста *in vitro*.

MATURATION OF NIGRAL CULTURES IN VITRO

Summary

Structural organization, growth and maturation of mice substantia nigra in organotypic cultures was studied in phase-contrast microscopy and in histofluorescence method revealing monoamine content. An abundant outgrowth of dopaminergic fibers preceding glial cells migration from the explant was found starting already since the first days *in vitro*. Both in pure nigral cultures and in those composed of substantia nigra and striatum the dynamic of outgrowth and the number of neuronal processes were similar. Mixed cultures showed much less advanced process of degeneration both of the nerve cells and their processes than the analogous cultures of the isolated substantia nigra.

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

KOMUNIKATY

XIII Konferencja Naukowa Polskiego Towarzystwa Neurochirurgów, która miała odbyć się we Wrocławiu w dniach 24—26 września 1982, została przeniesiona na termin od 15 do 17 kwietnia 1983 r.

Temat główny — niedostateczność krążenia mózgowego.

Adres Komitetu Organizacyjnego: Dr hab. Jerzy Wroński, Katedra i Klinika Neurochirurgii AM, 50-420 Wrocław, ul. Traugutta 118.

*

W dniach od 6 do 8 kwietnia 1983 r. odbędzie się w Greifswaldzie (NRD) doroczny VIII Zjazd Towarzystwa Neuropatologicznego NRD.

Tematy główne — układ nerwowo-mięśniowy,
— aktualne problemy neuropatologii klinicznej
doświadczalnej.

Przewodniczącym Komitetu Organizacyjnego jest prof. dr med. R. Warzok.

Adres Komitetu Organizacyjnego: Dr med. G. Schwesinger, Pathologisches Institut der Ernst-Moritz-Arndt-Universität, DDR-2200 Greifswald, Friedrich-Löffler Str. 23e.

*

W dniach 18—20 września 1983 r. odbędzie się w Bydgoszczy IV Zjazd Polskiego Towarzystwa Immunologicznego, zorganizowany przez Polskie Towarzystwo Immunologiczne, Komitet Immunologii PAN i Polskie Towarzystwo Alergologiczne.

Tematy główne — immunoregulacja
— autoimmunizacja
— choroby atopowe

*

W okresie od 26 do 30 września 1983 r. odbędzie się w Waszyngtonie XV Międzynarodowe Sympozjum na temat padaczki, zorganizowane przez Amerykańskie Towarzystwo Badań nad Padaczką, Międzynarodową Ligę do Włki z Padaczką i Międzynarodowe Biuro Padaczki.

Adres Komitetu Organizacyjnego: Driscoll and Associates, 1925 North Lynn Street, Suite 1002, Arlington, Virginia 22209, USA.

*

Komisja Neurochemii Komitetu Nauk Neurologicznych PAN zawiadamia że w dniach 23—24 czerwca 1983 r. odbędzie się w Poznaniu Sympozjum na następujące tematy:

— Badania podstawowe związane z chorobami demielinizacyjnymi. Aspekty biochemiczne, immunologiczne i kliniczne stwardnienia rozsianego i podostrego stwardniającego zapalenia mózgu.

W czasie konferencji przewiduje się zorganizowanie dyskusji okrągłego stołu pt. „Wartość lecznicza izoprzynozyny w SSPE”.

Zgłoszenia referatów i doniesień oraz rezerwację hoteli prosimy kierować do dnia 28 lutego 1983 do prof. dr hab. Mieczysława Wendera, Klinika Neurologii AM, 60—355 Poznań, ul. Przybyszewskiego 49

Jerzy Dymecki

JERZY KULCZYCKI, ALEKSANDRA KRYGIER-STOJAŁOWSKA,
KAZIMIERZ JASZCZAK, KRYSZYNA HONCZARENKO, PRZEMYSŁAW
NOWACKI, MIROŚLAW MADEJ

DEOXYRIBONUCLEOPROTEINS IN NEURONS AND GLIAL CELLS IN THE BRAIN OF MICE AT DIFFERENT AGE

Department of Neurology (Neuropathological Laboratory), Institute of the Nervous
System and Sensory Organs Diseases, Medical School, Szczecin
Department of Pathological Anatomy (Laboratory of Cellular Pathology) Institute
of Biostructure, Medical School, Szczecin

The presence of nerve cells whose DNA amount exceeds the diploid-
al one which is normal in the brains of animals and man has been
shown by numerous authors (Lentz, Lapham 1970; Novakova et al. 1970;
Bregnard et al. 1975; Brodsky et al. 1979). In our previous works we
have also demonstrated this fact. The results which we obtained sug-
gested that the proportion of nerve cells containing a hyperdiploid
amount of DNA, increased with age. This was demonstrated through
the analysis of rat and human brains (Krygier-Stojałowska et al. 1977;
1980; Kulczycki et al. 1979). The number of neurons containing hyper-
diploid amount of DNA was not great and showed not only individual
variances but also those depending on the site from which the studied
samples had been obtained. It is difficult to explain the mechanism and
the role of higher DNA amounts in nondividing somatic cells. Only so-
me hypotheses explaining this fact as a result of increased functions of
the cells were presented. The main support of this hypothesis is based
on the appearance of polyploid amounts of DNA in myocardial fibers
depending on age and the functional overloading at the heart. In cases
of myocardial hypertrophy polyploid DNA amounts in the myocardial
nuclei appear even in children, while under normal conditions they are
found only in adults (Sandritter, Scmazzone, 1964). Brodsky et al. (1979)
explained the presence of hyperdiploid DNA amounts in some Purkinje
cells in the cerebellum of rats, cats, chickens and man as a result of
possible persistence of fetal nerve cells which had been inhibited in
their development at the S-phase of their life cycle. This concept seems
likely, especially in the light of the investigations of Gelfant (1977),

Baserga et al. (1978), Darżynkiewicz et al. (1979), who demonstrated cell blockade at such phases of their life cycle as G₁ and G₂. The appearance of a slightly raised per cent of neurons with hyperploid DNA amount in older individuals has not been explained. In our investigations this seemed to occur also in rats (Krygier-Stojałowska et al. 1980). In the present investigations on mice we tried to elucidate this problem.

MATERIAL AND METHODS

The investigations were carried out using the brains of CF/W mice from the animal farm of the Department of Experimental Genetics, Institute of Genetics and Animal Breeding, Polish Academy of Sciences in Jastrzębiec. The age of the animals was: 4 months — 1 mouse; 6 months — 2 mice; 1 year — 2 mice; 2 years — 5 mice; 3 years — 2 mice.

Immediately after killing the animal the brain was homogenized manually in 0.02% EDTA solution in Ringer fluid; the homogenate was filtered through gauze and centrifuged at 800 × g. Smears were prepared from the sediment, dried and fixed in a mixture of 95% ethanol and 10% formalin in a 9 : 1 ratio. The fixed preparations were stained using the Feulgen method and the Merck pararosanilin for preparing Schiff reagent. Hydrolysis in 1 N HCl at 60°C lasted 2, 5, 8, 11, 17 and 20 min. Cytophotometric measurements were made in an integrating cytophotometer (Barr and Stroud) at 490 nm wavelength. Oligodendroglial cells, neurons from the frontal lobes and from the brain stem were measured.

RESULTS

No morphological changes were found in the histological examinations of the studied brains.

The purpose of the quantitative cytochemical investigations was: a) to study possible changes in euchromatin and heterochromatin, b) to demonstrate changes in DNA amount in different cells. The nuclei of the oligodendroglial cells were used as a reference standard of cells with diploid DNA amounts.

Changes in chromatin condensation were evaluated determining chromatin susceptibility to acid hydrolysis, in view of the fact that euchromatin is more susceptible to acid hydrolysis (Mittermeyer et al. 1971; Dujindan et al. 1975 a, b). The analysis of this susceptibility was based on the so-called acid hydrolysis curves reflecting the kinetics of this hydrolysis in nuclear chromatin. We found that the neuronal nuclei in

Table 1. Optimal staining in Feulgen reaction for acid hydrolysis in relation to time
 Tabela 1. Najintensywniejsze zabarwienie w reakcji Feulgena w zależności od czasu trwania
 kwaśnej hydrolizy

Age Wiek	Cells		Komórki	
	oligodendroglia	astroglia	frontal cortex neurons	brain stem neurons
months miesiące	4	14 min	14 min	11 min
	4	11 min	11 min	11 min
	6	8 min	8 min	8 min
year rok	1	8 min	8 min	8/17 min
	1	8 min	11 min	8 min
years lata	2	11 min	11 min	11 min
	2	11 min	11 min	11/17 min
	2	8 min	8 min	5-11-14 min
	2	8 min	8 min	5-8 min
	2	11 min	11 min	8 min
years lata	3	8 min	8 min	8 min
	3	8 min	8 min	8 min

younger mice were slightly less susceptible to acid hydrolysis, and that the optimal staining in Feulgen reaction was obtained in 2 cases after 11 minutes of this hydrolysis, and in 1 case after 8 minutes (Tab. 1). In older mice (aged over 1 year) in 7 out of 9 cases the nuclear chromatin of the neurons showed the strongest staining in Feulgen reaction after 8 min (Tab. 1). In 3 of these mice a second peak of most intense staining in this reaction was observed after 14 and 17 minutes of acid hydrolysis (Tab. 1, Figs 1, 2). In the animals aged 4 and 6 months the second peak was not observed (Tab. 1, Fig. 3).

The observed changes in the shape of the curves reflecting the course of acid hydrolysis of neuronal nuclear chromatin can suggest that a fraction of heterochromatin appears in the neurons of the older animals, beside the fraction of euchromatin.

DNA content in different cells was estimated measuring Feulgen reaction in the preparations subjected to acid hydrolysis during similar time periods at which most intense staining with Schiff reagent was obtained. It was found that in all animals nerve cells with hyperdiploid DNA amount were present. The proportion of these cells ranged from 5% to 45%. No age-dependent differences were observed in the range from 4 months to 3 years between the animals (Tab. 2; Figs 4, 5, 6, 7). We observed, on the other hand, that fairly high proportions of nuclei with hyperdiploid DNA amounts occurred in the brain-stem neurons in younger mice. The neurons in the frontal lobes showed hyperdiploid DNA amounts more frequently in mice aged over 1 year (tab. 2; Figs 4, 5, 6, 7).

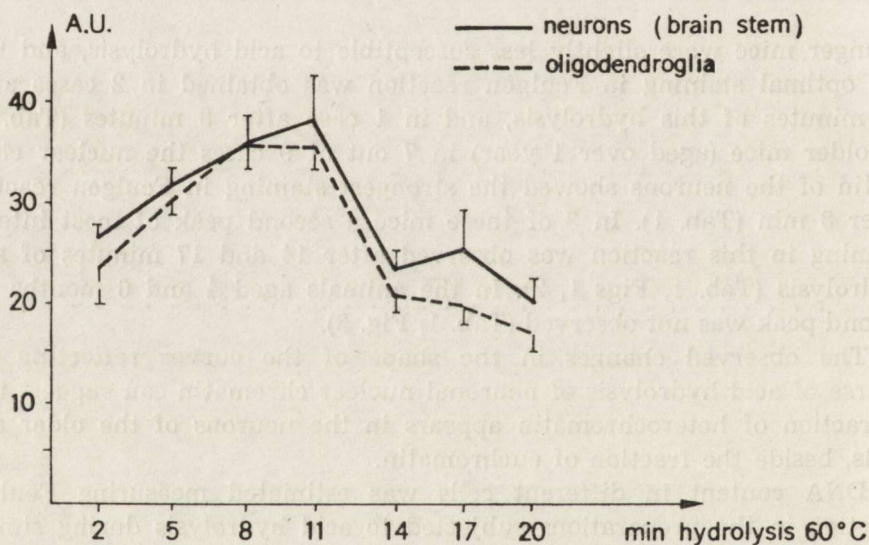
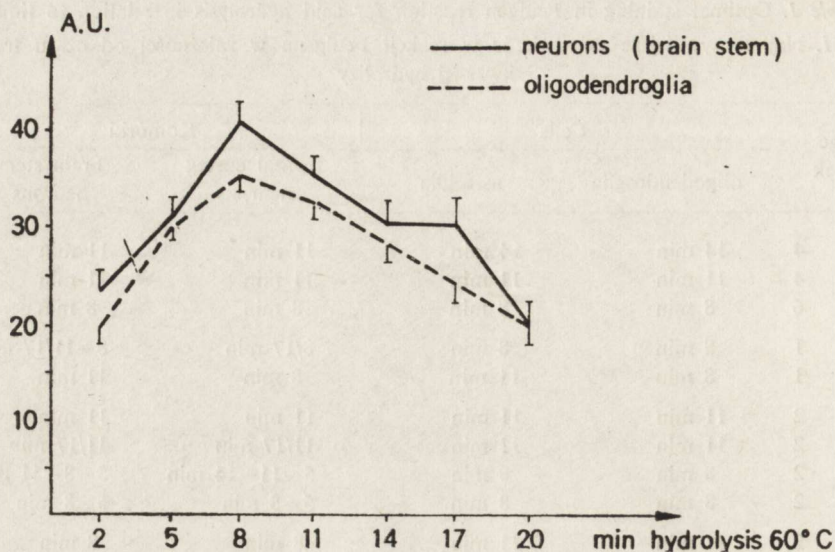


Fig. 1. Curves of acid hydrolysis of nerve cell and oligodendroglial nuclei from the brain of mice aged 1 year. The curves of hydrolysis of neuronal cells show a second peak appearing after 17 min of hydrolysis. It may evidence presence of heterochromatin susceptible to acid hydrolysis along with euchromatin which is less susceptible to this type of hydrolysis (peak after 8 and 11 minutes of hydrolysis)

Ryc. 1. Wykres krzywych hydrolizy kwaśnej dla komórek nerwowych i jąder oligodendrogleju z mózgow 1-roczyńnych myszy. Krzywe hydrolizy komórek nerwowych wykazują drugi szczyt pojawiający się po 17 minutach hydrolizy. Szczyt ten może wskazywać na obecność heterochromatyny wrażliwej na kwaśną hydrolizę i euchromatyny, która jest mniej wrażliwa na ten typ hydrolizy (szczyt po 8 i 11 minutach hydrolizy)

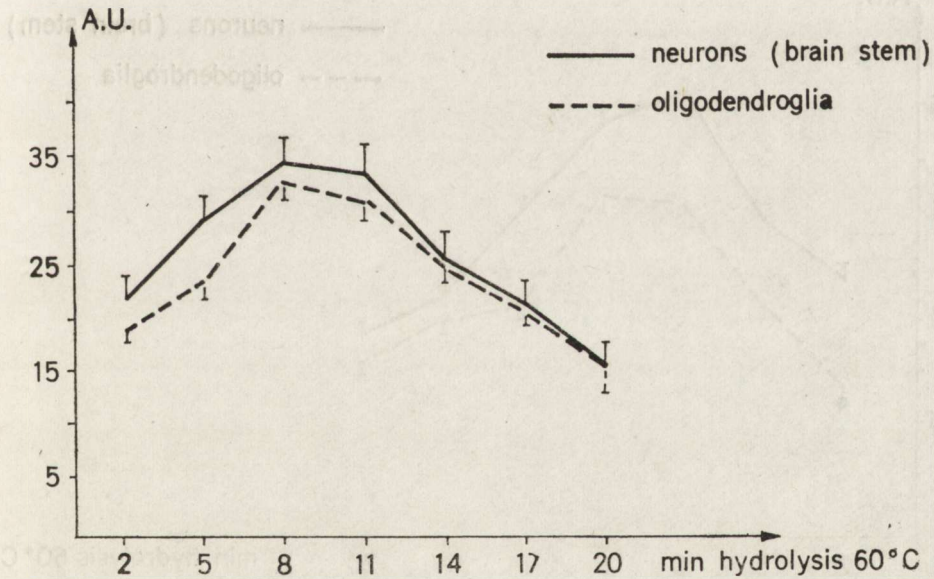
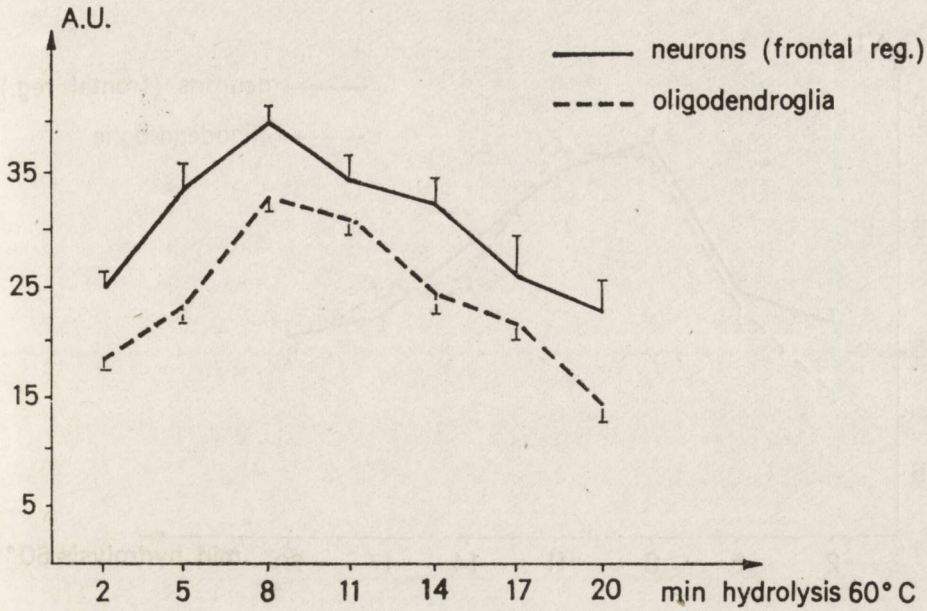


Fig. 2. Curves of acid hydrolysis of nerve cell and oligodendroglial nuclei from the brains of mice aged 3 years. The values of the hydrolysis curve of the nuclei of frontal cortical neurons (upper curve) are evidently greater than those of brain stem neurons (lower curve)

Ryc. 2. Wykres krzywych hydrolizy kwaśnej w komórkach nerwowych i jądrach oligodendrogleju z mózgów 3-letnich myszy. Wartości krzywej jąder neuronów kory czołowej (krzywa górna) są wyraźnie większe niż wartości dla neuronów pnia mózgu (krzywa dolna)

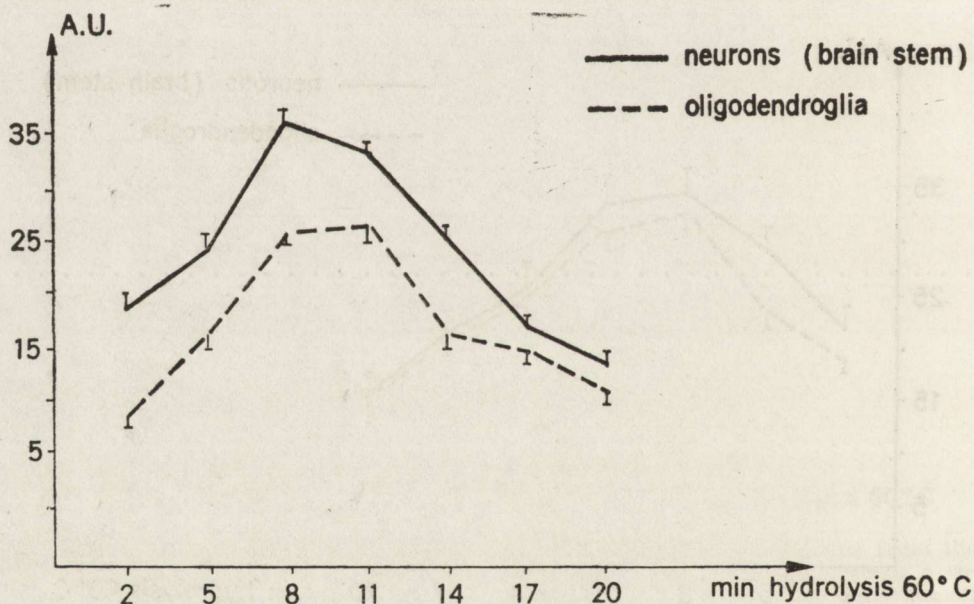
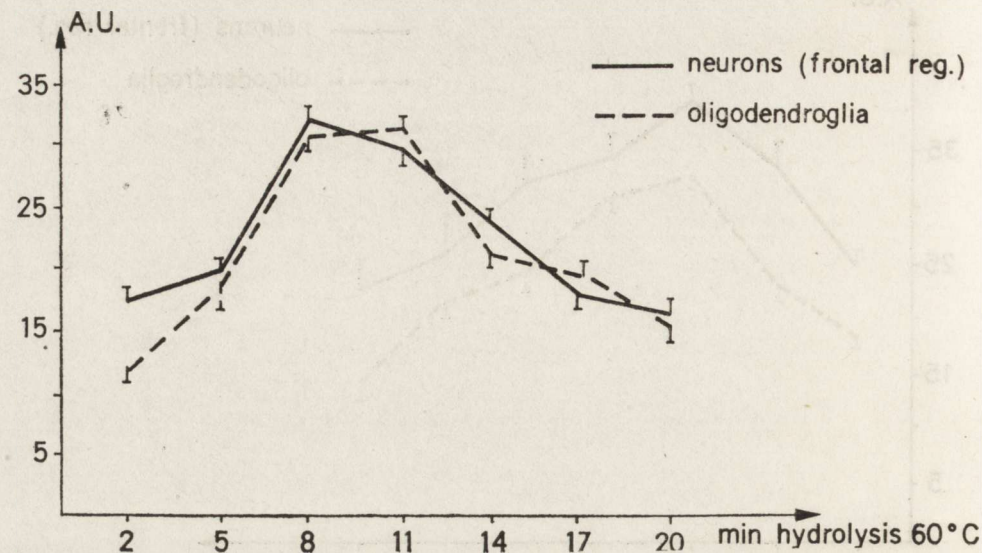


Fig. 3. Curves of acid hydrolysis of nerve cell and oligodendroglial nuclei from the brains of mice aged 6 months. Upper curve — no differences in the shape of the curves for neurons and oligodendroglia. Lower curve — higher values of the neuronal curve

Ryc. 3. Wykres krzywych hydrolizy kwaśnej w komórkach nerwowych i oligodendrogleju w mózgach 6-miesięcznych myszy. Krzywa górna — brak różnic w kształcie krzywych dla neuronów i oligodendrogleju. Krzywa dolna — wyższe wartości krzywej dla neuronów

Table 2. Proportion of mouse brain cells with hyperdiploid DNA amount in the nucleus

Tabela 2. Procent komórek mózgu myszy z hiperdiploidalnym DNA w jądrze

Age Wiek	Cells		Komórki	
	astroglia astroglej	frontal cortex neurons neurony kory czołowej	brain stem neurons neurony pnia mózgu	
4 months 4 miesiące	0%	0%	15%	
	0%	15%	15%	
6 months 6 miesięcy	0%	10%	45%	
	5%	5%	15%	
1 year 1 rok	15%	15%	10%	
	0%	0%	0%	
2 years 2 lata	0%	0%	0%	
	5%	30%	20%	
2 years 2 lata	15%	40%	40%	
	35%	25%	5%	
3 years 3 lata	0%	10%	0%	
	12%	40%	20%	

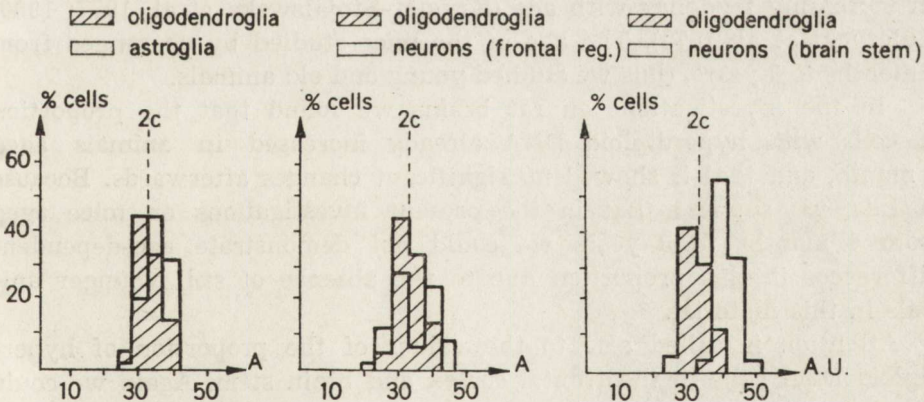


Fig. 4. Histograms of distribution of nerve cells and oligodendroglial cells in relation to DNA amount determined by cytophotometry. Mouse aged 4 months. A.U. — work units corresponding to DNA amount. 2c — diploid DNA amounts

Ryc. 4. Histogramy rozkładu komórek nerwowych i oligodendrogleju w stosunku do ilości DNA oznaczonej cytofotometrycznie. Mysz w wieku 4 miesięcy. A.U. — jednostki odpowiadające ilości DNA. 2c — diploidalna ilość DNA.

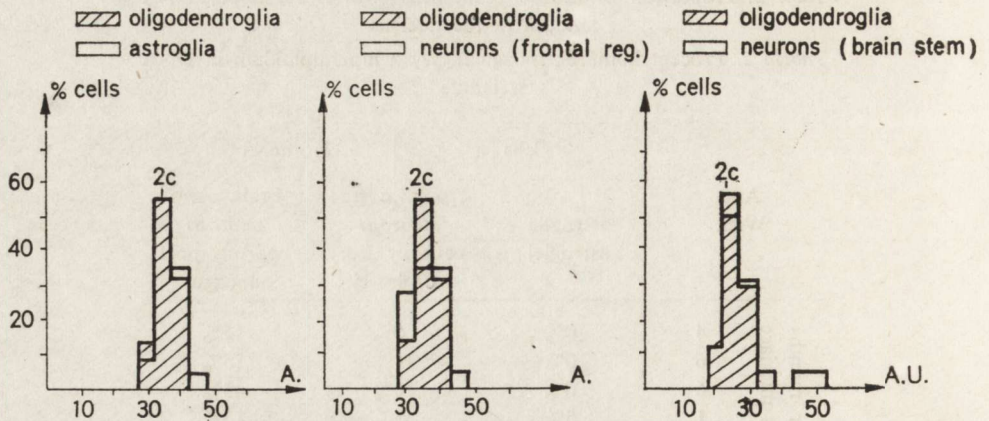


Fig. 5. Histograms of distribution of nerve cells and oligodendroglial cells depending on DNA amounts determined cytophotometrically in mice aged 1 year. Other designations as in Fig. 4.

Ryc. 5. Histogramy rozkładu komórek nerwowych i oligodendrogleju w zależności od ilości DNA określonej cytofotometrycznie u rocznej myszy. Inne oznaczenia jak na ryc. 4

DISCUSSION

It was shown in the reported studies that hyperdiploid DNA amounts occur in the nerve cells obtained from the frontal cortex as well as from the brain stem of mice. The proportion of these cells in mice ranges from 5% to 45%. In our previous works on human and rat brains it has been demonstrated that the value of this proportion has an increasing tendency with age (Krygier-Stojałowska et al. 1977; 1980; Kulczycki et al. 1979). The age of the mice studied by us ranged from 4 months to 3 years, thus we studied young and old animals.

In the investigations on rat brains we found that the proportion of cells with hyperdiploid DNA already increased in animals aged 1 month, and that it showed no significant changes afterwards. Because of this, we suppose that in the present investigations on mice aged from 4 months to 3 years we could not demonstrate age-dependent differences in this proportion due to the absence of still younger animals in this material.

Attention is called also to the values of the proportion of hyperdiploid DNA cells in the frontal cortex and brain stem. Again we could not demonstrate any differences, although it may appear that a higher proportion of these cells can be found earlier in the brain stem (tab. 2).

In the evaluation of the kinetics of acid hydrolysis reflected in the so-called hydrolysis curves we noticed that in the animals with increased proportion of DNA-hyperdiploid cells these cells contained two chromatin fractions: one susceptible to acid hydrolysis giving an intense

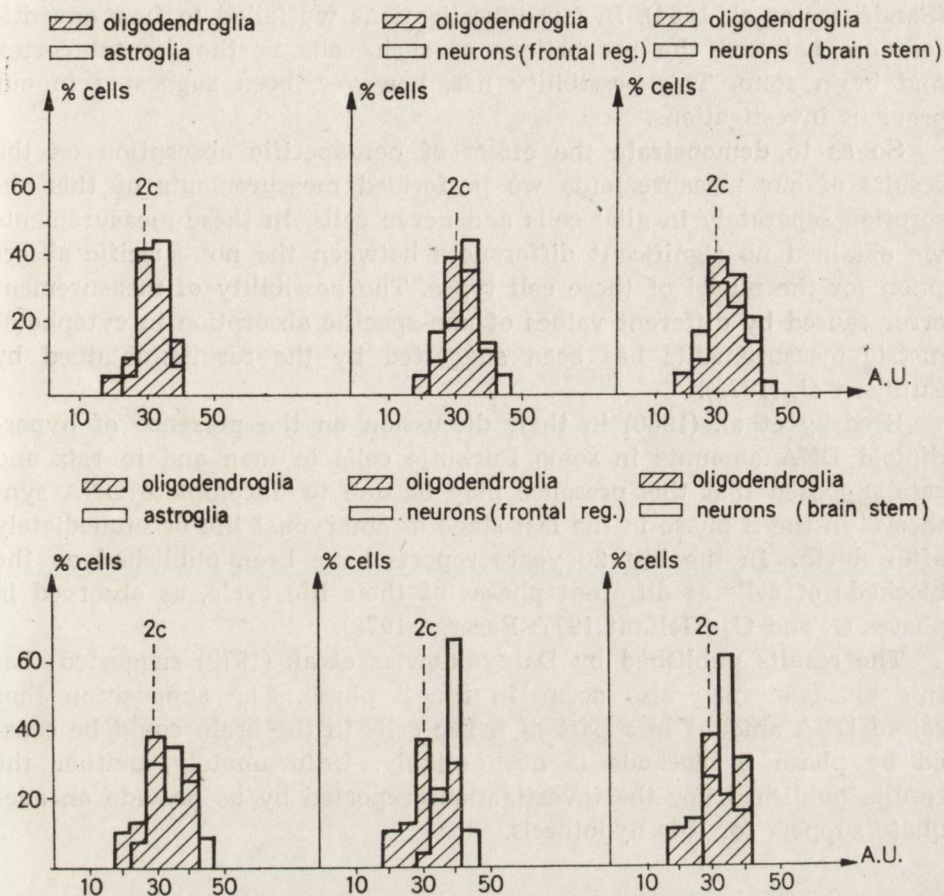


Fig. 6 and 7. Histograms of distribution of nerve cells and oligodendroglia depending on DNA amount determined cytophotometrically in mice aged 2 years. Other designations as in Fig. 4

Ryc. 6 i 7. Histogramy rozkładu komórek nerwowych i oligodendrogleju w zależności od ilości DNA określonej cytofotometrycznie u dwuletniej myszy. Inne oznaczenia jak na ryc. 4

staining in Feulgen reaction already after a short duration of hydrolysis, and another fraction, of lower susceptibility, staining intensely only after longer hydrolysis. This observation may suggest that the increase of DNA above the diploid value is connected with the presence of heterochromatin along with the euchromatin fraction. The results reported by Brodsky et al. (1979) concerning changes in DNA amount in Purkinje cells indicated the same finding.

The cause of DNA-hyperdiploid cells appearance in the cerebral neurons is unexplained. Our investigations failed also to answer this question. We cannot tell whether these cells have a more intense function, as this has been suggested by the appearance of polyploid DNA amounts in myocardial fibers with evidence of function-related hypertrophy

(Sandritter et al. 1964). In our investigations we failed to find any differences between the proportions of such cells in the frontal cortex and brain stem. This possibility has, however, been suggested in our previous investigations.

So as to demonstrate the effect of non-specific absorption on the results of our measurements we performed measurements of this absorption separately in glial cells and nerve cells. In these measurements we obtained no significant differences between the non-specific absorption for the nuclei of these cell types. The possibility of measurement error caused by different values of non-specific absorption in cytophotometric measurements has been suggested by the results obtained by Fujita et al. (1978).

Brodsky et al. (1980) in their discussion on the presence of hyperdiploid DNA amounts in some Purkinje cells in man and in rats and cats supposed that this presence may be due to "incomplete DNA synthesis" in the S phase in the last stage of embryonal life or immediately after birth. In the last 20 years reports have been published on the blockade of cells at different phases of their life cycle, as observed in phases G₁ and G₂ (Gelfant 1977; Baserga 1978).

The results published by Darzynkiewicz et al. (1979) suggested that this blockade may also occur in the S phase. The supposition that raised DNA amount in a part of nerve cells in the brain could be caused by phase S blockade is not unlikely. Unfortunately, neither the results published nor the investigations reported by us provide an adequate support for this hypothesis.

REFERENCES

1. Baserga R.: Resting cells and the G₁ phase of the cell cycle. *J. Cell. Physiol.*, 1978, 95, 377—382.
2. Bregnard A., Knusel A., Kuenzle C. C.: Are all the neuronal nuclei polyploid? *Histochemistry*, 1975, 43, 59—61.
3. Brodsky V., Marshak T. L., Mares, V., Lodin Z., Fulop Z.: Constancy and variability in the content of DNA in cerebellar Purkinje cell nuclei. *Histochemistry* 1979, 39, 232—238.
4. Darzynkiewicz Z., Traganos T., Andreeff M., Sharpless T., Malamed M. R.: Different sensitivity to acid denaturation in quiescent and cycling cells as revealed by flow cytometry. *J. Histochem. Cytochem.*, 1979, 27, 478—485.
5. Duijndan W. A. L., Van Duijn P.: The influence of chromatin compactness on the stoichiometry of the Feulgen-Schiff procedure studied in model films. I. Theoretical kinetics and experiments with films containing isolated deoxyribonucleic acid. *J. Histochem. Cytochem.*, 1975a, 23, 882—890.
6. Duijndan W. A. L., Van Duijn P.: The influence of chromatin compactness on the stoichiometry of the Feulgen-Schiff procedure studied in model films. II. Investigations on films containing condensed or swollen chicken erythrocyte nuclei. *J. Histochem. Cytochem.*, 1975b, 23, 891—900.

7. Fujita S., Fukuda M., Böhm N., Fujita S.: Cytophotometry and its biological application. Progress in Histochemistry and Cytochemistry. G. Fischer-Verlag. 1978.
8. Gelfant S.: A new concept of tissue and tumor cell proliferation. *Cancer Res.*, 1977, 37, 3845—3850.
9. Krygier-Stojałowska A., Kulczycki J., Madej M., Nowacki P., Honczarenko K.: Ilość DNA w komórkach nerwowych i glejowych mózgu człowieka oznaczana metodą cytofotometryczną. *Neuropat. Pol.*, 1977, 15, 349—356.
10. Krygier-Stojałowska A., Kulczycki J., Madej M., Nowacki P., Honczarenko K.: Zmiany ilościowe DNA i białek zasadowych (histonów) w jądrach komórek nerwowych i glejowych mózgowia szczurów w różnym wieku. *Neuropat. Pol.*, 1980, 18, 97—106.
11. Kulczycki J., Krygier-Stojałowska A., Madej M., Vainiene M., Nowacki P., Honczarenko K.: Zmiany ilościowe DNA w komórkach nerwowych i glejowych mózgu człowieka w zależności od wieku i topografii. *Neuropat. Pol.*, 1979, 17, 73—83.
12. Lentz R. D., Lapham L.: Postnatal development of tetraploid DNA content in rat Purkinje cells. A quantitative cytochemical study. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 1970, 29, 43—56.
13. Mittermayer Ch., Madreiter N., Loderer D., Sandritter W.: Differential acid hydrolysis of euchromatin and heterochromatin. Biochemical, histochemical and morphological studies. *Beitr. Path.*, 1971, 143, 157—171.
14. Novakova V., Sandritter W., Schluster G.: DNA content of neurons in rat central nervous system. *Exp. Cell. Res.*, 1970, 60, 454—456.
15. Sandritter, W., Scomazzoni, G.: Deoxyribonucleic acid content (Feulgen photometry) and dry weight (interference microscopy) of normal hypertrophic heart muscle fibers. *Nature*, 1964, 202, 100—101.

DEZOKSYRYBONUKLEOPROTEIDY W NEURONACH I KOMÓRKACH GLEJU MÓZGÓW MYSZY W RÓŻNYM WIEKU

Streszczenie

Autorzy oceniali metodą cytofotometryczną w barwieniu Feulgena zawartość DNA i zmiany w kondensacji chromatyny w jądrach neuronów i komórek gleju mózgów myszy. Przebadano łącznie 12 mózgów zwierząt w wieku od 3 miesięcy do 3 lat. W badaniu zawartości DNA w neuronach stwierdzono, że elementy hiperdiploidalne stanowią w poszczególnych przypadkach od 5 do 45% całej populacji komórkowej. U zwierząt młodszych neurony o zwiększonej zawartości DNA występują głównie w pniu, u starszych — w korze mózgu. Chromatyna jądrowa wykazywała u zwierząt najmłodszych nieco mniejszą wrażliwość na hydrolizę kwaśną niż u starszych. U myszy w wieku powyżej 1 roku wyniki badań sugerują obecność w neuronach mózgu dwu frakcji chromatyny o różnym stopniu kondensacji. Uzyskane dane potwierdzają wyniki badań przeprowadzonych poprzednio na mózgach ludzi i szczurów w różnym wieku.

ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОПРОТЕИДЫ В НЕЙРОНАХ И КЛЕТКАХ ГЛИИ МОЗГОВ МЫШЕЙ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Резюме

Авторы оценивали цитофотометрическим методом в окраске Фойльгена содержание ДНК и изменения конденсации хроматина в ядрах нейронов и клеток глии мозгов мышей. В общем они исследовали 12 мозгов животных в возрасте от 3 месяцев до 3 лет. При исследовании содержания ДНК констатировано, что гипердиплоидные элементы составляют в отдельных случаях от 5 до 45% всей клеточной популяции. У младших животных нейроны с повышенным содержанием ДНК выступают главным образом в стволе, у старших — в коре мозга. Ядерный хроматин проявлял у самых молодых животных слегка меньшую чувствительность к кислому гидролизу, чем у старших. У мышей в возрасте свыше 1 года результаты исследований подсказывают наличие в нейронах мозга двух фракций хроматина с разной степенью конденсации. Полученные данные подтверждают результаты проведенных раньше исследований мозгов людей и крыс в разном возрасте.

Authors' address: Psychoneurological Institute, Neurological Clinic, 1/9 Sobieski Str., 02—957 Warszawa

EUGENIA TARNOWSKA-DZIDUSZKO

ANALIZA KLINICZNO-MORFOLOGICZNA NIETYPOWYCH PRZYPADKÓW CHOROBY PICKA I CHOROBY ALZHEIMERA *

Zakład Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego

Rozpoznanie różnicowe między chorobą Picka a chorobą Alzheimerera napotyka niekiedy na duże trudności, zwłaszcza gdy chorzy zgłaszają się w okresie w pełni rozwiniętego otępienia przy braku danych dotyczących pierwszej fazy, czy też przebiegu choroby. Wobec trudności w klinicznym (Sjögren i wsp. 1952), jak również morfologicznym (Berlin 1949) rozgraniczeniu obu chorób pojawiło się w piśmiennictwie pojęcie zespołu lub choroby Alzheimerera-Picka.

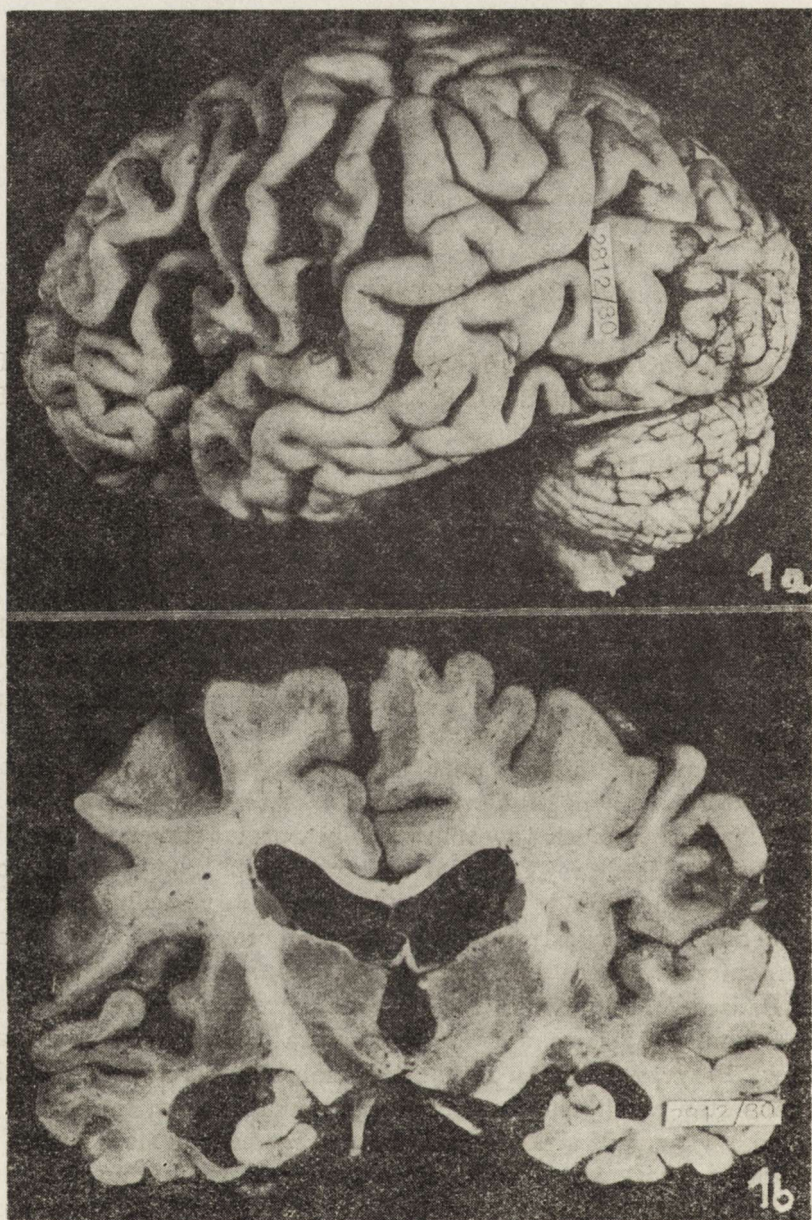
Przedmiotem pracy jest analiza trzech przypadków otępienia przedstarczego, które zarówno klinicznie jak i morfologicznie nasunęły wiele trudności diagnostycznych i wątpliwości interpretacyjnych.

Przypadek 1: U chorej Z. B. lat 82 (nr sekc. 2812/80), od lat leczonej się z powodu nadciśnienia tętniczego, w 70 roku życia wystąpił krótkotrwały niedowład prawostronny. Po pewnym czasie rozwinął się zespół psychoorganiczny. Chora była negatywistyczna, przestała chodzić, jeść, mówić. Badaniem klinicznym stwierdzono afazję ruchową i wyniszczenie. Pod koniec życia chora nie wydawała żadnych artykułowanych dźwięków. Przyczyną zgonu był zawał mięśnia sercowego. Klinicznie rozpoznano stan zatokowaty u osobnika z nadciśnieniem tętniczym. Sekcja ogólna wykazała: zawał mięśnia sercowego, zapalenie płatowe płuc.

Badanie makroskopowe wykazało uogólniony zanik mózgu ze szczególnym nasileniem zmian w obrębie płata czołowego i skroniowego półkuli lewej (ryc. 1a, b), gdzie wygląd zakrętów przypominał relief orzecha.

W badaniu mikroskopowym stwierdzono znaczne zwężenie kory, bardzo nasilony zanik komórek nerwowych w górnych warstwach kory z obecnością licznych przerosłych astrocytów (ryc. 2). Zachowane ko-

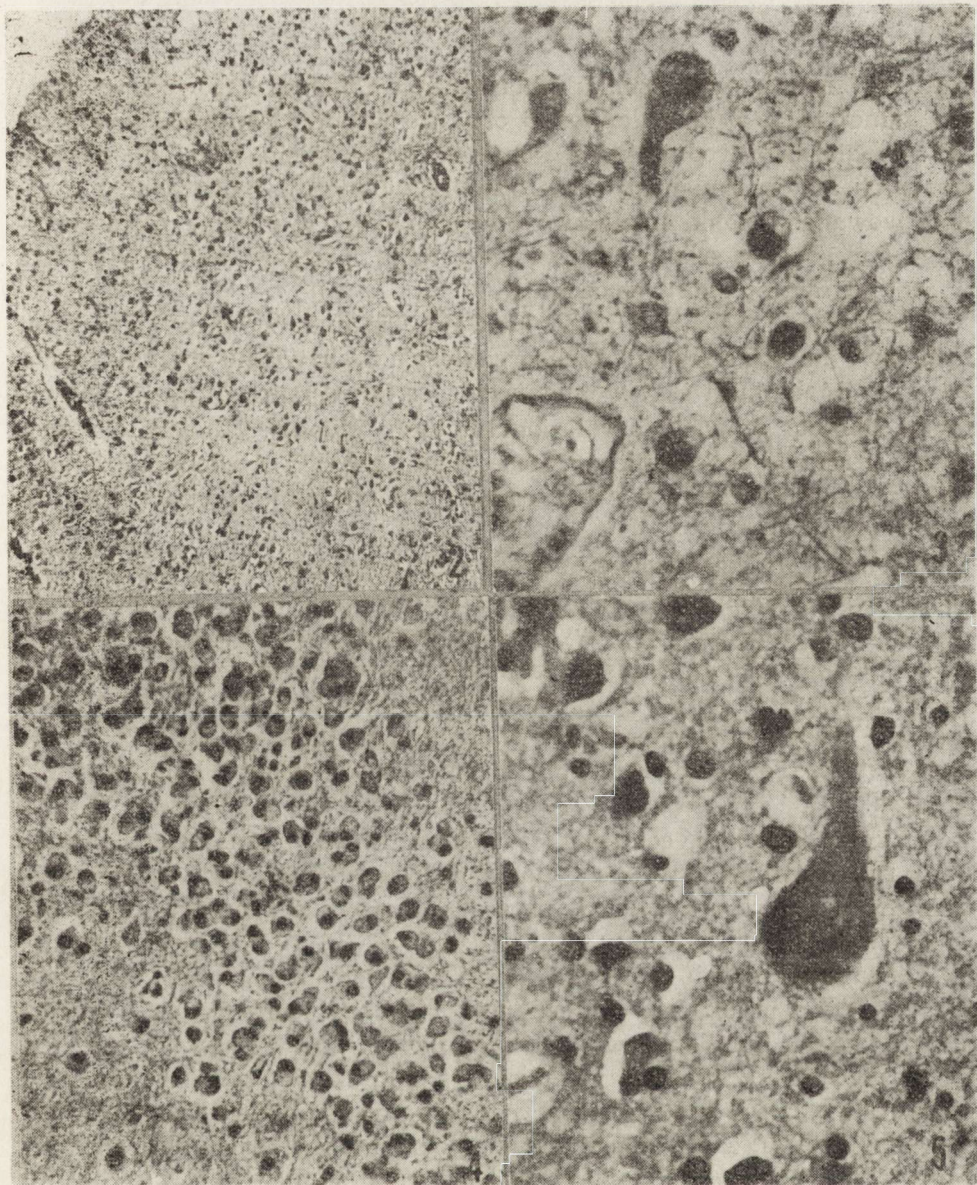
* Praca przedstawiona na V Konferencji Neuropatologów w Szczecinie, 14 maj, 1980.



Ryc. 1a, b. Uogólniony zanik mózgu z akcentacją zmian w obrębie zakrętów czołowych oraz górnego zakrętu skroniowego w półkuli lewej

Fig. 1a, b. Generalized brain atrophy with the accentuation of the changes in frontal and upper temporal gyri of the left hemisphere

mórki nerwowe były często balonowato rozdęte i zawierały kule srebrchloronne Picka (ryc. 3) również poza polami największego zaniku. Kule Picka leżały często pozakomórkowo. Wyjątkowo duże nasilenie zmian stwierdzono w korze amonalnej, a zwłaszcza w *fascia dentata* (ryc. 4).



Ryc. 2. Zanik komórek nerwowych zwłaszcza w górnych warstwach kory czołowej. H + E. Pow. 60 ×

Fig. 2. Neuronal loss most expressed in the upper layers of the frontal cortex. H + E. × 60

Ryc. 3. Balonowato rozdęte komórki nerwowe zawierające kule Picka. Kora czołowa. Bielschowsky. Pow. 400 ×

Fig. 3. Balloon-like nerve cells containing Pick bodies. Frontal cortex. Bielschowsky. × 400

Ryc. 4. Neurony w obrębie fascia dentata. Balonowato rozdęte komórki zawierają kule Picka. Kule Picka leżą również pozakomórkowo. Bielschowsky. Pow. 200 ×

Fig. 4. Neurons of the dentate gyrus. Ballooned, enlarged nerve cells containing Pick bodies. The latter are present also outside the cells. Bielschowsky. × 200

Ryc. 5. Zwyródnienie ziarnisto-wodniczkowe komórek nerwowych. Kora czołowa. H + E. Pow. 400 ×

Fig. 5. Granulovacuolar degeneration of the nerve cells. Frontal cortex. H + E.

Ilość kul malała w kierunku pnia mózgu. Ponadto zarówno w korze amonalnej jak i w korze czołowej oraz we wzgórzu stwierdzono zwyrodnienie ziarnisto-wodniczkowe komórek nerwowych (ryc. 5). Płytek starczych ani też zmian alzheimerowskich włókienek nerwowych nie zaobserwowano. Osłonki mielinowe były spłowiałe w obrębie płata czołowego lewego oraz szlaku czołowo-mostowego lewego. Glejoza włóknista w tym obszarze uległa wzmożeniu.

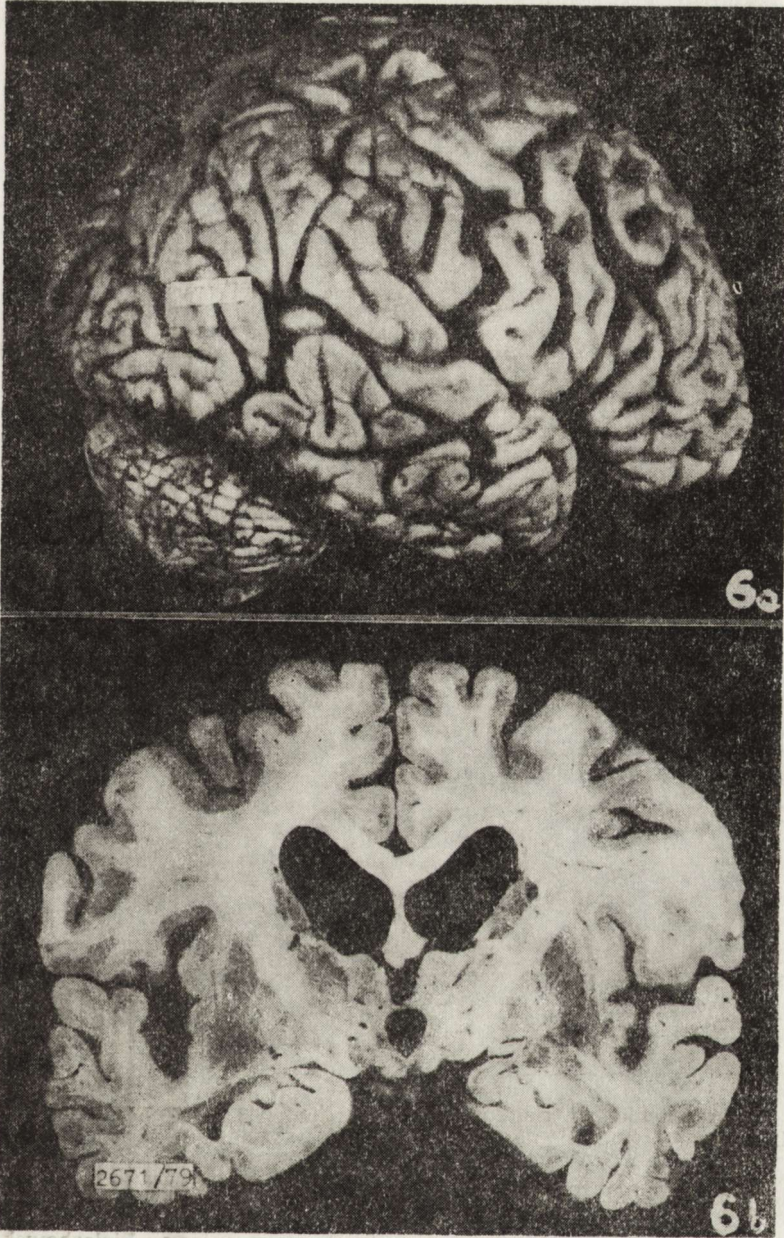
Przypadek 2: U chorej M. P. lat 63 (nr sek. 2671/79), w ciągu 8 lat stopniowo narastał zespół psychoorganiczny z objawami apraksji, agnozji, aleksji, akalkulii i spowolnienia ruchowego. Przyczyną zgonu był zator w obrębie prawego odgałęzienia tętnicy płucnej. Klinicznie rozpoznano zespół psychoorganiczny, podejrzenie choroby Alzheimera. Sekcja ogólna wykazała: zator prawego rozgałęzienia tętnicy płucnej, zapalenie płuc.

Badaniem makroskopowym stwierdzono uogólniony zanik mózgu (ryc. 6a, b) z nasileniem zmian w obrębie płatów czołowych i skroniowych.

Badanie mikroskopowe wykazało zwężenie kory zwłaszcza w otoczeniu rowków, znaczne ubytki komórek nerwowych szczególnie w głębszych warstwach kory, doprowadzające wokół rowków do destrukcji warstw, zmiany alzheimerowskie włókienek nerwowych (ryc. 7), liczne płytki starcze oraz zwyrodnienie ziarnisto-wodniczkowe komórek nerwowych.

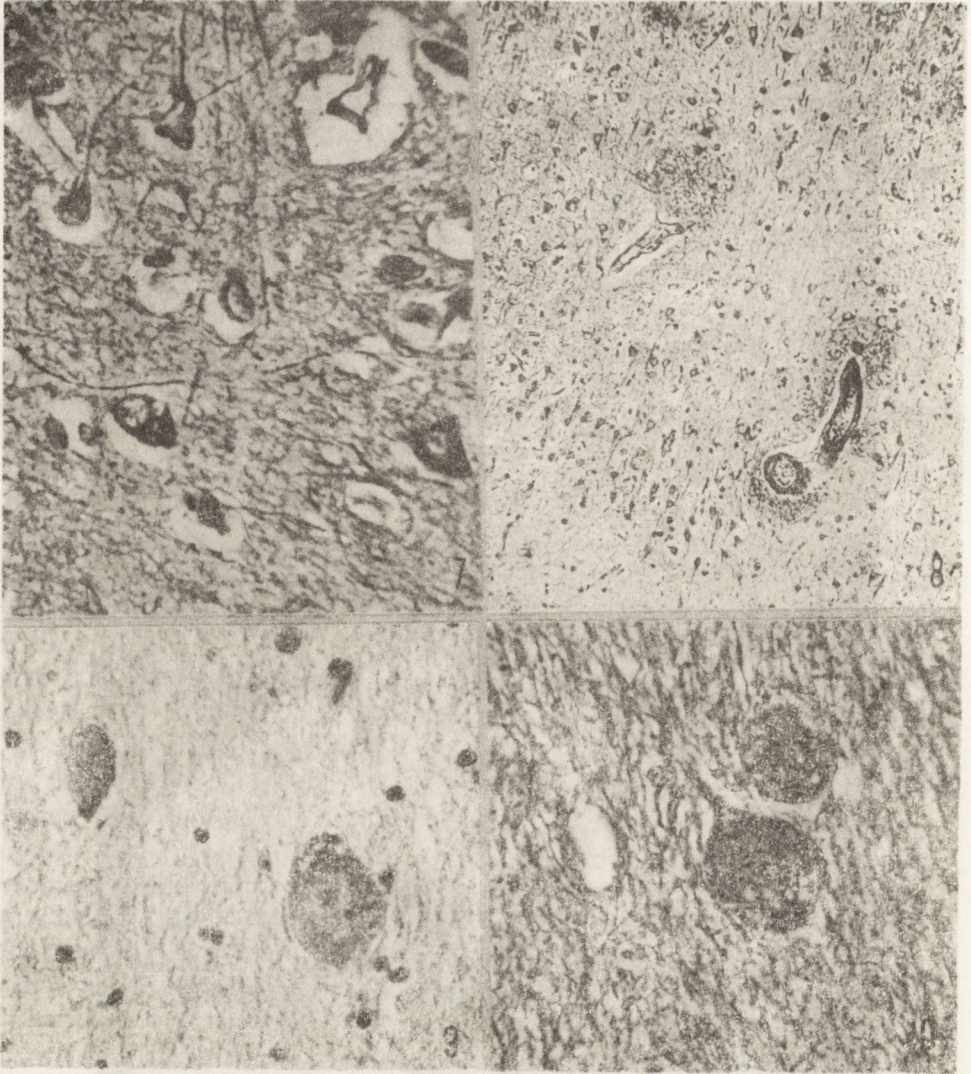
W korze czołowej, centralnej i w korze wyspy zaznaczała się przewaga zmian alzheimerowskich włókienek nerwowych zaś w płacie skroniowym, w jądrze migdałowatym oraz w płacie potylicznym występowały bardzo liczne (do 30 w polu widzenia — $10 \times 6,3$) płytki starcze, zwłaszcza w głębszych warstwach kory. Niekiedy obserwowano ich związek z naczyniami małego kalibru (ryc. 8). Czerwienią Kongo uwidoczniło obecność amyloidu w błonie środkowej naczyń oraz w centrum płytek starczych. Ponadto stwierdzono w polu Forela, w jądrze warstwy niepewnej oraz we wzgórzu, znaczne balonowate rozdęcie komórek nerwowych (ryc. 9), zawierających kule srebrochłonne Picka. Czasami widać było w tych rozdętych komórkach grube pasma, tworzące układy przypominające „kłębek włóczki” (ryc. 10). Nie impregnowały się one srebrem tak intensywnie jak zmiany włókienkowe Alzheimera. Kule Picka widoczne były jako homogenne masy w barwieniu H + E i fioletem krezyłu, natomiast w przeciwieństwie do zmian neurofibrilarnych nie uwidoczniały się w barwieniu czerwienią Kongo.

Przypadek 3: U chorej A. M. lat 53 (nr sek. 1782/74), w ciągu 10 miesięcy rozwinął się zespół otępienny, który rozpoczął się od dużych zaburzeń pamięci świeżej. Równocześnie pojawiło się osłabienie mięśni, ich zaniki w obrębie kończyn zwłaszcza w grupach osobnych z obecnością drzeń pęczkowych. Następnie rozwinął się zespół rzekomoopuszkowy, później opuszkowy. Przyczyną zgonu było porażenie oddechu. Kli-



Ryc. 6a, b. Uogólniony zanik mózgu z akcentacją zmian w obrębie płatów czołowych i skroniowych

Fig. 6a, b. Generalized brain atrophy with the accentuation of the changes in the frontal and temporal lobes



Ryc. 7. Zwyródnienie włóknikowe typu Alzheimera oraz zwyrodnienie ziarnisto-wodniczkowe komórek nerwowych. Kora skroniowa. Bielschowsky. Pow. 400 ×

Fig. 7. Alzheimer's neurofibrillary changes and granulovacuolar degeneration in the nerve cells. Temporal cortex. Bielschowsky. × 400

Ryc. 8. Płytki starcze w otoczeniu naczyń. Kora skroniowa. Bielschowsky. Pow. 100 ×

Fig. 8. Senile plaques around the vessels. Temporal cortex. Bielschowsky. × 100

Ryc. 9. Balonowate rozdęcie komórek nerwowych zawierających kule Picka. Pole Forela. H + E. Pow. 400 ×

Fig. 9. Ballooned swollen neurons containing Pick bodies. Forel's field. H + E. × 400

Ryc. 10. W obrębie balonowato rozdętych komórek nerwowych widoczne pasma układające się w „kłębek włóczki”. Jądro warstwy niepewnej. Bielschowsky. Pow. 400 ×

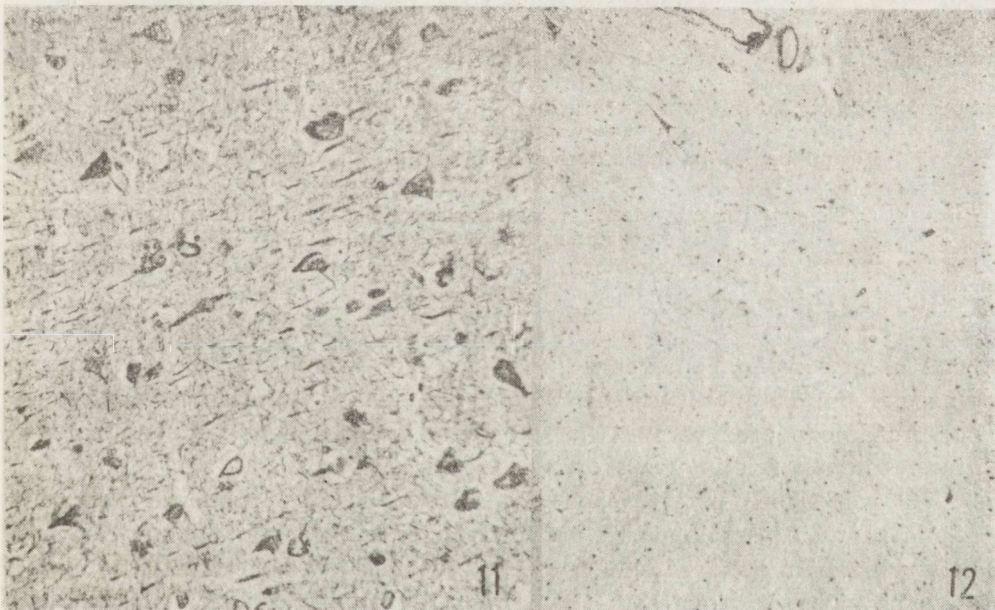
Fig. 10. Bands of fibrils looking like "balls of wool" inside the ballooned swollen neurons. Nucleus of the zona incerta. Bielschowsky. × 400

nicznie rozpoznano stwardnienie zanikowe boczne z otępieniem. Podejrzanie choroby Picka czy Alzheimerera. Sekcja ogólna wykazała: przekrwienie bierne narządów; liczne wybroczyny w obrębie śluzówek i opłucnej; zapalenie ropne oskrzelików; zanik pęczków mięśniowych.

Badaniem makroskopowym mózgu stwierdzono uogólnione zmiany zanikowe mózgu najbardziej nasilone na powierzchni podstawnej płatów czołowych.

Badaniem mikroskopowym stwierdzono ubytki komórek nerwowych o znacznym nasileniu w obrębie struktury amonalnej oraz w górnych warstwach kory oczodołowej, doprowadzające do zatarcia budowy warstwowej.

W zachowanych neuronach w korze czołowej, w jądrze migdałowatym oraz w korze amonalnej obecne były zmiany alzheimerowskie włókienek nerwowych oraz zwyrodnienie ziarnisto-wodniczkowe neuronów (ryc. 11). Płytek starczych ani kul srebrochłonnych nie znaleziono.

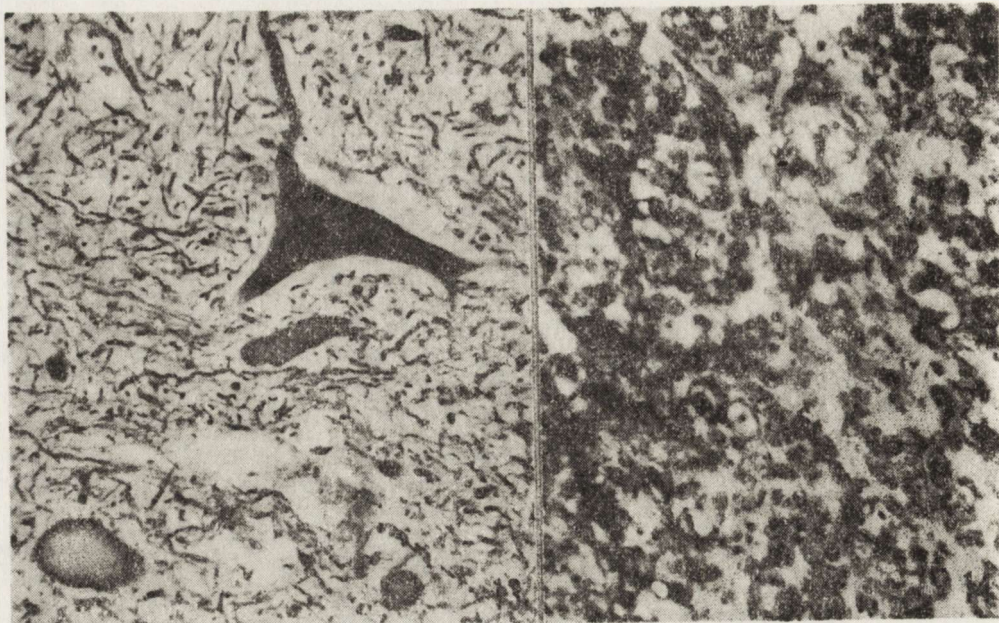


Ryc. 11. Zwyrodnienie włóknikowe typu Alzheimerera i zwyrodnienie ziarnisto-wodniczkowe komórek nerwowych. Kora czołowa. Bielschowsky. Pow. 400 ×
 Fig. 11. Alzheimer's neurofibrillary changes and granulovacuolar degeneration in the nerve cells. Frontal cortex. Bielschowsky. × 400

Ryc. 12. Znaczące ubytki komórek nerwowych w rogu przednim rdzenia szyjnego.
 H + E. Pow. 60 ×

Fig. 12. Marked neuronal loss in the anterior horn of the cervical cord. H + E.
 × 60

W obrębie rogów przednich rdzenia, zarówno zgrubienia szyjnego, jak i lędźwiowego stwierdzono znaczne ubytki komórek nerwowych zwłaszcza w ugrupowaniu przyśrodkowo-brzusznym (ryc. 12). Zachowane neurony były nadmiernie obciążone lipofuscyną, a przy komór-



Ryc. 13. Ciałka Hirano w rogu przednim i w polu korzeniowym przednim. Bielschowsky. Pow. 400 ×

Fig. 13. Hirano bodies in the anterior horn and in the anterior root field. Bielschowsky. × 400

Ryc. 14. Częściowy rozpad osłonek mielinowych w bocznym szlaku piramidowym. Spielmeyer. Pow. 200 ×

Fig. 14. Partial myelin breakdown in the lateral pyramidal tract. Spielmeyer. × 200

kach obserwowano homogenicznie barwiące się twory owalne, odpowiadające ciałkom Hirano (ryc. 13). W obrębie szlaku piramidowego bocznego, przedniego oraz w polu korzeniowym przednim stwierdzono zblednięcie osłonek mielinowych oraz ich częściowy rozpad (ryc. 14).

We wszystkich przypadkach stwierdzono znaczne nasilenie zwyrodnienia barwikowego komórek nerwowych oraz obecność kłębków naczyniowych, zmiany stwardnieniowe w tętniczkach i włóscinkach śródmięzszowych mózgu i drobne ogniska okołonaczyniowego rozmiękania tkanki.

Przedstawione przypadki ilustrują różne powiązania zespołów zmian typowych, aczkolwiek niespecyficznych dla poszczególnych postaci otępienia przedstarczego (tab. 1).

W pierwszym przypadku, pomimo podeszłego wieku pacjentki i nietypowego zespołu klinicznego, rozpoznano morfologicznie chorobę Picka na podstawie rozlanych ubytków komórek nerwowych w górnych warstwach kory oraz obecności licznych kul srebrochłonnych Picka. Zjawiskiem nietypowym dla choroby Picka był uogólniony charakter zaniku mózgu jak również obecność zwyrodnienia ziarnisto-wodniczkowego

w korze czołowej i we wzgórzu, które tylko sporadycznie jest opisywane w tych okolicach w chorobie Alzheimerera.

W drugim przypadku, rozpoznanym klinicznie i morfologicznie jako choroba Alzheimerera, do nietypowych zmian morfologicznych należała angiopatia kongofilna oraz obecność kul srebrochłonnych Picka. Przypadek ten łączy więc cechy morfologiczne choroby Alzheimerera z chorobą Picka i otępieniem starczym.

Trzeci przypadek jest przykładem współistnienia nietypowej postaci choroby Alzheimerera ze stwardnieniem zanikowym bocznym we wczesnym stadium rozwoju. Nietypowymi zmianami morfologicznymi dla choroby Alzheimerera była akcentacja zaniku na powierzchni podstawnej płątków czołowych, przewaga ubytków komórek nerwowych w górnych warstwach kory oraz zupełny brak płytek starczych przy obecności zwyrodnienia ziarnisto-wodniczkowego nawet w korze czołowej.

Choroba Alzheimerera bez płytek starczych była sporadycznie opisywana (Goodman 1953; Raskin, Ehrenberg 1956; Tariska 1965); podobnie współistnienie typowych postaci choroby Alzheimerera ze stwardnieniem zanikowym bocznym (Poppe, Tennstedt 1963). Jednakże współistnienia choroby Alzheimerera bez płytek starczych ze stwardnieniem zanikowym bocznym nie spotkaliśmy w piśmiennictwie. Częściej natomiast opisywano współistnienie choroby Picka z SLA (von Braunmühl 1932; Poppe, Tennstedt 1963) czy SLA z demencją i parkinsonizmem, w rejonie Pacyfiku (Hirano i wsp. 1966). Przypadek nasz można by porównać z opisem Malamuda i wsp. (1961) współistnienia endemicznie występującego SLA ze zmianami alzheimerowskimi włókienek nerwowych i zwyrodnieniem ziarnisto-wodniczkowym neuronów u przedstawicieli szczepu Chamoro z wyspy Guam. W 3 z 22 opisanych przypadków autorzy obserwowali również amorficzne płytki starcze. Jednakże brak uogólnionego zaniku mózgu przy nikłym nasileniu opisanych zmian, często występujących jedynie w formacji amonalnej przy braku zespołu klinicznego, nie pozwolił na rozpoznanie choroby Alzheimerera.

Przedstawione przypadki stanowią przyczynek do toczącej się dyskusji na temat nozologicznej odrębności choroby Picka i choroby Alzheimerera. Wskazują one na to, że obok „czystych” przypadków mogą istnieć formy mieszane, łączące cechy charakterystyczne dla jednego i drugiego zespołu. Wyniki badań histochemicznych (Seitelberger, Jellinger 1958; Tariska 1965; Hirano i wsp. 1966) i ultrastrukturalnych (Terry 1963; Schochet i wsp. 1968; Wiśniewski i wsp. 1972; Brion i wsp. 1973) wskazują na zupełnie odmienne morfologiczne podłoże zmian alzheimerowskich włókienek nerwowych w stosunku do kul srebrochłonnych Picka, co wskazuje na inny mechanizm patogenetyczny zmian i nie upoważnia do morfologicznego rozpoznania łącznego zespołu chorobowego Alzheimerera-Picka.

Tabela 1. Charakterystyka
Table 1. Morphological and

Inicjały Nr sekc. Initials Autopsy No	Płeć Sex	Wiek Age	Czas trwania choroby Duration of the illness	Objawy kliniczne Clinical symptoms	Rozpoznanie	Diagnosis
					kliniczne clinical	morfologiczne morphological
Z.B. 2812/80	K F	82	12 lat years	zespół psycho- organiczny, afa- zja ruchowa, ne- gatywizm, wynisz- czenie psychoorganic syndrome, motor aphasia, negaty- vism, emaciation	stan zatokowaty u osobnika z nadciśnieniem status lacunaris in a person with arterial hyper- tension	choroba Picka Pick's disease
M.P. 2671/79	K F	63	8 lat years	zespół psycho- organiczny, aprak- sja, agnozja, alek- sja, akalkulia, spo- wolnienie ruchowe psychoorganic syndrome, apra- xia, agnosia, ale- xia, acalculia, motor slowness	zespół psycho- organiczny, cho- roba Alzheimer'a? psychoorganic syndrome, Alz- heimer's disease?	choroba Alzhei- mera Alzheimer's disease
A.M. 1782/74	K F	53	10 m-cy months	zespół otępienny, zaniki mięśni z drzzeniami pęcz- kowymi, zespół rzekomo-opuszkowy dementia, muscular wasting and fasci- culation, pseudo- bulbar syndrome	SLA z otępie- niem, choroba Picka? choroba Alzheimer'a? Amyotrophic late- ral sclerosis with dementia, Pick's disease? Alzheimer's disease?	współistnienie choroby Alzhei- mera z SLA coexistence of Alzheimer's dise- ase with ALS

kliniczno-morfologiczna
clinical characteristic of cases

Zmiany w mózgu	Changes in the brain	
	mikroskopowe	microscopical
	typowe — typical	nietypowe — atypical
uogólniony zanik mózgu z największym nasileniem w płacie czołowym i skroniowym półkuli lewej	zanik neuronów w górnych warstwach kory, kule srebrosłonne Picka	zwyrodnienie ziarnisto-wodniczkowe w korze czołowej, korze amonalnej i we wzgórzu
generalized brain atrophy with the most intensive changes in frontal and temporal lobes of the left hemisphere	neuronal loss in the upper cortical layers, Pick argen-tophilic bodies	granulovacuolar degeneration in the frontal cortex, Ammon horn and thalamus
uogólniony zanik mózgu z nasileniem zmian w obrębie płatów czołowych i skroniowych	zanik neuronów w dolnych warstwach kory, płytki starcze, zmiany alzheimerowskie włókienek nerwowych, zwyrodnienie ziarnisto-wodnicz-kowe	angiopatia kongofilna, kule srebrosłonne Picka
generalized brain atrophy with the most intensive changes in frontal and temporal lobes	neuronal loss in the lower cortical layers, senile plaques, alzheimer's neuro-fibrillary changes, granulo-vacuolar degeneration	congophilic angiopathy, Pick bodies
uogólniony zanik mózgu z nasileniem zmian w okolicy oczodołowej	zmiany alzheimerowskie włókienek nerwowych, zwyrodnienie ziarnisto-wodnicz-kowe; zanik komórek rogów przednich rdzenia demielinizacja szlaków piramidowych	zaniki neuronów w górnych warstwach kory, brak płytek starczyc
generalized brain atrophy with the most intensive changes in orbital regions	Alzheimer's neurofibrillary changes, granulovascular degeneration; neuronal loss in the anterior horns of the spinal cord demyelination of the pyra-midal tracts	loss of the neurons in the upper cortical layers, lack of the senile plaques

PIŚMIENICTWO

1. Berlin L.: Presenile sclerosis (Alzheimer's disease) with features resembling Pick's disease. *Arch. Neurol. Psychiat., (Chic.)* 1949, 61, 369—384.
2. Braunmühl, von A.: Picksche Krankheit und amyotrophische Lateralsklerose. *Z. allg. Psychiat.,* 1932, 96, 364—366.
3. Brion S., Mikol I., Psimaras A.: Recent findings in Pick's disease. W: *Progress in neuropathology*. Red. Zimmerman. Grune and Stratton, London 1973, 2, 421—452.
4. Goodman L.: Alzheimer's disease. A clinic-pathological analysis of twenty three cases with a theory on pathogenesis. *J. nerv. ment. Dis.,* 1953, 97, 118—131.
5. Hirano A., Malamud N., Elizan T., Kurland L.: Amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia complex on Guam. *Arch. Neurol., (Chic.)* 1966, 15, 35—51.
6. Malamud N., Hirano A., Kurland H.: Pathoanatomic changes in amyotrophic lateral sclerosis on Guam (Special reference to the occurrence of neurofibrillary changes). *Arch. Neurol., (Chic.)* 1961, 5, 401—415.
7. Poppe W., Tennstedt A.: Klinisch und pathologisch-anatomische Untersuchungen über Kombinationsformen präseniler Hirnatrophien (Pick, Alzheimer) mit spinalen atrophierenden Prozessen. *Psychiat. Neurol. Karger, Basel* 1963, 145, 322—345.
8. Raskin N., Ehrenberg R.: Senescence, senility and Alzheimer's disease. *Amer. J. Psychiat.,* 1956, 113, 133—143.
9. Schochet S. S., Lampert P. W., Lindenberg R.: Fine structure of the Pick and Hirano bodies in a case of Pick's disease. *Acta neuropath., (Berl.)* 1968, 11, 330—337.
10. Seitelberger F., Jellinger K.: Umschriebene Grosshirnatrophie bei Alzheimer-scher Krankheit. *Dtsch. Z. Nervenheilk.,* 1958, 178, 365—379.
11. Sjögren T., Sjögren H., Lindgren A. G. H.: Morbus Alzheimer and morbus Pick. A genetic-clinical and pathoanatomical study. *Acta psychiat. scand.* 1952, (supp.) 82, 152—159.
12. Tariska I.: Alzheimer's fibrillary degeneration in circumscribed cerebral atrophy. *Acta Med. Acad. Sci. Hung.,* 1965, 21, 485—496.
13. Terry R. D.: The fine structure of neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *J. Neuropath. exp. Neurol.,* 1963, 22, 629—642.
14. Wiśniewski H. M., Coblenz J. M., Terry R. D.: Pick's disease. A clinical and ultrastructural study. *Arch. Neurol., (Chic.)* 1972, 26, 97—108.

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НЕТИПИЧНЫХ СЛУЧАЕВ БОЛЕЗНИ ПИКА И БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Резюме

Представленная работа относится к проблеме сосуществования морфотических показателей характерных для болезни Альцгеймера и для болезни Пика, а также к проблеме совпадения болезни Альцгеймера с системной дегенеративной болезнью — амиотрофическим боковым склерозом.

На материале трех случаев автор провела анализ изменений типичных и нетипичных для отдельных нозологических единиц.

Нозологическая особенность болезни Пика или Альцгеймера не исключает, что наряду с „чистыми” случаями существуют смешанные формы соединяющие признаки характерные для одного и другого синдрома.

Подобным образом может выступать сосуществование нетипичной болезни Альцгеймера с системной дегенеративной болезнью центральной нервной системы.

Двойная генетическая обусловленность могла бы оправдать выступление смешанных форм этих нозологических единиц.

CLINICAL AND MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF ATYPICAL CASES OF PICK'S AND ALZHEIMER'S DISEASES

Summary

The paper concerns the problem of the coexistence of morphological evidences characterizing Alzheimer's and Pick's diseases as well as the problem of the coexistence of Alzheimer's disease with another degenerative systemic disease — amyotrophic lateral sclerosis. The analysis of typical and atypical changes for particular diseases was performed on three cases. Nosological distinction of Pick's and Alzheimer's disease cannot exclude, that beside "pure" cases there are mixed forms integrating the characteristic features of the each complex. Similarly, the coexistence of atypical Alzheimer's disease with systemic degenerative disease of the CNS can be observed.

Adres autorki: Zakład Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego, Al. Sobieskiego 1/9, 02—957 Warszawa

ANDRZEJ BRZECKI, JÓZEFA DĄBROWSKA, PIOTR OLEJNICZAK

MŁODZIEŃCZA, RODZINNA POSTAĆ STWARDNIENIA ZANIKOWEGO BOCZNEGO

Klinika Neurologiczna AM, Wrocław

Stwardnienie zanikowe boczne (szb) jest chorobą wieku średniego. Rzadko zaczyna się wcześniej (druga i trzecia dekada) lub później (ósma dekada życia). Rozpoznanie wczesnej, zazwyczaj rodzinnej, postaci może być trudne, jeśli występują objawy nietypowe.

Postać rodzinna jest rzadka; najwyższe rodzinne występowanie choroby, poza endemią na wyspie Guam, wykazano w USA 5—10% (Hirano i wsp. 1967). Typ dziedziczenia może być różny: często autosomalny (dominujący lub recesywny), rzadko sprzężony z płcią, recesywny. Endemiczna postać rodzinna z wyspy Guam, występująca z otępieniem i parkinsonizmem, jest być może nozologicznym odpowiednikiem wczesnej postaci szb występującej w innych obszarach świata (Walton 1977).

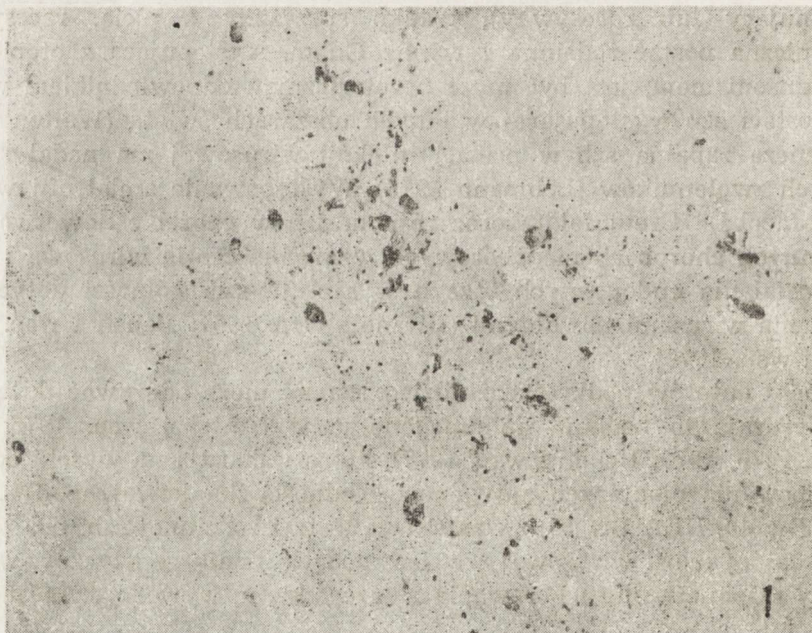
Geneza zapalna szb w postaci infekcji wirusowej ma nadal swoich licznych zwolenników (Lehmann 1979). Występowanie amiotrofii w chorobie Jacoba i Creutzfeldta oraz zespołu szb w chorobie nowotworowej i w innych chorobach niedoborowych wzmacnia teorię wirusową i hipotezę działania endogennych toksyn w szb. W szczególności dotyczy to zakażenia wirusami powolnymi (Hirano i wsp. 1967; Behan i wsp. 1977, Kott i wsp. 1979).

Wielu autorów podkreśla, że dziedziczność może odgrywać dużą rolę. Potwierdzają to badania immunogenetyczne (Antel i wsp. 1976; Kott i wsp. 1976, 1979; Behan i wsp. 1977), które wskazują na wysoki odsetek występowania niektórych antygenów zgodności tkankowej np. HLA A3, HLA Bw 40, HLA Bw 35, zwłaszcza w postaci rodzinnej szb. Nie osłabia to aktualnej teorii wirusowej szb, lecz godzi czynnik genetyczny, warunkujący skłonność do zachorowania z egzogennym, wywołującym chorobę.

OPIS PRZYPADKU

Pracownica fizyczna H. J., lat 20, zachorowała w czerwcu 1978 roku. Siostra jej matki (stałe zamieszkała w innej miejscowości) zmarła w 44 r.ż. z powodu szb rozpoznanego w Warszawskiej Klinice Neurologicznej (karta inf. z 6 V 1976).

U chorej wystąpiło w okresie kilku dni osłabienie mięśni karku oraz chryпка. Po kilku miesiącach miernej progresji znacznie nasiliły się zaburzenia mowy, pojawiły się trudności w połykaniu oraz osłabły mięśnie ramion. Z powodu trudności w spożywaniu pokarmów nastąpił 11-kilowy spadek wagi. Przyjęta do Kliniki Neurologicznej we Wrocławiu w styczniu 1979 r. (hist. chor. nr 99/79). Stwierdzono zaawansowany zespół porażenia opuszkowego z niewyraźną, afoniczną nosową mową, upośledzeniem połykania, porażeniem podniebienia i strun głosowych, niedowładem języka z zanikiem i drganiami pęczkowymi. Niedowład i zanik mięśni szyi (zwłaszcza mm. mostkowo-sutkowo-obojęczykowych), obręczy barkowej, ramion, przedramion i rąk oraz klatki piersiowej był znaczny, a drgania pęczkowe rozległe. Napięcie mięśni było wiotkie, natomiast odruchy okostnowe podwyższone, a odruchy Jacobsohna i Wartenberga wybitnie dodatnie obustronnie. W kończynach dolnych siła mięśni dystalnie dobra, a proksymalnie miernie osłabiona. Były widoczne fasykulacje i zanik mięśni ud. Napięcie mięśni niepodwyższone, odruchy kolanowe i skokowe wzmożone (polikinetyczne). Objaw Babińskiego obustronnie ujemny. Czucie powierzchniowe i wibracji niezaburzone. Ogólne wychudzenie. Narządy wewnętrzne bez zmian.



Ryc. 1. Fragment jądra dwuznacznego. Cechy pierwotnego zwyrodnienia neurocytów z odczynem gleju komórkowego. Pojedyncze neurocyty są balonowate, obrzmiałe. H + E. Pow. 200 X

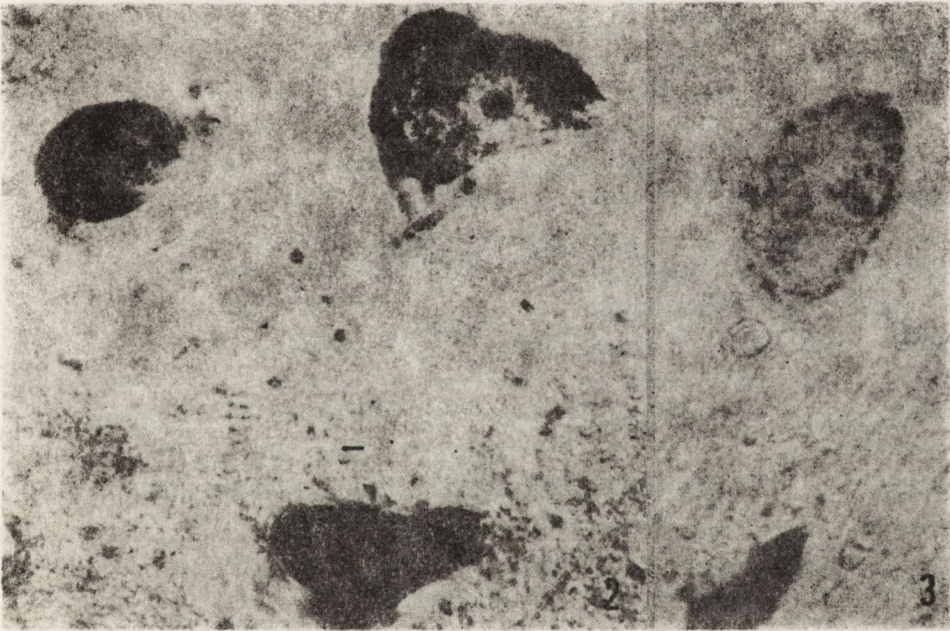
Fig. 1. Fragment of nucleus ambiguus. Primary degeneration of neurocytes with reaction of glial cells. Some neurons swollen with baloon-like appearance. H + E. X 200

Badanie emg (nr 4897/79) mięśni naramiennych i przeciwstawiacza kciuka: w spoczynku zarejestrowano obfite fascykulacje. Zapis wysiłkowy prosty — pośrednio ubogi o amplitudzie 3—7000 mikroV. Liczne jednostki wielofazowe (zapis neurogeny). Inne badania pomocnicze ujemne.

W 5-tygodniowym przebiegu nasiliły się objawy opuszkowe: wystąpiły trudności w oddychaniu, zalegała wydzielina górnych dróg oddechowych, samodzielne połykanie nie było możliwe. Zgon nastąpił nagle z powodu porażenia oddechu. Klasyczny zespół uszkodzenia górnego i dolnego neuronu ruchowego i 11-miesięczny przebieg choroby uzasadniały rozpoznanie szb.

Badanie sekcyjne wykonane w Zakładzie Anatomii Patologicznej AM we Wrocławiu (nr 151/79) wykazało znaczne zaniki mięśniowe tułowia i kończyn, wyniszczenie, rozstrzeń serca oraz obrzęk płuc średniego stopnia.

Badanie pośmiertne ośrodkowego układu nerwowego wykazało: móz-



Ryc. 2. Widoczny obrzmiały neurocyt z jądrem i substancją Nissla przesuniętymi na obwód. Poniżej neurocyt zwyrodniały, hiperchromatyczny. H + E. Pow. 1350 ×

Fig. 2. Swollen neurocyte with peripheral displacement of nucleus and Nissl's substance. Below, degenerated hyperchromatic neurocyte. H + E. × 1350

Ryc. 3. Balonowato rozdęty neurocyt z przesuniętym jądrem. Jednorodna cytoplazma słabo zabarwiona hematoksyliną. Nieliczne ciała Nissla widoczne na obwodzie komórki. Nissl. Pow. 200 ×

Fig. 3. Swollen neurocyte with displaced nucleus. Homogeneous cytoplasm, poorly stained with hematoxyline. Some Nissl's granules located at the periphery of the cell cytoplasm. H + E. × 200

gowie i rdzeń kręgowy bez zmian makroskopowych. Skrawki z rdzenia kręgowego i z mózgu barwiono hematoksyliną-eozyną, metodą Nissla, van Giesona, Heidenhaina, Holzera i Bielschowsky'ego.

Stwierdzono symetrycznie rozmieszczone zmiany w komórkach jąder ruchowych, szczególnie duże w jądrach nn. IX, X, XII i w rogach przednich odcinka szyjnego rdzenia kręgowego (ryc. 1), mierne w korze ruchowej i drogach piramidowych. Zmiany miały charakter pierwotnego procesu zwyrodnieniowego i polegały na znacznym opustoszeniu neurocytów jąder nn. czaszkowych i rogów przednich rdzenia. Część była dobrze zachowana, lecz pozostała większość, zwłaszcza w odcinku szyjnym rdzenia kręgowego, wykazywała cechy zwyrodnienia: komórki były obkurczone, hiperchromatyczne (ryc. 2). Sporadycznie stwierdzano neuronofagię. Wśród zwyrodniałych neurocytów spotykano komórki obrzmiałe, balonowato rozdęte. Jądra tych komórek oraz substancja Nissla były przesunięte na obwód. W jednorodnej cytoplazmie, barwiącej się słabo hematoksyliną oraz dodatkowo metodą Bielschowsky'ego nie stwierdzono ciał wtrętowych (ryc. 3). Odczyn glejowy, komórkowy i włóknisty był wyraźny, przede wszystkim w opuszcze, zwłaszcza w obszarze jąder nn. IX, X i XII oraz oliwki dolnej.

W korze ruchowej, makroskopowo nie wykazującej cech zaniku, zmiany zwyrodnieniowe neurocytów były niewielkie, ilość komórek glejowych zwiększona. Nie zauważono przekonywających zmian w drogach długich, zwłaszcza piramidowych (delikatne spłowienie mieliny, brak odczynu glejowego). Drobne naczynia mózgu i rdzenia były niezmiennione.

OMÓWIENIE

Opisany przypadek stanowi przykład młodzieńczej postaci szb, która częściej występuje rodzinnie niż sporadycznie. Ma ona przebieg zazwyczaj podostry, prowadzący w ciągu kilkunastu miesięcy do zejścia śmiertelnego (Charcot, Joffroy 1869; van Bogaert 1925; Gozzano 1936; Friedman, Freedman 1950; Cognazzo, Martin 1970; Bonduelle 1975). Wyjątkowo zdarza się przebieg przewlekły (Markand, Daly 1971) i wtedy dotyczy osobników najmłodszych, poniżej 16 roku życia. W tych przypadkach objawy piramidowe przeważają zazwyczaj nad amiotrofią. W postaci rodzinnej, zwykle młodzieńczej, spotyka się stosunkowo często objawy nietypowe (Bonduelle 1975): porażenie funkcji pęcherza moczowego, zaburzenia czucia wibracji, oftalmoplegie, hiperkinezy pozapiramidowe, objawy mózdkowe, otępienie. W dość licznych opisach często brak jest weryfikacji neuropatologicznej rozpoznań klinicznych (Bonduelle 1975).

W przedstawionym przez nas przypadku klasyczny obraz szb odpowiada postaci opuszkowej i pseudowielonerwowej (Lehmann 1979). Choroba wystąpiła poprzednio u starszego członka rodziny (44-letniej ko-

biety). U chorej ujawniło się więc zjawisko antycypacji (dziedziczenia postępującego), które zdaje się być charakterystyczne dla rodzinnej postaci szb i przemawia za czynnikiem endogennym choroby. Zmiany neuropatologiczne zgodne z klasycznymi opisami polegały na zaniku i zwyrodnieniu komórek ruchowych opuszki i rdzenia kręgowego, w mniejszym stopniu kory ruchowej. Istotnych zmian w długich drogach rdzenia kręgowego i pnia mózgu nie stwierdzono.

Ponadto spotykano obrzmiałe komórki, które przypominały swoim wyglądem i cechami barwienia neurocyty opisane przez Hirano i wsp. (1967) w rodzinnej postaci szb. Nie znaleziono jednak wtretów śródkomórkowych, na które autorzy ci zwrócili uwagę, natura zmian komórkowych pozostaje niejasna. Być może dalsze badania morfologiczne odkryją ich charakter i przyczynią się do wyjaśnienia etiopatogenezy szb.

PISMIENICTWO

1. Antel J. P., Arnason P. G. W., Fuller T. C., Lehirch J. R.: Histocompatibility typing in amyotrophic lateral sclerosis. *Arch. Neurol.*, 1976, 33, 423—425.
2. Behan P. O., Wells I. C., Egan J. D.: Histocompatibility antigens associated with motor neurone disease. *J. neurol. Sci.*, 1977, 32, 213—217.
3. Bogaert L., van: La sclerose laterale amyotrophique et la paralysie bulbaire progressive chez l'enfant. *Rev. Neurol.*, 1925, 1, 180—192.
4. Bonduelle M.: Amyotrophic lateral sclerosis. W: *Handbook of Clinical Neurology*. Red. Vinken, Bruyn, Nord Holland and Elsevier, Amsterdam, New York 1975, 281—338.
5. Charcot J. M., Joffroy A.: Deux cas d'atrophie musculaire progressive avec lesion de la substance grise et des faisceaux anterolateraux de la moelle epiniere. *Arch. Physiol. Neurol. Path.*, 1969, 354, 629, 744, cyt. wg poz. 4.
6. Cognazzo A., Martin L.: A sporadic case of juvenile amyotrophic lateral sclerosis. Semi-quantitative and histoenzymatical study of the denervated muscles. *Europ. Neurol.*, 1970, 3, 211—230, cyt. wg poz. 4.
7. Friedman A. P., Freedman D.: Amyotrophic lateral sclerosis. *J. Nerv. Ment. Dis.*, 1950, 111, 1—18, cyt. wg poz. 4.
8. Gozzano M.: Sulla istopatologica e la patogenesi della sclerosi laterale amiotrofica. *Riv. Neurol.*, 1936, 9, 1—74, cyt. wg poz. 4.
9. Hirano A., Kurland L. T., Sayre G. P.: Familial amyotrophic lateral sclerosis. A subgroup characterized by posterior and spinocerebellar tract involvement and hyaline inclusions in the anterior horn cells, *Arch. Neurol.*, 1967, 16, 3, 232—243.
10. Kott E., Robertson W. C., Edmonson M. B.: Amyotrophic lateral sclerosis: cell-mediated immunity to poliovirus and basic myelin protein in patients with high percentage of HLA-Bw 35. *Neurology (Minneap.)* 1976, 26, 376—377.
11. Kott E., Halsey J. H., Blauenstein U. W., Wilson E. M., Wills E. H.: Cell-mediated immunity to polio and HLA antigens in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology (Minneap.)* 1979, 29, 1040—1044.
12. Lehmann J.: Zur Klinik und Pathologie der amyotrophischen Lateralsklerose. *Neuropat. Pol.*, 1979, 16, 127—133.

13. Markand O. N., Daly D. D.: Juvenile type of slowly progressive bulbar palsy: report of a case. *Neurology (Minneapolis)* 1971, 21, 753—758.
14. Walton J. N.: *Brain's diseases of the nervous system*, Oxford University Press, New York, Toronto 1977.

ЮНОШЕСКАЯ, СЕМЕЙНАЯ ФОРМА АМИОТРОФИЧЕСКОГО БОКОВОГО СКЛЕРОЗА

Резюме

Авторы привели клиническое описание и результат neuropathological исследования случая (20-летняя женщина) юношеской, семейной формы амиотрофического бокового склероза с преобладающими бульбарными и псевдомногонервными симптомами. Они констатировали явление антиципации так как эта самая болезнь выступила раньше у старшего члена семьи, 44-летней женщины.

Кроме классических neuropathological изменений авторы наблюдали отечные невриты, похожие на описанные Гирано и сотр. Род этих клеточных изменений неясен, быть может они являются проявлением вирусной инфекции. Авторы констатируют, что независимо от возможной вирусной инфекции в этиопатогенетическом отношении значительную роль в амиотрофическом боковом склерозе играет эндогенный наследственный фактор.

JUVENILE, FAMILY FORM OF AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS

Summary

The authors present the clinical picture and the results of the neuropathological study of the case (a 20-year-old woman) diagnosed as the juvenile, family form of ALS, with predominant bulbar and pseudopolyneuritis symptoms. The anticipation phenomenon was stated because the same disease had been observed previously in the older member of the family (a 44-year-old woman).

Beside the classical neuropathological changes, swollen neurocytes resembling the forms described by Hirano et al. (1967), were observed. The nature of these changes is not clear. They can be considered as a manifestation of viral infection. The authors suppose that apart from possible viral infection, the hereditary endogenous factor plays an important role in the etiopathogenesis of ALS.

Adres autorów: Klinika Neurologiczna Akademii Medycznej ul. Traugutta 118, 50—420 Wrocław

MIROSLAW J. MOSSAKOWSKI, ELŻBIETA KIDA

SILENT DEMYELINATION WITH FOCAL AND DIFFUSE RETICULOBLASTOSIS OF THE BRAIN

Department of Neuropathology, Medical Research Centre, Polish Academy of Sciences, Warszawa

Department of Neurology, Czerniakowski City Hospital, Warszawa

Concomitance of demyelination with blastomatous proliferation is known from numerous clinico-pathological reports. It appears in many types and forms. In 1938 Scherer described a case of multifocal demyelination with blastomatous glial proliferation, considering this as a special form of multiple sclerosis. Progressive multifocal leucoencephalopathy is also representative of a typical demyelinating process concomitant with blastomatous astrocytic transformation. In a great proportion of cases this accompanies malignancies, involving mostly, although not exclusively, the reticulo-endothelial system. In 1974 Ulrich and Wüthrich published a case of typical multiple sclerosis, in which neuropathological examination revealed foci of reticulosarcoma connected or independent of demyelinating plaques. They quoted a similar unpublished case from Vildi's collection. One case from a series described by Schaumburg et al. (1972) and that published by Castagne et al. (1974) showed similar pathological features. It seems justified to include into the same group cases described by Dymecki et al. (1966) under the name of granulomatous encephalitis with focal demyelination and Haddenbrock et al. (1962), diagnosed as „phlebite granulomateuse sur sclérose en plaques”.

The presented case, although similar in its general pattern to the above mentioned series, differs from most of them in its clinical and neuropathological picture.

CASE REPORT

The case concerned a 70-year-old female, otherwise healthy till her final disease, who had been suffering for the 2 last years from chronic spastic bronchitis. In the course of the last year some characterologi-

cal changes were noticed, accompanied with equilibrium disturbances and vertigo. Two months prior to her death she was hospitalized because of an acute febrile disease, diagnosed as bronchopneumonia. Neurological examination at the time of hospitalization revealed spasticity and weakness of upper extremities and bilateral ataxia. While at home, the general and neurological state of the patient was getting worse. Vertigo was increasing. So were gait disturbances. At the second admission to the hospital, three weeks prior to her death, the patient was emaciated, pale and semiconscious. Anisocoria (left pupil larger than the right one) and rightsided hemiparesis with pyramidal signs were present. In the course of several days complete left ophthalmoplegia appeared. This together with right spastic hemiplegia formed a typical alternate midbrain syndrome.

Laboratory tests revealed hypochromic anemia, increased white cells count, enhanced sedimentation rate (48/h), elevated globulin level in the blood and rise of proteins in cerebro-spinal fluid (73 mg%). Eeg was bilaterally abnormal, with theta and delta waves on the left side. The clinical symptomatology and course suggested either neoplastic or vasogenic process located in mesencephalic region. The general and neurological state of patient was rapidly worsening and she died three weeks after admission to hospital.

On general autopsy thrombosis of the right pulmonary artery and left iliac vein, infarction of the upper lobe of the right lung, emphysema and chronic bronchitis were found.

Naked eye brain examination revealed numerous and varying in size and shape foci of demyelination, which were widespread throughout the white brain structures, with an obvious predilection to the periventricular areas and a tumor involving midbrain and upper pons.

A microscopic brain examination was carried out on sections taken from different areas of both cerebral hemispheres, midbrain, pons, medulla and cerebellum, stained with routine and special neuropathological methods.

The microscopic picture of the brain was dominated by numerous demyelination foci, present both in cerebral hemispheres, brain stem and cerebellum. Aside large foci, often confluent, occurring mostly in the periventricular areas of brain hemispheres (Figs 1, 2), there existed small ones, located first of all in brain stem (Fig. 3) and cerebellum (Fig. 4). Most of the foci showed the features of an old demyelination. They had sharp borders, contained a scarce amount of regressive astrocytes (Fig. 5) and a dense network of glial fibers (Fig. 6). Axon cylinders, although reduced, remained preserved (Fig. 7). In some of the foci perivascular lymphocytic cuffs were present (Fig. 8).

Recent foci, with only partial destruction of myelin were also seen (Fig. 9). Their borders were less sharp, and the nerve tissue within

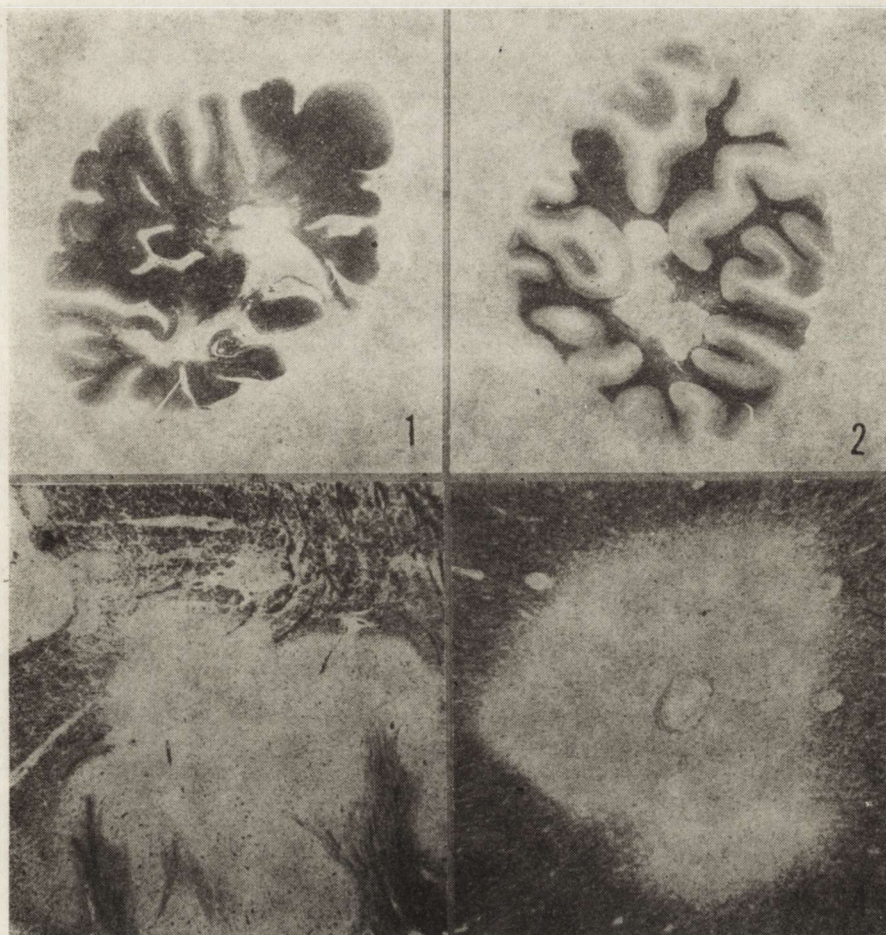


Fig. 1. Numerous demyelination foci within the white matter of the cerebral hemisphere. Klüver-Barrera. Magn. glass

Ryc. 1. Liczne ogniska demielinizacyjne w istocie białej półkuli mózgu. Klüver-Barrera. Pow. lupowe

Fig. 2. Confluent, sharply limited demyelination foci in the white matter of occipital lobe. Klüver-Barrera. Magn. glass

Ryc. 2. Zlewające się, ostro ograniczone ogniska demielinizacyjne w istocie białej płata potylicznego. Klüver-Barrera. Pow. lupowe

Fig. 3. Small demyelination focus in the vicinity of inferior olive. Klüver-Barrera. $\times 25$

Ryc. 3. Małe ognisko demielinizacyjne w sąsiedztwie oliwki dolnej. Klüver-Barrera. Pow. 25 \times

Fig. 4. Perivascular demyelination in the cerebellar white matter. Klüver-Barrera. $\times 25$

Ryc. 4. Okołonaczyniowe ognisko demielinizacji w istocie białej mózdzku. Klüver-Barrera. Pow. 25 \times

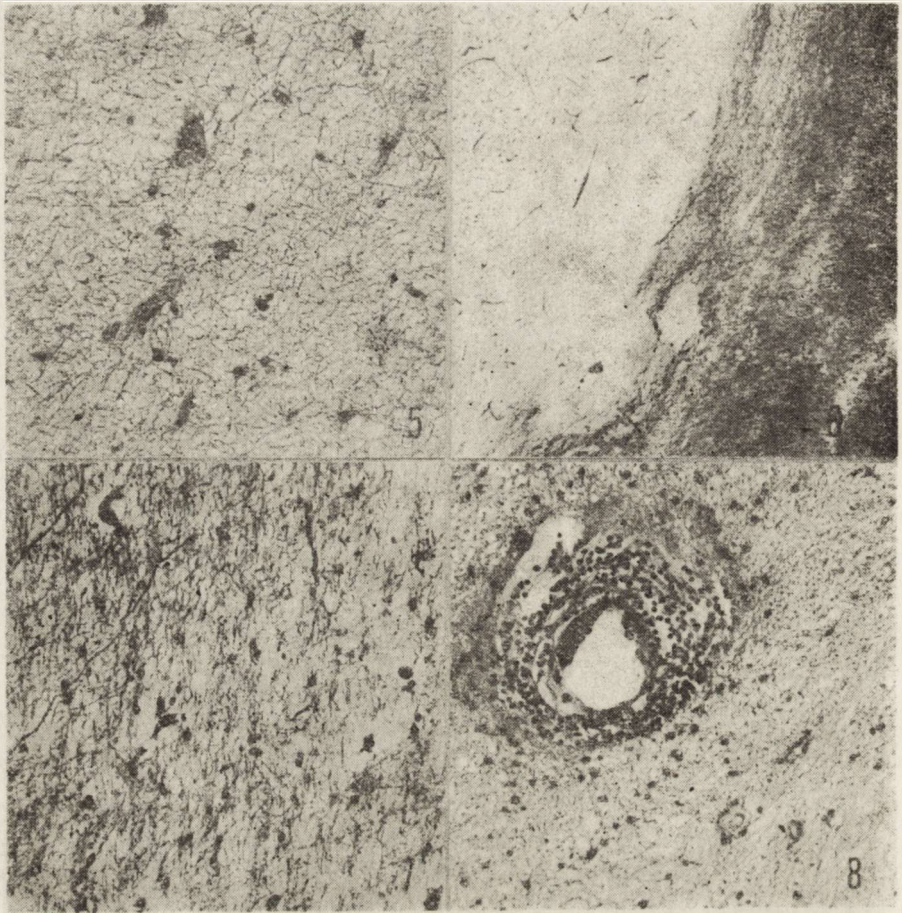


Fig. 5. Scarce, regressively changed astrocytes within demyelination focus of the occipital lobe. H—E. $\times 200$

Ryc. 5. Ubogokomórkowe ognisko demielinizacyjne w płacie potylicznym. H—E. $200 \times$

Fig. 6. Dense fibrogliosis within demyelination focus in the temporal lobe. Kanzler-Arendt. $\times 60$

Ryc. 6. Zbita glejoza włóknista w ognisku demielinizacyjnym w płacie skroniowym. Kanzler-Arendt. Pow. $60 \times$

Fig. 7. Reduced number of axon cylinders within an old demyelination focus. Bielschowsky. $\times 200$

Ryc. 7. Przerzedzenie włókien osiowych w starym ognisku demielinizacyjnym. Bielschowsky. Pow. $200 \times$

Fig. 8. Perivascular lymphocytic infiltration within an old demyelination focus. H—E. $\times 200$

Ryc. 8. Okołonaczyniowy naciek limfocytny w starym ognisku demielinizacyjnym. H—E. Pow. $200 \times$

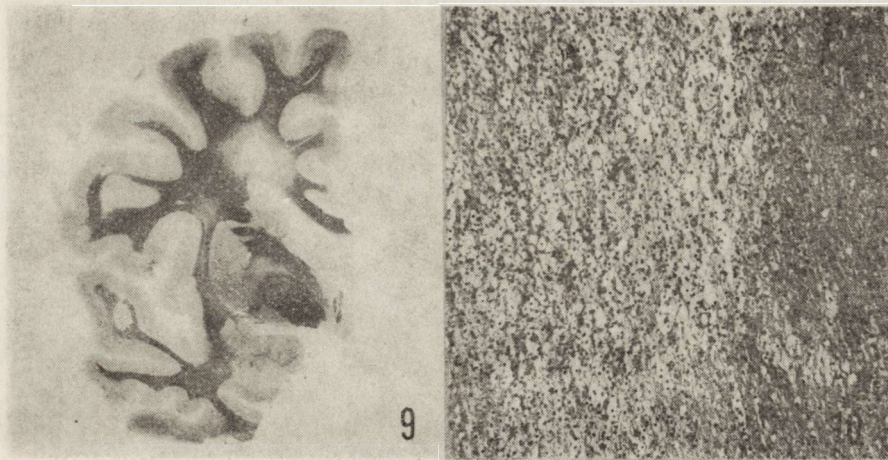


Fig. 9. Sharp demyelination focus, surrounded by diffuse palor of myelin within the frontal white matter. Numerous small ill-limited demyelination foci spread throughout the hemispheric white matter. Globus pallidus and neighbouring internal capsule involved by neoplastic growth. Klüver-Barrera. Magn. glass
Ryc. 9. Ostro zarysowane ognisko demielinizacji w istocie białej płata czołowego otoczone wieńcem spłowienia mieliny. Ponadto widoczne drobne, nieostre ogniska demielinizacyjne rozsiane w istocie białej półkuli. Gałkę białą i przylegającą część torebki wewnętrznej zajmuje ognisko nowotworowe. Klüver-Barrera. Pow. lupowe

Fig. 10. Recent demyelination focus with rarefied tissue and poor myelin staining. H-E. $\times 100$

Ryc. 10. Świeże ognisko demielinizacyjne w płacie czołowym z rozrzedzeniem utkania i słabym wybarwieniem osłonek. H-E. Pow. 100 \times

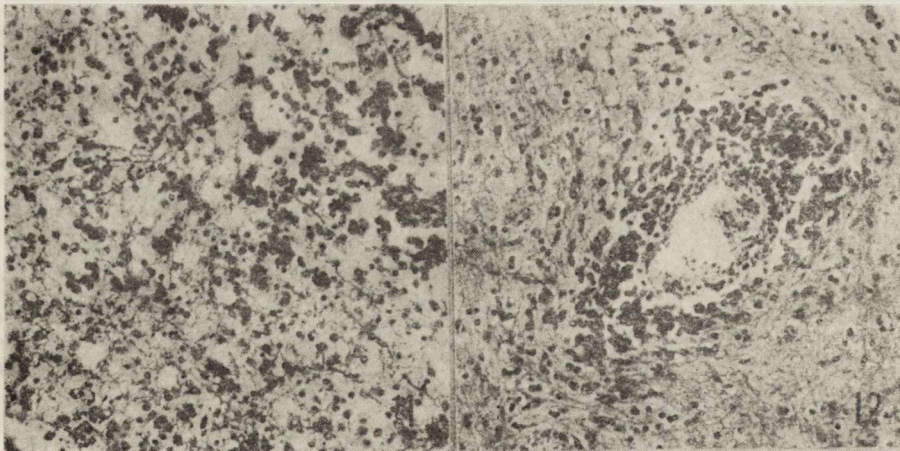


Fig. 11. Nests of granulomatous infiltration within a focus of recent demyelination. Klüver-Barrera. $\times 400$

Ryc. 11. Gniazda komórek nacieku granulomatycznego w świeżym ognisku demielinizacyjnym. Klüver-Barrera. Pow. 400 \times

Fig. 12. Perivascular granulomatous infiltration within unchanged white matter. Klüver-Barrera. $\times 200$

Ryc. 12. Okołonaczyniowy nacieku granulomatyczny w niezmienionej istocie białej. Klüver-Barrera. Pow. 200 \times

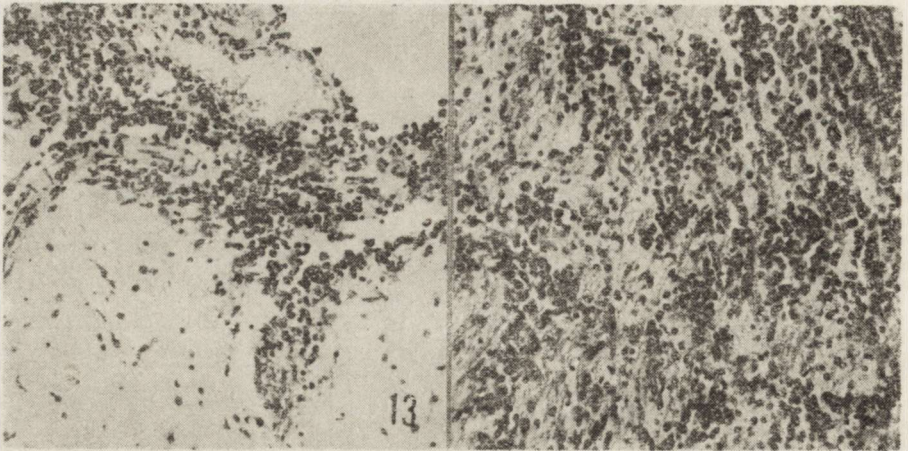


Fig. 13. Granulomatous infiltration of the frontal leptomeninges. Klüver-Barrera. $\times 200$

Ryc. 13. Granulomatyczny naciek w oponie miękkiej płata czołowego. Klüver-Barrera. Pow. $200 \times$

Fig. 14. Dense granulomatous infiltration in the internal capsule. Klüver-Barrera. $\times 200$

Ryc. 14. Zbity naciek granulomatyczny w torebce wewnętrznej. Klüver-Barrera. Pow. $200 \times$

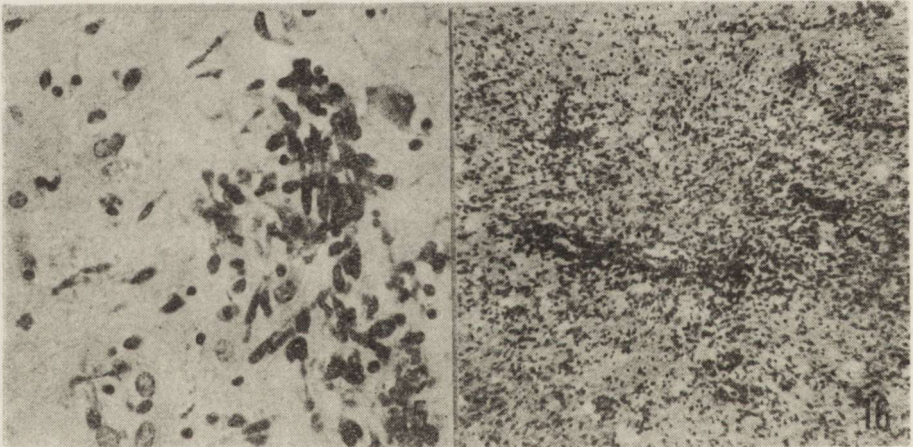


Fig. 15. Nodular microglial infiltration in the cerebral cortex. Numerous rod-shaped cells. Klüver-Barrera. $\times 400$

Ryc. 15. Grudkowy naciek mikrogleju w korze mózgu. Liczne komórki pałeczkowate. Klüver-Barrera. Pow. $400 \times$

Fig. 16. Diffuse granulomatous infiltration within the occipital white matter. H-E. $\times 100$

Ryc. 16. Rozlany naciek granulomatyczny w istocie białej płata potylicznego. H-E. Pow. 100

their limits was rarefied to various extents (Fig. 10). Part of them contained diffuse infiltration composed of histiocytes, lymphocytes and immature plasma cells (Fig. 11). A great proportion of myelin sheaths and axons within these foci were spared, being separated by agglomera-

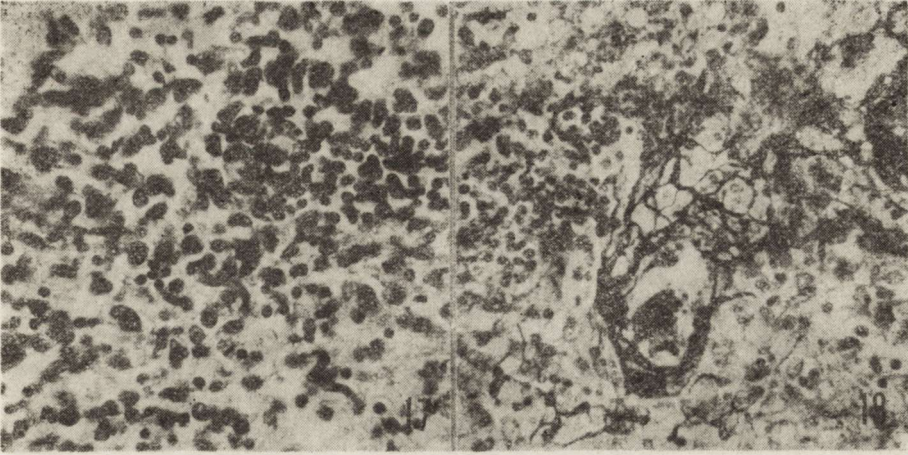


Fig. 17. Cellular elements of the granulomatous infiltration within the occipital white matter. H-E. $\times 400$

Ryc. 17. Elementy komórkowe rozlanego nacieku granulomatycznego w istocie białej płata potylicznego. H-E. Pow. 400 \times

Fig. 18. Extravascular argentophilic fibers' network between the cells of granulomatous infiltration in the occipital white matter. Griedley. $\times 400$

Ryc. 18. Pozanaczyniowa sieć włókien srebrbrońnych pomiędzy komórkami nacieku granulomatycznego w istocie białej płata potylicznego. Griedley. Pow. 400 \times

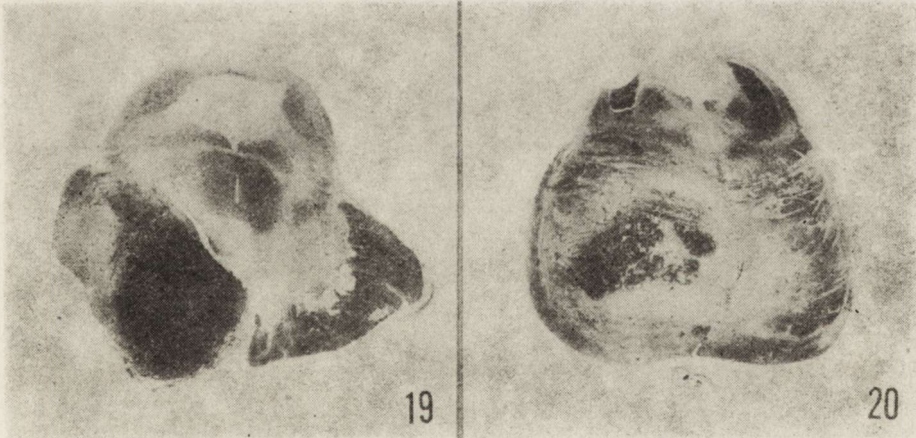


Fig. 19. Well-limited tumor involving the left basal portion of the midbrain. Klüver-Barrera. Magn. glass

Ryc. 19. Ostroograniczny guz zajmujący podstawną część śródmózgowia. Klüver-Barrera. Pow. lupowe

Fig. 20. Pontine portion of the tumor, surrounded by diffuse rime of demyelination. Klüver-Barrera. Magn. glass

Ryc. 20. Mostowa część guza otoczona rozległym pierścieniem demielinizacji. Klüver-Barrera. Pow. lupowe

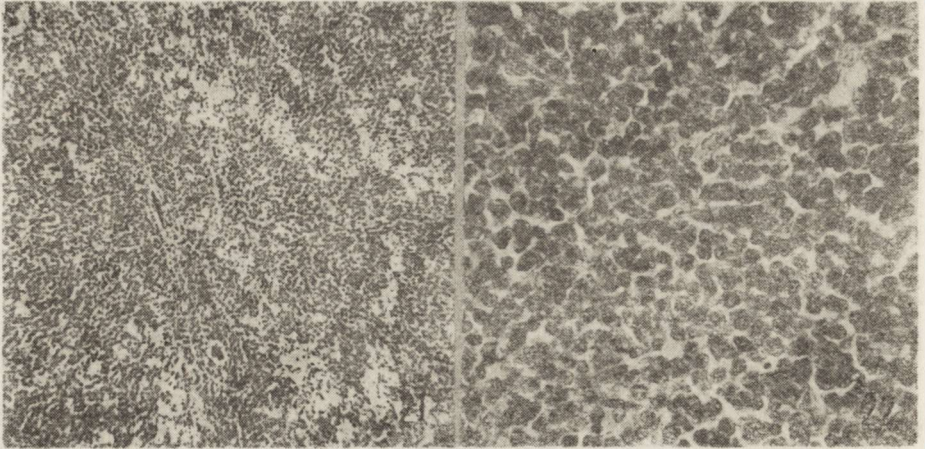


Fig. 21. General cellular characteristics of the midbrain tumor. Klüver-Barrera. $\times 100$

Ryc. 21. Utkanie bogatokomórkowego guza śródmózgowiowego. Klüver-Barrera. Pow. $100 \times$

Fig. 22. Predominating type of cells from the midbrain tumor. Numerous mitotic figures. Giemsa. $\times 400$

Ryc. 22. Podstawowy typ komórek guza zlokalizowanego w śródmózgowiu. Liczne figury mitotyczne. Giemsa. Pow. $400 \times$

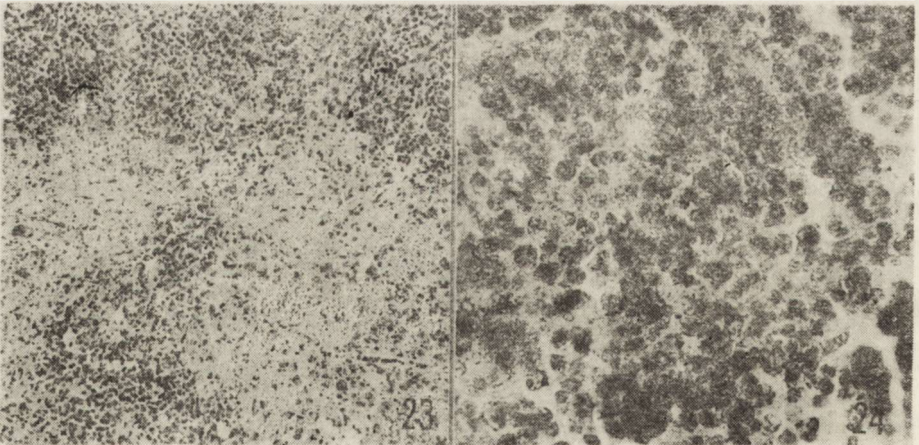


Fig. 23. Large nests of cells with light foamy cytoplasm within the pontine portion of the tumor. Klüver-Barrera. $\times 100$

Ryc. 23. Rozległe gniazda jasnych komórek o piankowej cytoplazmie w utkaniu mostowej części guza. Klüver-Barrera. Pow. $100 \times$

Fig. 24. Cytoplasm of foamy cells filled with lipid granules and droplets. Oil red. $\times 400$

Ryc. 24. Cytoplazma piankowatych komórek wypełniona ziarnistościami tłuszczu. Czerwień oleista. Pow. $400 \times$



Fig. 25. Area of tumor with prevalent lymphocytic cellular population. H-E. $\times 400$

Ryc. 25. Pole guza o przewadze utkania limfocytarnego. H-E. Pow. $400 \times$

Fig. 26. Dense network of argentophilic fibers separating groups of cells and individual cells of the tumor. Griedley. $\times 200$

Ryc. 26. Gęsta sieć włókien srebrochłonnych otaczająca grupy komórek i pojedyncze komórki guza. Griedley. Pow. $200 \times$

Fig. 27. Loose infiltration within peritumoral demyelination. Klüver-Barrera. $\times 100$

Ryc. 27. Luźne utkanie nacieku w obszarze okołoguzowej demielinizacji. Klüver-Barrera. Pow. $100 \times$

Fig. 28. Medulla with secondary demyelination of the left pyramidal tract and small demyelination focus in the vicinity of right inferior olive. Klüver-Barre-ra. Magn. glass

Ryc. 28. Opuszka z wtórną demielinizacją lewej piramidy i drobnym ogniskiem demielinizacyjnym w sąsiedztwie prawej oliwki dolnej. Klüver-Barrera. Pow. lu-powe

tes of abnormal cells. The latter were most densely packed around blood vessels. Similar perivascular infiltrates were also present in otherwise unchanged white matter (Fig. 12) and in some areas of leptomeninges (Fig. 13) and also between the fibers of the internal capsule (Fig. 14). Cortical perivascular infiltrations contained numerous cells with features of activated microglia and rod-shaped cells (Fig. 15).

In various brain areas, spreading perivascular infiltrations were present (Fig. 16). They were composed of multiform cells, with irregular nuclei, containing coarse chromatin and sharply defined nucleoli, and a scanty rim of cytoplasm (fig. 17). Numerous argentophil fibers accumulated between them (Fig. 18).

Brain tumor involving the left side of the midbrain (Fig. 19), extended rostrally towards the basal ganglia, infiltrating here corpus Luysi, medial segment of globus pallidus and a neighbouring portion of the internal capsule (Fig. 10). Rostrally it occupied the basal pons. In its pontine portion, the tumor was surrounded by a wide zone of demyelination, so that it gave the impression of being located in the centre of a large demyelination plaque (Fig. 20). The cellular structure of the tumor was rather monotonous (Fig. 21). Its main cellular population consisted of cells with large light nuclei with coarse granular chromatin and well formed nucleoli and a narrow rim of slightly metachromatic cytoplasm (Fig. 22). Mitotic figures were numerous. Nests of large cells with foamy cytoplasm were also present (Fig. 23); the latter was filled with sudan-positive substances (Fig. 24). In some areas the tumor was dominated by lymphocytic population (Fig. 25). A rich network of argentophilic fibers completed histopathology of the tumor (Fig. 26). In the peritumoral demyelination zone there were identical infiltrates. However, they were much looser and contained numerous hypertrophied astrocytes (Fig. 27). The secondary demyelination of the left pyramidal tract was seen on the level of medulla (Fig. 28).

DISCUSSION

In the present case, two pathological processes, namely demyelination and neoplasia coexist together. These two basic processes are accompanied by widespread changes characteristic of granulomatous encephalitis. Demyelination reveals structural features of multiple sclerosis. Morphology of most demyelination foci suggests a chronic process. Lack of clinical manifestations of demyelinating diseases is similar to that observed in case of Schaumburg et al. (1972). In that respect it differs from cases, described by Ulrich and Würthrich (1974) and Wildi (1974) in which clinical symptomatology of M.S. lasted for several years. A clinically silent course of multiple sclerosis is well known from numerous descriptions, first of all from that of Mackay and Hirano (1967).

Neoplasia in our case shows the features of a process known under the names of reticulosarcoma or microglioma (Schaumburg et al. 1972, Vuia, Hager 1973; Adams 1975; Reznik 1975; Zimmermann 1975), which has been included into a large group of malignant lymphomas (Lennert 1975; Lukes, Collins 1975). Similar to other descriptions, tumor in our case is multifocal in its nature (Schaumburg et al. 1972; Jellinger et al. 1975; Adams 1975) and in all probability seems to be a primary cerebral process. However, this supposition is based only on the general autopsy observations. Its univocality is greatly limited due to the lack of microscopic examination of body organs. Concomitance of lung and brain involvement by lymphoblastic processes seems to be a relatively frequent feature (Liebow 1972).

Neuropathological findings in our case raise the question of a possible relationship between neoplasia of reticulosarcomatous nature and the inflammatory process of the type of granulomatous encephalitis. Features of both processes were found to be present. In this sense the case seems to be supportive of the opinion, that delimitation between granulomatous encephalitis and reticuloblastosis of neoplastic nature is by no means sharp (Vuia 1966; Osetowska 1980). This inclines us to consider the case described by Dymecki et al. (1966) as belonging to the same group as ours, despite of its diagnosis as an inflammatory process.

The fundamental question is the possible interdependence of two pathological processes observed in the presented case. Simple incidental coexistence cannot be ruled out. However, concomitance of neoplastic growth of lymphoma type with demyelinating process is exceptionally rare compared with the total number of neuropathologically verified cases of multiple sclerosis. Lymphoma's precipitating action on the development of the demyelinating disease, although theoretically possible, seems doubtful in our case in the light of advancement of myelin damage (mostly old inactive plaques). The third possibility is the influence of demyelinating process with an immunopathological pathogenic background on the neoplastic proliferation of lymphoreticular system. The appearance of malignant lymphomas in cases of immunological defects and in the course of diseases with immunological pathomechanisms is well known (Cammorata et al. 1963; Brand, Marinkowich 1969; Gregory, Highes 1973; Wishart 1973; Jellinger et al. 1979). Also convincing is the high rate of lymphomas, involving predominantly the central nervous system in the recipients of transplanted organs, with a longlasting immunosuppression (Penn, 1978). The question which remains unanswered is whether immunopathology present in cases of multiple sclerosis can be a factor precipitating lymphoma's growth (Tourtellotte et al. 1980; Sindie et al. 1980).

Pathogenic factor or factors of unknown nature common for both

Table 1. Cases from the literature

No	Author(s) (year)	Clinical diagnosis	Disease duration	Therapy: Steroids, immuno- suppression	Demyelination		Neoplastic growth or granulomatous process
					Type	Advancement	
1.	H.H. Schaumburg et al. 1972	brain tumor anamnesis: <i>Neuritis optica retrobulbaris</i>	7 months	X-rays	disseminated	old	reticulum cell sarcoma (focal)
2.	J. Ulrich, R. Würthrich 1974	M.S.	7 years	Cortizone, ACTH Azathioprine	disseminated	old	reticulum cell sarcoma (multifocal)
3.	K. Wildi 1974	M.S.	9 years	Cortizone, Azathioprine	disseminated	old	reticulum cell sarcoma (multifocal)
4.	P. Castaigne et al. 1974	brain tumor	4 months	Synacthène, ACTH	disseminated	recent	reticulum cell sarcoma (focal)
5.	J. Gruner 1961	M.S. <i>Mycosis Fungoides</i>	9 years	ACTH	disseminated	old	cerebral reticulosis (multifocal)
6.	S. Haddenbrock et al. 1962	S.M.	2 years	ACTH	disseminated	old	phlébite granulomateuse (multifocal)
7.	J. Dymecki et al. 1966	multifocal neurological syndrome with dementia	9 years	ACTH(?)	disseminated	old	granulomatous encephalitis (multifocal)

processes — demyelination and neoplasia was suggested by Castaigne et al. (1974). The suggestion was based on the simultaneousness of both pathological processes, which does not seem to be the case in our patient.

Ulrich and Würthrich (1972) in the discussion of their case stressed very strongly the possible pathogenic role of immunosuppressive therapy — steroids and mostly azathioprine, being more and more often used in the treatment of multiple sclerosis (Aimard et al. 1980). Use of azathioprine therapy was also common in cases of brain lymphomas of recipients of transplanted kidneys (Penn 1978). On the other hand, quite a proportion of brain reticulum-cell sarcomas were described in people without immunosuppressive therapy (Zimmermann 1975; Jellinger et al. 1975). Concomitance of brain lymphoma with multiple sclerosis in a patient submitted to azathioprine therapy is known from only one description in literature (Ulrich, Würthrich 1972), although this factor was also involved in a case described by Jellinger et al. (1979). However, one cannot ignore the fact that in 5 of 7 cases collected from literature, immunosuppressive therapy was in use (Table 1). This was not true in our case.

REFERENCES

1. Adams H.: The classification of microgliomatosis with particular reference to diffuse microgliomatosis. *Acta neuropath.*, (Berl.) 1975, 6 (Suppl.), 119—123.
2. Aimard G., Confavreux C., Devic M.: Long-term immunosuppressive treatment with azathioprine in multiple sclerosis. A 10 year trial with 77 patients. In: *Progress in multiple sclerosis research*. Eds. H. J. Bauer, S. Poser, G. Ritter. Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1980, 371—375.
3. Brand M., Marinkowich V. A.: Primary malignant reticulosis of the brain in Wisbott-Aldrich syndrome. *Arch. Dis. Child.*, 1969, 44, 536—542.
4. Cammarata R. J., Rodman G. P., Jensen W. M.: Systemic rheumatic disease and malignant lymphoma. *Arch. intern. Med.*, 1963, 111, 330—337.
5. Castaigne P., Escourolle R., Brunet P., Gray F., Rouques C., Le Bigot P.: Reticulosarcome cérébral primitif associé à de lésions de sclérose en plaque. *Rev. Neurol.*, 1974, 130, 181—188.
6. Dymecki J., Wald I., Gadomska B.: Granulomatous encephalitis with multifocal demyelination. *Neuropat. Pol.*, 1966, 4 (Supl.), 729—734.
7. Gregory M. C., Hughes J. T.: Intracranial reticulum cell sarcoma associated with immunoglobulin deficiency. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 1973, 36, 769—776.
8. Gruner J.: Two cases of cerebral reticulosis. In: *Encephalitides*. Eds. L. van Bogaert, J. Radermecker. Elsevier, Amsterdam 1961, 194—203.
9. Haddenbrock S., Guazzi G. C., Torck P., Moya G.: Phlébite granulomateuse sur sclérose en plaque. *Acta Neurol. Psychiat. Belg.*, 1962, 62, 111—134.
10. Jellinger K., Radaskiewicz Th., Slowik F.: Primary malignant lymphomas of the central nervous system in man. *Acta neuropath.*, (Berl.), 1975, 6 (Suppl.), 95—102.

- 10a. Jellinger K., Kothbauer P., Weiss R., Sunder-Plassmann E.: Primary malignant lymphoma of the CNS and polyneuropathy in a patient with necrotizing vasculitis treated with immunosuppression. *J. Neurol.*, 1979, 220, 259—268.
11. Lennert K.: Morphology and classification of malignant lymphomas and so-called reticuloses. *Acta neuropath.*, (Berl.) 1975, 6 (Suppl.), 1—16.
12. Liekow A. A., Arrington C. R. B., Friedman P. J.: Lymphoid granulomatosis. *Human Path.*, 1972, 3, 457—536.
13. Lukes R. J., Collins R. D.: New approaches to the classification of lymphomata. *Brit. J. Cancer*, 1975, Suppl. 2, 1—28.
14. Mackay R. P., Hirano A.: Forms of benign multiple sclerosis. *Arch. Neurol.*, 1967, 17, 588—600.
15. Osetowska E.: Tissue neuropathology of viral and allergic encephalitides. *Pol. Med. Publ.*, Warsaw 1980, 241—247.
17. Penn I.: Malignancies associated with immunosuppressive or cytotoxic therapy. *Surgery* 1978, 83, 492—502.
17. Reznik M.: Pathology of primary reticulum cell sarcoma of the human central nervous system. *Acta neuropath.*, (Berl.) 1975, 6 (Suppl.), 91—94.
18. Schaumburg H. H., Plank C. R., Adams R. D.: The reticulum cell sarcoma-malignant group of brain tumours. A consideration of their clinical features and therapy. *Brain* 1972, 95, 199—212.
19. Scherer H. J.: La glioblastomose en plaque. *J. Belg. Neurol. Psychiat.*, 1938, 38, 1—17.
20. Sindic C., Cambiaso C. L., Masson P. L., Laterre E. C.: Clinical relevance of the determination in the cerebrospinal fluid with special reference to multiple sclerosis patients. In: *Progress in Multiple Sclerosis Research*. Eds. H. J. Bauer, S. Poser, G. Ritter. Springer. Berlin, Heidelberg, New York 1980, 176—179.
21. Tourtellotte W. W., Potvin A. R., Potvin J. H., Ma B. J., Baumhefner R. W., Syndulko K.: Multiple sclerosis de novo central nervous system IgG synthesis: measurement, antibody profile, significance, eradication and problems. In: *Progress in Multiple Sclerosis Research*. Eds. H. J. Bauer, S. Poser, G. Ritter. Springer. Berlin, Heidelberg, New York 1980, 106—116.
23. Ulrich J., Würthrich R.: Multiple sclerosis: reticulum cell sarcoma of the nervous system in a patient treated with immunosuppressive drugs. *Europ. Neurol.*, 1974, 12, 65—68.
23. Vuia O.: Das solitäre und multifokale polymorphe Granulom im Nervensystem. *Arch. Psychiat. Ztschr. ges. Neurol.*, 1966, 208, 309—325.
24. Vuia O., Hager H.: Primary cerebral blastomatous reticulosis. Clinical, pathohistological and ultrastructural study. *J. neurol. Sci.*, 1973, 19, 407—423.
26. Wildi R.: Cit. by Ulrich J. and Würthrich R., 1974 (pos. 22).
26. Wishart J. M.: Reticulosarcoma of the vulva complicating dermatomyositis treated by immunosuppression. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1973, 66, 330.
27. Zimmermann H. M.: Malignant lymphomas of the nervous system. *Acta neuropath.*, (Berl.) 1975, 6 (Suppl.), 69—74.

NIEMA DEMIELINIZACJA Z OGNISKOWYM I ROZLANYM ROZROSTEM RETYKULOBLASTYCZNYM MÓZGU

Streszczenie

Przedstawiono przypadek 70-letniej kobiety uprzednio zdrowej, która przez okres dwóch ostatnich lat leczona była z powodu spastycznego zapalenia oskrzeli. W ostatnim roku życia wystąpiły zmiany charakterologiczne z równoczesnymi

zaburzeniami równowagi i zawrotami głowy. Po przebyciu, na dwa miesiące przed śmiercią, ostrej choroby gorączkowej, zaczął narastać w sposób postępujący zespół neurologiczny, który ostatecznie przyjął postać typowego zespołu Webera z niezbornością. Symptomatologia i przebieg kliniczny sugerowały rozpoznanie procesu nowotworowego bądź naczyniopochodnego, umiejscowionego w okolicy śródmózgowia. Na sekcji mózgu stwierdzono guz w części podstawnej konarów mózgu i mostu. Badanie mikroskopowe wykazało obecność licznych, głównie starych ognisk demielinizacyjnych we wszystkich strukturach mózgowia, z ich wyraźną przewagą w półkulach mózgowych. Procesowi temu towarzyszył uogólniony rozrost retykuloblastyczny oraz uformowany guz o cechach *lymphoma malignum*. Rozrost retykuloblastyczny występował zarówno w ogniskach demielinizacyjnych jak i poza nimi. Omówiono możliwą współzależność patogenetyczną dwu procesów, wysuwając hipotezę o wyzwalającej roli zaburzeń immunopatologicznych, związanych z klinicznie niemą chorobą demielizacyjną.

НЕМАЯ ДЕМИЕЛИНИЗАЦИЯ С ОЧАГОВОЙ И РАЗЛИТОЙ РЕТИКУЛОБЛАСТИЧЕСКОЙ ГИПЕРПЛАЗИЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Резюме

Представлен случай 70-летней здоровой женщины, которая в течение двух последних лет была лечена по поводу спастического бронхита. В последнем году жизни выступили характерологические изменения с одновременными нарушениями равновесия и головокружениями. После перенесения, на два месяца перед смертью, острой лихорадочной болезни начал нарастать прогрессирующим способом неврологический синдром, который в полдние время принял форму типичного синдрома Вебера с атаксией. Клиническая симптоматология и клиническое течение подсказывали диагноз неопластического или ангиогенного процесса, локализованного в области среднего мозга. Во время обдукции головного мозга констатировано опухоль в базальной части ножек мозга и варолиева моста. Микроскопное исследование проявило наличие многих, главным образом старых демиелинизационных очагов во всех структурах головного мозга, с их отчетливым преобладанием в мозговых полушариях. Этому процессу сопутствовала обобщенная ретикулобластическая пролиферация и сформированная опухоль с признаком *lymphoma malignum*. Ретикулобластическая пролиферация выступала как в демиелинизационных очагах, так и вне их. Авторы обсудили возможную патогенетическую взаимозависимость обоих процессов, выдвигая гипотезу о высвобождающей роли иммунопатологических расстройств, связанных с клинически немой демиелинизационной болезнью.

Authors' address: Department of Neuropathology, Medical Research Centre, Polish Academy of Sciences, 3 Dworkowa Str., 00-784 Warszawa

PAWEŁ P. LIBERSKI, JANUSZ ALWASIAK, ZBIGNIEW WĘGRZYN

ATYPICAL PROGRESSIVE MULTIFOCAL
LEUCOENCEPHALOPATHY AND PRIMARY CEREBRAL
LYMPHOMA *

Department of Neurology, School of Medicine, Łódź
Department of Oncology, School of Medicine, Łódź
Department of Neurosurgery, Copernicus Hospital, Łódź

Progressive multifocal leucoencephalopathy (PML) is a rare disease of the central nervous system usually associated with the systemic impairment of cell-mediated immunity. In most cases it was described as accompanying malignant lymphomas, systemic cancer, immunosuppression therapy, renal transplantation and other severe systemic disorders (Richardson 1970; Walker 1978). In some cases PML was demonstrated to be a primary process without any underlying emaciating pathology (Fermaglich et al. 1970).

In the presented case PML-like lesions of an atypical character were concomitant with primary cerebral lymphoma, which is a relatively unusual situation in human pathology.

CASE REPORT

A 46-year old man was admitted to the Neurosurgical Department of the Copernicus Hospital in Łódź. He had 3-month-old disease history of progressive deterioration. Initial neurological examination revealed slight left sided muscle weakness with Babinski sign. Eye fundi examination showed papilledema and hemorrhages. Bilateral epileptiform discharges in fronto-temporo-parietal leads, mostly on the left side

* The paper was presented at the Symposium "Spongious Degeneration of the Nervous System and Neuroanatomy and Neuropathology of the Development and Aging", organized by Polish Neuropathological Society and German Society of Neuropathology and Neuroanatomy, held in Kraków, 17-20 September 1980.

were observed in EEG examination. After this, the right carotid angiography space occupying lesion in the right frontal lobe was diagnosed.

Surgical intervention was carried out and a 3 cm diameter tumor was removed. The following course was initially uncomplicated with only minimal left hemiparesis. Five days after operation, signs of meningitis appeared. CSF was under normal pressure, cells count ranged from 443 to 14 in 5 examinations and total protein level ranged between 134 and 33 mg/100 ml. In cytological examination lymphocytes predominated. The globulin tests were negative in all but the last examination.

The state of the patient was progressively deteriorating and he died one month after surgery with symptoms of circulatory and respiratory insufficiency.

Examination of the tissue specimen obtained during surgery revealed solid, highly cellular neoplasm characterised by diffuse growth. Cells were polymorphic with abundant cytoplasm and eccentrically placed nuclei (Fig. 1). Numerous vessels with thin walls were visible

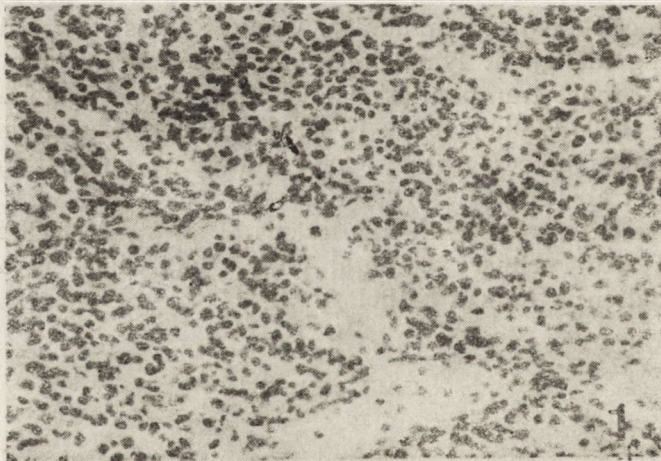


Fig. 1. The general morphological pattern of the neoplasm from right cerebral hemisphere. H + E. $\times 160$

Ryc. 1. Obraz mikroskopowy ogniska nowotworowego z prawej półkuli mózgu. H + E. Pow. 160 \times

in the tumor stroma. Perivascular edema was present. At the periphery of the neoplasm the tumor cells tended to form rings around blood vessels. Immunoperoxidase staining revealed numerous tumor cells containing plasma-cells immunoglobulins. The microglial reaction was abundant. Diagnosis of malignant lymphoma, probably lymphosarcoma lymphoplasmocytoides was made (Lennert 1978). At the

autopsy, the brain weighed 1500 g. Meninges were transparent without features of inflammatory process.

On the coronal section both in the left frontal lobe and in the vicinity of surgical cavity in the right hemisphere, rarefaction of tissue structure was seen (Fig. 2).

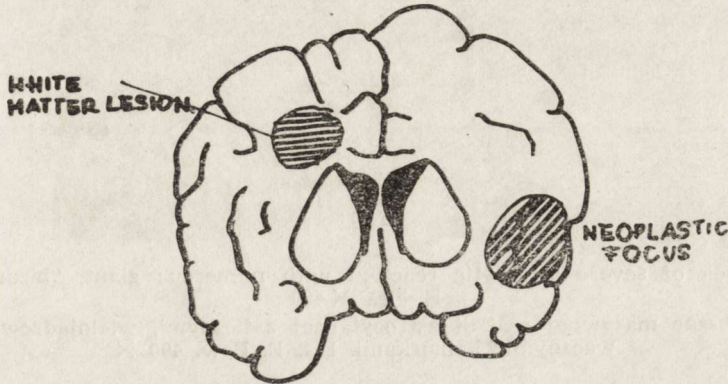


Fig. 2. The diagram presenting topography of the lesions
Ryc. 2. Diagram ilustrujący topografię zmian

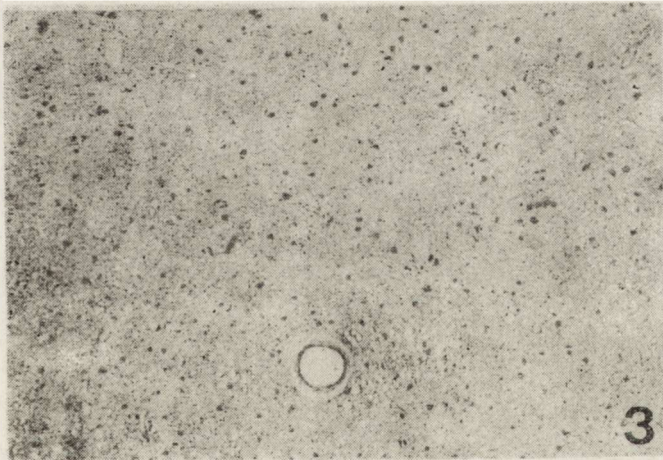


Fig. 3. Recent demyelination of the white matter with astrocytic reaction. H + E.
× 100

Ryc. 3. Świeża demielinizacja istoty białej z odczynem astrocytarnym. H + E.
× 100

Microscopic examination was confined to specimens from these two places. Histological pictures of the specimens obtained both from vicinity of surgical intervention and from the white matter of the opposite hemisphere was similar. Small, confluent foci of demyelination, sparing U-fibers (Fig. 3) and massive astrocytic reaction were seen (Fig. 4). Astrocytes here were either normal or reactive. Quite a larg-

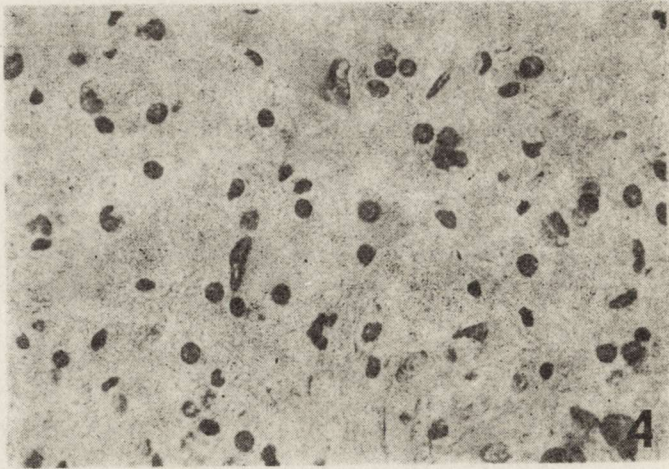


Fig. 4. Area of severe astrocytic reaction with numerous giant, "bizarre" cells.
H + E. $\times 400$

Ryc. 4. Obszar masywnej reakcji astrocytarnej z licznymi, wielojądrowymi „dziwacznymi” komórkami. H + E. Pow. 400 \times

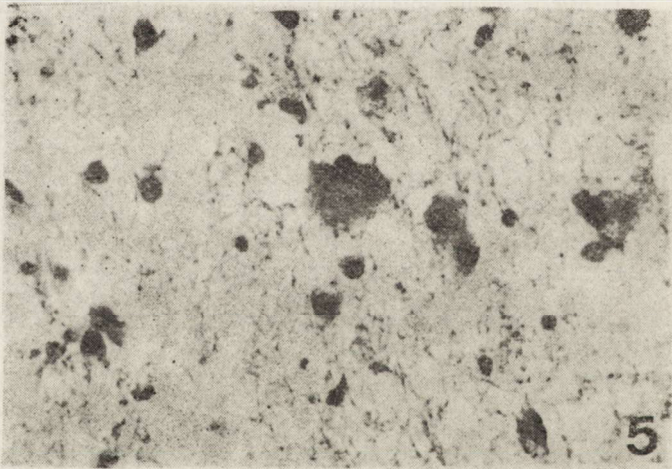


Fig. 5. An astrocyte with hyperchromatic nucleus and typical "bizarre" appearance. H + E. $\times 400$

Ryc. 5. Astrocyt z hiperchromatycznym jądrem o „dziwacznym” wyglądem.
H + E. Pow. 400

er proportion of them took the form of giant and multinucleated cells. The unusual, giant astrocytes (Figs 5, 6) were reminiscent of those occurring in glial tumors of astrocytic origin. The enlarged nuclei of oligodendrocytes were not present. Search for inclusion bodies was negative in all examined samples. In one specimen large, eosinophilic (hyaline-like) structures were found, which were reminiscent to a cer-

tain degree of Russel bodies deriving from plasma cells. Multiple foci of inflammatory reaction were observed with perivascular "cuffs" formation and diffuse infiltration of brain tissue (Fig. 7).

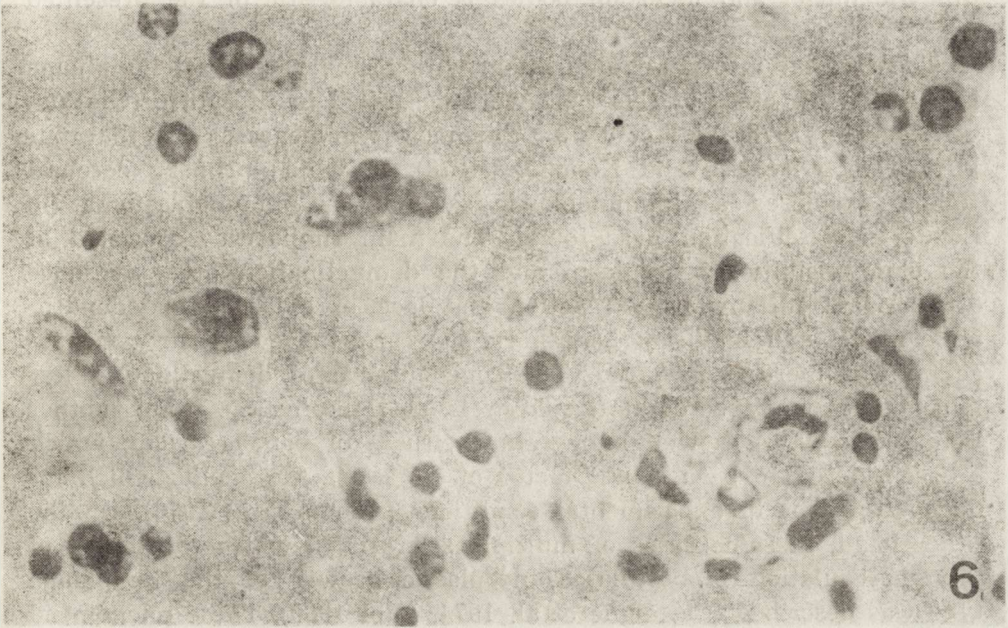


Fig. 6. Higher magnification of the „bizarre” giant astrocyte. H + E. $\times 1000$
Ryc. 6. Duże powiększenie „dziwacznej” komórki astrogleju. H—E. Pow. $1000 \times$

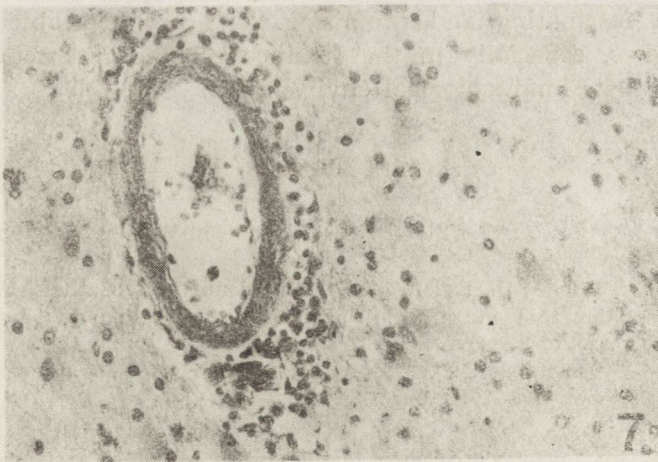


Fig. 7 The white matter lesion. Inflammatory perivascular infiltration and numerous hypertrophic astrocytes are present. H + E. $\times 400$

Ryc. 7. Ogniska uszkodzenia istoty białej. Naciek zapalny wokół naczynia i liczne przerosłe astrocyty. H + E. Pow. $400 \times$

DISCUSSION

On the basis of the above presented pathological findings the diagnosis of PML-like lesion was made. The lack of changes in oligodendrocytic nuclei and inclusion bodies is characteristic of the presented case.

The association of PML-like lesion with primary cerebral lymphoma is rare. A few cases of this type were described in literature (GiaRusso, Koeppen 1978; Walker 1978). The most similar case was that published by GiaRusso and Koeppen (1978), in which primary cerebral tumor, diagnosed as immunoblastic sarcoma or immunoblastoma (in Lennert's classification) was found. The main similarities consisted of the close vicinity of neoplasm and the demyelination area, presence of abundant inflammatory reaction and lack of enlarged oligodendrocytic nuclei and inclusion bodies. In our case, however, astrocytic reaction was more pronounced. The concomitance of demyelinating lesions and primary cerebral neoplasm is also interesting from another point of view. It is well known that viruses of papova group, which are considered to be a causal factor of PML are the agents which induce neoplasms in experimental conditions (Adams, Bell 1976). On the other hand, in some cases of multiple sclerosis in which the defect of immunoregulation is postulated, neoplastic growth of the lymphoma type was described (Castaigne et al. 1974, Lahl 1980). These phenomena may either represent a chance coincidence or result of a cumulative effect of common causal (or promotive) agent. It is obviously not possible to solve this problem, on the basis of the isolated observations. The idea that simultaneous appearance of neoplasm and demyelination is not coincidental, but results from impairment of immunoregulation seems both fascinating and promising. The problem obviously needs further studies, especially in the field concerning interaction between viruses and their immunological environment.

REFERENCES

1. Adams D. H., Bell T. M.: Slow viruses. Addison-Wesley. London, 1976, 105—114.
2. Castaigne P., Rondet P., Escourolle R., Ribadeau J. L., Cathala F., Hauw J. J.: Leucoencephalopathie multifocale progressive et "gliomes" multiples. *Rev. Neurol.*, 1974, 130, 379—392.
3. Fermaglich J., Hardman J. M., Earle K. M.: Spontaneous multifocal leucoencephalopathy. *Neurology* 1970, 20, 479—484.
4. GiaRusso M. H., Koeppen A. H.: Atypical progressive multifocal leucoencephalopathy and primary cerebral malignant lymphoma. *J. neurol. Sci.*, 1978, 35, 391—398.
5. Lahl R.: Combination of multiple sclerosis and cerebral glioblastoma. *Eur. Neurol.*, 1980, 19, 192—197.

6. Lennert K.: Malignant lymphomas other than Hodgkin's disease. Springer, New York 1978.
7. Mancall E. L.: Progressive multifocal leucoencephalopathy. *Neurology* 1965, 15, 693—699.
8. Richardson E. P.: Progressive multifocal leucoencephalopathy. In: *Handbook of Clinical Neurology*. Eds. P. J. Vinken, G. W. Bruyn, vol. 9. Multiple sclerosis and other demyelinating diseases. North Holland, Amsterdam 1970, 706.
9. Walker D. L.: Progressive multifocal leucoencephalopathy: an opportunistic viral infection of the central nervous system. In: *Handbook of Clinical Neurology*. Eds. P. J. Vinken, G. W. Bruyn, vol. 34. Infections of the nervous system. North Holland, Amsterdam 1970.

NIETYPOWA WIELOOGNISKOWA POSTĘPUJĄCA LEUKOENCEFALOPATIA W PRZYPADKU PIERWOTNEGO CHŁONIAKA MÓZGU

Streszczenie

Opisano przypadek współistnienia pierwotnego chłoniaka mózgu ze zmianami o charakterze postępującej wieloogniskowej leukoencefalopatii u 46 letniego mężczyzny.

Na podstawie badań histopatologicznych i immunopatologicznych nowotwór zaklasyfikowano do grupy *lymphosarcoma lymphoplasmocytoides* wg klasyfikacji Lennerta.

Badanie neuropatologiczne wykazało charakterystyczne zmiany w bezpośrednim pobliżu nowotworu oraz w przeciwległej półkuli. Składały się na nie ogniska demielinizacji z masywnym odczynem astrocytarnym. Szereg astrocytów wykazywało obecność wielu jąder i „monstrualny” wygląd. W całym dostępnym materiale nie udało się znaleźć ciał wtrętowych i wielkich jąder oligodendrocytów. Na podstawie powyższych danych rozpoznano atypową postępującą wieloogniskową leukoencefalopatię.

АТИПИЧЕСКАЯ ПРОГРЕССИРУЮЩАЯ МНОГООЧАГОВАЯ ЛЕЙКОЭНЦЕФАЛОПАТИЯ И ПЕРВИЧНАЯ МОЗГОВАЯ ЛИМФОМА

Резюме

Описан случай сосуществования первичной мозговой лимфомы с изменениями очаговой прогрессирующей лейкоэнцефалопатии у 46-летнего мужчины.

На основе гистопатологических и иммунопатологических исследований авторы классифицировали опухоль к группе *lymphosarcoma lymphoplasmocytoides* по классификации Леннерта.

Невропатологическое исследование проявило характерные изменения в непосредственной близости опухоли, а также в противоположном полушарии. Они состояли из очагов демиелинизации с массивной астроцитарной реакцией. Ряд астроцитов проявлял наличие многих ядер и „монструальный” вид. В целом доступном материале не удалось найти инклюзионных тел и больших ядер олигодендроцитов. На основе приведенных данных авторы распознали атипическую прогрессирующую многоочаговую лейкоэнцефалопатию.

Authors' address: Department of Oncology, School of Medicine, 4, Gagarina Str., 93—509 Łódź.

JOLANTA BOROWSKA-LEHMAN

LIMFOCYTY KRWI OBWODOWEJ I ICH SUBPOPULACJE W PIERWOTNYCH NOWOTWORACH ŚRÓDCZASZKOWYCH

(BADANIE PRZED I PO OPERACYJNYM USUNIĘCIU NOWOTWORU
W KORELACJI Z MIEJSCOWYM ODCZYNYM LIMFOCYTARNYM)
Zakład Anatomii Patologicznej Instytutu Patologii AM, Gdańsk

Od szeregu lat toczy się dyskusja dotycząca znaczenia miejscowych odczynów limfocytnych w procesach nowotworowych. Podobnie jak w przypadku nowotworów innych narządów, tak też i w guzach mózgu nacieki limfocytarne około- i śródnówotworowe wiąże się ze zjawiskami odporności (Takeuchi, Barnard 1976). Wysuwa się szereg koncepcji, dotyczących zarówno pochodzenia nacieków, jak i odgrywanej przez nie roli (MacIntyre i wsp. 1976; Borowska-Lehman 1978).

Wydaje się, że nowe elementy w dyskusji wnieść może skojarzenie obserwacji, dotyczących miejscowego odczynu limfocytnego, z badaniami zachowania się limfocytów. Limfocyty krążące stanowią niewielki odsetek (0,2% — Osgood 1954) ogólnej puli tkanki limfatycznej ustroju, jednakże dzięki ciągłej migracji pomiędzy narządami limfatycznymi, tkanką łączną i szpikiem kostnym umożliwiają szybkie rozprzestrzenianie w ustroju informacji typu antygen-przeciwciało (Yoffey 1964; Lee 1977).

Dla identyfikacji limfocytów krwi obwodowej i ich subpopulacji wykorzystuje się ich zdolność do tworzenia samoistnych lub immunologicznych rozet z erytrocytami barana. Przesunięcie w proporcjach i wartościach bezwzględnych krążących limfocytów T i B jest źródłem wiadomości o zaburzeniach układu odpornościowego, zarówno typu komórkowego, jak i humoralnego (Wybran, Fudenberg 1973, 1974).

Do charakteryzacji subpopulacji limfocytów krwi obwodowej służą coraz częściej testy rozetowe. Stosowano je również do oceny nieswoistej odczynowości komórkowej gospodarza w układowych procesach nowotworowych (Fudenberg i wsp. 1975; Kerman i wsp. 1976), w rakach, głównie płuc (Gross i wsp. 1975; Żółtowska i wsp. 1980) i sutka (Lee i wsp. 1977), a także w pierwotnych nowotworach śródczaszkowych (Brooks i wsp. 1976, 1977; Borowska-Lehman 1980).

Przedstawione w niniejszej pracy badania miały na celu:

- 1) ocenę limfocytów krwi obwodowej i ich subpopulacji u chorych obarczonych glejakami złośliwymi i niezłośliwymi oraz oponiakami;
- 2) ocenę wpływu operacyjnego usunięcia tych nowotworów na obraz limfocytów i ich subpopulacji w krwi obwodowej;
- 3) ocenę morfologiczną miejscowego odczynu limfocytnego w nowotworach śródczaszkowych w korelacji z obrazem limfocytów i ich subpopulacji we krwi obwodowej.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono u 30 chorych poddanych leczeniu operacyjnemu z powodu śródczaszkowego procesu nowotworowego, w Klinice Neurochirurgicznej w Gdańsku w latach 1977—1979. Materiał obejmował 16 kobiet i 14 mężczyzn, w wieku od 18 do 60 roku życia. W 11 przypadkach rozpoznano oponiaki (Mg), a w 19 glejaki (gwiazdziaki i skąpodrzewiaki izomorficzne, AOi, $n = 6$; gwiazdziaki polimorficzne, Ap, $n = 7$; glejaki wielopostaciowe, Gb, $n = 6$).

U wszystkich chorych przed zabiegiem operacyjnym wykonano arteriografię oraz badanie morfologiczne krwi wraz z rozmazem. Subpopulacje limfocytów krwi obwodowej: aRFC (active rosette forming cells), tRFC (total rosette forming cells), EAC (EAC-rosette forming cells) oceniano testem rozetowym. Dodatkowo wyliczono wartości dla limfocytów tzw. Null (nie-T, nie-B limfocyty). Oznaczenia dotyczyły zarówno wartości odsetkowych, jak i bezwzględnych. U 20 chorych, poza oznaczeniami przedoperacyjnymi wykonano dodatkowo powtórne badanie w dwa tygodnie po usunięciu nowotworu. Wszyscy chorzy, stanowiący obiekt badań, otrzymywali w czasie zabiegu operacyjnego transfuzję krwi. Żaden z nich, zarówno przed, jak i po operacji nie był leczony energią promienistą. Nie stosowano również chemioterapii. Grupę kontrolną stanowiło 25 osób zdrowych w wieku od 18 do 70 lat. Biopsyjny materiał operacyjny poddano badaniu histopatologicznemu w sposób opisany w poprzedniej pracy (Borowska-Lehman 1978). Ilościowe wyniki oznaczeń limfocytów krwi obwodowej i ich subpopulacji poddano analizie statystycznej, przy zastosowaniu testu *t* Studenta dla wartości odsetkowych i bezwzględnych (średnia arytmetyczna \pm odchylenie standardowe; wnioskowanie statystyczne przeprowadzono na poziomie istotności $p < 0,05$).

Testy rozetowe wykonano stosując zmodyfikowaną wersję metody Jondala i wsp. (1972). Jednojądrowe komórki izolowano z heparynizowanej krwi, stosując wirowanie w gradiencie Ficollu 400 i uropoliny w temp. 4°C w ciągu 15 minut przy 3.000 obrotów na minutę. Po odwirowaniu zebrane z interfazy komórki płukano 3-krotnie płynem

Hanksa, doprowadzając zawiesinę do końcowego stężenia $1 \times 10^7/\text{ml}$. Żywotność limfocytów sprawdzano 1% roztworem błękitu trypanu w temperaturze pokojowej.

Limfocyty T, tworzące „aktywne” rozety (test aRFC) oznaczano w sposób następujący: 0,2 ml zawiesiny limfocytów ($1 \times 10^7/\text{ml}$) w środowisku zinaktywowanej ciepłem surowicy ludzkiej AB (absorbowanej erytrocytami barana — sheep red blood cell — SRBC) mieszano z 0,2 ml SRBC, wirowano przez 5 minut przy 500 rpm, lekko wytrząsano, utrwalano w 0,2 ml 10% formaliny i odczytywano.

Limfocyty T, tworzące rozety po 2-godzinnej inkubacji (test tRTC), oznaczano następująco: 0,2 ml zawiesiny limfocytów ($1 \times 10^7/\text{ml}$) w środowisku zinaktywowanej ciepłem surowicy ludzkiej AB (absorbowanej SRBC), mieszano z 0,2 ml 2% SRBC, inkubowano 5 minut w temp. 37°C , po czym wirowano 5 minut przy 500 rpm, a następnie inkubowano ponownie przez 120 minut w temp. 4°C , lekko wytrząsając, utrwalano w 0,2 ml 10% formaliny i przeprowadzano odczyt.

Komórki jednojądrzaste tworzące rozety EAC (test EAC — RFC) 0,2 ml zawiesiny limfocytów ($1 \times 10^7/\text{ml}$) w środowisku zinaktywowanej ciepłem surowicy ludzkiej AB (absorbowanej SRBC) mieszano z 0,2 ml SRBC, uczulonymi poliwalentną globuliną króliczą SRBC i dopełniaczem świnki morskiej. Mieszaninę inkubowano 30 minut w temp. 37°C , wirowano przy 500 rpm, lekko wytrząsano, utrwalano w 0,2 ml 10% formaliny i odczytywano.

Procent tzw. limfocytów Null uzyskiwano po odjęciu od 100 sumy tRFC i EAC.

W każdym przypadku liczono 200—300 limfocytów. Za rozetkę uznawano limfocyty wiążące więcej niż 3 erytrocyty barana. Dla obliczenia bezwzględnej liczby tworzących się rozet posługiwano się wzorem:

$$\frac{\text{leukocytoza} \times \% \text{ limfocytów}}{100} = \text{bezwzględna liczba limfocytów}$$

WYNIKI

Limfocyty krwi obwodowej i ich subpopulacje przed zabiegiem operacyjnym

Limfocyty krwi obwodowej. Wykazano statystycznie znamienne spadki wartości odsetkowych u wszystkich badanych chorych. Zjawisko to było szczególnie wyraźne w glejakach złośliwych. W gwiaździstkach złośliwych i glejakach wielopostaciowych sytuacja przedstawiała się podobnie w przypadku wartości bezwzględnych. Natomiast w oponiakach i glejakach niezłośliwych nie stwierdzono znamienych różnic (tab. 1).

Tabela 1. Limfocyty krwi obwodowej i ich subpopulacje w pierwotnych nowotworach śródczaszkowych

Table 1. Lymphocytes in the circulating blood and their subpopulations in primary intracranial tumors

Populacja komórkowa			Wartość średnia i odchylenie standardowe $x \pm s$		Poziom istotności $p < 0,05$ porównanie z kontrolą	
Grupa	n	wartość procentowa	wartość bezwzględna	wartość procentowa	wartość bezwzględna	
Cell population	Group	n	Mean and standard deviation $x \pm s$		Level of significance $p < 0.05$ comparison with the control	
			percent value	absolute value	percent value	absolute value
Limfocyty	K	25	40 ± 9,8	2861 ± 1158		
	Mg	11	30,1 ± 12,2	2820 ± 1655	0,001	sn
	AOi	6	26,7 ± 16,7	2429 ± 1462	0,02	sn
Lymphocytes	Ap	7	16,1 ± 9,8	1742 ± 1214	0,001	0,005
	Gb	6	15,5 ± 8,1	2106 ± 1611	0,001	0,05
aRFC	K	25	22,9 ± 8,5	675 ± 402		
	Mg	11	17,8 ± 10,7	408 ± 345	0,01	0,001
	AOi	6	13,2 ± 11,9	336 ± 486	0,02	0,02
	Ap	7	16,9 ± 10,6	290 ± 279	0,05	0,001
	Gb	6	16,2 ± 8,2	346 ± 387	0,02	0,01
tRFC	K	25	64,2 ± 9,6	1845 ± 770		
	Mg	11	38,7 ± 12,4	1044 ± 777	0,001	0,001
	AOi	6	42,8 ± 17,2	997 ± 687	0,002	0,002
	Ap	7	33,4 ± 14,4	598 ± 637	0,001	0,001
	Gb	6	30,7 ± 16,9	708 ± 697	0,001	0,001
EAC	K	25	30,4 ± 7,6	887 ± 418		
	Mg	11	42 ± 14,4	1024 ± 599	0,001	sn
	AOi	6	41,3 ± 9,8	1127 ± 835	0,005	sn
	Ap	7	46 ± 13,9	848 ± 713	0,002	sn
	Gb	6	51,3 ± 11,6	1056 ± 824	0,001	sn
Null	K	25	5,8 ± 5,8	173 ± 175		
	Mg	11	20,1 ± 18	608 ± 764	0,001	0,01
	AOi	6	15,8 ± 14,8	493 ± 658	0,05	sn
	Ap	7	23,7 ± 20,9	343 ± 359	0,005	0,05
	Gb	6	18,2 ± 22,4	347 ± 355	0,05	sn

K — kontrola

Mg — oponiak

AOi — gwiaździatek lub skąpodrzewiak izomorficzny
isomorphous astrocytoma or oligodendroglioma

Ap — gwiaździatek polimorficzny
polymorphous astrocytoma

Gb — glejak wielopostaciowy
multiform glioblastoma

n — liczba przypadków
number of cases...

$x \pm s$ — wartość średnia ± odchylenie standardowe
mean value ± standard deviation

p — prawdopodobieństwo
probability

sn — statystycznie nieznamienne.
statistically nonsignificant

Subpopulacje limfocytów krwi obwodowej. Limfocyty T, tworzące zarówno rozety „aktywne” jak i po 2 godzinach inkubacji (aRFC i tRFC) wykazały statystycznie znamienny spadek we wszystkich nowotworach śródczaszkowych, zarówno dla wartości odsetkowych, jak i bezwzględnych.

Komórki jednojądrzaste tworzące rozety EAC wykazywały w nowotworach niezłośliwych wartości bezwzględne podobne do obserwowanych w grupie kontrolnej, natomiast ujawniono statystycznie znamienny wzrost wartości odsetkowych tworzących się rozet we wszystkich nowotworach śródczaszkowych, zwłaszcza złośliwych. Tak zwane limfocyty Null wykazywały statystycznie znamienny wzrost dla wartości odsetkowych we wszystkich nowotworach śródczaszkowych, a dla wartości bezwzględnych w oponiakach i gwiaździakach złośliwych.

Limfocyty krwi obwodowej i ich subpopulacje po zabiegu operacyjnym

Wpływ operacyjnego usunięcia guza na limfocyty krwi obwodowej prześledzono w 10 nowotworach niezłośliwych i 10 nowotworach złośliwych (tab. 2, 3). Porównano dane uzyskane z badań wykonanych w 2 tygodnie po operacji (grupa B) z wartościami uzyskanymi przed operacją (grupa A) i z grupą kontrolną (K).

Limfocyty krwi obwodowej. Zestawiając wyniki badań limfocytów krwi obwodowej po zabiegu operacyjnym z danymi uzyskanymi przed zabiegiem, nie stwierdzono statystycznie znamiennych różnic w ich odsetkowych, jak i bezwzględnych wartościach w niezłośliwych nowotworach śródczaszkowych. W glejakach złośliwych nastąpił natomiast statystycznie znamienny wzrost obu tych wartości.

W zakresie subpopulacji limfocytów T po zabiegu operacyjnym ujawniono statystycznie znamienny ich wzrost, zarówno w puli rozet aktywnych, jak i tworzonych po 2 godzinach inkubacji, w stosunku do stanu przed operacją w glejakach złośliwych. Różnic takich nie wykazano w łagodnych nowotworach śródczaszkowych. Ta subpopulacja limfocytów była jednak znamienne niższa, niż w kontroli.

Subpopulacja mononuklearów tworzących rozetki EAC, z wyjątkiem wzrostu bezwzględnej liczby w glejakach wielopostaciowych po zabiegu, a w odsetkach ponadto w oponiakach, nie wykazała większych różnic w porównaniu z grupą kontrolną.

Tak zwane limfocyty Null wykazywały po operacji znamienny spadek dla wartości odsetkowych w gwiaździakach polimorficznych, nadal jednak odsetek w nowotworach niezłośliwych i gwiaździakach polimorficznych był wyższy niż w kontroli.

Tabela 2. Limfocyty krwi obwodowej i ich subpopulacje w pierwotnych nowotworach śród-czaszkowych przed operacją i 2 tygodnie po operacyjnym usunięciu guza (w liczbach bez-względnych)

Table 2. Lymphocytes in the circulating blood and their subpopulations in the primary intracranial tumors before and 2 weeks after surgical procedure (absolute values)

Populacja komórkowa Cell population	Grupa Group	n	Wartość średnia i odchylenie standardowe ($\bar{x} \pm s$) Mean value and standard deviation ($\bar{x} \pm s$)		Poziom istotności Significance level $p < 0,05$ porównanie comparison	
			Grupa A Group A	Grupa B Group B	B z A B to A	B z K B to K
Limfocyty Lymphocytes	K	25	2861 ± 1158			
	Mg	6	2413 ± 1793	2795 ± 1823	s.n.	s.n.
	AOi	4	2610 ± 1831	2726 ± 1108	s.n.	s.n.
	Ap	6	1346 ± 756	2628 ± 1667	0.02	s.n.
aRFC	Gb	4	1262 ± 722	2449 ± 337	0.002	0.05
	K	25	675 ± 402			
	Mg	6	398 ± 402	516 ± 582	s.n.	s.n.
	AOi	4	462 ± 568	300 ± 461	s.n.	0.05
	Ap	6	197 ± 147	467 ± 315	0.01	0.05
tRFC	Gb	4	160 ± 121	440 ± 262	0.05	0.05
	K	25	1845 ± 770			
	Mg	6	872 ± 532	1135 ± 1049	s.n.	0.05
	AOi	4	1023 ± 795	1137 ± 548	s.n.	0.02
	Ap	6	363 ± 150	1111 ± 1142	0.05	0.05
EAC	Gb	4	334 ± 415	1247 ± 294	0.02	0.05
	K	25	887 ± 418			
	Mg	6	902 ± 694	1018 ± 764	s.n.	s.n.
	AOi	4	1313 ± 1011	1078 ± 418	s.n.	s.n.
	Ap	6	607 ± 352	667 ± 559	s.n.	s.n.
Null	Gb	4	487 ± 427	836 ± 332	0.05	s.n.
	K	25	173 ± 175			
	Mg	6	664 ± 1005	630 ± 672	s.n.	0.05
	AOi	4	534 ± 844	510 ± 593	s.n.	s.n.
	Ap	6	401 ± 357	361 ± 453	s.n.	s.n.
	Gb	4	327 ± 380	505 ± 491	s.n.	s.n.

Grupa A — przed operacją
Group before operation

Grupa B — 2 tygodnie po operacji
Group 2 weeks after operation

Pozostałe skróty jak w tabeli 1
Other abbreviations as in table 1

Tabela 3. Limfocyty krwi obwodowej i ich subpopulacje w pierwotnych nowotworach śródczaszkowych przed operacją i 2 tygodnie po operacyjnym usunięciu guza (w odsetkach)
Table 3. Lymphocytes in the circulating blood and their subpopulations in the intracranial tumors before and 2 weeks after surgical procedure (percent values)

Populacja komórkowa Cell population	Grupa Group	n	Wartość średnia i odchylenie standardowe (x±s) Mean value and standard deviation (x±s)		Poziom istotności Significance level p < 0,05 porównanie comparison	
			Grupa A Group	Grupa B Group	B z A B to A	B z K B to K
limfocyty lymphocytes	K	25	40 ± 9.8			
	Mg	6	25.8±13.8	29.8±18.6	s.n.	0.05
	AOi	4	26.7±21.6	28.8±14	s.n.	0.05
	Ap	6	13.8± 8.4	33 ±17.5	0.01	s.n.
	Gb	4	12.8± 7.9	27.8± 7.6	0.01	0.01
aRFC	K	25	22 ± 8.5			
	Mg	6	18 ± 8.4	16.2± 9.1	s.n.	0.05
	AOi	4	17.5±12	19.7±10.2	s.n.	s.n.
	Ap	6	16.2±11.4	23 ±12.3	s.n.	s.n.
	Gb	4	13 ±10.2	15.2±13.6	s.n.	s.n.
tRFC	K	25	64 ± 9.6			
	Mg	6	38.8±11.3	37.5±13.7	s.n.	0.001
	AOi	4	43.3±18.6	41.3± 7.3	s.n.	0.01
	Ap	6	30.7±13.6	42.8±17.8	0.05	0.01
	Gb	4	26.3±19.7	45 ±12.4	0.01	0.01
EAC	K	25	30.4± 7.6			
	Mg	6	41.5±18.2	37 ± 7.1	0.05	0.01
	AOi	4	43.3± 9.3	42 ±11.6	s.n.	0.05
	Ap	6	44.2±12.3	46.2±13.3	s.n.	0.01
	Gb	4	51 ±14.9	35.5±16.4	0.05	s.n.
Null	K	25	5.8± 5.8			
	Mg	6	20.1±19.7	25.3±19.7	s.n.	0.01
	AOi	4	13.5±17.9	16.8±17.2	s.n.	0.02
	Ap	6	27.7±19.8	13.7±11	0.01	0.02
	Gb	4	23 ±26.9	19.5±18	s.n.	s.n.

Grupa A — przed operacją
Group before operation

Grupa B — 2 tygodnie po operacji
Group 2 weeks after operation

Pozostałe skróty jak w tabeli 1
Other abbreviations as in table 1

Nacieki limfocytarne w materiale biopsyjnym guzów mózgu

Miejscowe nacieki limfocytarne stwierdzono jedynie w złośliwych glejakiach. W grupie glejaków złośliwych (n — 12) w 4 przypadkach stwierdzono obfite nacieki limfocytarne (grupa I), a w 8 przypadkach nacieki te nie występowały (grupa II).

Współzależność występowania miejscowych nacieków w glejakiach złośliwych z wartościami limfocytów krwi obwodowej i ich subpopulacji

W obydwu grupach glejaków złośliwych (z miejscowymi naciekami limfocytarnymi i bez) przeprowadzono korelację wartości limfocytów krwi obwodowej i ich subpopulacji w stosunku do wartości kontrolnych, porównano stan przedoperacyjny z pooperacyjnym, a także skorelowano wartości pooperacyjne między obiema grupami (tab. 4, 5).

Korelacje te pozwoliły na wykazanie, że wartości limfocytów krwi obwodowej i ich subpopulacji T były niższe u chorych z glejakami złośliwymi bez miejscowych nacieków limfocytarnych, niż u chorych, u których guzy wykazywały obfite nacieki. Różnice te były statystycznie znamienne. Po usunięciu nowotworu u chorych, których nowotwory nie wykazywały obecności nacieków limfocytarnych obserwowano

Tabela 4. Limfocyty krwi obwodowej i ich subpopulacje w korelacji z miejscowymi naciekami limfocytarnymi w glejakiach złośliwych: wartości procentowe (A) i bezwzględne (B)

Table 4. Lymphocytes and their subpopulations in circulating blood as correlated with local lymphocytic infiltrates in malignant gliomas: percent (A) and absolute values (B)

Populacja Population		Wartości średnie i odchylenie standardowe $\bar{x} \pm s$ Mean values and standard deviation				
		przed operacją before operation			po operacji after operation	
		kontrola control n = 25	grupa I group n = 4	grupa II group n = 8	grupa I group n = 2	grupa II group n = 7
wartości odsetkowe percent values	limfocyty lymphocytes aRFC tRFC EAC Null	4040 ± 9,8 22 ± 8,5 64 ± 9,6 30,4 ± 7,6 5,8 ± 5,8	21,3 ± 8 15 ± 5,5 37,5 ± 10,9 46,5 ± 7,3 16,3 ± 16,5	13,8 ± 8,8 18,5 ± 10,6 31,5 ± 16,7 49,3 ± 15,8 22 ± 24,3	25,5 ± 4,9 26,5 ± 9,2 32 ± 7 37,5 ± 27,6 30,5 ± 20,5	34,9 ± 14,7 20 ± 13,5 47,9 ± 16,2 43 ± 13,9 11,4 ± 10,6
wartości bezwzględne absolute values	limfocyty lymphocytes aRFC tRFC EAC Null	2861 ± 1158 675 ± 402 1845 ± 770 887 ± 418 173 ± 175	2960 ± 1378 489 ± 410 1096 ± 529 1407 ± 768 461 ± 408	1347 ± 1166 250 ± 277 464 ± 643 698 ± 703 240 ± 229	2103 ± 759 523 ± 8 700 ± 393 684 ± 296 719 ± 663	2967 ± 1362 467 ± 331 1394 ± 950 972 ± 243 361 ± 432

Objaśnienie, jak na Tabeli 5

Tabela 5. Zależność limfocytów krwi obwodowej i ich subpopulacji od obecności nacieków limfocytarnych lub ich braku w glejakach złośliwych przed i po operacji (w odsetkach i liczbach bezwzględnych) poziom istotności $p < 0,05$

Table 5. Relationship between lymphocytes and their subpopulations in the circulating blood before and after surgical procedure and presence or absence of local lymphocytic infiltrates in the malignant gliomas (in percent and absolute values) significance level $p < 0,05$

Populacje komórkowe		Porównanie z kontrolą przed operacją		Porównanie stanu pooperacyjnego z przedoperacyjnym		Porównanie po operacji
Cell population		grupa I	grupa II	grupa I	grupa II	grupy I z grupą II
		Comparison with control before operation		Comparison of pre- and postoperative state		Comparison of postoperative state between group I and II
		group I	group II	group I	group II	
wartości odsetkowe percent values	limfocyty lymphocytes	0,01	0,001	sn	0,001	sn
	aRFC	0,01	sn	sn	sn	sn
	tRFC	0,01	0,001	sn	0,01	sn
	EAC	0,01	0,001	sn	sn	sn
	Null	sn	0,01	sn	0,01	sn
wartości bezwzględne absolute values	limfocyty lymphocytes	sn	0,001	sn	0,01	sn
	aRFC	sn	0,001	sn	0,02	0,05
	tRFC	0,02	0,001	sn	0,01	sn
	EAC	sn	sn	sn	0,01	sn
	Null	sn	sn	sn	sn	sn

Grupa I — glejaki z miejscowymi naciekami limfocytarnymi
Group gliomas with local lymphocytic infiltrations

Grupa II — glejaki bez miejscowych nacieków limfocytarnych
Group gliomas without lymphocytic infiltrations

Pozostałe skróty jak w tabeli 1
Other abbreviations as in table 1

statystycznie znamiennej wartości limfocytów krwi obwodowej i ich subpopulacji T. Porównanie wartości pooperacyjnych między obydwoma grupami pozwoliło na stwierdzenie, że tylko u tych chorych, których nowotwory zawierały obfite nacieki limfocytarne, wzrastała populacja limfocytów T, tworzących aktywne rozety ($p < 0,05$).

OMÓWIENIE

Badanie limfocytów krwi obwodowej i ich subpopulacji określanych testem rozetowym stwarza możliwości oceny stanu immunologicznego chorego. Test rozetowy charakteryzujący subpopulację grasiczozależnych komórek T nazwano początkowo testem E-RFC (Jondal i wsp. 1972). Wprowadzenie różnych czasów inkubacji, przy wykonaniu tego

testu pozwala na ilościową charakterystykę limfocytów T o różnym stopniu immunologicznego zaangażowania. Test z krótkim okresem inkubacji, nazwany testem aRFC (aktywny, czynny lub bezpośredni — Fudenberg i wsp. 1975), stanowi sprawdzian kompetencji limfocytów i jest bardziej czuły dla charakterystyki odpowiedzi komórkowej, niż ma to miejsce w teście wykazującym całkowitą populację limfocytów T, tworzących rozetę E po długim okresie inkubacji (test tRFC).

Natomiast grasiczniezależne limfocyty B, biorące udział w odporności humoralnej oznacza się m.in. wykonując test immunologiczny na rozetę EAC (erytrocyt uczulony przeciwciałem z dodatkowym wiązaniem za pośrednictwem receptora dla trzeciego składnika dopełniacza, Drozd 1976). Istnieją ponadto limfocyty nie posiadające markerów ani dla komórek T, ani dla komórek B. Są to tzw. komórki Null. Rola ich jest niejasna. Prawdopodobnie reprezentują pulę niezaangażowanych limfocytów rezerwowych (Rand i wsp. 1978). Wyniki badań wskazują, że ich wzrost, podobnie jak limfocytów B, jest raczej niekorzystnym objawem rokowniczym (Żółtowska i wsp. 1980).

Warunki wykorzystania badania limfocytów krwi obwodowej i ich subpopulacji przy użyciu testu rozetowego dla oceny stanu immunologicznego chorego, są w przypadku pierwotnych nowotworów śródczaszkowych na ogół korzystniejsze niż w nowotworach innych narządów. Glejaki mózgu można prawie zawsze traktować jako pojedyncze nowotwory pierwotne. Wielogniskowe nowotwory śródczaszkowe występują wyjątkowo (Borowska-Lehman i wsp. 1970). Niezmiernie rzadko pierwotne nowotwory śródczaszkowe dają przerzuty poza ośrodkowy układ nerwowy (Jellinger, Schuster 1977), a zupełnie sporadycznie współistnieją one z pierwotnymi nowotworami innych narządów (Borowska-Lehman 1978). W tej sytuacji ograniczenie zaburzeń odpornościowych lub ich cofnięcie się po doszczętnym usunięciu guza śródczaszkowego, można wiązać ze zlikwidowaniem ich czynnika przyczynowego. Należy jednak liczyć się z faktem, iż umiejscowienie większości glejaków ogranicza lub wręcz uniemożliwia całkowite usunięcie masy guza. Zabieg operacyjny w tych razach prowadzi jedynie do zmniejszenia ogólnej puli komórek nowotworowych. Ten właśnie czynnik musi być każdorazowo uwzględniany w interpretacji wyników badań limfocytów i ich subpopulacji.

Analiza wyników własnych badań wskazuje na zbieżność spostrzeżeń, dotyczących okresu przedoperacyjnego, z obserwacjami innych badaczy. Brooks i wsp. (1976) stwierdzili znamienne obniżenie rozet E dla limfocytów grasiczozależnych krwi obwodowej, w wartościach względnych w glejakach złośliwych. W dalszych badaniach (Brooks i wsp. 1977) wykazali oni również znamienny spadek wartości bezwzględnych limfocytów krwi obwodowej w glejakach złośliwych i niezłośliwych, oraz obniżenie wartości względnych i bezwzględnych limfocytów T

tworzących rozety E. Jednocześnie stwierdzili wzrost wartości odsetkowych limfocytów grasiczniezależnych badanych testem EAC — RFC.

W badaniach własnych wykazano, że we wszystkich nowotworach śródczaszkowych przed operacją występowała znamienna dla wartości odsetkowych limfopenia. Zjawisko to w wartościach bezwzględnych występowało tylko w glejakach złośliwych. We wszystkich badanych nowotworach (dla wartości względnych i bezwzględnych) stwierdzono obniżenie obu subpopulacji krążących limfocytów T (badanych testem aRFC i tRFC). Również we wszystkich nowotworach śródczaszkowych stwierdzono statystycznie znamienny wzrost limfocytów grasiczniezależnych (tylko dla wartości procentowych) oraz tzw. komórek Null.

Szczególnie istotne znaczenie mają, dotąd nie badane w nowotworach śródczaszkowych, zmiany w stanie aktywnych subpopulacji komórek T, uważane za najczulszy wykładnik odpowiedzi komórkowej. Aktywne limfocyty T wykazują większą immunokompetencję niż całkowita grasiczozależna subpopulacja. O przydatności ich badania dla oceny zmian stanu immunologicznego ustroju świadczą takie fakty, jak znamienny spadek aktywnych komórek T już wówczas, gdy pierwotne ognisko raka ma niewielkie rozmiary, dalszy ich spadek w momencie wystąpienia przerzutów, a także jego pojawienie się z kilkumiesięcznym nawet wyprzedzeniem w przypadku przerzutów czy wznowy nowotworu (Wybran, Fudenberg 1974; Fudenberg i wsp. 1975; Kerman i wsp. 1976).

Pełniejszy wgląd w stan immunologiczny chorego i możliwość oceny dynamiki procesu stwarza porównawcze badanie limfocytów krwi obwodowej i ich subpopulacji wykonane przed i po operacyjnym usunięciu nowotworu, po raz pierwszy przeprowadzone na własnym materiale nowotworów śródczaszkowych. Interpretacja uzyskanych wyników napotyka tu jednak na szereg trudności. Należy bowiem uwzględnić możliwość interferencji licznych czynników dodatkowych, takich jak radykalność zabiegu, wpływ urazu operacyjnego (przejściowy i raczej krótkotrwały) i powikłań pooperacyjnych (Cybulski i wsp. 1975; Steffen 1975), jak również stosowanie leków przeciwobrzękowych i przetaczania krwi (Schechter i wsp. 1972). Na eliminację ich roli pozwalają, z pewnymi zastrzeżeniami, spostrzeżenia dotyczące grupy chorych z niezłośliwymi nowotworami śródczaszkowymi (opioniaki). W grupie tej nie stwierdzono bowiem znamiennych statystycznie różnic w obrazie limfocytów krwi obwodowej i całkowitej subpopulacji limfocytów T, przy porównaniu stanu pooperacyjnego z przedoperacyjnym.

Porównanie danych z testów rozetowych po operacji z danymi sprzed operacji w glejakach złośliwych wskazuje na korzystny wpływ zabiegu operacyjnego, (całkowitego czy choćby częściowego usunięcia nowotworu) na kształtowanie się odpowiedzi immunologicznej chorego.

Poprawę stanu immunologicznego badanego testem rozetowym po usunięciu nowotworu stwierdzono przede wszystkim w glejakach złośliwych. Wyrażała się ona znamienym wzrostem subpopulacji limfocytów T (zarówno aktywnej jak i całkowitej puli krążących komórek) oraz spadkiem limfocytów B badanych testem EAC, i limfocytów Null. Nigdy jednak nie stwierdzono statystycznie znamienego powrotu do wartości kontrolnych.

Przyczyny spadku liczby krążących limfocytów grasiczozależnych u nosicieli nowotworów upatruje się między innymi w ich ograniczonej zdolności do odnowy i/lub wybiórczego wychwytywania limfocytów T przez nowotwór (Steffen 1975). Wyniki badań własnych stanowią poparcie dla tej koncepcji interpretacyjnej. W grupie glejaków złośliwych z obfitymi miejscowymi naciekami limfocytarnymi w nowotworze, przed operacją stwierdzono statystycznie znamieny procentowy spadek krążących aktywnych limfocytów grasiczozależnych. W grupie glejaków złośliwych bez miejscowych nacieków limfocytarnych brak było statystycznie znamienych zmian w odsetkach aktywnych limfocytów T. Natomiast, wyrażony w liczbach względnych i bezwzględnych, spadek całkowitej subpopulacji komórek T był znamienne niższy, niż w glejakach złośliwych z obfitymi miejscowymi naciekami. Można więc wnosić, że spadek odsetkowy krążących limfocytów T jest następstwem gromadzenia się ich w postaci miejscowych obfitych nacieków okołoiśródnowotworowych. Jest to jednak spadek pozorny, ponieważ tylko część limfocytów grasiczozależnych została zaangażowana w miejscowej reakcji odpornościowej gospodarza na nowotwór, a całkowita ich liczba była znacznie wyższa, niż w glejakach złośliwych bez nacieków. Po usunięciu nowotworu, już w krótkim czasie po operacji wartości aktywnych limfocytów T znacznie wzrosły. Drogą wykluczenia, potwierdzając wysunięte uprzednio sugestie (Borowska-Lehman 1978), można na podstawie obecnych spostrzeżeń przyjąć, że miejscowe nacieki limfocytarne są utworzone z komórek grasiczozależnych, najprawdopodobniej z aktywnych limfocytów T, oraz że zjawisko to jest przejawem lepszego stanu odpornościowego gospodarza.

Specjalną rolę limfocytów T podkreśla się również w immunologii transplantacyjnej. Znamienny spadek odsetkowych wartości limfocytów T, badanych testem aRFC, koreluje z odrzuceniem przeszczepu (transplantatu nerki) u biorcy (Kerman, Geis 1976). Bardzo sugestywne wydają się analogie pomiędzy spadkiem odsetka aktywnych limfocytów T w odrzucaniu przeszczepu, a podobnym obrazem krążących limfocytów u chorych obarczonych złośliwymi glejakami, z miejscowymi, obfitymi naciekami limfocytarnymi. Potwierdzają one bezpośredni związek pomiędzy odsetkiem aktywnych limfocytów T, a stanem immunologicznym chorych i dalszą prognozą. Sugerują one również funkcjonalną odrębność aktywnych limfocytów T (Traycoff i wsp. 1979).

WNIOSKI

1) Chorzy obarczeni pierwotnymi nowotworami śródczaszkowymi (szczególnie glejakami złośliwymi), u których brak miejscowych obfitych nacieków limfocytarnych, wykazują statystycznie znamienne limfopenię, obniżenie wartości limfocytów T, tworzących rozety aktywne i po 2 godz. inkubacji oraz wzrost subpopulacji limfocytów B i komórek Null w wartościach odsetkowych. Dla wartości bezwzględnych wykazują istotne obniżenie limfocytów tworzących rozety aktywne i po 2 godz. inkubacji.

2) We wczesnym okresie pooperacyjnym, po usunięciu glejaków złośliwych, następuje statystycznie znamienny wzrost wartości odsetkowej i bezwzględnej limfocytów krwi obwodowej i ich subpopulacji T, tworzącej rozety po 2 godz. inkubacji, a w szczególnych przypadkach również rozety aktywne (tam gdzie były obfite miejscowe nacieki limfocytarne).

PIŚMIENNICTWO

1. Borowska-Lehman J., Imieliński L., Jeliński M.: Z zagadnień pierwotnie wielogniskowych glejaków mózgu. *Neuropat. Pol.* 1970, 8, 79—85.
2. Borowska-Lehman J.: Lympho-plasmocytic reaction in brain tumors. W: *Proc. Int. Neuropath. Symp. on Brain Tumors and Chemical injuries to the Central Nervous System.* Red. M. J. Mossakowski, Polish Medical Publishers, Warszawa 1978, 82—90.
3. Borowska-Lehman J.: Glioblastomas coexistent with other malignant extracranial neoplasms. W: *Proc. Int. Neuropath. Symp. on Brain Tumors and Chemical injuries to the Central Nervous System.* Red. M. J. Mossakowski. Polish Medical Publishers, Warszawa 1978, 125—129.
4. Borowska-Lehman J.: Niektóre aspekty odczynowości komórkowej w nowotworach śródczaszkowych (streszcz. pr. habil.) *Pol. Tyg. Lek.* 1980, 35, 177—179.
5. Brooks W. H., Roszman T. L., Rogers A. S.: Impairment of rosette-forming T lymphocytes in patients with primary intracranial tumors. *Cancer*, 1976, 37, 1869—1873.
6. Brooks W. H., Roszman T. L., Mahaley M. S., Woosley R. E.: Immunobiology of primary intracranial tumors. II. Analysis of lymphocyte subpopulations in patients with primary brain tumors. *Clin exp. Immunol.* 1977, 29, 61—68.
7. Cybulski L., Turowski G., Zubel M.: Badanie nad zachowaniem się limfocytów w bezpośrednim limfocytotoksycznym teście (BLT) u chorych chirurgicznych. *Pol. Przegl. Chir.* 1975, 47, 337—344.
8. Drozd C.: Udział limfocytów B w tworzeniu rozetek. *Pol. Tyg. Lek.*, 1976, 21, 999—1003.
9. Fudenberg H. H., Wybran J., Robbins D.: T-rosette-forming cells, cellular immunity and cancer. *N. Engl. J. Med.* 1975, 292, 475—476.
10. Gross R. L., Latty A., Williams E. A., Newberne P. M.: Abnormal spontaneous rosette formation and rosette inhibition in lung carcinoma. *New. Engl. J. Med.* 1975, 292, 439—443.
11. Jondal M., Holm G., Wigzell H.: Surface markers on human T and B lymphocytes. *J. exp. Med.* 1972, 136, 207—215.

12. Jellinger K., Schuster H.: Extraneurale Metastasierung anaplastischer Gliome. Zbl. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 1977, 121, 526—534.
13. Kerman R. H., Smith R., Stefani S. S., Ezdinlin E. Z.: Active T-rosette forming cells in the peripheral blood of cancer patients. *Canc. Res.*, 1976, 36, 3274—3278.
14. Kerman R. H., Geis W. P.: Total and active T cell dynamics in renal allograft recipients. *Surgery* 1976, 79, 398—407.
15. Lee Y.-T. N.: Peripheral lymphocyte count and subpopulations of T and B lymphocytes in benign and malignant diseases. *Surg. Gynecol. Obst.*, 1977, 144, 435—450.
16. Lee Y.-T. N., Marshall G. J., Weiner J., Bateman J. R.: Peripheral B- and T-lymphocyte counts in patients with sarcoma and breast carcinoma. *Cancer* 1977, 40, 667—671.
17. MacIntyre E. H., Lindgren A., Pontén J.: Some characteristics of lymphoblastoid lines derived from human astrocytomata. *Acta path. microbiol. scand. Sect. A.*, 1976, 84, 79—84.
18. Osgood E. E.: Number and distribution of human hematic cells. *Blood. J. Hematol.*, 1954, 9, 1141—1154.
19. Rand R. J., Jenkins D. M., Bulmer R.: T- and B-lymphocyte subpopulation following radiotherapy for invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Clin. exp. Immunol.*, 1978, 33, 159—165.
20. Schechter G. P., Soehnen F., McFarland W.: Lymphocyte response to blood transfusion in man. *N. Engl. J. Med.*, 1972, 287, 1169—1173.
21. Steffen J.: Problemy immunologicznego monitorowania przebiegu i terapii chorób nowotworowych u ludzi. *Nowotwory* 1975, 25, 209—222.
22. Takeuchi. J., Barnard R. O.: Perivascular lymphocytic cuffing in astrocytomas. *Acta neuropath.*, (Berl.) 1976, 35, 265—271.
23. Traycoff R. B., Wortsman J., Myers W., Rogers W.: Significance of the „active” E-rosette-forming cell. *Clin. Imm. Immunopath.*, 1979, 13, 383—393.
24. Yoffey J. M.: The lymphocyte. *Ann. Rev. Med.*, 1964, 15, 125—148.
25. Wybran J., Fudenberg H. H.: Thymus-derived rosette-forming cells in various human disease states: cancer, lymphoma, bacterial and viral infections, and other diseases. *J. Clin. Invest.*, 1973, 52, 1026—1032.
26. Wybran J., Fudenberg H. H.: How clinically useful is T and B cell quantitation? *Ann. Intern. Med.*, 1974, 80, 765—767.
27. Żółtowska A., Skokowski J., Mlekodaj S., Boj E.: Peripheral blood lymphocytes and their subpopulations in lung carcinomas. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 1980, 4, 28.

ЛИМФОЦИТЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ИХ СУБПОПУЛЯЦИИ В ПЕРВИЧНЫХ ВНУТРИЧЕРЕПНЫХ ОПУХОЛЯХ

(Исследование перед и после операционного удаления опухоли в корреляции с местной лимфоцитарной реакцией)

Резюме

Целью работы было определение количества лимфоцитов периферической крови и их субпопуляций Т и В, а также клеток Null перед лечением и через две недели после операционного удаления первичной внутричерепной опухоли в корреляции с местными лимфоцитарными инфильтратами в злокачественных глиомах.

У 30 больных с первичными внутричерепными опухолями автор определила лимфоциты периферической крови и их субпопуляции, оценивая активную и полную популяцию клеток Т при помощи активного розеткового теста (aRFC) и полного (tRFC), а клетки В при помощи теста ЕАС, с применением модифицированного варианта метода Джондала и сотр. (1972). Кроме того автор вычислила клетки Null и результаты сравнила с контрольной группой 25 здоровых лиц. Операционный материал от опухоли был подвержен морфологическому исследованию способом приведенным в прежней работе (Боровска-Леман 1978).

У больных отягощенных первичными внутричерепными опухолями (особенно злокачественными глиомами, в которых отсутствовали обильные местные лимфоцитарные инфильтраты) автор констатировала статистически достоверную лимфопению, снижение величины лимфоцитов Т, образующих „активные” и „полные” розетки, а также рост субпопуляции лимфоцитов В и клеток Null в процентных величинах. Для абсолютных величин обнаружено статистически существенное снижение активной и полной величины субпопуляции клеток Т ($p < 0.05$).

В раннем послеоперационном периоде после удаления злокачественных глиом констатировано статистически достоверный рост процентных и абсолютных величин лимфоцитов периферической крови и их субпопуляции Т образующей полные розетки. Доказано также, что в случаях опухолей, в которых констатировано обильные местные лимфоцитарные инфильтраты, наступил рост субпопуляции лимфоцитов образующих „активные” розетки. Автор выдвинула концепцию, что субпопуляция активных лимфоцитов Т захватывается опухолью и участвует в местных лимфоцитарных инфильтратах как функционально отдельная субпопуляция клеток зависимых от зобной железы. Это явление связано со снижением циркулирующей субпопуляции активных лимфоцитов Т перед операцией и их повышением в периферической крови в короткое время после операционного удаления опухоли.

CIRCULATING LYMPHOCYTES AND THEIR SUBPOPULATIONS IN THE PRIMARY INTRACRANIAL TUMORS

(Study before and after surgical removal and correlation with local lymphocytic reaction)

Summary

Quantitative analysis of circulating lymphocytes and their subpopulations Т, В and so-called Null-cells was carried out in 30 cases of primary intracranial tumors. The studies were performed both before surgery and 2 weeks after surgical removal of the tumor. The quantitative data were correlated with local lymphocytic reaction in malignant gliomas.

Lymphocytic population in the circulating blood, active and total subpopulation Т, forming rosettes with sheep red blood cells and subpopulation В, positive in EAC-RFC test were analysed by means of modified method of Jondal et al. (1971). So-called Null-cells were also counted. The results were compared with data obtained in the control group of 25 healthy subjects. Biopsy material of tumors was histologically verified and examined according to the principles described in the previous paper (Borowska-Lahman, 1978).

It was shown, that in patients with primary intracranial tumors, mostly those of malignant gliomas group without local lymphocytic infiltrates, statistically significant lymphopenia occurred. This was accompanied by a decrease of lymphocyte Т subpopulation, both forming active rosettes and those, which formed rosettes after 2 hours incubation and an increase of percent values of lymphocytes В and so-called Null-cells. Statistically significant ($p < 0,05$) decrease of absolute values concerned active and total lymphocytes Т subpopulations.

In recent postoperative period there was a statistically significant increase of both absolute and percent values of the circulating lymphocytes and their subpopulation T, forming rosettes E after 2 hours incubation, occurring in malignant gliomas. In the group of tumors with abundant local lymphocytic infiltrates there was an increase of active subpopulation T at the early postoperative period. It has been postulated that active lymphocytes T are greatly involved in the formation of local lymphocytic infiltrates in the glial tumors. This results in a decrease of active lymphocytes T subpopulation in the circulating blood prior to operation, and in their increase in a short period of time after surgical removal of the neoplasm.

Adres autorki: 80—211 Gdańsk, ul. Dębinki 7, Zakład Patomorfologii AM

ELŻBIETA KIDA, HALINA KROH, ZUZANNA KRAŚNICKA,
KRYSTYNA RENKAWEK

GRUŹLICA OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO O NIETYPOWYM PRZEBIEGU KLINICZNYM I OBRAZIE PATOMORFÓLOGICZNYM

Zespół Neuropatologii, Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

Gruźlica ośrodkowego układu nerwowego, stanowiąca nadal dość częsty proces chorobowy (Wilkinson i wsp. 1972; Anderson, MacMillan 1975; Olejnik i wsp. 1980), może stwarzać znaczne trudności diagnostyczne zarówno ze względu na nietypowy często przebieg kliniczny choroby, jak i złożoność i różnorodność obrazu histopatologicznego (Legkonogow 1978; Mayers i wsp. 1978). W doniesieniach z ostatnich lat nierzadko opisywano gruźlicę ośrodkowego układu nerwowego, naśladującą między innymi banalne procesy naczyniowopochodne mózgu, rozpoznawaną właściwie dopiero w badaniu mikroskopowym (Zelman 1962; Stankiewicz i wsp. 1978; Majdecki, Piasecki 1981). Grupa przypadków przedstawionych poniżej ilustruje szeroki wachlarz różnorodnych postaci klinicznych gruźlicy mózgu oraz bardzo zróżnicowany obraz zmian neuropatologicznych.

OPIS PRZYPADKÓW

Przypadek 1. (Instytut Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych AM, Warszawa) Chory L. M. lat 25, przed przyjęciem do szpitala leczony był antybiotykami z powodu podejrzenia infekcji wirusowej, z występującymi od tygodnia bólami głowy i gorączką do 39°C. Stan pacjenta gwałtownie pogorszył się, pojawiły się trudności w oddawaniu moczu, zaburzenia świadomości i drgawki. Przyjęty został do szpitala w stanie ciężkim. W badaniu neurologicznym stwierdzono ciężki zespół oponowy oraz obustronny objaw Babińskiego. Płyn mózgowo-rdzeniowy był wodnojasny, przejrzysty, z cytozą 86 (w rozmazie 75% segmentów), białkiem 394 mg%, poziomem cukru 59 mg%, chlorków 12,3 mEq/l, oraz silnie dodatnimi odczynami globulinowymi. Pacjent zmarł po 2 dniach

hospitalizacji na oddziale, wśród zaburzeń oddechowo-krażeniowych pochodzenia centralnego, w stanie padaczkowym.

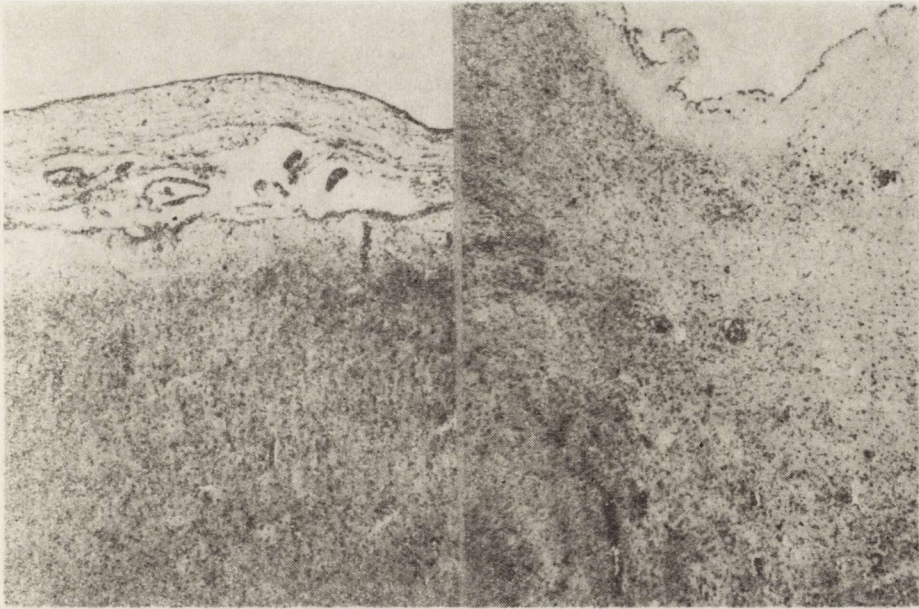
Rozpoznanie kliniczne: *Encephalomeningitis probabiliter tbc. Insufficiencia respiratoria centralis et circulatoria sub finem vitae. Status epilepticus sub finem vitae.* Na sekcji ogólnej z istotnych odchyień stwierdzono umiarkowane wodogłowie wewnętrzne, oraz rozsiane ogniska odoskrzelowego zapalenia płuc w płatach dolnych.

Sekcja makroskopowa mózgu wykazała cechy obrzęku i przekrwienia, oraz znaczne zmleczenie opon, większe na sklepiści, z obecnością w przestrzeni podoponowej mętnej, galaretowatej treści. Histologicznie* stwierdzono obraz masywnego zapalenia mózgu i opon. Proces zapalny obejmował w jednakowym stopniu opony na podstawie jak i sklepiści. W skład obfitych nacieków wchodziły komórki jednojądrzaste o cechach limfocytów, komórki plazmatyczne oraz mniej liczne makrofagi i komórki wielojądrzaste. Naciek zapalny wnikał do mózgu bezpośrednio z opon lub wzdłuż naczyń krwionośnych, doprowadzając do martwicy powierzchniowych warstw kory mózgowej (ryc. 1). Bardzo obfite nacieki zapalne, zarówno okołonaczyniowe jak i śródtkankowe, występowały w strukturach szarych oraz istocie białej półkul i pnia. Obecne były również liczne grudki mezodermalno-glejowe, neuronofagia oraz liczne, drobne ogniska martwicy. Zniszczeniu uległy włókna nerwu okoruchowego i bloczkowego. W splocie naczyniówkowym komory bocznej mózgu występowały drobne gruzełki gruźlicze. Obserwowano liczne wpuklenia tkanki podwyściółkowej do układu komorowego, często pozbawione komórek nabłonka wyściółki. U ich podstawy obecne były niekiedy grudki mezodermalno-glejowe oraz nacieki okołonaczyniowe (ryc. 2). Barwienie według Ziehl-Neelsena wykazało obecność prątków wśród nacieków zapalnych w pniu mózgu.

Przypadek 2. (Oddział Neurologiczny Szpitala Czerniakowskiego, Warszawa) Chora L. S. lat 67, przyjęta została na Oddział Neurologiczny z powodu narastającego od miesiąca ogólnego osłabienia, postępującego wyniszczenia oraz pogorszenia sprawności ruchowej lewej kończyny górnej. Stwierdzono ciężki stan ogólny, wyniszczenie, w płucach rozsiane rżenie. Gorączkowała do 40°C. Badaniem neurologicznym stwierdzono nieznaczny niedowład połowiczy lewostronny z obniżonym napięciem mięśniowym i żywszymi odruchami. Rentgenogram płuc wykazał rozsiane, drobnoguzkowe ogniska zacinienia. Zmarła w czwartym dniu hospitalizacji, wśród narastającej niewydolności oddechowo-krażeniowej. Nie wykonywano nakłucia łądzwiowego.

Rozpoznanie kliniczne: *Hemiparesis sinistra originis incertae. Morbus*

* W ocenie skrawków mikroskopowych wszystkich przypadków stosowano rutynowe barwienia neuropatologiczne oraz barwienie wg metody PAS i Ziehl-Neelsena.



Ryc. 1. Naciek i wysięk w oponach na sklepiści mózgu z martwicą warstwy drobinowej kory, naciekami okołonacyniowymi i śródkankowymi w korze mózgu. Przyp. 1. H—E. Pow. 25 ×

Fig. 1. Infiltration and an exudate in the meninges of the convexity of the brain with necrosis in the molecular cortical layer, perivascular and parenchymal infiltration. Case no 1. H—E. × 25

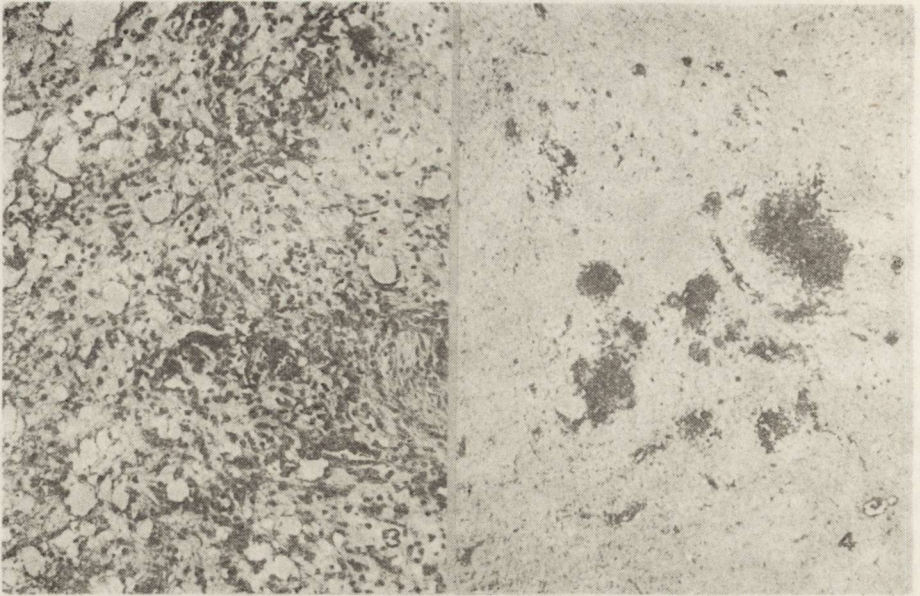
Ryc. 2. Rozległe nacieki śródkankowe i okołonacyniowe w śródmózgowiu oraz bujanie komórek wyściółki w ścianie komory czwartej. Przyp. 1. H—E. Pow. 25 ×

Fig. 2. Intensive perivascular and parenchymal infiltration in mesencephalon and ependymal cells proliferation in the fourth ventricle wall. Case no 1. H—E. × 25

neoplasticus susp. Na sekcji ogólnej stwierdzono: wielogniskową obustronną martwicę płuc, oraz płaszczyznowe zrosty opłucnowe. W obrazie mikroskopowym płuc stwierdzono prosowatą gruźlicę.

Badanie makroskopowe mózgu wykazało cechy uogólnionego zaniku, zaawansowaną miażdżycę naczyń podstawy, oraz zmleczenie opon sklepiści i podstawy mózgu. Na przekrojach przez półkule stwierdzono obecność w płacie ciemieniowym lewym, na granicy korowo-podkorowej, drobnego ogniska, o średnicy ok. 0,5 cm, zielonkawej barwie i nieco wzmożonej konsystencji.

W badaniu mikroskopowym ognisko miało wygląd ziarniny gruźliczej. W części centralnej zawierało ono pole martwicy skrzepowej, położone w pobliżu naczynia całkowicie zwłókniatego, o zaciśniętym świetle. W otaczającej tkance obecne były pojedyncze komórki olbrzymie i bardzo liczne komórki nabłonkowate, tworzące często koncentryczne, cebulkowate układy, oraz między nimi liczne limfocyty. Na obwodzie ogniska występowała żywa proliferacja włóścików, oraz odnaczyniowe bujanie włókien kolagenowych i fibroblastów (ryc. 3). Drugie ognisko,



Ryc. 3. Bogata ziarnina gruźlicza z licznymi komórkami nabłonkowatymi wokół pola martwicy. Przyp. 2. H—E. Pow. 200 ×

Fig. 3. Abundant epithelioid cell granulomatous reaction around the focus of caseous necrosis. Case no 2. H—E. × 200

Ryc. 4. Pole martwicy z masami leukocytarnymi i jednojądrzastymi naciekami okołonaczyniowymi na obwodzie ogniska. Przyp. 2. H—E. Pow. 25 ×

Fig. 4. Necrotic focus with leucocytic masses and lymphoplasmatic perivascular cuffs at the periphery of the necrosis. Case no 2. H—E. × 25

o całkowicie odmiennym obrazie morfologicznym znajdowało się w płacie czołowym, również na granicy korowo-podkorowej. W części centralnej zawierało ono pole martwicy wypełnione masami częściowo rozpadłych leukocytów, otoczone licznymi astrocytami, komórkami jednojądrzastymi, plazmatycznymi, oraz dyskretnymi naciekami z komórek jednojądrzastych i plazmatycznych wokół zwłókniałych tętniczek (ryc. 4). W głębszych warstwach kory mózgowej, przylegających do ogniska występowały nacieki jednojądrzaste, satelitoza okołoneuronalna i neuronofagia. W innych okolicach ośrodkowego układu nerwowego obecne były liczne, drobne ogniska martwicy okołonaczyniowej, otaczające pogrubiałe i zwłókniałe naczynia krwionośne. Pogrubiałe i zwłókniałe opony mózgu nie wykazywały cech procesu zapalnego.

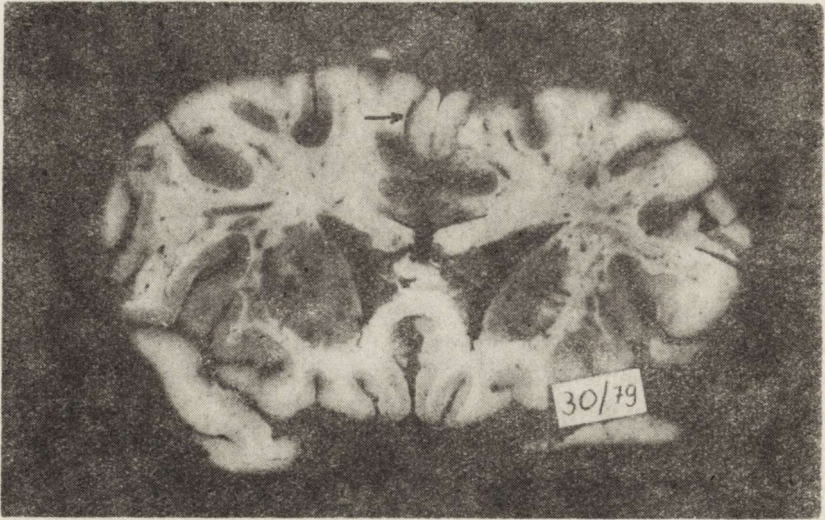
Przypadek 3. (Zespół Neurochirurgii CMDiK PAN, Warszawa) Chora R. K. lat 20, przyjęta na Oddział Neurologiczny, przytomna, z narastającymi od tygodnia bólami głowy w okolicy potylicznej i karku, oraz niedowładem kończyn dolnych. W badaniu neurologicznym stwierdzono sztywność karku na trzy palce, niedowład lewej kończyny dolnej z wygórowanymi odruchami, oraz obustronny klonus stóp. Chód był niepewny, ze zbaczaniem w lewo. Na dniu oczu obecna była tarcza

zastoinowa. Arteriografia tętnic szyjnych sugerowała zaburzenia ukrwienia w zakresie tętnicy podstawnej mózgu. W EEG stwierdzono niewielką asymetrię zapisu na niekorzyść prawej półkuli, na tle zmian uogólnionych, ze zwolnieniem czynności bioelektrycznej w przednich częściach mózgu. Scyntygram mózgu był prawidłowy. Rentgenogram mózgu i czaszki nie wykazywał zmian. Stan chorej gwałtownie pogarszał się, wymiotowała przy każdej zmianie pozycji ciała, dołączył się ośrodkowy niedowład prawego n. VII, oraz adiadochokineza prawej kończyny górnej. Chorą przewieziono na Oddział Neurochirurgiczny z powodu podejrzenia guza tylnej jamy. Po wykonaniu wentrykulografii, zastosowano drenaż komorowy, a następnie chorą operowano. Nie stwierdzono procesu nowotworowego, a pobrany do badania histologicznego wycinek oceniono jako proces zapalny opon, o charakterze podostrym lub przewlekłym. W kilkakrotnych badaniach płynu mózgowo-rdzeniowego cytoza wynosiła od 51 do 258 komórek, z przewagą wielojądrzastych (91%), białko od 2 do 867 mg⁰/. Po zabiegu operacyjnym utrzymywał się ciężki stan chorej. Zmarła wśród zaburzeń oddechowo-krażeniowych.

Rozpoznanie kliniczne: *Laesio trunci cerebri (tumor?)*. Na sekcji ogólnej z istotnych odchyłeń stwierdzono ropniejące zapalenie płuc i przerost nadnerczy.

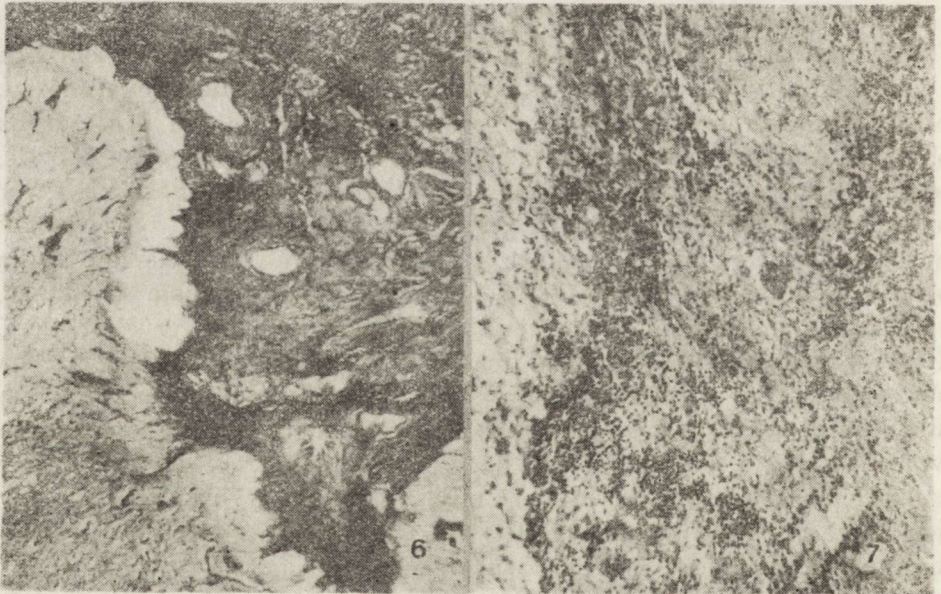
Sekcja makroskopowa mózgu wykazała cechy znacznego obrzęku i zmleczenie opon, oraz zrosty opony twardej z powierzchnią mózgu. Na przekrojach czołowych w szczelinie podłużnej mózgu stwierdzono obecność twardego, chrząstkowatego tworów, sklejającego obie półkule, zespolonego z oponą twardą i górnym biegunem namiotu mózdzku. Twór ten niszczył spoidło wielkie i przegrodę przezroczystą, oraz wnikał w zakręt obręczy imitując granicę kory (ryc. 5). W płacie ciemieniowym obecne było ognisko rozmiękania, przylegające do spoidła wielkiego.

Badanie mikroskopowe wykazało, że twór ten jest gruźliczakiem, który w części centralnej uległ martwicy i zwłóknieniu, natomiast na obwodzie zawierał liczne, typowe gruzelki gruźlicze, o warstwowym utkaniu (ryc. 6). Część ziarninującej tkanki znajdująca się w oponach wnikała w głąb rowków mózgu (ryc. 7). Kora i przylegająca do niej istota biała, uciśnięte przez ziarninującą tkankę, wykazywały zmiany martwicze, z towarzyszącą bardzo żywą proliferacją włóściczków, włókien łącznotkankowych oraz rozplemem gleju astrocytarnego. Wokół naczyń, o wybitnie pogrubiałych i zwłókniałych ścianach obficie występowały jednojądrzaste nacieki okołonaczyniowe. Masywne nacieki z komórek jednojądrzastych, plazmatycznych i olbrzymich, często tworzącymi typowe gruzelki, obecne były w pozostałych fragmentach pogrubiałych i zwłókniałych opon. W komorach mózgu występowały liczne ziarnistości wyściółkowe, natomiast w tkance okołokomorowej mufkowate nacieki okołozylne złożone z komórek plazmatycznych i limfocytów.



Ryc. 5. Gruźliczak w szczeliny podłużnej mózgu po obu stronach sierpu. Przyp. 3. Obraz makroskopowy

Fig. 5. Tuberculoma on both sides of falx of the brain. Case no 3. Gross examination



Ryc. 6. Ziarnina gruźlicza wnikająca w głąb rowków mózgu z martwicą i nacieczeniem kory mózgu. Przyp. 3. Van Gieson. Pow. 25 X

Fig. 6. Tuberculomatous granulation penetrating into cerebral sulci with necrosis and infiltration of cortical layers. Case no 3. Van Gieson. X 25

Ryc. 7. Gruźelki gruźlicze na obwodzie mas martwiczych w centrum gruźliczaka. Przyp. 3. H—E. Pow. 100 X

Fig. 7. The tubercles in the outer zone of necrotically changed tuberculoma. Case no 3. H—E. X 100

Przypadek 4. (Instytut Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych AM, Warszawa) Chory J. S. lat 32, przyjęty był na Oddział Neuroinfekcji Szpitala w Toruniu z powodu utrzymujących się od 2 miesięcy bólów głowy, nudności, wymiotów, oraz gorączki do 39°C. W obrazie klinicznym dominowały wówczas zaburzenia świadomości w postaci stanów zamroczenia z okresami pobudzenia i apatii, oraz masywny zespół oponowy. W płynie mózgowo-rdzeniowym cytoza wynosiła 1120/3, z przewagą komórek wielojądrzastych w rozmazie, białko 282 mg⁰/_o, cukier 22 mg⁰/_o. Posiewy płynu były jałowe, nie stwierdzono w płynie obecności prątków. Rentgenogram płuc nie wykazywał zmian. Na podstawie całości obrazu rozpoznano gruźlicze zapalenie mózgu i opon i włączono do leczenia środki przeciwprątkowe. Stan chorego nie ulegał poprawie, w związku z czym przewieziono go do Instytutu Chorób Zakaźnych. Do poprzednio obserwowanych objawów dołączył się niedowład spastyczny kończyn, bardziej nasilony w kończynach dolnych. Po 4 miesiącach leczenia nastąpiła stopniowa poprawa stanu chorego. Wypisany został do domu po 10 miesiącach leczenia, w stanie ogólnej poprawy, ale z objawami ubytkowymi w postaci zespołu psychoorganicznego i niedowładu spastycznego lewej kończyny dolnej. Po 1,5 roku został ponownie przyjęty do Instytutu Chorób Zakaźnych z powodu gorączki, bólów głowy, zaburzeń orientacji z halucynacjami słuchowymi i wzrokowymi, następnie utraty przytomności. Badaniem neurologicznym stwierdzono niedowład lewej kończyny dolnej z wiotkim napięciem mięśniowym i obustronny objaw Babińskiego. Gorączkował do 42°C. W płynie mózgowo-rdzeniowym cytoza wynosiła 3, białko 155 mg⁰/_o. RTG płuc był prawidłowy. Pacjent zmarł w dniu przyjęcia, wśród objawów niewydolności oddechowo-krażeniowej z hipertermią.

Rozpoznanie kliniczne: *Laesio organica cerebri et medullae spinalis post meningo-encephalitim tbc*. Na sekcji ogólnej z istotnych odchyień stwierdzono całkowite zarośnięcie prawej jamy opłucnowej.

Sekcja makroskopowa mózgu wykazała cechy rozlanego zaniku, oraz pogrubienie i zmleczenie opon na sklepiści i podstawie. Na przekrojach przez półkule stwierdzono liczne, drobnojamkowe ogniska, obejmujące obustronnie zwoje podstawy, podwzgórze oraz okolicę rogu dolnego komory bocznej (ryc. 8).

W badaniu mikroskopowym ogniska te odpowiadały polom martwicy, wypełnionym resztkami rozpadłej tkanki (ryc. 9). Na obwodzie ognisk widoczny był bardzo żywy odczyn ze strony astrogleju, gleju pałeczkowatego i nacieki złożone z komórek jednojądrzastych. Wokół pogrubiałych i zwłókniałych naczyń występowały miejscami, kilkurzędowe nacieki z limfocytów i komórek plazmatycznych. Drugą zmianą patologiczną było wybitne pogrubienie ścian tętnic różnego kalibru, spowodowane głównie odczynem o typie *endarteritis*, doprowadzające często do całkowitego zamknięcia światła drobnych naczyń. W wielu



Ryc. 8. Liczne ogniska martwicy w zwojach podstawy, podwzgórzu i wokół rogu dolnego komory bocznej mózgu. Przyp. 4. H—E. Pow. lupowe

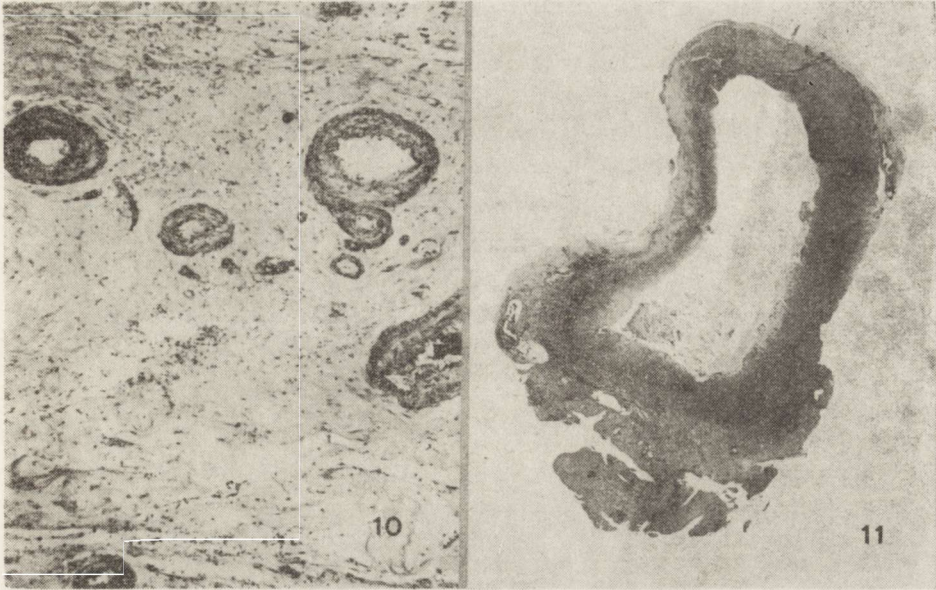
Fig. 8. Numerous foci of necrosis in the basal ganglia, hypothalamus and around inferior horn of the lateral ventricle. Case no 4. H—E. Magn glass

Ryc. 9. Pole martwicy w zwojach podstawy. Przyp. 4. H—E. Pow. 25 ×

Fig. 9. Focus of necrosis in the basal ganglia. Case no 4. H—E. × 25

naczyniach towarzyszył temu przerost warstwy środkowej i bujanie przydanki. Zmiany te były szczególnie nasilone w naczyniach podstawy mózgu, które wtopione były w wybitnie pogrubiałe, przypominające wojłok opony, zawierające wokół naczyń liczne komórki plazmatyczne, limfocyty i fibroblasty (ryc. 10). Opony na sklepiści mózgu były znacznie mniej zmienione. W układzie komorowym występowały liczne ogniskowe uwypuklenia wyściółki, często pozbawione zupełnie nabłonka, u podstawy których występowały grudki mezodermalno-glejowe.

Przypadek 5. (Zespół Neurochirurgii CMDiK PAN, Warszawa). Chory M. B. lat 44, na 2 tygodnie przed przyjęciem na Oddział Obserwacyjno-Zakaźny w Płocku miał objawy przeziębienia, z gorączką, do których dołączyły się bóle głowy, apatia, następnie zaburzenia świadomości. Przy przyjęciu do szpitala stwierdzono ciężki zespół oponowy z zaburzeniami świadomości, bez objawów ogniskowych. W płynie mózgowo-rdzeniowym cytoza wynosiła 5420/3, z przewagą w rozmazie komórek segmentarnych (98^{0/0}), białko 3,28 g/l, przy obniżonym poziomie cukru (1,97 mM/l) i chlorków (93,35 mM/l). Posiewy płynu były jałowe. Rozpoznano ropne zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, włączono do leczenia antybiotyki i kortykosterydy, oraz z powodu stwierdzenia czynnej gruźlicy płuc, leki przeciwprątkowe. Chory nadal gorączkował, narósł zespół oponowy, ponownie wystąpiły zaburzenia świadomości, dołączył się zespół ogniskowy w postaci dyskretnej niedowładności prawostronnej. Na dzień oczu stwierdzono tarczę zastoinową.



Ryc. 10. Wybitnie pogrubiałe opony na podstawie mózgu zawierające masywny wysięk oraz nacieki jednojądrzaste, ze zmienionymi patologicznie naczyniami. Przyp. 4. H—E. Pow. 100 ×

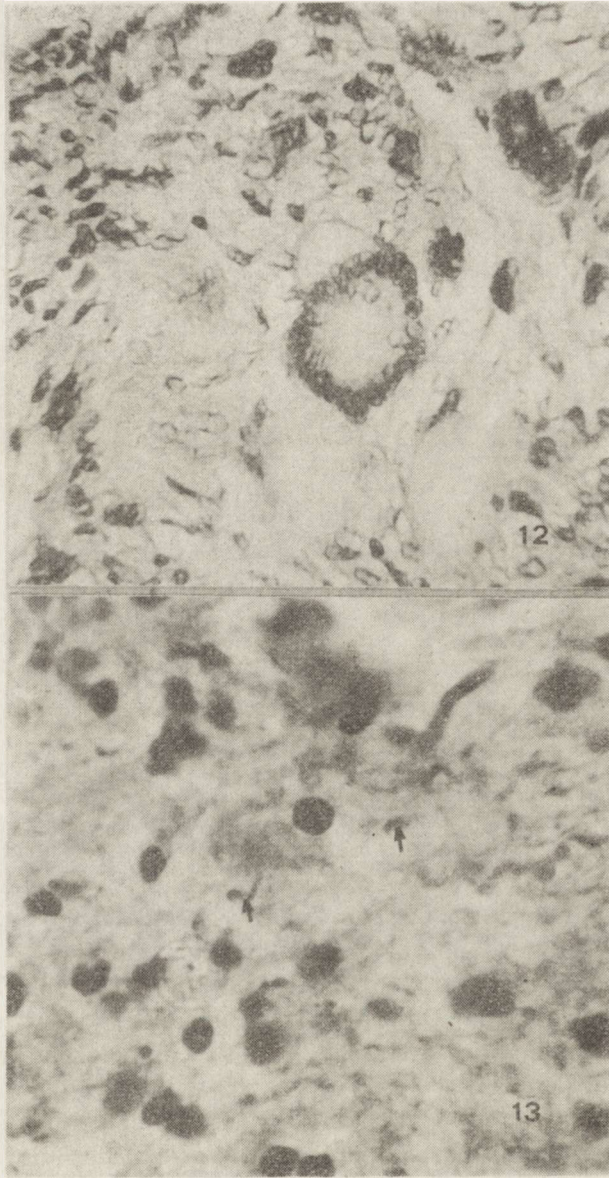
Fig. 10. Hypertrophied meninges on the base of the brain containing massive exudate and mononuclear cells with pathologically changed vessels. Case no 4. H—E. × 100

Ryc. 11. Usunięty operacyjnie ropień mózgu. Przyp. 5. H—E. Pow. lupowe

Fig. 11. Neurosurgically removed brain abscess. Case no 5. H—E. Glass magn

Scyntygram mózgu uwidocznił ognisko patologicznego gromadzenia izotopu w lewej okolicy skroniowej. W ponownie wykonanym nakłuciu lędźwiowym w Instytucie Chorób Zakaźnych (gdzie chorego przewieziono), cytoza w płynie mózgowo-rdzeniowym wynosiła 32 (w rozmazie 82% limfocytów), białko 139 mg%, cukier 41 mg%, chlorki 123 mM/l. Pacjenta operowano na Oddziale Neurochirurgii, usuwając w całości cylindryczny ropień o rozmiarach 2,8 × 10 cm położony w lewej okolicy skroniowej (ryc. 11).

Badanie mikroskopowe wykazało w części centralnej ropnia jamę wypełnioną resztkami rozpadłej tkanki, bardzo licznymi leukocytami i na obwodzie makrofagami. Ściana torebki utworzona była przez gęstą sieć włośniczek i drobnych tętniczek, między którymi występowały bardzo liczne fibroblasty, włókna kolagenowe, limfocyty, leukocyty i komórki plazmatyczne. Zwracała uwagę duża ilość różnokształtnych, wielojądrzastych komórek olbrzymich, niekiedy otoczonych pojedynczymi komórkami nabłonkowatymi (ryc. 12). W tkance otaczającej torebkę obecne były liczne astrocyty odczynowe i gemistocyty, oraz wielorzędowe, mufkowate nacieki okołonaczyniowe złożone z komórek jednojądrzastych i plazmatycznych. Barwienie met. Ziehl-Neelsena wykazało w zewnętrznej warstwie ściany obecność prątków (ryc. 13).



Ryc. 12. Komórka olbrzymia w ścianie ropnia. Przyp. 5. H—E. Pow. 400 ×
 Fig. 12. Giant cell in the wall of abscess. Case no 5. H—E. × 400

Ryc. 13. Prątki w zewnętrznej ścianie torebki ropnia. Przyp. 5. Ziehl-Neelsen.
 Pow. 1200 ×
 Fig. 13. Acid-fast bacilli in the outer zone of the abscess. Case no 5. Ziehl-Neelsen.
 × 1200

OMÓWIENIE

Najczęstszą postacią gruźlicy ośrodkowego układu nerwowego, stanowiącą ok. 82% wszystkich przypadków, jest zapalenie opon i mózgu (Udani i wsp. 1971). W naszym materiale, 2 przypadki (1 i 4), repre-

<http://rcin.org.pl>

zentuujące tę formę procesu chorobowego, różnią się zdecydowanie między sobą zarówno przebiegiem klinicznym jak i obrazem zmian histologicznych. Przypadek 1 stanowi ilustrację niezwyklej inwazyjności procesu chorobowego, który po krótkim i gwałtownym przebiegu klinicznym doprowadził do zgonu. W badaniu neuropatologicznym stwierdzono proces zapalny uogólniony w całym ośrodkowym układzie nerwowym. W przypadku tym zwraca uwagę jednakowe nasilenie zmian zapalnych na sklepiści i na podstawie mózgu.

Równie ciężki, ale przewlekły, o skrytym początku przebieg kliniczny choroby miał miejsce w przypadku 4. Przyczyną ciężkiego uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego, pomimo długotrwałego, skojarzonego stosowania leków przeciwprątkowych, były zmiany naczyniopochodne. Spowodowane były one odczynem zapalnym w ścianach tętnicznych, jak również prawdopodobnie uciśnięciem naczyń przez obfity wysięk zapalny i odczyn wytwórczy na podstawie mózgu.

Całkowicie odmienny przebieg kliniczny, imitujący proces nowotworowy lub naczyniopochodny, z dominowaniem w stanie klinicznym objawów ogólnych nad dyskretnymi odchyleniami w badaniu neurologicznym, miał miejsce w przypadku 2, u najstarszej, 67 letniej chorej. Obraz zmian neuropatologicznych, wyrażony jako ogniska ziarniny gruźliczej z równoczesnymi, nasilonymi zmianami wytwórczymi w naczyniach najmniejszego i średniego kalibru, oraz bujaniem elementów łącznotkankowych odnaczyniowych i śródkankowych, zbliżony jest do obrazu sarkoidozy mózgu (Harriman 1976). Różnicowanie obu tych procesów na podstawie obrazu mikroskopowego stwarza przeważnie znaczne trudności. Ze względu na podobieństwa obu procesów patologicznych, obecność nasilonego procesu gruźliczego w płucach pod postacią rozsiewu prosówkowego, w naszym przypadku pozwoliła na rozpoznanie wczesnych zmian gruźliczych w ośrodkowym układzie nerwowym. Na odmienny obraz gruźlicy mózgu, jaki może wystąpić u osób w starszym wieku, zwrócili już uwagę Majdecki i Piasecki (1981), wiążąc ten fakt z takimi czynnikami jak współistnienie zmian naczyniowych, odmienną reaktywność immunologiczną ustroju, bądź wreszcie modyfikacją przebiegu klinicznego i obrazu morfologicznego przez często stosowane antybiotyki o szerokim spektrum działania. Stosunkowo małe zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym u naszej chorej, w porównaniu do nasilonego procesu chorobowego w płucach, mogą być również związane z wpływem tych właśnie czynników.

W diagnostyce klinicznej szczególne trudności mogą stwarzać przypadki ograniczonych postaci procesu gruźliczego mózgu, sugerujące proces nowotworowy, zwłaszcza te, które przebiegają z objawami wzmożonego ciśnienia śródczaszkowego, bez towarzyszących gruźliczych zmian narządowych, czy też z nietypowym obrazem płynu mózgowo-rdzeniowego (Dastur i wsp. 1966; Stępień, Zderkiewicz 1971). Miało to miejsce również w naszym przypadku sekcyjnym (przypadek 3), w którym ba-

daniem histopatologicznym stwierdzono obecność rozległego gruźliczaka mózgu o rzadkiej lokalizacji, którego nie rozpoznano pomimo zastosowania nowoczesnych metod diagnostycznych.

Inną, rzadko spotykaną, formą ograniczonego procesu gruźliczego mózgu jest ropień gruźliczy. Kryteria morfologiczne jakie muszą być spełnione dla jego rozpoznania, to nieobecność w ścianie torebki typowej ziarniny gruźliczej, przy jednoczesnym stwierdzeniu w ścianie lub ropnej treści ropnia obecności prątków (Whitener 1978). Przedstawiony przez nas przypadek 5, biopsyjny, na podstawie obecności prątków w ścianie torebki przy braku typowej ziarniny gruźliczej, mimo dużej ilości komórek olbrzymich, zaliczyliśmy do tej grupy. Podobny przypadek, również z obecnością prątków i komórek olbrzymich w ścianie ropnia opisano u 12 letniego chłopca (Obrador, Urquiza 1948).

Na podstawie przedstawionego materiału można wnioskować, że w przypadkach procesów patologicznych ośrodkowego układu nerwowego, przebiegających z objawami ciężkiego uszkodzenia mózgu, sugerującymi proces naczyniowy czy nowotworowy, należy brać pod uwagę również nietypowe, trudne diagnostycznie różnorodne formy gruźlicy. Gruźlicze zapalenie mózgu i opon może przebiegać także w sposób odmienny od klasycznych opisów, a dodatkowe trudności rozpoznawcze mogą wpływać z nietypowego obrazu płynu mózgowo-rdzeniowego, ujemnych wyników posiewów, czy znacznych różnic w lokalizacji i nasileniu procesu patologicznego.

PIŚMIENNICTWO

1. Anderson J., MacMillan J.: Intracranial tuberculoma: An increasing problem in Britain. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 1975, 38, 194—201.
2. Dastur H. M., Desai A. D.: A comparative study of brain tuberculomas and gliomas based upon 107 case records of each. *Brain* 1966, 88, 375—396.
3. Harriman D. B.; Sarcoidosis. W: Greenfield's Neuropathology. Red.: W. Blackwood, J. A. Corsellis, W. H. Mc Menemey. E. Arnold, London 1977, 252—253.
4. Legkonogow V. A.: Atypical manifestation of tuberculous meningitis. *Klin. Med.*, 1978, 56, 105—111.
5. Majdecki T., Piasecki J.: Nietypowy przebieg gruźliczego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych w podeszłym wieku — uwagi na marginesie przypadku. *Neurol. Neurochir. Pol.*, 1981, 15, 97—100.
6. Mayers M. M., Kaufman D. M., Miller M. H.: Recent cases of intracranial tuberculomas. *Neurology* 1978, 28, 256—260.
7. Obrador S., Urquiza P.: Two cases of cerebral abscess of unusual nature: Tuberculous abscess and suppurated hydatid cyst. *J. Neurosurg.*, 1948, 5, 572—576.
8. Olejnik Z., Korniluk S., Strzelecki R., Gina A.: Aspekty kliniczne, diagnostyczne i terapeutyczne gruźliczego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu u 28 dorosłych chorych. *Przegl. Epid.*, 1980, 34, 259—268.

9. Stankiewicz I., Osuch, Z., Honczarenko K.: Wartości badania cytologicznego płynu mózgowo-rdzeniowego w rozpoznaniu gruźliczego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych. *Pneum. Pol.*, 1977, 44, 27—31.
10. Stępień A., Zderkiewicz E.: Przypadek gruźliczaka śródrdzeniowego. *Neuropat. Pol.*, 1971, 9, 161—164.
11. Udani P. M., Parekh U. C., Dastur D. K.: Neurological and related syndromes in CNS tuberculosis. Clinical features and pathogenesis. *J. neurol. Sci.*, 1971, 14, 341—357.
12. Whitener Don R.: Tuberculous brain abscess. Report of a case and review of the literature. *Arch. Neurol.*, 1978, 35, 148—155.
13. Wilkinson H. A., Ferris E. J., Muggia A. L., Cantu R. C.: Central nervous system tuberculosis: a persistent disease. *J. Neurosurg.*, 1972, 34, 15—22.
14. Zelman I.: Przypadek gruźliczego zapalenia opon i mózgu rozpoznany jako krwotok mózgowo-oponowy. *Gruźlica* 1962, 30, 269—273.

НЕТИПИЧНОЕ КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ И СЛОЖНАЯ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА ТУБЕРКУЛЕЗА ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Резюме

Авторы обсудили 4 секционных случая и 1 биопсийный случай, которые представляют разные формы туберкулеза центральной нервной системы. Они характеризуются значительной дифференциацией как клинического течения, так и neuropathological картины. Значительно дифференцированное клиническое течение вместе с нередко встречаемыми нетипичными результатами добавочных исследований может быть поводом диагностических трудностей, что имело место как в нашем материале, так и во многих случаях цитированных из литературы. Следует подчеркнуть факт, что несмотря на несомненные достижения в борьбе против туберкулеза эта болезнь все еще является нередко встречаемым болезненным процессом центральной нервной системы.

TUBERCULOSIS OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM WITH ATYPICAL COURSE AND VARIOUS PATHOMORPHOLOGICAL PICTURE

Summary

Four autopsy and 1 biopsy cases illustrating the various forms of tuberculosis involving the central nervous system are described. They are characterized by marked variances in clinical course and neuropathological findings. Diagnostic difficulties resulted from atypical clinical course and non characteristic laboratory findings. Despite of the evident progress in the contemporary therapy of tuberculosis, this disease still remains a common pathological process of the central nervous system.

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

PAWEŁ P. LIBERSKI, JANUSZ ALWASIAK, ZBIGNIEW WĘGRZYN,
WOJCIECH KRUL

THE CLINICOPATHOLOGICAL STUDY OF THE CASE
OF NECROTIZING ENCEPHALITIS *

Department of Neurology, School of Medicine, Łódź
Department of Oncology, School of Medicine, Łódź
Department of Neurosurgery, Copernicus Hospital, Łódź

Herpes simplex virus type 1, is the most common cause of fatal endemic encephalitides (Baringer 1978). Mortality reaches about 53%, but follow up studies showed that about 93% of patients die or live in a vegetative state (Williams, Lerner 1978). Pharmacological treatment with adenine arabinoside has been shown to be successful only if given early in the course of disease (Baringer 1978), therefore proper clinical diagnosis, based on the clinical picture and course is of utmost importance.

In neuropathological literature the terms "herpes simplex encephalitis" and "necrotizing encephalitis" are often treated as synonymous ones (Osetowska 1974; Greenfield 1976). There is a justifiable opinion concerning causal link between infection with herpes simplex virus and the development of this type of encephalitis, but the problem is not solved yet. Therefore the descriptive term "necrotizing encephalitis" seems to be more proper in those cases in which the etiological factor was not confirmed virologically.

The aim of the paper is to present briefly neuropathological findings in a case of necrotizing encephalitis.

CASE REPORT

The case concerned a 43-year-old man. On his admission to the Neurosurgical Department of Copernicus Hospital, the patient complained of severe headaches and vertigo, which lasted for about one

* The paper was presented at the 5th Conference of Neuropathology, held in Szczecin, May, 14-16, 1981.

week. The lumbar puncture showed elevated open pressure of the cerebro-spinal fluid. The following clinical course was characterized by rapidly progressing disturbances of consciousness which ended in deep coma, paresis of ocular movement with unreactive pupils, tetraparesis, and bilateral Babinski sign. Bilateral carotid angiogram revealed minimal shift of the anterior cerebral and pericallosal arteries to the opposite side and a small up-wards shift of the anterior cerebral artery. The patient died on the third day after admission to hospital with signs of circulatory and respiratory insufficiency.

Gross examination of the brain. The brain weighed 1780 g. The

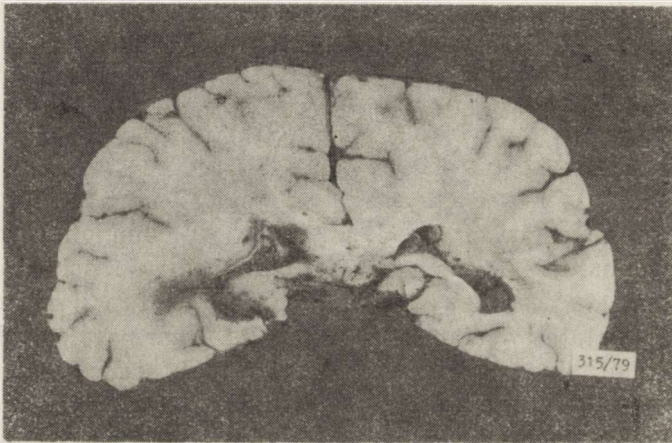


Fig. 1. Gross section through hippocampal formation. Area of hemorrhagic necrosis in the middle and inferior portion of the left temporal lobe

Ryc. 1. Obraz makroskopowy. Przekrój przez formacje hipokampa. Ognisko martwicy krwotocznej w dolnej i przyśrodkowej części lewego płata skroniowego



Fig. 2. Gross section through the occipital lobe. Large focus of hemorrhagic necrosis

Ryc. 2. Przekrój przez płat potyliczny. Obecne ognisko martwicy krwotocznej

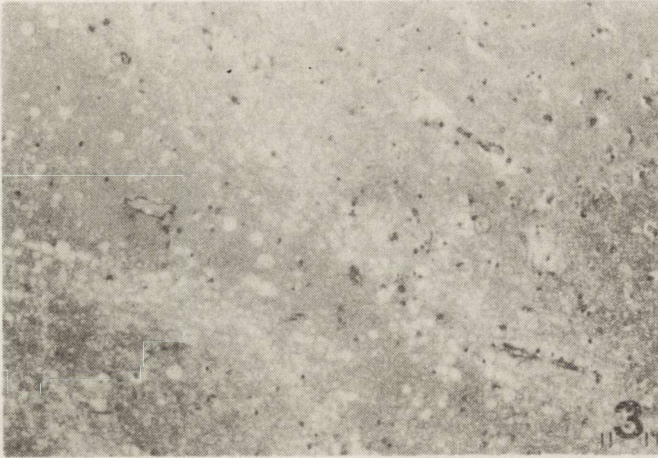


Fig. 3. Hemorrhagic necrosis with severe edema of the tissue. H + E. $\times 100$
Ryc. 3. Martwica krwotoczna z towarzyszącymi zmianami obrzękowymi. H + E.
 Pow. $100 \times$

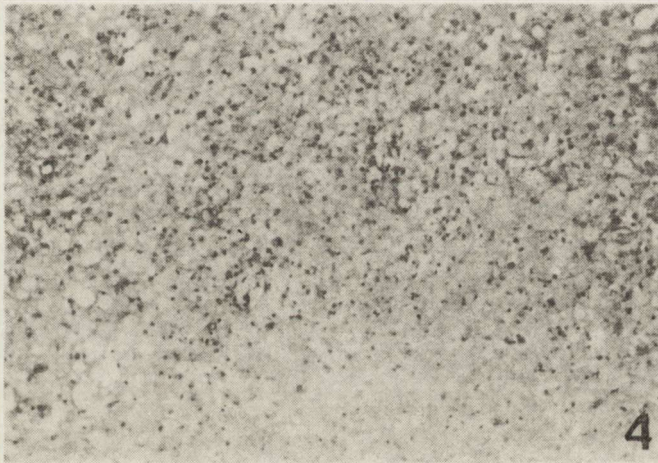


Fig. 4. The area of inflammatory necrosis with rarefaction of the tissue. H + E.
 $\times 100$
Ryc. 4. Obszar martwicy zapalnej z rozrzedzeniem struktury tkankowej. H + E.
 Pow. $100 \times$

leptomeninges were opaque, both on the convexities and on the base. There was distention and congestion of the meningeal vessels. Large focus of hemorrhagic necrosis could be seen, which involved most of the medial and inferior portion of the left temporal lobe and the left occipital lobe (Figs 1, 2).

Histological examination of the tissue samples taken from both cerebral hemispheres revealed bilateral changes, which extended the areas of gross abnormalities. Diffuse, confluent areas of hemorrhagic necrosis (Fig. 3) intermingled with massive brain edema (Fig. 4) and

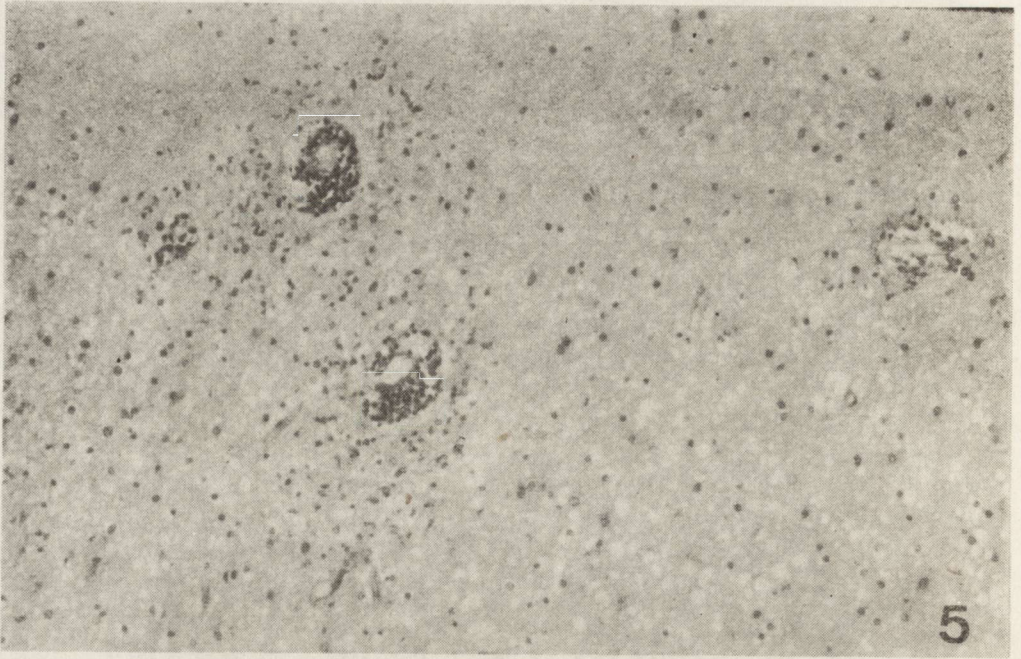


Fig. 5. Inflammatory cuffs around blood vessels. H + E. $\times 160$

Ryc. 5. Zmiany zapalne z formowaniem muf okołonaczyniowych. H + E. Pow. 160 \times

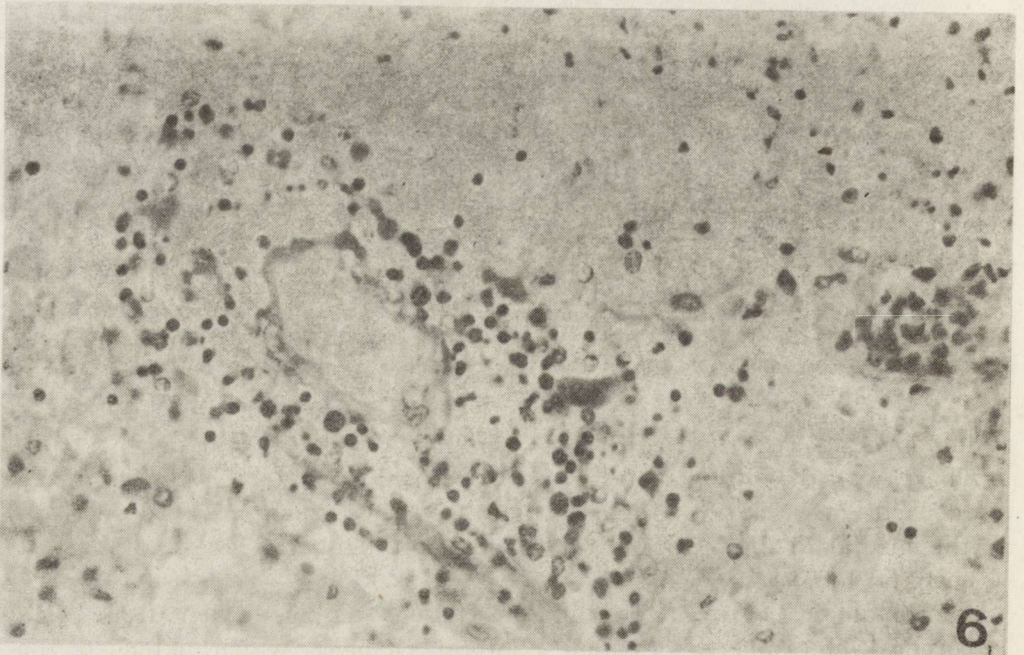


Fig. 6. Higher magnification of some perivascular cuffs. Numerous lymphocytes and plasma cells among other inflammatory cells. H + E. $\times 1000$

Ryc. 6. Większe powiększenie muf okołonaczyniowych. Liczne limfocyty i komórki plazmatyczne wśród innych elementów nacieku zapalnego. H + E. Pow. 1000 \times

rarefaction of the tissue were the hallmark of the case. Marked inflammatory infiltrates composed of lymphocytes, polymorphonuclear leucocytes and plasma cells forming cuffs around blood vessels and necrotic areas were seen (Figs 5, 6). There was marked proliferation of microglia. In one sample, multinucleated giant cells were present. The result of a careful search for inclusion bodies was negative in all samples.

DISCUSSION

On the basis of the above findings the diagnosis of necrotizing encephalitis of probable herpetic type was made. The typical localization (Baringer 1978; Dietemann et al. 1978; Davis, Johnson 1979) in the medial aspects of the occipital and temporal lobes as well as the distinctive neuropathological appearance (Osetowska 1974; Greenfield 1976) substantiated this assumption. Negative results in search for inclusion bodies is not necessarily incompatible with the diagnosis. In larger series of cases typical inclusions have been found only in the minority of cases. The lack of virological examination does not permit the diagnosis of the case as a herpes A encephalitis. However, it is well known that the isolation of herpes simplex virus from the *post mortem* material is difficult and has been unsuccessful in a number of the reported cases. Therefore the lack of a virological confirmation in our case does not seem to be most critical. Despite this, the diagnosis of necrotizing encephalitis seems to be the most appropriate one.

REFERENCES

1. Baringer J. R.: Herpes simplex virus infections of the nervous system. In: Handbook of Clinical Neurology. Eds. P. J. Vinken, G. W. Bruyn. Amsterdam, New York 1978.
2. Davis L. E., Johnson R. T.: An explanation for the localization of herpes simplex encephalitis? *Ann. Neurol.*, 1979, 5, 2—5.
3. Dietemann J. L., Heldt N., Quintana F.: Angiographic changes in a case of herpes simplex encephalitis. *Neuroradiology* 1978, 15, 225—227.
4. Greenfield's Neuropathology. Eds. W. Blackwood, J. A. N. Corselis. E. Arnold, London 1976, 297—301.
5. Osetowska E.: Neuropatologia zapaleń mózgu wirusowych i alergicznych. PZWL, Warszawa 1974, 87—103.
6. Shirabe T., Tawara S.: An autopsy case of protracted necrotic encephalitis with marked unilateral temporal lobe atrophy. *Folia psychiat. Neurol. Jap.*, 1979, 32, 165—172.
7. Williams B. B., Lerner A. M.: Some previously unrecognized features of herpes simplex virus encephalitis. *Neurology* 1978, 28, 1193—1196.

BADANIA PATO-KLINICZNE W PRZYPADKU ZMARTWIAJĄCEGO
ZAPALENIA MÓZGU

Streszczenie

W pracy podsumowano wyniki badań klinicznych i neuropatologicznych w przypadku zmartwiającego zapalenia mózgu, rozpoznanego u 43-letniego mężczyzny. Lokalizacja zmian była typowa, w dolnej i przyśrodkowej części lewego płata skroniowego, w lewym płacie potylicznym i okolicy podspoidłowej.

Badanie mikroskopowe wykazało zmiany obustronne. Rozległe obszary martwicy krwotocznej przemieszane ze strefami rozmiękania białego i masywnego obrzęku stanowiły dominującą cechę w badaniu histopatologicznym. Martwicom towarzyszyły nacieki zapalne utworzone z limfocytów i komórek plazmatycznych, tworzące „mufy” wokół naczyń. Obserwowano proliferację mikrogleju. Poszukiwanie ciał wtępowych dało wyniki negatywne w całym dostępnym materiale. Na podstawie obrazu neuropatologicznego rozpoznano zmartwiające zapalenie mózgu — typu *herpes*.

ПАТО-КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
В СЛУЧАЕ НЕКРОТИЗИРУЮЩЕГО ЭНЦЕФАЛИТА

Резюме

В статье авторы подытожили результаты клинических и neuropatologicznych исследований в случае некротизирующего энцефалита, распознанного у 43-летнего мужчины.

Локализация изменений была типична в нижней и медиальной части левой височной доли, в левой затылочной доли и в области расположенной под мозолистым телом.

Микроскопное исследование проявило двусторонние изменения. Протяженные пространства геморрагического некроза перемешанные с зонами белого размягчения и массивного отека были доминирующим признаком в гистопатологическом исследовании. Некрозам сопутствовали воспалительные инфильтраты образованные из лимфоцитов и плазматических клеток, создающие „мufы” вокруг сосудов. Авторы наблюдали пролиферацию микроглии. Разыскивание инклюзионных тел дало отрицательные результаты во всем доступном материале. На основе neuropatologicznej картины диагностировано некротизирующий энцефалит типа *herpes*.

Authors' address: Department of Oncology, School of Medicine, 4, Gagarina Str., 93—509 Łódź

EWA MATYJA

OBRAZ ULTRASTRUKTURALNY KOMÓREK NERWOWYCH PRAŻKOWIA W HODOWLI ORGANOTYPOWEJ *IN VITRO*

Zespół Neuropatologii Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

W ostatnich latach ukazały się liczne prace z zakresu fizjologii i anatomii zwojów podstawy wchodzących w skład układu pozapiramidowego. Uszkodzenie poszczególnych struktur tego skomplikowanego systemu wzajemnie oddziaływujących na siebie jąder podkorowych, leży u podłoża charakterystycznych zespołów objawów klinicznych. Podstawowym składnikiem układu pozapiramidowego jest prążkowie opisane po raz pierwszy w 1667 roku przez Thomasa Willisa (Wilson 1912). Stanowiło ono przedmiot licznych badań morfologicznych, biochemicznych, fizjologicznych i farmakologicznych (Dray 1979).

Początkowo wyróżniano w prążkowie 2 główne typy neuronów (Mori 1966) i dopiero badania mikroskopowo-elektronowe oraz zastosowanie metody impregnacji srebrowej według Golgiego pozwoliło na dokładniejsze zróżnicowanie komórek na podstawie ich cech ultrastrukturalnych oraz obecności kolców dendrytycznych. W zależności od właściwości morfologicznych wyróżnia się od 4 do 7 odrębnych typów neuronów (Fox i wsp. 1971/1972, Kemp, Powell 1971; Mensah, Deadyler 1974; Pasik i wsp. 1976; Lu, Brown 1977). Przyjmuje się ogólnie, że średniej wielkości neurony kolczyste reprezentują podstawowy typ neuronów prążkowie (Kemp, Powell 1971). Dowodem tego są również ostatnio przeprowadzone badania przy jednoczesnym zastosowaniu metody impregnacji srebrowej w mikroskopie świetlnym i elektronowym, różnicujące neurony średniej wielkości na dalsze 4 podtypy w zależności od ich cech ultrastrukturalnych oraz morfologii wypustek (Dimova i wsp. 1980).

Badania morfologiczne i histochemiczne były również prowadzone w hodowli komórkowej prążkowie uzyskanej po mechanicznym rozdrobnieniu tkanki, w której na podstawie różnic ultrastrukturalnych wyodrębniono 4 typy komórek nerwowych (Panula i wsp. 1979 a, b).

Celem przeprowadzonych badań było ustalenie charakterystyki mor-

fologicznej neuronów w hodowli organotypowej prądkowia noworodków szczurzych w procesie dojrzewania i różnicowania w okresie od początku wzrostu hodowli do 28 dnia *in vitro*. Określenie charakterystyki morfologicznej komórek prądkowia w hodowli organotypowej *in vitro* stanowi wzorzec dla określenia zmian patologicznych występujących w nich w różnych warunkach doświadczalnych oraz stwarza możliwość oceny działania substancji neurotoksycznych na poszczególne rodzaje neuronów.

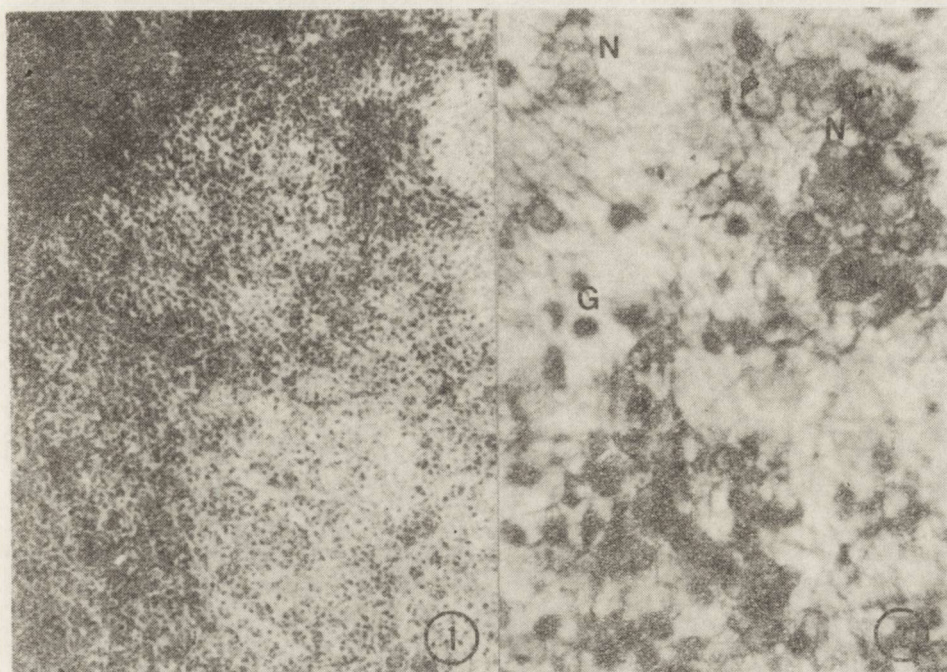
MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na hodowlach organotypowych prądkowia noworodków szczurzych (6—24 godz. życia) rasy Wistar. Hodowle zakładane były w komorach Maximowa. Eksplantowane fragmenty tkanki umieszczano na okrągłych szkiełkach pokrytych żelifikowanym kalogenem. Hodowle inkubowano w temperaturze 35,5—36,5°C, zmieniając środowisko odżywcze 2 razy w tygodniu. W skład medium wchodziło 50% surowicy ludzkiej, 40% płynu wieloelektrolitowego Earle'a i 10% ekstraktu embrionalnego z dodatkiem glukozy do uzyskania końcowego stężenia 600 mg/100 ml medium. Hodowle po 3, 6, 8, 10, 14, 16, 18, 21 i 28 dniach *in vitro* pobierano do badań w mikroskopie świetlnym i elektronowym. Materiał przygotowywany do mikroskopu elektronowego utrwalano w 2% roztworze aldehydu glutarowego w buforze kakodylanowym o pH 7,2 oraz 1% czterotlenku osmu. Utrwalone hodowle odwadniano w roztworach alkoholu etylowego o wzrastających stężeniach i zatapiano w Eponie 812. Ultracienkie skrawki krojone na ultramikrotomie LKB, kontrastowano octanem uranylu i cytrynianem ołowiu. Materiał przeglądano i fotografowano w mikroskopie elektronowym JEM 100B przy napięciu przyspieszającym 80 kV. Materiał do mikroskopu świetlnego utrwalano w 10% formalinie i barwiono błękitem toluidyny oraz według metody Bodiana i PAS-dimedon.

WYNIKI

W mikroskopie świetlnym pierwsze komórki wyrastające na obwód eksplantatu obserwuje się w ciągu 24 godzin. W 1 i 2 tygodniu wzrostu *in vitro*, eksplantat ulega znacznemu zcieńczeniu, komórki nerwowe występujące w eksplantacie i w brzeżnej strefie wzrostu otoczone są licznymi komórkami glejowymi (ryc. 1). W barwieniu według metody Bodiana można wyróżnić skupienia małych i dużych neuronów, nawet w bardziej odległej strefie wzrostu (ryc. 2).

W mikroskopie elektronowym w ciągu pierwszych 3 dni *in vitro*, zarówno w eksplantacie, jak i w strefie wzrostu, obserwuje się mało zróżnicowane komórki o cechach niedojrzałości w postaci dominującego jądra z wyraźnym jąderkiem, otoczonego wąskim rąbkiem cytoplazmy



Ryc. 1. Hodowla 2-tygodniowa. Fragment eksplantatu oraz strefy wzrostu hodowli. Błękit toluidyny. Pow. 60 ×

Fig. 1. Two-week culture. Fragment of explant and outgrowth zone. Toluidine blue. × 60

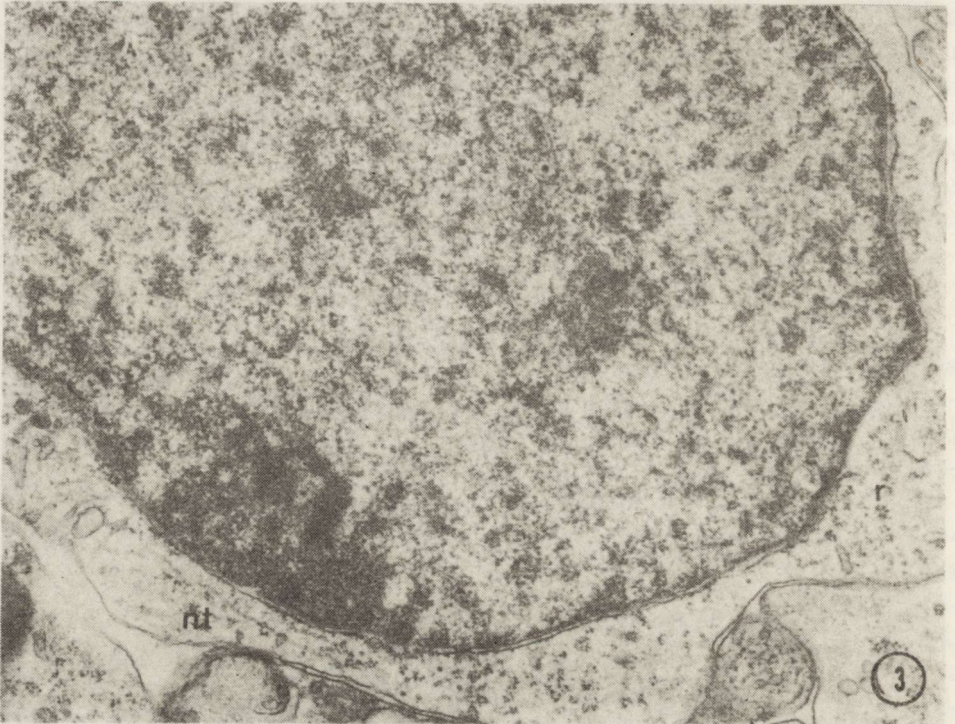
Ryc. 2. Hodowla 3-tygodniowa. Skupienia wyimpregnowanych komórek nerwowych (N) otoczone licznymi komórkami glejowymi (G). Bodian. Pow. 400 ×

Fig. 2. Three-week old culture. Agglomeration of impregnated neurons (N) surrounded by numerous glia cells (G). Bodian. × 400

zawierającej wolne rybosomy, pojedyncze krótkie kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej, nieliczne mitochondria oraz słabo rozwinięty aparat Golgiego.

Po upływie 6 dni pojawiają się w hodowli komórki z obfitszą cytoplazmą i liczniejszymi organellami komórkowymi. Dopiero po 10 dniach proces różnicowania komórek jest na tyle zaawansowany, że można zidentyfikować kilka odrębnych typów neuronów o charakterystycznych cechach morfologicznych. Wyraźną przewagę w tym okresie wzrostu hodowli wykazują komórki średnich rozmiarów, wśród których można wyodrębnić kilka typów w zależności od ich cech morfologicznych, takich jak wygląd jądra, obfitość cytoplazmy oraz obecność organelli komórkowych.

Najliczniejsze komórki stanowią neurony typu I (ryc. 3), z centralnie położonym okrągłym lub lekko owalnym jądrem z równomiernie rozmieszczoną heterochromatyną oraz obecnym, przeważnie wyraźnym, ciemnym jąderkiem. Skąpa, biała cytoplazma otaczająca jądro komórkowe, zawiera stosunkowo małą ilość organelli komórkowych. Dosyć

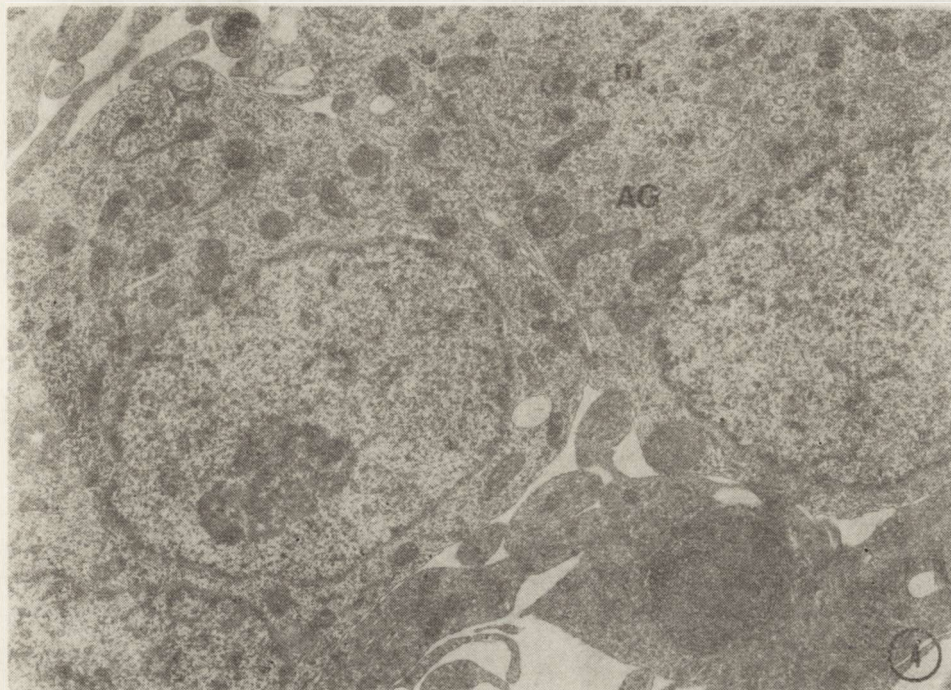


Ryc. 3. Neuron typu I. Centralnie położone owalne jądro z wyraźnym jąderkiem otoczone wąskim rąbkim bladej cytoplazmy zawierającej liczne wolne rybosomy (r) oraz pojedyncze neurotubule (nt). 10 dni *in vitro*. Pow. 15400 ×

Fig. 3. Type I neuron. Centrally located nucleus with distinct nucleolus. Thin rim of pale cytoplasm containing numerous free ribosomes (r) and scarce neurotubules (nt). 10 days *in vitro*. × 15400

liczne rybosomy leżą wolno w cytoplazmie lub tworzą rozety. Występować mogą także pojedyncze, krótkie kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej oraz nieliczne małe mitochondria. W hodowlach do 10 dnia *in vitro*, prawie w każdej komórce typu I występują pojedyncze neurotubule luźno rozrzucone w cytoplazmie. W późniejszych okresach wzrostu hodowli widoczne są często skupienia neurotubul układające się rzędowo w stosunku do błony jądrowej. Charakterystyczną cechą komórek jest również znaczna ilość ciał gęstych. Ten typ neuronów nie zmienia swoich cech morfologicznych do końca obserwacji *in vitro*, z tym jednak, że w hodowlach starszych nie obserwuje się na ogół wyraźnego jąderka.

Typem II komórek nerwowych są neurony większych rozmiarów, z obfitą cytoplazmą oraz zwykle obwodowo położonym owalnym jądrem, odznaczającym się niekiedy lekko nieregularnym zarysem otoczki jądrowej (ryc. 4). Równomiernie rozmieszczona heterochromatyna jądrowa tworzy miejscami niewielkie skupienia pod otoczką jądrową. W niektórych jądrach komórkowych widoczne jest typowe jąderko. Cytoplazma



Ryc. 4. Neurony typu II z obfitą cytoplazmą bogatą w organelle komórkowe, z dobrze rozbudowanym aparatem Golgiego (AG) oraz licznymi luźno rozrzuconymi neurotubulami (nt). 14 dni *in vitro*. Pow. 7600 \times

Fig. 4. Type II neurons with abundant cytoplasm rich in organelles, well-developed Golgi apparatus (AG) and numerous, dispersed neurotubules (nt). 14 days *in vitro*. \times 7600

bogata w organelle komórkowe zawiera rybosomy wolne lub związane z siatką śródplazmatyczną występującą w postaci różnej długości kanałów, mitochondria oraz dobrze rozbudowany aparat Golgiego. W cytoplazmie występują liczne neurotubule tworzące niekiedy większe ugrupowania oraz ciała gęste o jednorodnej lub lekko ziarnistej strukturze.

W hodowli po 14 dniach *in vitro* występują neurony typu III (ryc. 5), których cechą charakterystyczną jest duże jądro o nieregularnych kształtach, z głębokimi wcięciami otoczki jądrowej. Skąpa cytoplazma zawiera oprócz wolnych rybosomów, pojedynczych kanałów siatki śródplazmatycznej szorstkiej oraz licznych mitochondriów, stosunkowo znaczną ilość neurotubul. Neurony tego typu są na ogół dosyć rzadko spotykane w badanym materiale.

Typ IV neuronów stanowią nieliczne duże komórki, znacznie większe od poprzednio opisanych, o różnym wyglądzie jądra zależnym od płaszczyzny przekroju. Zwykle jądro ma kształt okrągły lub owalny i zawiera stosunkowo skąpą ilość heterochromatyny (ryc. 6). W obfitej cytoplazmie występują liczne organelle komórkowe. Poza dużą ilością wolnych rybosomów występują równoległe układy siatki śródplazma-

Ryc. 6. Neuron typu IV. Jądro ze stosunkowo skąpą ilością heterochromatyny. W cytoplazmie obecne liczne organelle komórkowe, równoległe układy siatki śródplazmatycznej szorstkiej (RER) oraz luźno rozrzucone neurotubule (nt). 22 dni *in vitro*. Pow. 11500 ×

Fig. 6. Type IV neuron. Nucleus with relatively small amount of heterochromatin. Cytoplasm rich in organelles with parallel channels of rough endoplasmic reticulum (RER) and loosely dispersed neurotubules (nt). 22 days *in vitro*. × 11500

Ryc. 7. Równoległe układy siatki śródplazmatycznej szorstkiej (RER) odpowiadające typowym ciałkom Nissla w cytoplazmie neuronu typu IV. 22 dni *in vitro*. Pow. 23000 ×

Fig. 7. Parallel lamellae of rough endoplasmic reticulum forming typical Nissl bodies in the cytoplasm of a type IV neuron. 22 days *in vitro*. × 23 000

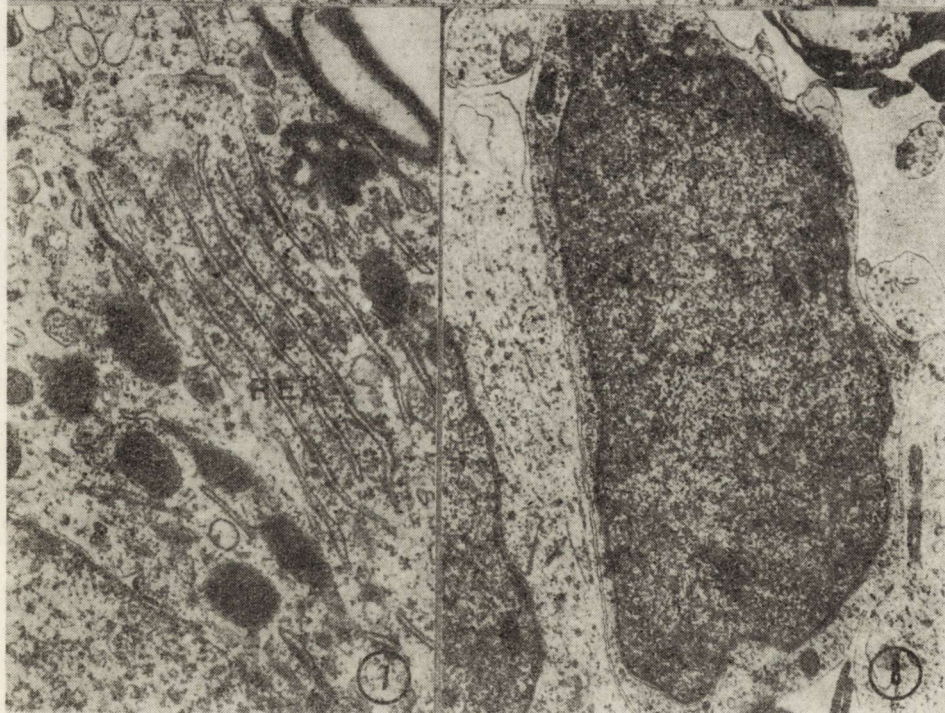
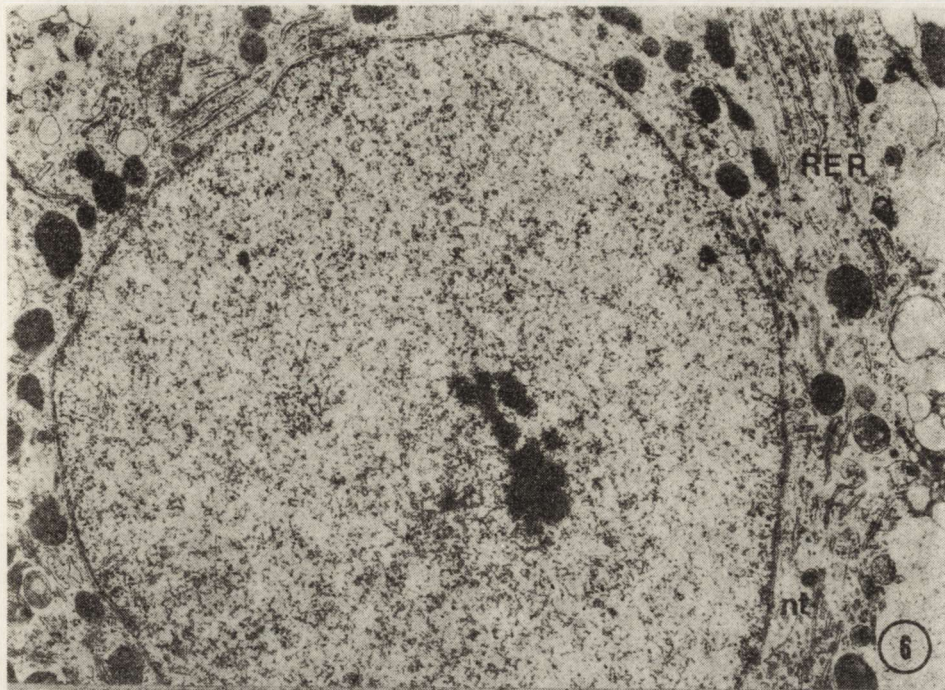
Ryc. 8. Neuron typu V ze stosunkowo dużym jądrem otoczonym skąpą, ciemną cytoplazmą zawierającą nieliczne organelle komórkowe. 22 dni *in vitro*. Pow. 13000 ×

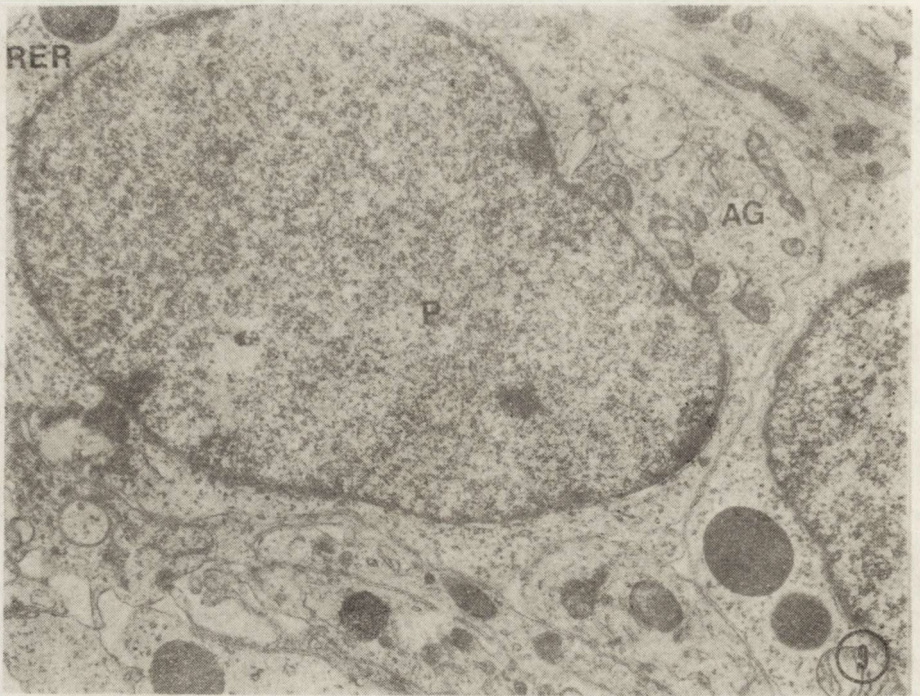
Fig. 8. Type V neuron with relatively large nucleus surrounded by thin rim of dense cytoplasm containing a few organelles. 22 days *in vitro*. × 13000



Ryc. 5. Neuron typu III z charakterystycznym głębokim wcięciem otoczki jądrowej. W cytoplazmie obecne pojedyncze neurotubule (nt). 18 dni *in vitro*. Pow. 20700 ×

Fig. 5. Type III neuron with characteristic deep invagination of the nuclear membrane. Cytoplasm containing scarce neurotubules (nt). 18 days *in vitro*. × 20700



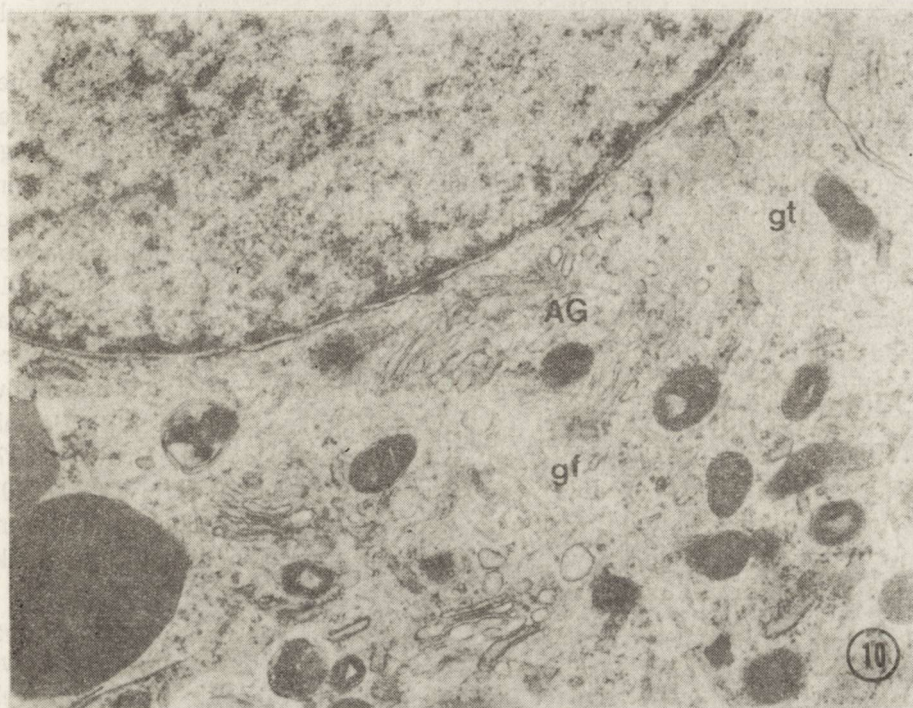


Ryc. 9. Astrocyt protoplazmatyczny (P) o stosunkowo jasnej cytoplazmie zawierającej dobrze rozbudowany aparat Golgiego (AG), nieliczne mitochondria i krótkie kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej (RER). 14 dni *in vitro*. Pow. 13800 ×
 Fig. 9. Protoplasmic astrocyte (P) with relatively pale cytoplasm containing enlarged Golgi apparatus (AG), a few mitochondria and short channels of rough endoplasmic reticulum (RER). 14 days *in vitro*. × 13800

tycznej szorstkiej (ryc. 7). Ten właśnie obraz szorstkiej siatki śródplazmatycznej stanowi cechę różnicującą tych neuronów. W pobliżu jądra widoczny jest zwykle dobrze rozbudowany aparat Golgiego. Mitochondria są liczne, mają wyraźnie zarysowane grzebienie. Neurotubule rozrzucone są pomiędzy organellami komórkowymi i nie tworzą większych skupień.

Poza opisanymi powyżej 4 typami neuronów obserwuje się sporadycznie bardzo małe komórki o ciemnym jądrze oraz elektronowo gęstej cytoplazmie, które należy raczej zaliczyć do komórek satelitowych niż do odrębnego typu neuronów. Jedynie niektóre z nich mają nieco bogatszą w organelle cytoplazmę, zawierającą liczne wolne rybosomy, krótkie łańcuchy siatki szorstkiej, pojedyncze mitochondria oraz dobrze rozwinięty aparat Golgiego. Komórki te można zaliczyć do V typu neuronów (ryc. 8), odpowiadających najmniejszym komórkom nerwowym prądkowia w hodowli organotypowej.

W dojrzałej hodowli w okresie 14–21 dni *in vitro*, szczególnie w strefie wzrostu, obserwuje się komórki glejowe przeważnie szeregu astrocytarnego (ryc. 9). W prądkowiu przeważają astrocyty protoplazma-



Ryc. 10. Fragment astrocytu z licznymi gliofilamentami (gf) oraz gliotubulami (gt). Dobrze rozbudowany aparat Golgiego (AG), 18 dni *in vitro*. Pow. 20700 \times

Fig. 10. Fragment of astrocyte with numerous gliofilaments (g) and gliotubules (gt). Well-developed Golgi apparatus (AG). 18 days *in vitro*. $\times 20\ 700$

tyczne, nie posiadające dużych nagromadzeń gliofilamentów, co powoduje trudności w różnicowaniu tych komórek z niektórymi neuronami, zwłaszcza typu I. Cechą charakterystyczną astrocytów jest wygląd jądra oraz jasna, a nawet wodnista cytoplazma zawierająca dobrze rozbudowany aparat Golgiego, nieliczne mitochondria i krótkie kanały siatki śródplazmatycznej szorstkiej. Czasami występują również pojedyncze struktury mikrotubularne rozrzucone luźno w cytoplazmie (ryc. 10).

OMÓWIENIE

W hodowli organotypowej, pomimo zachowania układów międzykomórkowych w eksplantacie, wyizolowanie tkanki i pozbawienie jej inervacji pochodzącej z innych ośrodków układu nerwowego, może powodować zmiany w procesie dojrzewania i różnicowania komórek nerwowych. Komórki nerwowe i glejowe *in vitro* mogą wykazywać pewne odrębne właściwości ultrastrukturalne w porównaniu z analogicznymi komórkami *in situ* (Raine, Bornstein 1974). Otrzymany obraz hodowli organotypowej prążkowiec nie odpowiada również w pełni typom komó-

rek nerwowych w hodowli komórkowej prowadzonej przez Panulę i wsp. (1979b).

Wydaje się, że I typ neuronów występuje *in vitro* w niezmienionej postaci w porównaniu z warunkami *in vivo*. Są one identyczne z opisanymi przez Moriego (1966) małymi neuronami prądkowia dorosłego szczura. Charakterystyczne, centralnie położone jądro, otoczone wąskim rąbkim cytoplazmy, stanowi dla nich cechę różnicującą. Skąpa cytoplazma zawiera stosunkowo dużą ilość wolnych rybosomów układających się w rozety. Komórki te obserwuje się od początku wzrostu hodowli. Nie zmieniają one swego wyglądu po okresie różnicowania. Czasami zawierają opisywane również *in vivo* ciała gęste. Komórki o podobnych właściwościach morfologicznych stanowią odpowiednik tzw. neuronów kolczystych średniej wielkości (Adinolfi, Pappas 1968; Kemp, Powell 1971; Fox i wsp. 1971/72; Mensah, Deadwyler 1974; Lu, Brown 1977) lub typu I neuronów średniej wielkości według Dimovej i wsp. (1980). W hodowli komórkowej prądkowia neurony te odpowiadają neuronom typu I wg opisu Panuli i wsp. (1979b). Autorzy ci podkreślają jednak, że nie zawierają one nigdy ciał gęstych.

Typ II neuronów wyróżniono ze względu na znacznie większą objętość bogatej w organelle komórkowe cytoplazmy i na mimośrodkowe położenie jądra komórkowego. Wydaje się, że część z tych komórek można zaliczyć również do typu I wg Panuli i wsp. (1979b) oraz do średniej wielkości neuronów kolczystych (Kemp, Powell 1971). Niektóre z nich mogą odpowiadać typowi III neuronów średniego rozmiaru wg Dimovej i wsp. (1980). Od tych ostatnich różnią się owalnym zwykle kształtem jąder oraz lekko nieregularnym zarysem otoczki jądrowej, nie tworzącej wyraźnych wgłobień, a także mniejszą ilością kanałów szorstkiej siatki śródplazmatycznej.

Typ III neuronów, charakteryzujących się dużym jądrem z głębokimi wpukleniami otoczki jądrowej nie był opisany w hodowli komórkowej przez Panulę i wsp. (1979b). Wydaje się, że może on odpowiadać typowi IV średniej wielkości neuronów kolczystych wg Dimovej i wsp. (1980).

Wszystkie powyżej opisane typy komórek nerwowych występujących *in vitro* reprezentują więc najliczniejsze postacie neuronów zaliczanych do grupy średniego rozmiaru kolczystych interneuronów (Kemp, Powell 1971). Neurony te są prawdopodobnie cholinergiczne (McGeer i wsp. 1971) lub GABA-ergiczne (McGeer, McGeer 1975). Uważa się, że neurony tego typu wyróżniają się obecnością krótkich aksonów (Fox i wsp. 1971/1972; Kemp, Powell 1971), tworzących synapsy z innymi komórkami prądkowia. Niektóre z nich *in vivo* dają początek drogom efferentnym (Grafova 1975; Fox, Rafols 1975, 1976).

Typ IV neuronów w hodowli organotypowej prądkowia wyróżnia się obecnością charakterystycznych układów szorstkiej siatki śródpla-

zmatycznej. Odpowiadają one neuronom typu II z hodowli komórkowej wg Panuli i wsp. (1979b). We własnym materiale komórki tego typu obserwowano dosyć rzadko, częściej po 18—22 dniach *in vitro*, w przeciwieństwie do danych Panuli i wsp. (1979b), którzy w hodowli komórkowej spostrzegali je równie często jak neurony typu I. W hodowli organotypowej charakterystyczne równoległe układy siatki śródplazmatycznej szorstkiej powstają stosunkowo rzadko. Okres 18—22 dniowy niezbędny jest do wykształcenia się typowych ziarnistości Nissla, którym w obrazie mikroskopowo-elektronowym odpowiadają wspomniane układy siatki śródplazmatycznej. Jest to taki sam okres, który w warunkach *in vivo* niezbędny jest dla osiągnięcia względnej dojrzałości przez neurony jądra ogoniastego w procesie rozwoju (Lu, Brown 1971). Typ IV neuronów można również porównać z jednym z dwu typów dużych neuronów Moriego (1966), z dużymi neuronami wg Adinolfi i Pappas (1968) i z komórkami olbrzymimi Dimovej i wsp. (1980). Niektórzy autorzy wyróżniają 2 typy dużych neuronów (Mori 1966; Pasik i wsp. 1976). Wydaje się jednak, że stwierdzone we własnym materiale różnice w wyglądzie dużych komórek nerwowych zależą raczej od płaszczyzny przekroju i nie upoważniają do wyodrębnienia ich różnych podtypów.

Ostatni typ V, najrzadziej spotykanych neuronów, może w istocie odpowiadać małym formom neuroglejowym Cajala lub małym komórkom nerwowym (Fox i wsp. 1974), a także najmniejszym neuronom wg Dimovej i wsp. (1980). W badaniach prowadzonych *in vitro* przez Panulę i wsp. (1979b) wyróżniono również najmniejsze neurony typu IV o podobnych właściwościach morfologicznych.

PIŚMIENNICTWO

1. Adinolfi A. M., Pappas G. D.: The fine structure of the caudate nucleus of the cat. *J. Comp. Neurol.*, 1968, 133, 167—184.
2. Dimova R., Vuillet J., Seite R.: Study of the rat neostriatum using a combined Golgi-electron microscope technique and serial sections. *Neuroscience* 1980, 5, 1581—1596.
3. Dray A.: The striatum and substantia nigra: a commentary on their relationships. *Neuroscience* 1979, 4, 1407—1439.
4. Fox C. A., Andrade A. N., Hillman D. E., Schwyn R.: The spiny neurons in the primate striatum: a Golgi and electron microscope study. *J. Hirnforsch.*, 1971/1972, 11, 181—201.
5. Fox C. A., Lu Qui I. J., Rafols J. A.: Further observations on Ramon y Cajal's „dwarf” or „neurogliaform” neuron and the oligodendroglia in the primate striatum. *J. Hirnforsch.*, 1974, 15, 517—527.
6. Fox C. A., Rafols J. A.: The radial fibres in the globus pallidus. *J. Comp. Neurol.*, 1975, 159, 177—200.
7. Fox C. A., Rafols J. A.: The striatal efferents in the globus pallidus and in the substantia nigra. W: The basal ganglia. Red. M. D. Yahr, Raven Press., New York 1976.

8. Grafova I.: The identification of striatal and pallidal neurons projecting to substantia nigra. An experimental study by means of retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *Brain Res.*, 1975, 91, 286—291.
9. Kemp J. M., Powell T. P. S.: The structure of the caudate nucleus of the cat: light and electron microscope. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. (Biol.)*, Ser. B, 1971, 262, 388—401.
10. Lu E. J., Brown W. J.: The developing caudate nucleus in the euthyroid and hypothyroid rat. *J. Comp. Neurol.*, 1977, 171, 261—281.
11. McGeer P. L., McGeer E. G., Fibiger H., Wickson V.: Neostriatal choline acetylase and cholinesterase following selective brain lesions. *Brain Res.*, 1971, 35, 308—314.
12. McGeer E. G., McGeer P. L.: Evidence for glutamic acid decarboxylase-containing interneurons in the neostriatum. *Brain Res.*, 1975, 91, 331—335.
13. Mensah P., Deadwyler S.: The caudate nucleus of the rat: cell types and the demonstration of a commissural system. *J. Anat.*, 1974, 117, 281—293.
14. Mori S.: Some observations on the fine structure of the corpus striatum of the rat brain. *Z. Zellforsch.*, 1966, 70, 461—488.
15. Panula P., Rechart L., Hervonen H.: Observation on the morphology and histochemistry of the rat neostriatum in tissue culture. *Neuroscience* 1979a, 4, 235—248.
16. Panula P., Rechart L., Hervonen H.: Ultrastructure of cultured rat neostriatum. *Neuroscience* 1979b, 4, 1441—1452.
17. Pasik P., Pasik T., Di Figlia M.: Quantitative aspects of neuronal organization in the neostriatum of the macaque monkey. W: *The basal ganglia*, Red. M. D. Yahr, Raven Press, New York 1976, 57—89.
18. Raine C. S., Bornstein M. B.: Unusual profiles in organotypic cultures of central nervous tissue. *J. Neurocyt.*, 1974, 3, 313—325.
19. Wilson S. A. K.: An experimental research into the anatomy and physiology of the corpus striatum. *Brain* 1912, 36, 427—492.

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ КАРТИНА НЕРВНЫХ КЛЕТОК ПОЛОСАТОГО ТЕЛА В ОРГАНОТИПИЧНОЙ КУЛЬТУРЕ IN VITRO

Резюме

Проведено ультраструктурные наблюдения созревающих клеток полосатого тела в органотипичной культуре в течение 28 дней *in vitro*. Выделено 5 типов нервных клеток на основании разниц в морфологической картине ядра, избылия цитоплазмы, а также наличия клеточных оргanelлов, как напр. рибосомы, аппарата Гольджи, RER и нервных трубок. Наиболее многочисленно выступали нейроны т. наз. I типа, отвечающие средней величине нейронам полосатого тела *in vivo*.

ULTRASTRUCTURE OF NERVE CELLS IN ORGANOTYPIC
CULTURES OF THE RAT NEOSTRIATUM

Summary

Ultrastructural study was performed on organotypic cultures of the rat neostriatum maintained up to 28 days *in vitro*. Five different types of neurons were distinguished according to the shape of the nucleus, abundance of the cytoplasm and presence of cytoplasmic organelles such as ribosomes, Golgi apparatus, rough endoplasmic reticulum and neurotubules. Most numerous were type I neurons corresponding to the medium-sized neurons observed *in vivo*.

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

ANDRZEJ KAPUŚCIŃSKI, MIROSLAW J. MOSSAKOWSKI

UNCOUPLING BETWEEN RECOVERY OF CORTICAL
BIOELECTRIC ACTIVITY AND PROGRESSION
OF MORPHOLOGICAL ALTERATIONS AFTER CEREBRAL
ISCHEMIA IN GERBILS

Department of Neuropathology, Medical Research Center, Polish Academy of
Sciences

The aim of the study was to evaluate recovery of the cortical bioelectric activity (ECoG) after 30 min bilateral occlusion of the common carotid artery in gerbils, and to analyse the causes of its secondary decline.

MATERIAL AND METHODS

The experiments were carried out in 22 adult Mongolian gerbils under intraperitoneal pentobarbital anesthesia (70 mg/kg). Two groups of animals were studied — 10 with pathophysiological control and survival time up to 9 hrs, and 12 without above control to assess progression of morphological alterations. All surgical procedures were performed using 12.5 × binocular operating microscope. In animals from the first group electrocorticogram — mono-polar and bipolar leads, electrocardiogram — second limbic lead and blood pressure from the femoral artery were continuously recorded. An anterior midline cervical incision was made and both common carotid arteries were separated free from accompanying structures. Bilateral common carotid artery occlusion of 30 min duration was produced with aneurysm clips. Animals were tracheotomised, and during the period of respiratory disturbances (12—13 min after occlusion) supportive controlled ventilation was applied. Cerebral bioelectric activity was evaluated on the basis of 5 grade score. Postmortem intra-aortic dye injection was performed to demonstrate communications between vertebro-basilar and carotid arterial systems. Animals from the second group were sacrificed every

hour after ischemia in groups of two up to 6 hrs, perfused with saline, and fixed with formaline. Routine histological staining (hematoxylin-eosin, Klüver-Barrera) was applied.

RESULTS

After common carotid arteries occlusion blood pressure increased around 40 mm Hg and in a majority of cases it was never below the control values till the end of cerebral ischemia. During the whole ischemic period the bioelectric silence was recorded from the cerebral cortex. Between 10 and 12 min of cerebral ischemia the respiratory disturbances developed and it was necessary to employ supportive controlled ventilations. Since 10—15 min of cerebral ischemia progressing bradycardia developed which was moderate at the end of ischemic period. Release of the common carotid arteries occlusion produced always a rapid drop of blood pressure which later on normalized, however, in 3 cases pharmacological support was necessary. Recovery of ECoG took place between 50 min and 3 hrs after the end of cerebral ischemia starting from the low frequency high voltage bioelectric activity reaching in two animals the control tracing. However, in 8 animals it never reached the control values being 25—50% lower as compared to the control amplitude and frequency. After this period secondary slow, progressive decline of ECoG appeared, and animals survived less than 9 hrs.

The morphological alterations were symmetrical and appeared already 1 h after ischemia. They were characterized by vacuolization of neuropil with generally unchanged neurons. Since 2—3 h after ischemia progression of alterations was distinct and characterized by tissue rarefaction and disseminated degenerative changes i.e. ischemic cells in neocortex and hippocampus. Since 4 h after ischemia, typical edematous alterations appeared in the white matter accompanied by demarcated necrotic areas in the grey structures. Focal necrosis in the neocortex and hippocampus (H2 sector) with fully developed edematous features of the white matter were evident in the 6th hour after ischemia.

Postmortem intra-aortic dye injection revealed in all animals very small vessels linking the basilar artery with the posterior cerebral arteries, providing insufficient communication between the vertebro-basilar and carotid circulations.

DISCUSSION

The results confirmed our former studies (Pluta, Kapuściński 1980) and those of other authors (Hossmann, Zimmerman 1974) that spontaneous bioelectric activity may recover even after 30 min of cerebral

ischemia in normothermic conditions. In a majority of cases the cerebral bioelectric activity progressively deteriorates leading finally to the brain death. Abnormalities in brain circulation that occur during the recovery period may play an important role in the pathomechanism of irreversible tissue lesions (Mossakowski 1978). The above data clearly show that during recovery of ECoG with tendency toward normalization, considerable progression of structural alterations exists with dominance of cytotoxic edema. They suppress the bioelectric activity for the second time leading to brain death. After longer period of cerebral ischemia even normalization of ECoG seems to be of no prognostic value. The widespread microscopic damage can be predicted by quite different sets of clinical criteria for brain death (Black 1978). The clinical evaluation considering the duration of cerebral ischemia seems to be the crucial survival prognostic factor.

REFERENCES

1. Black P. Mcl.: Brain death. Part I and Part II. *N. Engl. J. Med.*, 1978, 299, 338—344, 393—401.
2. Hossmann K. A., Zimmermann V.: Resuscitation of the monkey brain after 1 h complete ischemia. I. Physiological and morphological observations. *Brain Res.*, 1974, 81, 59—74.
3. Mossakowski M. J.: Cerebral circulation disturbances in various hypoxic conditions. In: *Advances in neurology*, Vol. 20: Pathology of cerebrospinal microcirculation. Eds. J. Cervós-Navarro, E. Betz, G. Ebhardt, R. Ferszt, R. Wüllenweber, Raven Press, New York, 1978, pp. 161—171.
4. Pluta R., Kapuściński A.: Całkowite niedokrwienie mózgu a czynność bioelektryczna, *Neuropat. Pol.*, 1980, 18, 41—52.

ROZPRZEŻENIE POMIĘDZY POWROTEM KOROWEJ AKTYWNOŚCI BIOELEKTRYCZNEJ I POSTĘPEM ZMIAN MORFOLOGICZNYCH PO NIEDOKRWIENIU MÓZGU U CHOMIKÓW MONGOLSKICH

Streszczenie

W znieczuleniu pentobarbitalem u 22 chomików mongolskich wykonano 30-minutowe niedokrwienie mózgu przez obustronne zamknięcie tętnicy szyjnej wspólnej. Podczas niedokrwienia i w okresie poischemicznym u zwierząt oceniono zmiany ciśnienia krwi, czynności oddechowej i serca oraz aktywności bioelektrycznej kory mózgu. Pośmiertnie oceniono zmiany morfologiczne w mózgu. Spontaniczna czynność bioelektryczna kory mózgu powracała pomiędzy 50 min i 3 godz. po zakończeniu niedokrwienia mózgu, osiągając w niektórych przypadkach kontrolną amplitudę i częstotliwość zapisu. Podczas powrotu czynności bioelektrycznej mózgu z tendencją w kierunku normalizacji obserwowano progresję zmian strukturalnych z dominowaniem obrzęku cytotoksycznego.

Rozwój zmian strukturalnych powodował pogorszenie czynności bioelektrycznej prowadząc do śmierci mózgu. Wyniki badań wskazują, że kliniczny pogląd biorący pod uwagę czas trwania niedokrwienia mózgu wydaje się być uzasadniony i jest głównym czynnikiem prognostycznym przeżycia.

ДЕЗОРГАНИЗАЦИЯ МЕЖДУ ВОЗВРАЩЕНИЕМ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ КОРКОВОЙ АКТИВНОСТИ И ПРОГРЕССОМ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ПОСЛЕ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА У МОНГОЛЬСКИХ ХОМЯКОВ

Резюме

В анестезии пентобарбиталом у 22 монгольских хомяков авторы произвели 30-минутную ишемию головного мозга при помощи двустороннего закрытия общей сонной артерии. Во время ишемии и в постисшемическом периоде они оценили у животных изменения давления крови, дыхательной функции и деятельности сердца, биоэлектрической активности мозговой коры, а также морфологические изменения. Спонтанная биоэлектрическая функция мозговой коры возвращалась между 50 мин. и 3 час. после окончания ишемии головного мозга, достигая в некоторых случаях контрольную амплитуду и частоту записи. Во время возвращения биоэлектрической функции головного мозга со стремлением в направлении нормализации авторы наблюдали прогрессию структуральных изменений с доминированием цитотоксического отека.

Развитие структуральных изменений вызывало ухудшение биоэлектрической функции и приводило к смерти головного мозга. Результаты исследований показывают, что клиническое мнение, принимающее во внимание продолжительность ишемии головного мозга кажется быть обоснованным и является главным прогностическим фактором переживания.

Authors' address: Medical Research Center, Polish Academy of Sciences, 3 Dworkowa Str., 00-784 Warszawa

MILENA LAURE-KAMIONOWSKA, TADEUSZ MAJDECKI

ZESPÓŁ ZMIAN W UKŁADZIE NERWOWYM PŁODÓW JAKO NASTĘPSTWO USZKODZENIA ŚRÓDCIAŻOWEGO

Pracownia Neuropatologii Rozwojowej Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN

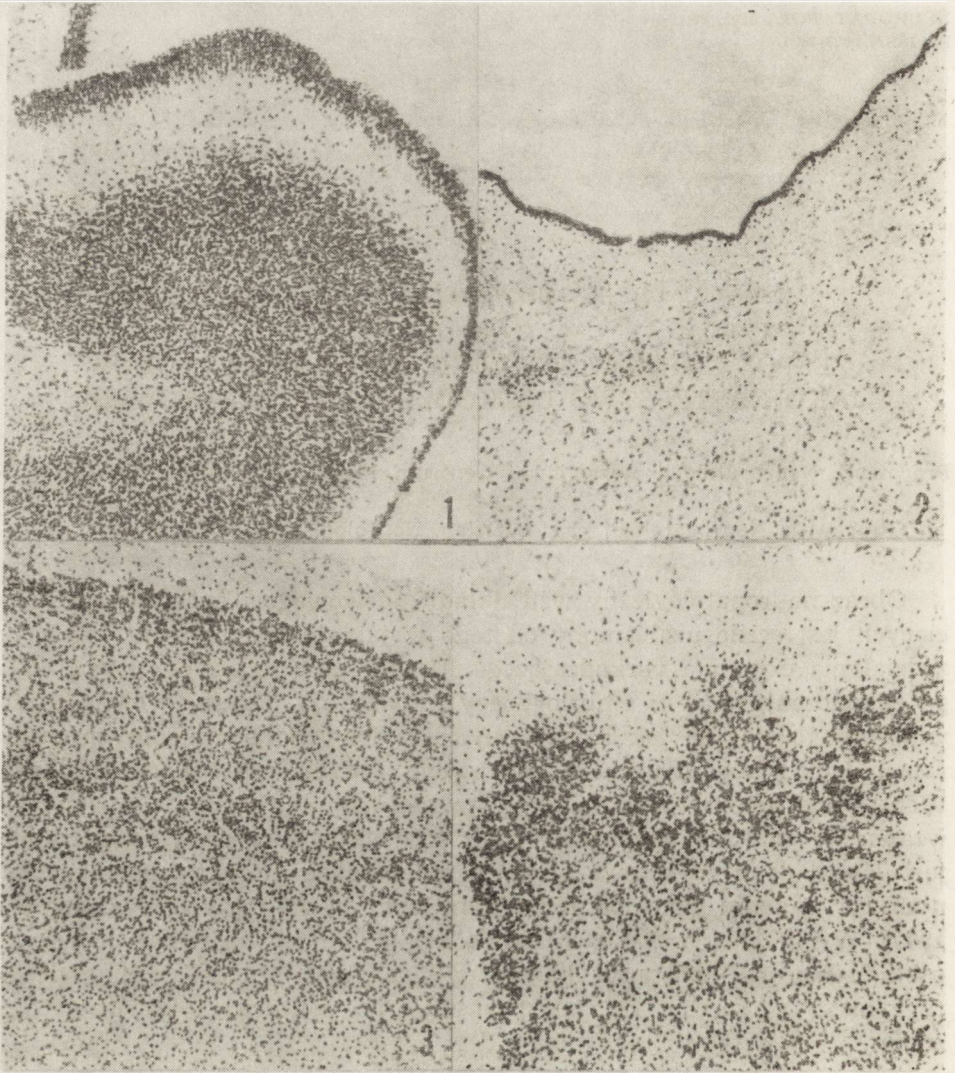
Pracownia Neuropatologii przy Oddziale Neurologicznym CSK, Międzylesie

Obraz neuropatologiczny wad układu nerwowego i encefalopatii dziecięcych jest ściśle uzależniony od tego w jakiej fazie rozwoju doszło do zadziałania czynnika uszkodzającego. Uszkodzenia egzogenne powstające po zakończeniu okresu embriogenezy przybierają postać zarówno martwic różnego stopnia jak i zaburzeń rozwojowych poszczególnych późno różnicujących się struktur ośrodkowego układu nerwowego (Ostertag 1956). Mogą one współistnieć w tym samym przypadku jako zjawiska wzajemnie ze sobą powiązane. Jeśli śródciażowy czynnik uszkodzający jest łatwy do stwierdzenia, jego powiązanie ze zmianami obserwowanymi w badaniu neuropatologicznym wydaje się oczywiste (Larroche 1977). W innych przypadkach, mimo braku danych na temat przyczyny uszkodzenia, na podstawie badania neuropatologicznego można odtworzyć historię procesu, który doprowadził do powstania obserwowanych zmian.

OPIS PRZYPADKÓW

Przypadek 1. Noworodek płci żeńskiej pochodzący z pierwszej ciąży u młodej matki (brak jakichkolwiek danych o przebiegu ciąży). Poród nastąpił w 40 tygodniu siłami natury. W czasie porodu stwierdzono wielowodzie. Noworodek był dystroficzny, ważył 2000 g przy długości ciała 44 cm. Na skórze zaobserwowano rybią łuskę. Zmarł po dwóch godzinach.

Na sekcji ogólnej nie stwierdzono wad w obrębie narządów wewnętrznych. Mózg był bardzo mały — wagi 60 g (norma 400 g). Zewnętrzny wygląd uzwojenia kory mózgu odpowiadał 30—32 tygodniowi rozwoju.



Ryc. 1. Kora półkul mózdzku. Wiek rozwojowy 34—36 tygodni. Przypadek 1. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×

Fig. 1. Cerebellar hemisphere cortex. Developmental age 34—36 weeks. Case 1. Cresyl violet. × 100

Ryc. 2. Zasób gniazd macierzy przykomorowej. Wiek rozwojowy 34—36 tygodni. Przypadek 1. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×

Fig. 2. Nests of paraventricular matrix. Developmental age 34—36 weeks. Case 1. Cresyl violet. × 100

Ryc. 3. Kora ruchowa półkul mózgu. Wiek rozwojowy 24—26 tygodni. Przypadek 1. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×

Fig. 3. Motor cortex of cerebral hemispheres. Developmental age 24—26 weeks. Case 1. Cresyl violet. × 100

Ryc. 4. Nieprawidłowe uzwojenie w płacie skroniowym. Przypadek 1. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×

Fig. 4. Abnormal gyration in temporal cortex. Case 1. Cresyl violet. × 100

Do badania mikroskopowego pobrano wycinki z półkul mózgu, pnia mózgu i mózdzku. Skrawki barwiono hematoksyliną-eozyną, fioletem krezyłu, według metody Klüver-Barrery i Holzera. W badaniu mikroskopowym na podstawie budowy kory mózdzku można było ocenić rozwój układu nerwowego na 34—36 tygodni życia płodowego (ryc. 1). W półkulach, migracja neuroblastów do kory była zakończona, warstwa rozrodcza okołokomorowa była prawie w pełni wyczerpana (ryc. 2). Oba te zjawiska można odnieść do 34—36 tygodnia rozwoju. Kora była niezróżnicowana pod względem uwarstwienia, a neurony były bardzo niedojrzałe. Obraz kory odpowiadał 24—26 tygodniowi rozwoju (ryc. 3). Stwierdzono ogniskowo nieprawidłowe wykształcenie zawojów III-rzędowych o typie mikrogirii (ryc. 4). Poza zaburzeniami rozwoju zaobserwowano uszkodzenie kory w formie przerzedzenia komórek nerwowych, dużej ilości mikrogleju i rozplemu śródbłonnków najwyraźniejsze w płacie skroniowym. W istocie białej napotkano ogniskowe, niewielkie rozrzedzenie struktury. Pobudzone komórki glejowe w obrębie rozrzedzenia świadczyły o tym, że zmiana ta nie była artefaktem. Naczynia krwionośne były przepełnione krwią. Mózdzek oceniono jako znacznie mniej uszkodzony, w korze stwierdzono tylko niewielkie zmiany. Ciężko uszkodzone było jedynie jądro zębate. Podobnie zmienione były jądra pnia mózgu, gdzie zachowały się tylko pojedyncze komórki nerwowe. Widoczna była duża ilość mikrogleju i bujanie śródbłonnków naczyń. Mielinizacja dróg nerwowych na poziomie pnia mózgu, odpowiadała 28—30 tygodniowi rozwoju.

Przypadek 2. Noworodek również donoszony, od matki 40-letniej. W czasie ciąży wystąpiły u matki obrzęki kończyn dolnych uznane za objawy zatrucia ciążowego. Zagrożająca wewnątrzmaciczna śmierć płodu (bradykardia) była wskazaniem do cięcia cesarskiego. Noworodek urodzony w zamartwicy, z pojedynczymi uderzeniami serca, bez czynności oddechowej, zmarł w kilka minut po porodzie. U dziecka stwierdzono wady rozwojowe — niedorozwój narządów płciowych zewnętrznych i kończyn dolnych.

W badaniu makroskopowym i lupowym stwierdzono, że mózg był mały z cechami wodogłowia (ryc. 5), a mózdzek i pień niedokształcony.

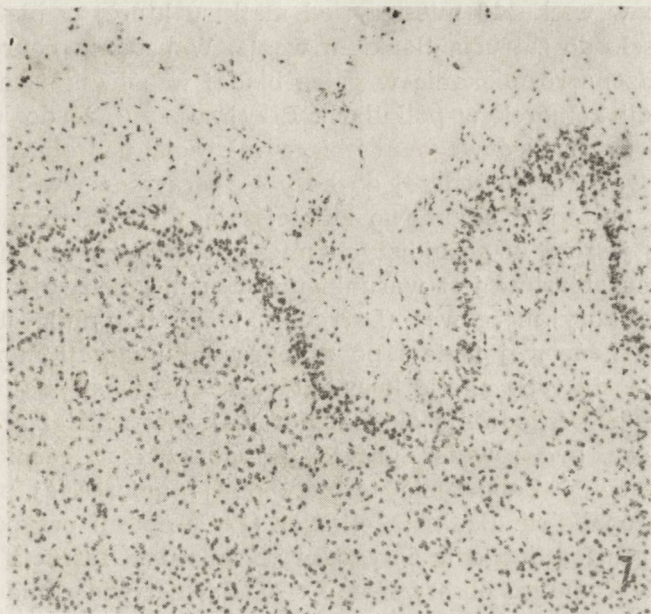
Wynik badania mikroskopowego: kora niezróżnicowana na warstwy, zbudowana z neuroblastów, bardzo młoda, jej rozwój odpowiadał 20—22 tygodniowi rozwoju (ryc. 6). Na poziomie skroni zmiany o typie mikrogirii. Poza tym kora wykazywała cechy uszkodzenia, bardzo zmieniona była zwłaszcza amonalna z prawie zupełnym brakiem komórek nerwowych i zastępczym przerostem gleju (ryc. 7). W obrębie zwojów podstawy widoczny był również zanik neuronów z wtórną glejozą. W istocie białej napotkano przewleklą bezodczynową martwicę niezupełną. W okolicy przykomorowej ogniskowe zwapnienia w miejscach krwotoków. Wyściółka komory była zmieniona, miejscami bujał glej



Ryc. 5. Microcefalia. Wodogłowie. Przypadek 2. HE
 Fig. 5. Microcephaly. Hydrocephalus. Case 2. HE



Ryc. 6. Kora ruchowa półkul mózgu. Wiek rozwojowy 20—22 tygodnie ciąży. Przypadek 2. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×
 Fig. 6. Motor cortex of cerebral hemispheres. Developmental age 20—22 weeks of pregnancy. Case 2. Cresyl violet. × 100



Ryc. 7. Zawoje kory płata skroniowego. Przypadek 2. Fiolet krezyłu. Pow. 100 ×
 Fig. 7. Cortical gyri of temporal lobe. Case 2. Cresyl violet. × 100

podwyściółkowy. Pod wyściółką znaleziono liczne cysty podwyściółkowe. W pniu mózgu stwierdzono uszkodzenie komórek nerwowych z wtórną glejozą. Mózdzek był niedokształcony z jamistym rozpadem istoty białej i blizną w obrębie kory mózdku.

OMÓWIENIE

W obu przedstawionych przypadkach stwierdzono podobne typy zmian — niewielkie wady rozwojowe kory, znaczne opóźnienie dojrzewania *neocortex* i uszkodzenia parenchymalne. Uszkodzenia te o typie encefalopatii zaobserwowano przede wszystkim w obrębie struktur filogenetycznie starych: pnia, zwojów podstawy i starej kory skroniowej. W okolicach tych doszło do uszkodzenia komórek nerwowych z wtórną reakcją glejową. Począwszy od czwartego miesiąca życia płodowego może wystąpić zniszczenie przez czynnik szkodliwy już wykształconych struktur, z właściwym dojrzewającemu narządowi odczynem rozbiórkowo-reparacyjnym, cechującym się skłonnością do jamistego rozpadu i niepełnym bliznowaceniem. Zmiany tego typu w układzie nerwowym wskazują, że objęte nimi okolice osiągnęły w chwili uszkodzenia wystarczające zróżnicowanie strukturalne.

W okolicach młodych filogenetycznie ten sam czynnik może spowodować zmiany o typie wady. Obserwowano je niejednokrotnie w korze mózgu. Pierwszy podobny przypadek opisał Hallervorden (1949) u dzie-

ka zmarłego w wieku 13 miesięcy, od matki u której w piątym miesiącu ciąży doszło do zatrucia tlenkiem węgla. W badaniu neuropatologicznym stwierdzono rozmiękanie w gałce bladej współistniejące z zaburzeniem migracji komórek w półkulach. Przyjmuje się, że do końca piątego miesiąca życia płodowego przebiega migracja neuroblastów z przykomorowej warstwy rozrodczej do kory — początkowo w 2—3 miesiącu intensywna, następnie stopniowo zmniejszająca się. Nieliczne neuroblasty migrują jeszcze w późniejszych miesiącach życia. Prawidłowe osiedlanie się neuroblastów jest warunkiem normalnego uzwojenia i budowy wewnętrznej kory mózgowej (Larroche 1962). Czynniki uszkodzające działające w końcowej fazie i po zakończeniu migracji może zaburzyć kształtowanie się tych okolic kory, które różnicują się najintensywniej w tym okresie. Uszkodzenia okołokomorowej istoty białej przed końcem migracji mogą być również przyczyną zaburzeń w różnicowaniu się warstwy korowej. Zaburzenia te przybierają najczęściej postać wady o typie mikropoligirii. Bankl i Jellinger (1967) opisali przypadek wcześniaka 34 tyg. urodzonego w 6 tygodni po epizodzie zatrucia matki tlenkiem węgla. W mózgu obserwowano rozległą martwicę pnia i częściowo półkul mózgu oraz mikrogirię w płacie skroniowym.

W przedstawionych przez nas przypadkach poza uszkodzeniami o typie encefalopatii i ogniskami wadliwego ukształtowania kory stwierdziliśmy uogólnione opóźnienie dojrzewania *neocortex*. Do zahamowania rozwoju kory doszło około 22—26 tygodnia ciąży. Opóźnienie rozwoju kory pozwala na dokładne określenie czasu zadziałania czynnika uszkodzającego. Zahamowanie procesu dojrzewania stwierdzono w pierwszym przypadku również w zakresie mielinizacji dróg pnia, które fizjologicznie mielinizują się w drugiej połowie ciąży.

Przedstawione przypadki można zaliczyć do grupy tzw. późnych wad rozwojowych ze względu na rodzaj nieprawidłowości uzwojenia. Ukazują one rzadko spotykany zespół następstw uszkodzenia śródciążowego, w którym współistnieją trzy typy zmian: 1) uszkodzenie struktur już wykształconych w momencie zadziałania czynnika egzogenego, 2) niewielkie wady rozwojowe, 3) opóźnienie procesów dojrzewania widoczne przede wszystkim w różnicowaniu warstwowym i dojrzewaniu neuronów kory, a także wtórnie w procesie mielinizacji.

PIŚMIENNICTWO

1. Bankl H., Jellinger K.: Zentralnervöse Schaden nach fetales Kohlenoxydvergiftung. Beitr. Path. Anat., 1967, 135, 350—376.
2. Hallervorden J.: Über eine Kohlenoxydvergiftung im Fettaalehen mit Entwicklungsstrungen der Hirnrunde. Allg. Zchr. Psychiatr., 1949, 124, 289—298.
3. Larroche J. C.: Quelques aspects anatomiques du developpement cerebral. Biol. Neonate 1962, 4, 126—153.

4. Larroche J. C.: Developmental pathology of the Neonate. Excerpta Medica. Amsterdam, London, New York 1977.
5. Ostertag B.: Die Einzelformen Der Verbildungen. W: Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie und Histologie. Red. O. Lubarsch, F. Henke, R. Rossle. Springer Verlag 1956, 13/4, 363—601.

СИМПТОМОКОМПЛЕКС ИЗМЕНЕНИЙ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ ПЛОДОВ КАК ПОСЛЕДСТВИЕ СРЕДИБЕРЕМЕННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

Резюме

В сообщении представлены два случая указывающие симптомокомплекс последствий средибеременного повреждения, в котором сосуществуют три типа изменений: 1. повреждение структур сформированных уже в моменте начала действия экзогенного фактора; 2. небольшие пороки развития; 3. замедление процессов созревания, главным образом коры. Этот редкий симптомокомплекс изменений позволил, несмотря на недостаток клинического диагноза, установить время начала его действия.

CHANGES IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM OF FETUSES FOLLOWING IMPAIRMENT DURING PREGNANCY

Summary

The report deals with two cases showing the results of impairment during pregnancy, in which three types of changes coexist: 1) damage of structures already existing at the moment of exposure to the pathogenic factor, 2) slight developmental anomalies, 3) delay of maturation, mostly concerning the cortex.

Despite the lack of clinical diagnosis of the noxious factor, the rare complex of changes allowed to establish the time at which the factor had operated.

Adres autorów: Pracownia Neuropatologii Rozwojowej Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, ul. Pasteura 3, 02—093 Warszawa

PRZEMYSŁAW NOWACKI, KRYSZYNA HONCZARENKO, JERZY KULCZYCKI,
KRYSZYNA WICHERT, MARIA BRANDOWSKA

ZMIANY W OŚRODKOWYM UKŁADZIE NERWOWYM W PRZEBIEGU OSTREJ BIAŁACZKI

Klinika Neurologii Instytutu Chorób Układu Nerwowego i Narządów Zmysłów
PAM w Szczecinie

Klinika Hematologii Instytutu Chorób Wewnętrznych PAM w Szczecinie

Uszkodzenie ośrodkowego układu nerwowego (oun) u chorych z białaczką jest zjawiskiem częstym. Przyjmuje się, że bezpośrednią przyczyną powikłań najczęściej są krwotoki i nacieki białaczkowe (Freireich i wsp. 1960; Mossakowski i wsp. 1962; Czarnecki, Niezabitowski 1963; Babalian 1969; Mc Cormick, Rosenfield 1973; Wolk i wsp. 1974). Rzadziej związane jest ono z wtórnym zakażeniem oun, bądź z ostrym niedotlenieniem tkanki nerwowej (Nieri 1968; Badalian 1969). W ostatnim czasie zwiększyło się zainteresowanie powikłaniami neurologicznymi towarzyszącymi białaczkę, gdyż pojawiają się one coraz częściej u osób cierpiących na tę chorobę. Wzrost liczby przypadków z powikłaniami neurologicznymi związany jest z zastosowaniem nowych sposobów leczenia, a co się z tym wiąże, z przedłużeniem życia chorych (Mossakowski i wsp. 1962; West 1972; Borowska-Lehman, Nyka 1978). Wciąż jednak szereg zjawisk zachodzących w oun nie zostało w pełni wyjaśnionych. Nadal nie ma pewności, czy zmiany krwotoczne wynikają jedynie z małopłytkowości, czy też są zjawiskiem wtórnym, zależnym między innymi od uszkodzenia naczyń mózgowych przez komórki białaczkowe. Niejasny jest również mechanizm gromadzenia komórek białaczkowych. Problemy te stały się inspiracją do niniejszej pracy, w której zmiany krwotoczne i naciekowe w oun towarzyszące białaczkę, przeanalizowano pod kątem ich zależności od liczby płytek krwi i leukocytów we krwi obwodowej.

MATERIAŁ I METODY

Wykonano badania neuropatologiczne u 14 osób zmarłych z rozpoznaniem ostrej białaczki nieлимfoblastycznej (ANLL) i 2 z rozpoznaniem ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL). Wszyscy chorzy byli leczeni

w Klinice Hematologii Instytutu Chorób Wewnętrznych PAM w latach 1977—1979. W badanej grupie było 10 mężczyzn i 6 kobiet w wieku od 18 do 63 lat. Po ocenie makroskopowej materiału, pobierano wycinki z miejsc typowych oraz wszystkich zmienionych patologicznie, utrwalano w 8% roztworze formaliny. Skrawki parafinowe barwiono hematoksyliną-eozyną, fioletem krezylu oraz metodą van Gieson.

Rozpoznanie typu białaczki ustalono w oparciu o badania morfologiczne krwi i szpiku oraz cytochemiczne (reakcja PAS) i cytoenzymatyczne blastów (reakcja peroksydazowa metodą Sato i reakcja na obecność esterazy naftylo-octanowej).

WYNIKI

W przebadanych mózgach spostrzegano 3 typy zmian: krwotoczne, martwicze i nacieki białaczkowe.

W badaniu makroskopowym mózgu w 12 przypadkach (11 ANLL i 1 ALL) obserwowano ogniska krwotoczne (w 10 krwotok, w 2 ukrwotoczona martwica). Ich rozmieszczenie przedstawia tabela 1. Najczęściej krwotoki występowały w istocie białej półkul mózgu, rzadziej mózdzku. Korę półkul mózgowych ogniska krwotoczne obejmowały tylko w 3 przypadkach, natomiast w półkulach mózdzku występowały prawie tak samo często w korze, jak i w istocie białej. Niewielkie, pojedyncze krwotoki w moście obserwowano w 2 przypadkach, choć we wszystkich mózgach były cechy dużego obrzęku mózgu, zwłaszcza tam, gdzie obecne były masywne krwotoki w półkulach. Jądra podstawy krwotok uszkadzał w 2 przypadkach; w jednym częściowo (przedmurze i łupina), w drugim prawie całkowicie, przebijając się do komory bocznej.

Tabela 1. Lokalizacja zmian krwotocznych w ośrodkowym układzie nerwowym

Table 1. Localization of hemorrhagic changes in the central nervous system

Półkule mózgu Cerebral hemispheres			Pień mózgu Cerebral stem	Mózdzek Cerebellum		Opony Meninges	
kora cortex	istota biała white matter	jądra podstawy basal nuclei		istota biała white matter	istota szara grey matter	twarda dura	mięka pia
	12	2	1	4	3	3	9

Ogniska krwotoczne były najczęściej duże o regularnych granicach, dobrze oddzielone od otoczenia, w 3 przypadkach pojedyncze, w 6 mnogie, w 2 liczne, drobne, rozsiane w całym oun, prawie zawsze w istocie białej. W jednym przypadku ognisko krwotoczne składało się z punkciowatych wybroczyn w istocie białej i przyległej korze.

Krwawienie podpajęczynówkowe, ograniczone do rowków, w 9 przypadkach towarzyszyło dużym ogniskom mózgowym, tylko w jednym mózgu stanowiło zjawisko samodzielne. W jednym przypadku występował masywny krwotok pod twardówką rdzenia kręgowego w odcinku szyjnym i piersiowym. W 6 przypadkach krwotoki zawierały pierścieniowate, szarawe grudki, średnicy do 1 cm.

Ogniska krwotoczne w przebadanych mózgach były do siebie bardzo podobne, nie licząc przypadku z drobnymi punkcikowatymi wybroczynami.

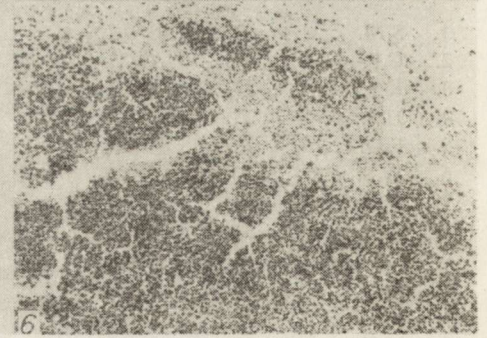
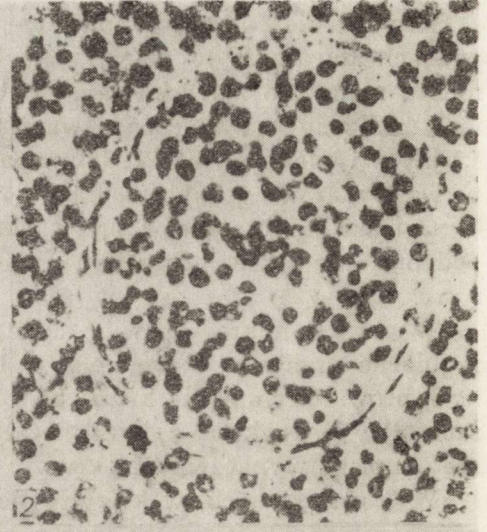
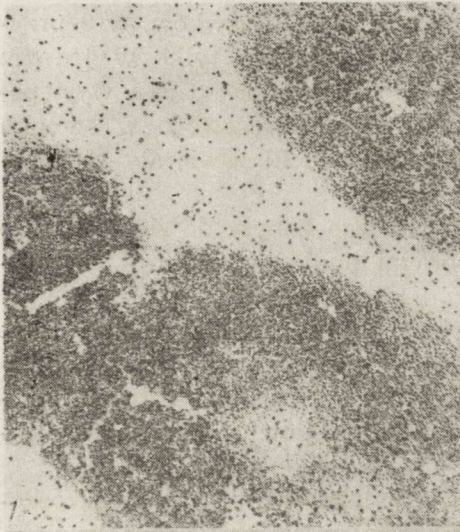
W obrazie mikroskopowym duże ogniska krwotoczne posiadały ostre regularne granice z otoczeniem, w którym występowały liczne, podłużne lub owalne mniejsze krwotoki, również o regularnych, ostrych obrysach (ryc. 1). Niektóre z ognisk leżały blisko siebie, zlewając się w większe skupiska wynaczynionej krwi.

W 2 przypadkach, w których nie było zmian widocznych makroskopowo oraz w 12 opisanych wyżej, obserwowano liczne, drobne krwinki, występujące we wszystkich okolicach oun. Niekiedy ograniczały się one do poszerzonej przestrzeni okołonaczyniowej wokół drobnych tętniczek i żył (ryc. 2). Częściej jednak występowały niezależnie od naczyń, wówczas posiadały mniej regularne obrysy. Ogniska te nie podlegały żadnej

Tabela 2. Zależność między poziomem płytek we krwi obwodowej a zmianami krwotocznymi w ośrodkowym układzie nerwowym

Table 2. Relationship between the thrombocytes level in peripheral blood and hemorrhagic changes in the central nervous system

Przypadki Cases	Wiek chorych (lata) Age (years)	Typ białaczki Type of leukemia	Poziom płytek Thrombocytes level	Zmiany w oun Changes in CNS	
				krwotoki hemorrhages	ukrwotocznione martwice hemorrhagic necroses
1. S.M.	63	ANLL	2500	—	—
2. C.P.	49	ANLL	6000	+++	+++
3. K.S.	53	ANLL	6700	—	+++
4. H.S.	23	ANLL	7000	+	—
5. E.O.	18	ANLL	8000	+++	++
6. W.S.	30	ANLL	8000	+++	+
7. J.J.	53	ANLL	15000	++	+
8. J.B.	31	ALL	16000	+++	—
9. L.S.	52	ANLL	16000	+++	++
10. J.R.	33	ANLL	18000	+++	+
11. S.R.	36	ANLL	25000	+	—
12. H.F.	29	ANLL	37000	+++	++
13. W.T.	44	ANLL	38000	++	+
14. W.K.	19	ANLL	41000	++	—
15. R.K.	27	ALL	68000	—	—



organizacji, poza jednym przypadkiem, w którym krwotokowi towarzyszył umiarkowany odczyn glejowy.

Zależność między liczbą płytek krwi, a zmianami krwotocznymi w oun przedstawiono w tabeli 2. We wszystkich przebadanych przypadkach obecna była małopłytkowość — 2500 do 68000 mm³ (2,5—68,0 G/L); również w przypadkach nie wykazujących zmian krwotoczných.

Obecność komórek białaczkowych w oun

W jednym przypadku w kanale kręgowym na wysokości dolnego odcinka piersiowego widoczny był zewnątrzwardówkowy, szary naciek białaczkowy o wymiarach 1 × 5 cm, wyraźnie uciskający rdzeń kręgowy. W innych okolicach oun makroskopowo nacieków nie stwierdzono.

Jak wykazało badanie mikroskopowe komórki białaczkowe występowały tylko w przypadkach ANLL. Obecne były w naczyniach przestrzennych okołonaczyniowych, śródmózgowo, w ogniskach krwotocznych i oponach. Ilość komórek była zmienna w poszczególnych przypadkach.

Najczęściej (8 przypadków) komórki białaczkowe występowały w naczyniach nie przenikając przez ich ścianę. Ilość komórek w naczyniach

Ryc. 1. Wybroczyny krwotoczne bez domieszki komórek białaczkowych w przypadku białaczki z niską leukocytozą we krwi. HE. Pow. 53 ×

Fig. 1. Hemorrhagic ecchymoses without admixture of leukemic cells in a case of leukemia with low leukocytosis in blood. HE. × 63

Ryc. 2. Drobne ognisko krwotoczne w przestrzeni okołonaczyniowej w przypadku z wysoką leukocytozą. Liczba komórek białaczkowych w naczyniu, jak i poza nim jest podobna w przeciwieństwie do typowego nacieku białaczkowego w przestrzeni okołonaczyniowej. HE. Pow. 240 ×

Fig. 2. Small hemorrhagic focus in the perivascular space in a case with high leukocytosis. Similar numbers of leukemic cells within and outside the vessel, which contrasts a typical leukemic infiltrate in the perivascular space. HE. × 240

Ryc. 3. Naciek białaczkowy w przestrzeni okołonaczyniowej w kontakcie z żyłą. Fiolet krezyłu. Pow. 63 ×

Fig. 3. Leukemic infiltrate in the perivascular space contacting a vein. Cresyl violet. × 63

Ryc. 4. Gęsty naciek białaczkowy w poszerzonej przestrzeni okołonaczyniowej bez kontaktu z naczyniem, sprawiający wrażenie „śródmózgowej grudki białaczkowej”. Dla porównania niżej ognisko krwotoczne ze skupiskiem komórek białaczkowych. HE. Pow. 63 ×

Fig. 4. Dense leukemic infiltrate in a dilated perivascular space without contact with a vessel, resembling „intracerebral leukemic papule”. Below for comparison hemorrhagic focus with agglomeration of leukemic cells. HE. × 63

Ryc. 5. Luźny rozsypujący się śródmózgowy naciek białaczkowy. Fiolet krezyłu. Pow. 63 ×

Fig. 5. Loose, disintegrating intracerebral leukemic infiltrate. Cresyl violet. × 63

Ryc. 6. Typowe ognisko krwotoczne w istocie białej półkuli mózgu ze skupiskiem komórek białaczkowych, powstałych na skutek ich leukergii. Przypadek z wysoką leukocytozą we krwi obwodowej. HE. Pow. 63 ×

Fig. 6. Typical hemorrhagic focus in the cerebral hemisphere white matter with agglomeration of leukemic cells, formed due to their leukergy. A case with high leukocytosis in peripheral blood. HE. × 63

była zmienna: od drobnych skupisk przyściennych do masywnych, całkowicie zamykających światło naczynia (leukostaza). W 2 przypadkach z niewielkimi skupiskami przyściennymi, komórki białaczkowe występowały zwykle w drobnych i średnich żyłach, nieco częściej w pniu mózgu i mózdzku; w półkulach mózgu głównie w okolicy podkorowej. W 5 przypadkach, w których obserwowano leukostazę, występowała ona prawie we wszystkich naczyniach, niezależnie od ich wielkości i okolicy. Nie zauważono, aby obok drobnych ognisk przyściennych w jednych naczyniach, występowała masywna leukostaza w innych.

W 6 przypadkach komórki białaczkowe spotykano oprócz naczyń również w przestrzeni okołonaczyniowej drobnych i średnich żył. Była ona wówczas poszerzona o regularnych owalnych lub okrągłych kształtach. Najczęściej cała przestrzeń okołonaczyniowa była wypełniona komórkami białaczkowymi ostro odcinając się od otoczenia (ryc. 3). Sporadycznie komórki uszkadzały barierę okołonaczyniową przechodząc do otaczających tkanek. Skupiska komórek białaczkowych w przestrzeni okołonaczyniowej spotykano tylko w przypadkach z leukostazą, częściej w korze i jądrach podstawy, niż w istocie białej.

Śródmózgowe nacieki nie mające kontaktu z naczyniami znaleziono w 4 przypadkach. Dzieliły się na dwie postaci. Pierwszą z nich stanowiły duże, okrągłe lub owalne, bardzo ostre odgraniczone od otoczenia gęste skupiska komórkowe (ryc. 4). Część z nich wykazywała niewielki rozpad, niektóre zawierały erytrocyty. W drugiej postaci nacieki były rzadkie, rozsypujące się o nieostrych granicach, mniejsze od poprzednich (ryc. 5). Pierwszą postać nacieków obserwowano w istocie białej półkul mózgowych i w pniu, drugą sporadycznie w jądrach podstawy. Nacieki śródmózgowe spotykano jedynie w przypadkach z leukostazą.

W 10 przypadkach komórki białaczkowe obserwowano w ogniskach krwotocznych. Występowały zawsze w postaci skupisk różnej wielkości od licznych drobnych do pojedynczych masywnych, wypełniając prawie całkowicie ognisko krwotoczne (ryc. 6). Największe były widoczne makroskopowo jako opisane wcześniej koncentryczne, szarawe grudki. Niezależnie od kształtu i wielkości ognisk krwotocznych, komórki białaczkowe zajmowały zwykle środkową część wynaczynienia.

W 9 przypadkach nacieki białaczkowe występowały w oponach miękkich mózgu i rdzenia, zagęszczając się w pobliżu naczyń i w głębi rowków. W 3 przypadkach były tak gęste, że zajmowały regularnie całe pogrubiałe opony i większość przestrzeni podpajęczynówkowej.

Zależność między liczbą leukocytów we krwi obwodowej, a występowaniem komórek białaczkowych w oun przedstawiono w tabeli 3. W 5 przypadkach, w których leukocytoza wynosiła od 244000 do 650000/mm (244—650 G/L), widoczna była uogólniona leukocytoza, w 2 z leukocytozą 8950 i 31000/mm (8,9 i 31 G/L), obserwowano skupiska komórek białaczkowych tylko w niektórych naczyniach żylnych, a w 6 przypadkach z leukopenią komórki białaczkowe w oun nie występowały. Nacie-

Tabela 3. Zależność między poziomem leukocytów we krwi obwodowej a występowaniem komórek białaczkowych w ośrodkowym układzie nerwowym

Table 3. Relationship between the leukocytes level in peripheral blood and the occurrence of leukemic cells in the central nervous system

Przypadki Cases	Typ Type of leukemia	Leuko- cytoza Leukocy- tosis	Komórki białaczkowe w oun Leukemic cells in the CNS				
			naczynia ves- sels	przestrzeń około na- czyniowa perivas- cular space	śró- d- móz- gowo intra- cere- brally	w ogniskach krwotocz- nych hemor- rhagic foci	opony menin- ges
1. W.R.	ANLL	650000	+++	++	+	+++	+++
2. E.O.	ANLL	376000	+++	++	++	+++	++
3. W.K.	ANLL	314000	+++	+	+	+++	+++
4. W.T.	ANLL	300000	+++	+	+	+++	++
5. H.F.	ANLL	256000	++	++	-	+++	+
6. J.R.	ANLL	244000	+++	++	-	+++	+++
7. J.J.	ANLL	91000	+	-	-	++	++
8. W.S.	ANLL	31000	-	-	-	+	-
9. K.S.	ANLL	21000	+	-	-	+	-
10. L.S.	ANLL	8950	-	-	-	+	-
11. H.S.	ANLL	3900	-	-	-	-	-
12. S.M.	ANLL	2500	-	-	-	-	-
13. C.P.	ANLL	1250	-	-	-	-	+
14. J.B.	ALL	1000	-	-	-	-	-
15. S.R.	ANLL	800	-	-	-	-	-
16. R.K.	ALL	500	-	-	-	-	-

ki okołonaczyniowe i śródmózgowe obserwowano tylko w przypadkach z wysoką leukocytozą i leukostazą.

Nacieki białaczkowe w oponach miękkich występowały w 8 przypadkach z podwyższoną liczbą leukocytów we krwi obwodowej oraz w jednym przypadku z leukopenią.

Zmiany martwicze

Zmiany martwicze występowały rzadziej niż krwotoczne, tylko w 9 przypadkach, przy czym w 2 widoczne były makroskopowo w postaci rozległego rozmiękania wtórnie ukrwotocznionego. W pozostałych 7 stwierdzono martwicę mikroskopowo; zawsze towarzyszyła ona dużym ogniskom krwotocznym. W 2 przypadkach martwica była zupełna, w pozostałych niepełna, bez cech organizacji (Tab. 2).

OMÓWIENIE

Krwawienie do oun w przebiegu białaczki jest zjawiskiem opisywanym przez wielu autorów. Istnieje jednak rozbieżność co do częstości występowania zmian krwotocznych w układzie nerwowym. W materiale Hunta i wsp. (1959), 86 przypadków spośród 815 wykazywało krwotoki.

Williams i wsp. (1959) obserwowali je w 140 na 1840 przebadanych białaczek. Freireich i wsp. (1960) poddali ocenie 81 mózgow, znajdując zmiany krwotoczne w 18. W zestawieniu Hersha (1965) miały one miejsce w połowie przypadków. O wiele częściej występowały krwotoki w materiale Leidlera i Russela (1945), stanowiąc 70% przypadków. Mossakowski i wsp. (1962) znaleźli krwawienie w 24 mózgach spośród 38 poddanych opracowaniu. W naszym materiale masywne krwotoki występowały w 12 przypadkach, w jednym obserwowaliśmy wynaczenia jedynie w obrazie mikroskopowym, w pozostałych 3 nie było żadnych zmian krwotocznych w oun.

Choć nie jest sprawą ostatecznie rozstrzygniętą, wydaje się, że typ białaczki również odgrywa pewną rolę w powstawaniu zmian krwotocznych. Obecnie większość autorów uważa, że są one częstsze w ANLL (Williams i wsp. 1959; Boggs 1962; Mossakowski i wsp. 1962; Phair i wsp. 1964; Hersh 1965; Robson, Anderson 1973; Wolk i wsp. 1974). W dostępnym piśmiennictwie tylko Evans i wsp. (1970) znajdowali nieco częściej krwotoki w ALL. W naszym materiale krwawienie obecne było w 12 przypadkach spośród 14 ANLL oraz w jednym z dwóch przypadków ALL.

Nadal nie został ostatecznie poznany mechanizm prowadzący do krwotoków. Wydaje się, że największe znaczenie w powstawaniu krwawień posiada małopłytkowość. Nieri (1968), West (1972), Edelson i wsp. (1974) oraz Bonito Giavelli (1975) uważają, że jest ona jedynym czynnikiem wywołującym zmiany krwotoczne. Część autorów sądzi jednak, że mechanizm krwawień jest bardziej złożony i poza małopłytkowością na równi zależy od wysokiej liczby leukocytów we krwi obwodowej i leukostazy w naczyniach mózgowych (Hersh 1965; Pochedly 1975; Borowska-Lehman, Nyka 1978). Freireich i wsp. (1960) twierdzą na podstawie własnych obserwacji, że w przypadkach z leukostazą do 300000/mm³ (300,0 G/L) najważniejszą rolę odgrywa małopłytkowość, natomiast gdy liczba leukocytów jest wyższa, tworzące się nacieki w naczyniach częściej prowadzą do krwotoków niż skaza z małopłytkowości.

W naszym materiale małopłytkowość występowała we wszystkich przypadkach. Nie znaleźliśmy natomiast zależności między nasileniem zmian krwotocznych a liczbą płytek we krwi. Wśród przypadków z masywnymi krwotokami liczba płytek krwi wahała się w szerokich granicach od 6000 do 68000/mm³ (6,0—68 G/L). W dostępnym piśmiennictwie również nie znaleźliśmy opracowań, w których opisano by zależność między małopłytkowością, a nasileniem zmian krwotocznych. Brak wpływu niedoboru płytek na natężenie zmian krwotocznych, wydaje się wskazywać na bardziej złożony mechanizm krwotoków, który prawdopodobnie zależy nie tylko od małopłytkowości. Mossakowski i wsp. (1962) obserwowali zastój w naczyniach mózgowych, który ich zdaniem prowadzi do niedotlenienia ściany naczynia i sprzyja przenikaniu przez

nią krwinek do otoczenia. W naszych przypadkach rzadko spotykaliśmy cechy zastoju, traktowaliśmy je najczęściej jako zjawisko przedśmiertne związane z burzliwym i nagłym zgonem.

Niektórzy autorzy przypisują największe znaczenie w powstawaniu krwawień wysokiej leukocytozie i obecności komórek białaczkowych w oun. Zdaniem Shawa i wsp. (1960), Phaira i wsp. (1964) oraz Babaliana (1969), komórki białaczkowe niszczą ścianę naczyń mózgowych, ułatwiając krwawienie. Heinrich i wsp. (1975) uważają, że na tej drodze leukostaza prowadzi do powstawania śródmózgowych grudek białaczkowych, zawsze otoczonych rąbką krwotoczną; zlewające się grudki tworzą masywne krwotoki. Przeprowadzone przez nas obserwacje nie potwierdzają poglądów o podstawowej roli grudek w powstawaniu krwotoków. Wydaje nam się, że grudki są zjawiskiem wtórnym, zależnym od skupienia się (leukergii) komórek białaczkowych w ogniskach krwotocznych. Podobny pogląd reprezentuje Mossakowski i wsp. (1962). Za wtórnym charakterem grudek w naszym materiale przemawia również fakt, że występowały one jedynie w dużych ogniskach krwotocznych. Wynacznynienia, które przebiegały z niską leukocytozą, nie posiadały skupisk komórek białaczkowych. W 3 przypadkach, w których nie było zmian krwotocznych, nie obserwowaliśmy również komórek białaczkowych w oun. To również zdaje się potwierdzać zależność pojawienia się grudek od wynacznynionej krwi.

W przebadanych przez nas przypadkach obserwowaliśmy wyraźną zależność między liczbą leukocytów we krwi obwodowej, a nasileniem leukostazy w naczyniach mózgowych. Była ona bardzo wyraźna we wszystkich przypadkach z leukocytozą ponad $240000/\text{mm}^3$ (240,0 G/L), w przypadkach z leukocytozą do $10000/\text{mm}^3$ /100,0 G(L) obserwowaliśmy ją rzadko, natomiast nie występowała w przypadkach z leukopenią.

W naszym materiale komórki białaczkowe poza naczyniami mózgowymi towarzyszyły zawsze leukostazie. Wydaje się, że leukostaza bierze czynny udział w tworzeniu nacieków białaczkowych w wyniku uszkodzenia ściany naczynia. Podobny pogląd reprezentują Freireich i wsp. (1960), Phair i wsp. (1964) oraz Heinrich i wsp. (1975).

Miejscami obserwowaliśmy przenikanie komórek białaczkowych przez uszkodzoną barierę okołonaczyniową. Być może pojedyncze, bardzo rzadkie w naszym materiale, rozsypujące się drobne nacieki śródmózgowe powstały właśnie na tej drodze. Sądzimy, że wszystkie obserwowane przez nas nacieki białaczkowe w oun, zarówno okołonaczyniowe, jak i bez związku z naczyniami, powstały w wyniku przenikania komórek białaczkowych z naczyń do otoczenia. Podobny pogląd reprezentują Mastrangelo i wsp. (1970) oraz Borowska-Lehman, Nyka (1978). Nie wykluczone, że przy współistniejącej małopłytkowości, nacieki białaczkowe ułatwiają powstawanie krwotoków.

WNIOSKI

1. Badania nasze wykazały, że u chorych na ostre białaczki, krwotoki były główną zmianą w oun.
2. Nie znaleźliśmy zależności między nasileniem zmian krwotocznych a stopniem niedoboru płytek krwi, co może sugerować, że mechanizm krwawień zależy nie tylko od małopłytkowości.
3. Występowanie nacieków białaczkowych tylko w przypadkach z leukostazą sugeruje, że odgrywa ona istotną rolę w przenikaniu komórek białaczkowych do oun; nie wykazano natomiast jej udziału w powstawaniu krwotoków.
4. Przeprowadzone przez nas badania zdają się wskazywać, że wszystkie postaci nacieków białaczkowych w oun są krwiopochodne.
5. Badania nasze przemawiają na korzyść poglądu, że tzw. „grudki białaczkowe” są pochodzenia krwotocznego. W ich powstawaniu odgrywa rolę leukergia komórek białaczkowych z wypchnięciem erytrocytów na obwód ogniska krwotocznego.

PIŚMIENNICTWO

1. Babalian Ł.: K patogenezu i klinike rasstrojstw mozgowogo krowoobraszczenia pri ostrom leikozje u dietiej. Żur. newropatologii i psichiatiri 1969, 69, 1456—1463.
2. Boggs D.: Acute leukemias: Analysis of 322 cases and review of literature. Medicine 1962, 41, 163—166.
3. Bonito L., Giavelli L.: Considerazioni sulla patogenesi dell' emorragia cerebrale alla luce delle lesioni obiettivate nelle arterie dell'encefalo (in 266 casi studiati all'autopsia), Minerva Medica 1975, 66, 4391—4398.
4. Borowska-Lehman J., Nyka W.: Przewlekła białaczka szpikowa o obrazie kliniczno-morfologicznym polyganglioradiculoneuritis. Neuropat. Pol., 1978, 16, 135—141.
5. Czarnecki J., Niezabitowski A.: Nacieki białaczkowe w ośrodkowym układzie nerwowym w przebiegu ostrej białaczki szpikowej. Pol. Tyg. Lek., 1963, 50, 1892—1894.
6. Edelson R., Chernik N., Posner J.: Spinal subdural hematomas complicating lumbar puncture. Arch. Neurol., 1974, 31, 134—137.
7. Evans A., Gilbert E., Zandstra R.: The increasing incidence of central nervous system leukemia in children. Cancer, 1970, 26, 404—409.
8. Freireich E., Thomas L., Frei E., Fritz R., Forkner C.: A distinctive type of intracerebral hemorrhage with blastic crisis in patients with leukemia. Cancer, 1960, 13, 146—154.
9. Heinrich D., Müller W., Heinrich Ch., Fischer R.: Vorkommen und häufigkeit leukamischer knötchen (leukemic nodules) in gehirn. Neuropat. Pol., 1975, 13, 511—514.
10. Hersch E.: Causes of death in acute leukemia. JAMA 1965, 193, 105—109.
11. Hunt W., Bouzonele B., Meagher J.: Neurologic complications of leukemias and lymphomas. J. Neurosurg., 1959, 16, 135—151.
12. Leidler F., Russel W.: The brain and leukemia. A clinico-pathological study of twenty cases with a review of literature. Arch. Path., 1945, 40, 14—33.

13. Mastrangelo R., Zuelzer W., Ecklund P., Thompson R.: Chromosomes in the spinal fluid. Evidence for metastatic origin of meningeal leukemia. *Blood* 1970, 35, 227—235.
14. Mc Cormick W., Rosenfield D.: Massive brain hemorrhage. A review of 144 cases and examination of their cases. *Stroke* 1973, 4, 946—954.
15. Mossakowski M., Kraśnicka Z., Iwanowski L.: Zespoły neuropatologiczne w białaczkach. *Rozprawy Wydz. Nauk Medycznych, PWN, Warszawa 1962, tom I, 157—180.*
16. Nieri R.: Central nervous system complications of leukemia. A review. *Mayo Clin. Proc.*, 1968, 43, 70—79.
17. Phair J., Anderson R., Namiki H.: The central nervous system in leukemia. *Ann. Int. Medicine* 1964, 61, 863—875.
18. Pochedly C.: Neurologic manifestations in acute leukemia. Symptoms due to increased cerebrospinal fluid pressure and haemorrhage. *N. Y. St. J. Med.*, 1975, 75, 575—580.
19. Robson G., Anderson R.: Central nervous system lesions in childhood leukemia. *Med. J. Aust.*, 1973, 1, 1134—1137.
20. Shaw R., Moore E., Freidreich E., Thomas L.: Meningeal leukemia. *Neurology* 1960, 10, 823—833.
21. West R.: Factors in pathogenesis of central nervous system leukaemia. *Brith. Med., J.*, 1972, 3, 311—314.
22. Williams H., Diamond H., Craver L., Parsons R.: Neurological complication of lymphomas et leukemias. *Cyt. za poz.* 15.
23. Wolk R., Masse S., Conclin R., Treireich E.: The incidence of central nervous system leukemia in adult with acute leukemia. *Cancer* 1974, 33, 863—869.

ИЗМЕНЕНИЯ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ В ТЕЧЕНИЕ ОСТРОЙ ЛЕЙКЕМИИ

Резюме

Авторы исследовали невропатологически головные мозги 16 умерших лиц, у которых выступило повреждение центральной нервной системы (ЦНС) в течение острой лейкемии (14 — нелимфобластической и 2 случая острой лимфобластической лейкемии). Основным неврологическим осложнением были кровотечения. Они встречались в первую очередь в белом веществе полушарий головного мозга, реже в полушариях мозжечка. В обследованном материале всем случаям с геморрагическими изменениями сопутствовала тромбопения, что указывает на ее существенное значение в возникании экстравагаии в ЦНС. Кажется, что все формы лейкемических инфильтратов в ЦНС гематогенны и несомненное участие при их возникании имеет лейкостаз.

CHANGES IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM IN THE COURSE OF ACUTE LEUKEMIA

Summary

The brains of 16 deceased patients in which the central nervous system damage had developed in the course of acute nonlymphoblastic leukemia (14 cases) or acute lymphoblastic leukemia (2 cases) were subjected to neuropathological

examination. Hemorrhages, which were the major neurological complication, were encountered mostly in the cerebral white matter and less frequently in cerebellar hemispheres. All the hemorrhagic cases were accompanied by thrombocytopenia, indicating its significance in the formation of extravasations to the central nervous system. All the forms of leukemic infiltrates apparently originated from blood, with leukostasis undoubtedly participating in their formation.

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

STANISŁAW KRAJEWSKI

CRYPTOCOCCAL MENINGOENCEPHALITIS AFTER LONG-LASTING
IMMUNOSUPPRESSION IN THE CASE OF KIDNEY
TRANSPLANTATION

Department of Neuropathology, Medical Research Centre Polish Academy
of Sciences, Warsaw, Poland

Significant changes of immunological parameters and reactions were observed in prolonged uremia, both in men and animals (Górski 1974; Lopez et. al. 1975; Birkeland 1976). Among them were: low concentration of immunoglobulins A, G, M, reduced delayed skin response to different antigens, lymphopenia, changed lymphocyte response to mitogens in *in vitro* tests, inhibition of phagocytosis and low levels of C3 component of complement (Casciani et. al. 1978). The above changes were noticed in patients without dialysis treatment, submitted to chronic hemodialysis and after renal transplantations. The causes of this condition of the immunological system are ascribed to the suppressive action of uremic toxins qualified generally as "middle-size molecules" (Fürst et. al. 1974; Lutz 1976; Jorstad, Viken 1977) and to the release by uremic spleen cells of a soluble suppressing factor not removable by dialysis (Raskova, Morrison 1978). It is also suggested that immune complexes may participate in stimulating the activity of suppressive spleen cells and may complement the enzyme system which is related to renal pathology (Raskova, Morrison 1978; Matl et. al. 1979). Although endogenic suppressive action on the immunological system is beneficial to patients after renal transplantations succored even by immunosuppressive treatment, it generally involves the risk of more frequent occurrence of infection, often fatal (Lopez et. al. 1975; Jorstad, Viken 1977; Casciani et. al. 1978). "The triple infection (fungal, bacterial and viral)" in immunosuppressed renal transplant recipients has been reported and for instance the incidence of tuberculosis exceeds fifteen times its highest values in average population (Pradhan et. al. 1974; Zazgornik et al. 1979). The reasons for the above situation among others may lay in nonspecific, pharmacological immunosuppression

which, just like coincidental virus infection, leads to immunological incompetence, mainly of the delayed-cell response type (Fortier et. al. 1979; Renoux 1980).

CASE REPORT

The case concerned a patient A. W., a 17-year-old girl, in which renal disease was detected at the age of 12. After about 3 years renal damage led to a fully developed uremic syndrome. In the early stage she was treated by peritoneal dialysis, later by hemodialysis (Clinic of Nephrology, Medical Academy of Łódź). After one year of a dialytic program renal transplantation from her mother was performed in the Transplantology Institute of the Warsaw Medical School. This was followed by intense non-specific immunosuppression therapy combination of corticosteroids with azathioprine, chlorambucile, and anti-coagulants. Subsequent to the operation, a neurotic-depressive reaction was noticed. Ambulatory controls and several hospital observations, including biopsies of the transplanted kidney did not show features of acute rejection of the transplant. During her last hospitalization, 18 months after the transplantation, and one month before death, the patient got a viral infection of upper respiratory tract. In the course of antibiotic therapy oral fungal inflammation (presumably caused by *Candida albicans*) was observed. Also in this period the mental state of the patient was worsening and she had neurotic and psychotic disturbances. The renal sufficiency parameters were still good, until 3 days before death, when the patient's state rapidly declined. The physical examination revealed: unconsciousness without any reaction to pain stimuli, wide nonreacting pupils, no skin and deep reflexes, flaccid muscle tonus. Heart rate 120/min., heart tones clear, dull, blood pressure 150/110 mmHg. In laboratory tests: urea 121 mg⁰/_o, creatinine 5,6 mg⁰/_o; blood morphology: Hb 9,6⁰/_o, E — 3 150 000, L — 1800, Ht 30⁰/_o. During hemodialysis cardiac arrest occurred; the patient was reanimated. A day before death meningeal symptoms were noted. After short lasting improvement of general state, the blood pressure fall ensued once more and in spite of immediate reanimation the patient died.

Clinical diagnosis: "The state after renal transplantation in the period of terminal insufficiency of the transplant. Chronic immunosuppressive treatment. Viral and fungal infection during observation. Arterial hypertension. Disturbances of the central nervous system functions *sub finem vitae* (suspicion of encephalitis or tumor cerebri).

Autopsy was performed 6 hours after death. Postmortem examination revealed chronic atrophic glomerulonephritis in patient's own

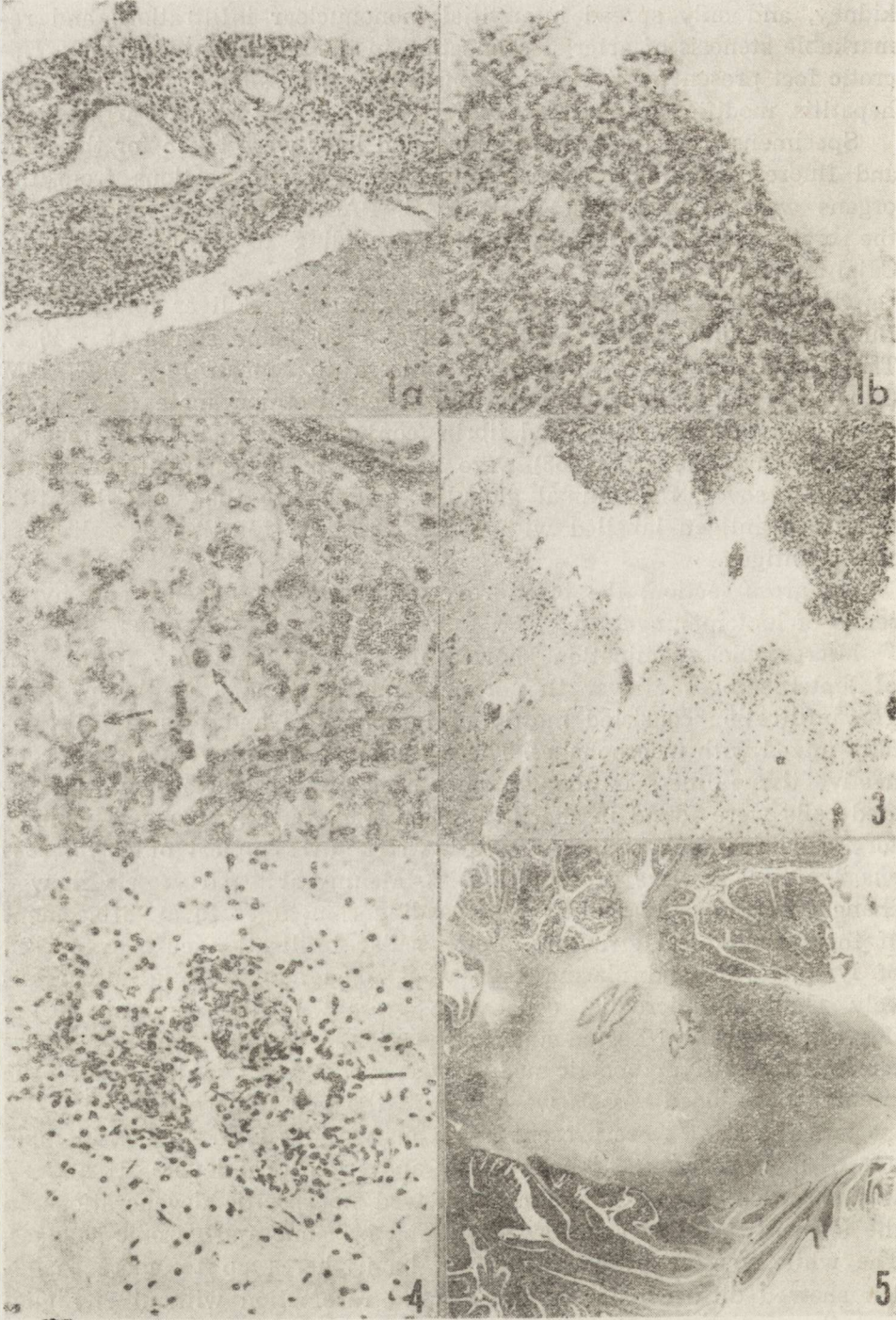
kidney, and only spread interstitial mononuclear infiltrations and remarkable stenosis of arterial connection in the transplanted kidney. Necrotic foci present in liver were considered as possible features of viral hepatitis, modified by immunosuppressive treatment (dr. J. Partkiewicz).

Specimens from the brain, kidneys and liver were taken for the light and fluorescence microscope examination. Paraffin sections from the organs were stained with H—E, PAS, PAS-dimedone. Sections from the brain were additionally stained according to Nissl, Heidenhain, Cajal and Ziehl-Nielsen.

Tissue blocks taken from the brain, kidneys and liver for immunofluorescent study were rapidly frozen at -80°C and stored at -40°C . The globulin fractions of animal antisera to human IgA, IgG, IgM (Biomed, Poland), labelled with fluorescein isothiocyanate (FITC), C3 component of complement and fibrin (conjugated with FITC by method of Clark and Shepard, 1963) were used in direct immunofluorescence tests. Moreover, the animal globulin fraction to the viral hepatitis B-surface antigen labelled with FITC was used for tissue localization of this antigen.

On gross section, the brain revealed features of edema and hyperemia of leptomeninges.

Microscopic examination showed massive inflammatory infiltration of leptomeninges all over the brain hemispheres and the brain stem. The infiltration consisted mostly of lymphocytes and plasma cells, locally mixed with macrophages. There was an apparent overgrowth of connective tissue fibers in the leptomeninges. Scattered giant multinucleated cells were found in the infiltration (Fig. 1a, b). Among inflammatory cells round-shaped, PAS-positive structures typical of *Cryptococcus neoformans* were present (Fig. 2). Meningeal blood vessels showed changes of the panvasculitis type leading sometimes to an effacement of their anatomical structure. Perivascular infiltration cuffs composed of lymphocytes and plasma cells with some admixture of progressively changed microglial cells were present in the cerebral cortex (Fig. 3), subcortical region and in the vicinity of the ventricular system. Microglial-lymphocytic noduli with single giant multinuclear cells situated near blood vessels were seen in the temporal cortex and white matter. The same were present in globus pallidus (Fig. 4). Considerable loss of neurons around blood vessels and in cortical layers III and IV was observed. Preserved neurons showed nonspecific degenerations in the form of so-called acute swelling, and ischemic and chronic changes. The white matter of both cerebral hemispheres up to mesencephalon showed diffuse palor of myelin and rarefaction without any glial or inflammatory reaction. Nearly the whole white matter of the cerebellum was occupied by a huge focus of palor of myelin and tissue ra-



refraction without any glial reaction (Fig. 5). There was a slight neuronal loss in the cerebellar granular layer; few Purkinje cells showed features of homogeneous degeneration. Some blood vessels with walls damaged by infiltration of the same character as described in meninges were seen in the stroma of choroid plexus.

Microscopic diagnosis: Cryptococcal meningoencephalitis. Brain edema. Edematous necrosis of the cerebellar white matter.

In immunofluorescent study of the patient's own kidneys, fine and coarse granular deposits of IgG, C3 component of complement and fibrin were found in peaks of glomerular capillary loops and sometimes in mesangium. In the transplanted kidney, linear deposits of IgG and C3 component of complement in basement membranes of canaliculi and single glomeruli constituted the predominant changes. Deposits of the character observed in the patient's own kidneys were not found.

Immunofluorescence study of the brain revealed fine granular deposits of IgG, IgM and fibrin within the borders of blood vessels endothelium of different regions. Most of them were found in small blood vessels of the cortex, the subcortical area and of the choroid plexus. Around some vessels in the cortex, superficial IgG fluore-

Fig. 1a. Massive, lymphocytic and plasmocytic infiltration with single giant cell in leptomeninges between folia cerebelli. H—E, $\times 100$

Ryc. 1a. Obfity naciek limfocytarno-plazmatyczny z pojedynczymi komórkami olbrzymimi w oponach miękkich między zrazikami mózdzku. H—E. Pow. 100 \times

Fig. 1b. Multinuclear giant cells in meningeal infiltration of the same region. Higher magnification. H—E, $\times 200$

Ryc. 1b. Większe powiększenie wielojądrazystych komórek olbrzymich w nacieku położonym w tej samej okolicy. H—E. Pow. 200 \times

Fig. 2. PAS-positive formations (arrows) characteristic of *Cryptococcus neoformans* presence in leptomeningeal infiltration. PAS. $\times 400$

Ryc. 2. PAS-dodatnie okrągłe twory (strzałki) odpowiadające komórkom *Cryptococcus neoformans* w nacieku, w oponach miękkich. PAS. Pow. 400 \times

Fig. 3. Massive infiltration in the meninges near cortex of the frontal superior gyrus. Nervous tissue around blood vessels and the walls of them with cuff infiltration. H—E, 100 \times

Ryc. 3. Masywny odczyn zapalny w oponach położonych w pobliżu kory zakrętu czołowego górnego. Tkanka nerwowa wokół naczyń krwionośnych, jak również ściany naczyń naciezione. H—E. Pow. 100 \times

Fig. 4. Microglial-lymphocytic nodule on border of the cortex and white matter in the temporal gyrus. Multinuclear giant cell visible in the infiltration (arrow). H—E, $\times 200$

Ryc. 4. Grudka mikroglejowo-limfocytarna w zakręcie skroniowym, na pograniczu kory i istoty białej. Widoczna w nacieku wielojądrazysta komórka olbrzymia (strzałka). H—E. Pow. 200 \times

Fig. 5. Reduced staining of myelin in the cerebellar white matter. H—E. Glass

Ryc. 5. Zmniejszenie barwliwości mieliny dotyczące znacznej części istoty białej mózdzku. H—E. Powiększenie lupowe

scence of single infiltration cells was seen. Deposits of complement were not found. Viral hepatitis B antigen (HBsAg) reaction was negative in all organs.

DISCUSSION

The presented case concerned a patient in which kidney transplantation with intense immunosuppressive treatment was followed by neurological and mental symptoms. The initial neurotic disturbances gradually turned into deep depression. In the last period of life they were accompanied by meningeal symptoms with features of increased intracranial pressure. This syndrome prompted the clinicians to diagnose either neoplastic process or encephalitis.

Repeated kidney biopsies pointed against active rejection of the transplant, which worked well till one week before death. Symptoms of uremia had appeared in the last days of patient's life. The patient died due to circulatory and respiratory insufficiency accompanied by symptoms of an increased intracranial pressure.

Autopsy did not explain the causes of death, merely excluded a neoplastic process in the central nervous system.

Microscopic study of the patient's kidneys showed heavy changes corresponding to a fatal form of chronic glomerulonephritis, whereas in the transplanted kidney the only changes were slight lymphocytic interstitial infiltration and weak antibody reaction against basement membrane of canaliculi (Berthoux et al. 1975). The above described changes were by no means responsible for the development of the final uremic syndrome. The uremic syndrome, observed before death, was probably of extrarenal origin perhaps connected with infection developing in central nervous system. Also the participation of hepatic B virus in the pathomechanism of renal and liver insufficiency was excluded (Brzosko et al. 1974; Galbraith et al. 1976).

Light microscopic examination of the brain revealed features of heavy meningoencephalitis of cryptococcal origin. The myelin changes in the white matter, assuming the form of Jacob's edematous necrosis should be considered as a result of circulatory and respiratory disorders (cardiac arrest) (Brierley 1977). Diffuse generalized neuronal degeneration and loss might have resulted from uremic toxins' action, dialytic treatment, inflammatory process, as well as cardiac arrest (Olsen 1961; Osetowska 1974; Brierley 1977; Sabouraud et al. 1978). It is impossible to distinguish here the role of the particular factors in formation of these changes. Immunofluorescence examinations of brain vessels do not allow to infer the participation of the pathology of immune complexes, which otherwise is frequent in renal damage in this group of patients (Ooi et al. 1977; Matl et al. 1979).

The mechanism of the neuro-psychiatric symptomatology in this case seems to be complex and different in different stages of the disease. The initial psychiatric symptoms were presumably brought about by either progression of uremia and/or intensive dialytic program. The latter sometimes results in the so called dialytic encephalopathy syndrome, the origin of which is not yet fully known (Cameron et al. 1978; Sabouraud et al. 1978). Its prevention and clinical treatment still remains an open problem. Noteworthy, in our case successful renal transplantation improved the patient's condition. The second mental worsening one month before death, could be considered as resulting from the developing cryptococcal infection, not confirmed in this period by a blood culture test or examination of cerebro-spinal fluid for fungal infection.

Immunological defense in cryptococcosis is based mainly on cell-mediated immunity (Cauley, Murphy 1979). In the patients with uremia and after renal transplantation treated by immunosuppression, this type of reactions of the immunologic system is suppressed and impaired in the first instance (Casciani et al. 1978; Raskova, Morrison 1978). Probably the coincidence of all three factors: suppressive action resulting from renal disease, viral infection and immunosuppressive treatment facilitated the occurrence of fatal cryptococcal meningoencephalitis. Fungal infection is a frequent complication in patients after renal transplantation, but the central nervous system involvement by cryptococci in particular is rather rare. Rifkind et al. (1967), in their review of 107 transplant patients found no cryptococcal disease in the 23 who died with a systemic fungal infection. However Utz (1978) encountered, in a major transplantation center during four years, 16 patients with cryptococcosis of whom 3 had been on immunosuppressive therapy. Many authors have emphasized a close relationship between cryptococcal meningitis and corticoid therapy; this was also confirmed in experimental conditions and might play an essential role in the presented case (Levine et al. 1957; Goldstein, Rambo 1962; Utz 1978).

Acknowledgement: The author is grateful to Dr D. Wierzbicka from the Psychoneurological Institute, Warsaw, for her advice in elaboration of this case.

REFERENCES

1. Berthoux F. C., Ducret F., Colon S., Blanc-Brunat N., Zech P. Y., Trager J.: Renal transplantation in mesangioproliferative glomerulonephritis (MPGN): Relationship between the high frequency of recurrent glomerulonephritis and hypocomplementemia. *Kidney Int.*, 1975, 7, 323—327.
2. Birkeland S. A.: Uremia as a state of immune deficiency. *Scand. J. Immunol.*, 1976, 5, 107—115.
3. Brierley J. B.: Cerebral hypoxia. In: Greenfield's Neuropathology. Eds. W. Blackwood, A. N. Corsellis, E. Arnold, Edinburgh 1977, 43—85.

4. Brzosko W. J., Krawczyński K., Nazarewicz T., Morzycka M., Nowosiłowski A.: Glomerulonephritis associated with hepatitis B surface antigen immune complexes in children. *Lancet* 1974, 2, 478—482.
5. Cameron K. R., Birchall S. M., Moses M. A.: Isolation of foamy virus from patient with dialysis encephalopathy. *Lancet*, 1978, 2, 796—802.
6. Casciani C. U., De Simone C., Bonini S., Galluci M. T., Matteucci G., Vale-sini G., Meli D., Masala C.: Immunological aspects of chronic uremia. *Kidney Int.* 1978, 13, suppl. 8, 49—54.
7. Cauley L. K., Murphy J. W.: Response of athymic (nude) and phenotypically normal mice to *Cryptococcus neoformans* infection. *Infect. Immunol.*, 1979, 23, 644—651.
8. Clark H. F., Shepard C. C.: A dialysis technique for preparing fluorescent antibody. *Virology*, 1963, 20, 642—644.
9. Fürst P., Bergeström J., Asaba M., Gordon A., Zimmerman L.: Middle molecules in uremia. In: *Renal insufficiency. Würzburg Symposium.* Eds. A. Hei-dland, H. Hennemann, J. Kult. G. Thieme, Stuttgart 1974, 79—89.
10. Galbraith R. M., Sheikh N., Pertmann B., Eddleston A. L. W. F., Williams G., Parsons V., Bewick M.: Immune response to HBsAg and the spectrum of liver lesions in GBSAg positive patients with chronic renal disease. *Brit. Med. J.*, 1976, 1, 1495—1497.
11. Goldstein E., Rambo O. N.: Cryptococcal infection following steroid therapy. *Ann. Intern. Med.*, 1962, 56, 114—120.
12. Górski A.: Zaburzenia immunologiczne w mocznicy. *Pol. Arch. Med., Wewn.*, 1974, 51, 325—332.
13. Jorstad S., Viken K. F.: Inhibitory effects of plasma from uremic patients on human mononuclear phagocytes cultured in vitro. *Acta Pathol. Microbiol. Scand., Sect. C Immunol.*, 1977, 85, 169—177.
14. Levine N. E., Zimmerman H. M., Scorza A.: Experimental cryptococcosis (to-rulosis). *Am. J. Pathol.*, 1957, 33, 385—410.
15. Lopez C., Simmons R. L., Touraine I. L., Park B. H., Kishkiss D. F., Najarian I. S., Good R. A.: Discrepancy between PHA responsiveness and qualitative estimates of T-cell numbers in human peripheral blood during chronic renal failure and immunosuppression after transplantation. *Clin. Immunol.*, 1975, 4, 135—142.
16. Lutz W.: „Średnie cząstki” i proces zatrucia mocznicowego. *Pol. Tyg. Lek.*, 1976, 31, 1173—1177.
17. Matl J., Haškova V., Kaslik J.: Circulating immune complexes in renal trans-plant patient. *Transplantation* 1979, 27, 358—361.
18. Olsen S.: The brain in uremia. *Acta Neurol. Scand.*, 1961, 36, (suppl.) 156—159.
19. Ooi Y. M., Ooi B. S., Vallota E. M., Pollak V. E.: Circulating immune complex-es after renal transplantation. Correlation of increased ¹²⁵J-Clq binding activ-ity with acute rejection characterized by fibrin deposition in the kidney. *J. Clin. Invest.*, 1977, 60, 611—619.
20. Osetowska E.: *Neuropatologia zapaleń mózgu wirusowych i alergicznych.* PZWL, Warszawa 1974.
21. Pradhan R. P., Katz L. A., Nidus B. D., Matalon R., Esinger R. F.: Tubercu-losis in dialyzed patients. *JAMA* 1974, 229, 798—800.
22. Raskova J., Morrison A. B.: Humoral inhibitors of immune response in ure-mia. I. Effect of serum and supernatant of spleen cultures from uremic rats on the mixed lymphocyte reaction. *Lab. Invest.*, 1978, 38, 103—109.
23. Rifkind D., Marchirio T. L., Schneck S. A., Hill R. B.: Systemic fungal in-

- fections complicating renal transplantation and immunosuppression therapy. *Ann. J. Med.*, 1967, 43, 28—38.
24. Sabouraud O., Chatel M., Menault F., Dein Peron J., Cartier F., Garre M., Gary J., Pecker S.: L'encéphalopathie myoclonique progressive des dialyses. Etude clinique, électroencéphalographique et neuropathologique discussion pathogénique. *Rev. Neurol.*, 1978, 134, 575—602.
25. Utz J. P.: Histoplasmosis and cryptococcosis. In: *Immunological diseases*. Ed. M. Samter. Little Brown, 1978, 2, 660—667.
26. Zazgornik J., Schmidt P., Kopsa H., Thurner J., Deutsch E.: Triple infections (fungal, bacterial and viral) in immunosuppressed renal transplant recipients. *Int. Urol. Nephrol.*, 1979, 11, 145—150.

KRYPTOKOKOWE ZAPALENIE OPON I MÓZGU W PRZYPADKU DŁUGOTRWALEJ IMMUNOSUPRESJI PO PRZESZCZEPNIENIU NERKI

Streszczenie

Opracowano przypadek 17-letniej dziewczynki po udanym przeszczepie nerki od matki, z którym żyła 18 miesięcy. W okresie pooperacyjnym stosowano u pacjentki układową, niespecyficzną immunosupresję (kombinację sterydów azatiopiryny, chlorambucilu i antykoagulantów). Podczas tego leczenia zaobserwowano objawy neuropsychiatryczne, które szczególnie się nasiliły miesiąc przed śmiercią. Na dzień przed zgonem wystąpiły objawy zespołu wzmożonego ciśnienia śródczaszkowego z podrażnieniem opon.

Materiał pobrany z mózgu, nerek i wątroby badano w mikroskopie świetlnym i fluorescencyjnym. Zmiany neuropatologiczne w mózgu były charakterystyczne dla kryptokokowego zapalenia opon i mózgu. Równoczesne działanie immunosupresyjne wynikające z niewydolności nerek i zastosowanego leczenia na układ immunologiczny prawdopodobnie spowodowało wystąpienie infekcji kryptokokami stanowiącą przyczynę śmierci pacjentki.

КРИПТОКОККОВЫЙ МЕНИНГОЭНЦЕФАЛИТ В СЛУЧАЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

Резюме

Автор описывает случай 17-летней девочки после успешного трансплантата почки от матери, с которым она жила 18 месяцев. В послеоперационном периоде применяли у девочки системную, неспецифическую иммуносупрессию (комбинацию азатиопирина, хлорамбуцила и антикоагулянтов). Во время этого лечения наблюдали невропсихиатрические симптомы, которые особенно усилились на месяц перед смертью. Накануне смерти появились симптомы синдрома усиленного средичерепного давления с раздражением оболочек.

Материал взятый из головного мозга, почек и печени автор исследовал в световом и флюоресцентном микроскопе. Невропатологические изменения в головном мозге были характерны для криптококкового менингоэнцефалита. Одновременное иммуносупрессионное действие, вытекающее из недостаточности почек и из примененного лечения иммунологической системы кажется быть причиной выступления т. зн. „тройных инфекций — грибковых, бактериальных и вирусных” у больных леченных трансплантатом почек.

Author's address: Department of Neuropathology, Medical Research Centre, Polish Academy of Sciences, 3, Dworkowa Str., 00—784 Warszawa

PAWEŁ P. LIBERSKI, JANUSZ ALWASIAK, ZBIGNIEW WĘGRZYN,
RYSZARD MACULEWICZ

STURGE-WEBER SYNDROME WITH UNILATERAL MALDEVELOPMENT OF THE CEREBRAL HEMISPHERE

Department of Neurology and Department of Oncology, Medical Academy, Łódź
Department of Neurosurgery, Copernicus Hospital, Łódź

The Sturge-Weber syndrome is a rare congenital disorder, caused by faulty development of neuroectodermal as well as mesodermal tissues. The major feature of this disorder is a venous angioma of the leptomeninges over the cerebral cortex, which is usually but not invariably associated with a similar lesion of the face (port wine nevus).

CASE REPORT

The 13 mo. boy was admitted to Neurosurgical Department after slight trauma (falling off the bed). On the admission to the hospital the initial examination revealed unconscious state with severe right hemiparesis. Jacksonian seizures were often observed. Flat, facial angioma extending over parieto-temporal region and left cheek was visible.

Left carotid angiogram showed displacement of some but left cerebral artery to the right side. Intracranial hematoma was diagnosed and surgically removed. The liquid content of hematoma of the left epidural space was removed via bore hole. The following course was initially complicated by recurrent accumulation of the fluid in the place of surgery (hygroma), which had to be removed twice. Paresis of the right extremities was observed but in a lesser degree. This was the main reason to perform ventriculography. The ventriculogram yielded slight hydrocephalus with bulk of the air accumulated above the left cerebral hemisphere. Twelve days later the second operation was performed to remove hematoma capsule as a possible cause of recurrent hygroma. After craniotomy and capsule eradication the state of the patient worsened and he died in few hours after surgery with signs of respiratory and circulatory insufficiency.



Fig. 1. Convex surface of the hemispheres. Note smaller maldeveloped hemisphere with angiomas and subarachnoid hemorrhages

Ryc. 1. Powierzchnia wypukła mózgu. Półkula lewa mniejsza, rozległy naczynek i wylewy krwi w obrębie opon

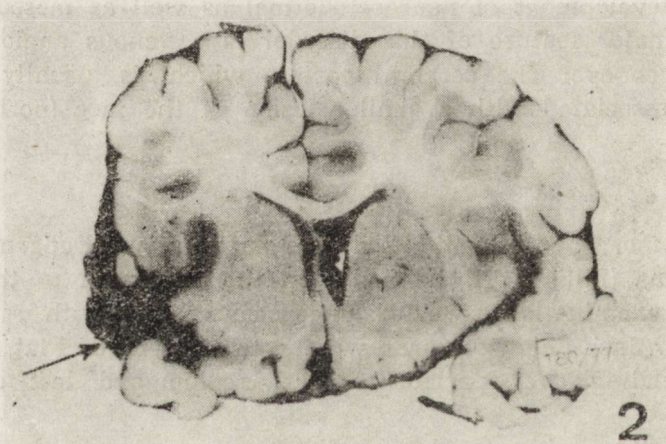


Fig. 2. Atrophy of the cortex and hemorrhages among pathological vessels (arrow) are seen

Ryc. 2. Zaniki kory i wylewy krwi wśród skupisk patologicznych naczyń (strzałka)

The brain was sectioned after fixation in 10% formalin. On the gross examination the left hemisphere appeared malformed and smaller than the right one (Fig. 1). Large hemangioma with widespread subarachnoid hemorrhages was seen over the left hemisphere and the right frontal lobe. On the frontal sections there was massive brain edema with narrowing of ventricular system (Fig. 2). The pathological vessels were found in leptomeninges and in superficial layers of the cortex on the borderline between the cortex and white matter. Similar changes were also observed within the cerebellum (Fig. 3).

Microscopically, within leptomeninges, there was an excess number

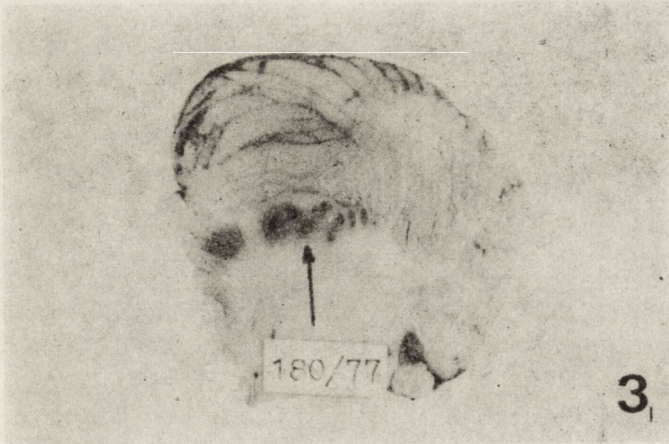


Fig. 3. Left hemisphere of the cerebellum. Note cluster of pathological vessels (arrow)

Ryc. 3. Przekrój lewej półkuli mózdzku: widoczne skupiska patologicznych naczyń (strzałka)

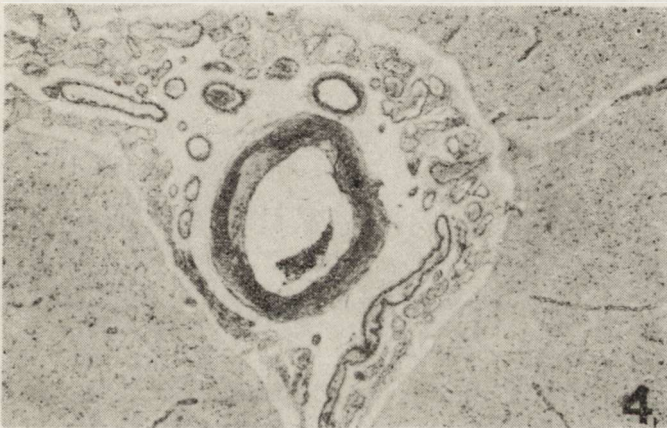


Fig. 4. Microscopic pattern of the meningeal venous angioma. H + E. $\times 60$

Ryc. 4. Obraz mikroskopowy naczyńniaka żylnego opon. H + E. Pow. $60 \times$

of blood vessels. The majority of them were of venous type, with narrow lumina, but cavernous vessels were present too (Fig. 4). Many vessels had hyalinised and thick walls and bridges between cortex and adjacent pia were observed (Fig. 5). The pathological vessels were found not only in the meninges but also in the cortex and white matter. Apart from the above findings many vessels had calcified walls and calcospherites were scattered throughout brain parenchyma (Fig. 6). Both superficial layers and deeper laminae of cortex and white matter were affected.

The above findings were associated with diffuse brain edema and proliferation of the glial tissue, especially oligodendroglia. Many neurons demonstrated nonspecific ischemic changes.

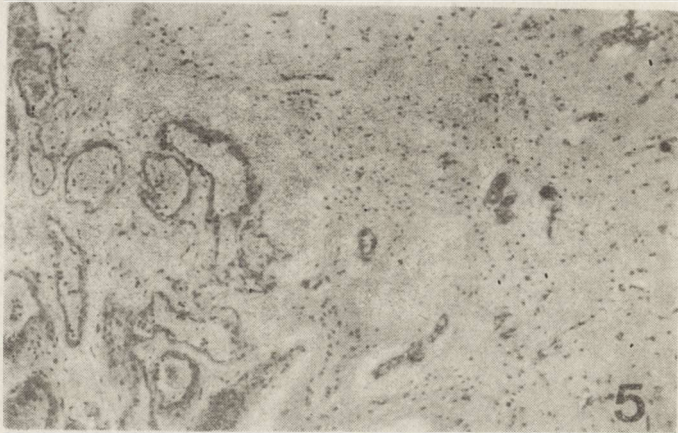


Fig. 5. Microscopic pattern of the meninges and superficial layers of the cerebral cortex. H + E. $\times 60$

Ryc. 5. Obraz mikroskopowy opon i powierzchniowych warstw kory mózgu. H + E. Pow. $60 \times$

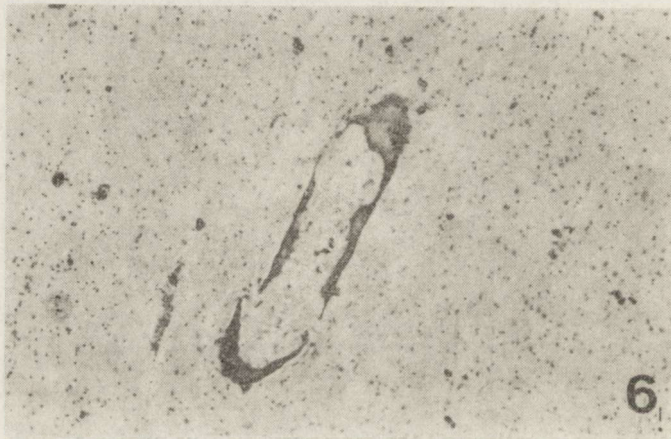


Fig. 6. Calcospherites in the brain tissue and vessel walls. H + E. $\times 60$

Ryc. 6. Złogi wapnia w ścianie naczynia oraz rozproszone w tkance mózgowej. H + E. Pow. $60 \times$

DISCUSSION

In some cases of Sturge-Weber syndrome a number of concomitant anomalies were described. Wohlwill and Yakovlev (1957) observed enlargement of the Gasserian ganglion, with presence of angiomatous malformations in lung, ovary and intestine. The parotid hemangioma has been observed in a case described by Handa et al. (1974). Malformations of the palate and teeth were depicted in a Queterini's case (1971). The association of Sturge-Weber syndrome with leptomeningeal melanosis was described by Nellhaus et al. (1967), while Mammarru et

al. (1968) demonstrated by pneumoencephalography. The overall increase in the volume of the musculature on the site opposite to the cutaneous vascular alterations (hemihypertrophy) was observed by Pacescu et al. (1966). Wiśniewska et al. (1967) have found microgyria and presence of an excess number of gyri. The presence of maldeveloped hemisphere in our case corresponds to the cases of atrophic or hypertrophic changes associated with Sturge-Weber syndrome, but is somewhat unusual in this context. According to our finding we suppose that faulty development of the tissues in this syndrome was initiated in a very early embryonal period of life. We do not think, however, that maldevelopment of the hemisphere was related to decrease blood supply, despite the angiomatous malformations were present over both cerebral hemispheres and cerebellum.

REFERENCES

1. Handa, F., Aggarwal, R. R., Singh, R. L.: A case report of Sturge-Weber syndrome. *Indian. J. Derm. Vener.*, 1974, 40, 153—155.
2. Mammara, S., Kishi, Y., Shimazono, Y.: A case of Sturge-Weber disease with contralateral cerebral malformations. *Clin. Neurol.*, (Tokyo) 1968, 8, 129—134.
3. Nellhaus, G., Haberland, C., Hill, B. J.: Sturge-Weber disease with bilateral calcifications at birth and unusual pathologic findings. *Acta Neurol. Scand.*, 1967, 43, 314—347.
4. Pacescu, N., Mircescu, L., Macovei, G., Botez, M. I.: Studiu clinic asupra a doua cazuri de neuroangiomatoza encefalofaciala. *Derm. Vener.*, (Buc) 1966, 11, 21—28.
5. Queterini, A., Bergonzi, P., Signorini, E.: Una forma mista di malattia di Sturge-Weber e di Klippel-Trenaunay. *Riv. Neurobiol.*, 1971, 17, 415—426.
6. Wiśniewska, T., Taraszewska, A.: Choroba Sturge-Webera z mikrogyrią. *Neuropat. Pol.*, 1967, 5, 41—48.
7. Wohlwill, F., Yakovlev, P. I.: Histopathology of meningo-facial angiomatosis (Sturge-Weber Disease). Report of four cases. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1957, 16, 341—364.

ZESPÓŁ STURGE-WEBERA SKOJARZONY Z ZABURZENIEM ROZWOJOWYM PÓŁKULI MÓZGU

Streszczenie

Autorzy opisują zespół Sturge-Webera u 13-miesięcznego dziecka. Badanie neuropatologiczne oprócz typowych dla zespołu zmian wykazało niedorozwój jednej z półkul. W pracy omówiono przypadki tego zespołu współistniejące z innymi zaburzeniami rozwojowymi.

СИНДРОМ СТУРДЖЕ-ВЕБЕРА СОЧЕТАННЫЙ С НАРУШЕНИЕМ РАЗВИТИЯ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Резюме

Авторы описывают синдром Стурдже-Вебера у 13 месячного ребёнка. Невропатологическое исследование кроме типических для синдрома изменений обнаружило недоразвитие одного из полушарий. В статье обсуждены случаи этого синдрома сосуществующие с другими нарушениями развития.

Author's address: J. Alwasiak, Department of Oncology, Medical Academy, 4, Gagarina Str., 93—509 Łódź, Poland

1. Itakura T, Arai H, Kuroki K, et al. A case of Sturge-Weber syndrome. *J Clin Neurophysiol*, 1977; 18: 158-161.
2. Itakura T, Arai H, Kuroki K, et al. A case of Sturge-Weber syndrome. *J Clin Neurophysiol*, 1985; 26: 133-144.
3. Yoshida C, Takahashi C, et al. Sturge-Weber disease with bilateral calcification of the frontal parietal region. *Acta Neurol (Tokyo)*, 1987; 6: 114-117.
4. Farnham M, Mowbray J, Mowbray J, et al. Sturge-Weber syndrome. A case report. *J Clin Neurophysiol*, 1988; 29: 31-33.
5. Quasthoff S, Quasthoff S, et al. Sturge-Weber syndrome. A case report. *J Clin Neurophysiol*, 1987; 18: 415-421.
6. Winiarski J, Winiarski J, et al. Sturge-Weber syndrome. A case report. *J Clin Neurophysiol*, 1987; 28: 415-421.
7. Winiarski J, Winiarski J, et al. Sturge-Weber syndrome. A case report. *J Clin Neurophysiol*, 1987; 28: 415-421.

SPRAWOZDANIE Z V KRAJOWEJ KONFERENCJI NEUROPATOLOGICZNEJ SNP

W dniach 14—16 maja 1981 odbyła się w Szczecinie piąta z kolei Krajowa Konferencja Stowarzyszenia Neuropatologów Polskich. Na program jej złożyły się sesje naukowe oraz — zgodnie z wymaganiami statutu SNP — Walne Zgromadzenie połączone z wyborem nowych władz Stowarzyszenia. Nowością było, nie stosowane dotychczas w czasie krajowych konferencji, włączenie do programu naukowego sesji o charakterze międzynarodowym. Była to sesja wspólna ze Skandynawskim Towarzystwem Neuropatologicznym.

W pierwszym dniu obrad wygłoszono szereg doniesień poświęconych uwarunkowanemu wiekiem zróżnicowaniu reaktywności układu nerwowego (był to główny temat Konferencji). Sesję tę otworzył referat wprowadzający wygłoszony przez M. J. Mossakowskiego. Następnie E. Tarnowska-Dziduszko mówiła o problemie koincydencji zmian neuropatologicznych typowych dla choroby Picka i Alzheimera, a Mossakowski i E. Kida przedstawili interesujący przypadek proliferacji limfoblastycznej z rozległymi polami demielinizacji. A. Krygier-Stojałowska i wsp. zestawili wyniki swych kilkuletnich badań nad zależnym od wieku występowaniem neuronów z hiperdiploidalną ilością DNA w mózgach ludzi i zwierząt. Związanej z wiekiem modyfikacji obrazu zapaleń wirusowych mózgu poświęcone były doniesienia A. Jędrzejewskiej i M. Dowgiałło oraz V. Reinhardta i współpracowników (RFN). Neuropatologia wieku rozwojowego reprezentowana była przez pracę doświadczalną D. Maślińskiej — monoaminy w mózgu po podawaniu pestycydów — oraz kompleks badań przedstawionych przez M. B. Kozika, A. Godlewskiego, L. J. Maziarza i J. Szczecha o wpływie Vinkrystyny na układ nerwowy młodych szczurów. Zmiany w obrzeżu glejaków mózgu u chorych w różnym wieku były przedmiotem doniesienia P. Nowackiego i współpracowników.

Popołudniowa sesja pierwszego dnia obrad była poświęcona tematowi wolnym. Wygłoszono tu kilka doniesień z zakresu neuroonkologii: J. Alwasiak przedstawił swą ocenę prognostycznego znaczenia odczynów zapalnych w glejakach mózgu, M. Majak i wsp. — przypadek tłuszczaka rdzenia kręgowego o symptomatologii zbliżonej do stwardnienia rozsianego, a J. Borowska-Lehman — zmiany w limfocytach krwi po Co-terapii. Obserwacje neuropatologiczne po hipertermii (prace doświadczalne) omówili H. Wyglądalska-Jernas (odnośnie rdzenia kręgowego) oraz E. Sosiński i A. Głowacka (w odniesieniu do mózdzku). Badania nad hodowlą tkanek reprezentowały 2 prace: Z. Kraśnickiej i wsp. o wpływie pochodnych nitrozomocznika (MNU i ENU) na tkankę nerwową oraz H. Weinrauder i wsp. o działaniu surowicy antyglejowej na hodowlę tkanek mózdzku szczura. W czasie tej sesji przedstawiono ponadto wyniki badań CT mięśni w miopatiach — H. Schulze i Zschenderlein (NRD), przypadek postępującej leukoencefalopatii wielogniskowej — Papierz i wsp., oraz badania nad morfologią starzenia się szyszynki — H. Gawdzińska-Grabowska.

Sesja polsko-skandynawska wypełniła program naukowy drugiego dnia Kon-

ferencji. Zasadniczymi tematami były: Niedokrwienie mózgu — Obrzęk mózgu — Przepuszczalność naczyń. Neuropatologii niedokrwienia poświęcono 8 doniesień. Znalazły się tu prace N. Diemera i E. Siemkowicza (Dania) o zmianach ischemicznych w hipokampie, Ekströma i wsp. (Dania) o ultrastrukturze tych zmian, Z. Stelmasiaka o zachowaniu się monoamin w ischemii i obrzęku mózgu oraz L. Paljärvi i wsp. (Finlandia) na temat zmian ultrastrukturalnych mózgu w hiperkapni. W pracach Söderfeldt i wsp. (Szwecja), Olssona i wsp. (Szwecja) oraz D. Markiewicz poruszono wpływ czynnika ischemii na patogenezę zmian mózgowych w przebiegu padaczki, a w doniesieniu H. Kalimo i wsp. (Szwecja) osłaniające działanie fenobarbitalu na tkankę nerwową w warunkach hipoglikemii.

Właściwości morfologiczne i enzymatyczne ściany naczyń były tematem doniesienia K. Renkawek, a zaburzenia przepuszczalności naczyń w warunkach patologicznych omówili: M. Dąbska i wsp. (w zatruciu dichlorfosem), E. Simon (w przebiegu podawania środków cieniujących), B. Arvidson ze Szwecji (po zatruciu kadmem) oraz M. Wender (w przewlekłym podawaniu trójetylenku cyny).

Udarom mózgu poświęcono tylko dwa doniesienia: A. Torvik i J. Stenwig (Norwegia) przedstawili pracę o częstości udarów wśród ludności Oslo w okresie 20 lat, a P. Olejniczak i J. Dąbrowska mówili o patogennym udziale obrzęku mózgu w udarach u alkoholików. Nowa metoda oceny obrzęku mózgu była tematem doniesienia Ch. Tengvara i wsp. (Szwecja).

W programie sesji polsko-skandynawskiej znalazło się ponadto 13 doniesień o tematyce różnej. Pięć z nich dotyczyło patologii obwodowego układu nerwowego (L. Persson — Szwecja, M. Haltia i wsp. — Finlandia, K. Kristensson i T. Olsson — Szwecja, C. Nordborg i wsp. — Szwecja i A. Oldfors — Szwecja).

Pozostałe doniesienia były poświęcone wpływowi metody uśmiercania zwierząt na ultrastrukturę synaps (J. Dymecki i wsp.) oraz zmianom w sercu w chorobie Spielmejera-Vogta (E. Reske-Nielsen i wsp., Dania). W ramach tej sesji J. Schneider i D. Schreiber (NRD) przedstawili prace z zakresu epidemiologii oponiaków oraz na temat występowania nowotworów OUN w różnych grupach wiekowych, a A. Escobar (Meksyk) zademonstrował zmiany neuropatologiczne w przypadku *encephalitis periaxialis concentrica* Baló.

W trzecim dniu Konferencji odbyły się równoległe dwie sesje tematów wolnych.

Pierwsza z nich obejmowała szereg doniesień o tematyce naczyniowej. Topografię i strukturę ognisk rozmiękania w mózdzku omówiła L. Szemis, ocenę morfologiczną wieku krwiałków śródmózgowych przedstawili P. Nowacki i J. Cecerko, a korelacje kliniczno-neuropatologiczne stanu zatokowatego — K. Honczarenko. B. Goetzen i E. Nachman przedstawili szereg obrazów mikrotętniaków i zniekształceń tętniczek mózgu. Poza tym J. Krawczyk zademonstrowała przypadek centralnej demielinizacji mostu, a Z. Osuch zmiany w płynie m.-rdz. po sztucznym jego skrwawieniu (jedyna na Konferencji praca z zakresu cytologii płynu m.-rdz.).

Druga sesja zawierała doniesienia o aspektach immunologicznych. J. Kałuża i E. Junikiewicz mówili o oznaczaniu immunoglobulin w gleju metodą immunoperoksydazy, S. Krajewski i A. Loesch — o immunomorfologii obwodowego układu nerwowego w chorobie posurowiczej, a A. Goncerzewicz o immunochemii walerowskiego zwyrodnienia drogi wzrokowej. E. Kida i wsp. przedstawili pracę o różnych typach gruźlicy OUN. Dwa doniesienia kazuistyczne dotyczyły przypadku encefalopatii wątrobowej o obrazie neuropatologicznym choroby Wilsona (E. Matyja i wsp.) oraz przypadku nekrotyzującego zapalenia mózgu (Liberski i wsp.).

Walne Zgromadzenie SNP odbyło się w drugim dniu Konferencji. Przewodniczącymi zebrania wybrano J. Kulczyckiego i J. Kałużę. Zebrani przyjęli sprawozdania ustępującego Zarządu, Naczelnego Redaktora „Neuropatologii Polskiej”

M. Mossakowskiego i Komisji Rewizyjnej. W dyskusji poruszono szereg istotnych problemów neuropatologii polskiej. Mówiono m. in. o nowelizacji przepisów dotyczących specjalizowania się neurologów i patomorfologów w zakresie neuropatologii, o przedłużającym się cyklu wydawniczym podręcznika „Podstawy Neuropatologii” oraz o sprawach związanych z nagrodami naukowymi Stowarzyszenia. Przedstawiono perspektywy współpracy SNP z innymi towarzystwami neuropatologicznymi (węgierskim, niemieckimi, skandynawskim i in.) na najbliższe lata.

Po udzieleniu absolutorium ustępującemu Zarządowi wybrano w głosowaniu tajnym nowy Zarząd SNP i redaktora naczelnego „Neuropatologii Polskiej”. Prezesem Zarządu została M. Dąbska, naczelnym redaktorem — M. Mossakowski (dokładne dane o wynikach wyborów zawiera Kronika SNP w naszym czasopiśmie).

W obradach V Konferencji Neuropatologicznej wzięło udział w sumie 85 osób, w tym 30 uczestników z zagranicy (24 z krajów skandynawskich, 3 — z NRD, 2 — z RFN i 1 — z Meksyku). Wygłoszono 62 doniesienia, z tego 24 w ramach sesji polsko-skandynawskiej.

W przeddzień Konferencji odbyło się powitanie uczestników przez Komitet Organizacyjny w piwnicy najstarszego ratusza Szczecina. W dniu następnym odbyło się w bardzo miłej atmosferze spotkanie z prezydentem Szczecina J. Stopyrą. Po zakończeniu Konferencji urządzono wycieczkę statkiem po Zalewie Szczecińskim.

Ocena V Konferencji jest zapewne u każdego jej uczestnika nieco odmienna. Wydaje się jednak, że program naukowy wszystkich sesji można uznać za dobry i interesujący. Sesja polsko-skandynawska wzbogaciła bardzo Konferencję pod względem naukowym, choć jednocześnie była przyczyną dużego przeładowania programu 2-go dnia obrad. Prawidłowy i, jak się wydaje, dość sprawny przebieg Konferencji oraz uatrakcyjnienie pobytu jej uczestników w Szczecinie należy zawdzięczać przede wszystkim pracownikom Kliniki Neurologicznej Pomorskiej Akademii Medycznej oraz Rektoratowi tej Uczelni, a ponadto instytucjom pomagającym organizatorom: Polskiej Żegludze Morskiej, Polskim Zakładom Optycznym w Warszawie, Zakładom Farmaceutycznym „Polfa” w Tarchominie i Biuru Kongresów „Orbis” w Warszawie.

Jerzy Kulczycki

DZIAŁ KRONIKI I INFORMACJI

W dniu 15 maja 1981 r. odbyło się w Szczecinie Walne Zgromadzenie Stowarzyszenia Neuropatologów Polskich, na którym wybrano Zarząd Główny na kolejną 3-letnią kadencję.

Zarząd ukonstytuował się następująco:

- Prezes — prof. dr hab. med. Maria Dąbajska (kierownik Pracowni Neuropatologii Rozwojowej CMDiK PAN, Warszawa),
Wiceprezes — prof. dr hab. med. Józef Kałuża (kierownik Samodzielnej Pracowni Neuropatologii Instytutu Neurologii AM, Kraków),
Sekretarz — dr med. Janusz Alwasiak (adiunkt Zakładu Neuroonkologii AM, Łódź),
Skarbnik — prof. dr hab. med. Jerzy Kulczycki (kierownik I Kliniki Neurologicznej Instytutu Psychoneurologicznego, Warszawa),
Naczelny Redaktor „Neuropatologii Polskiej” — prof. dr hab. med. Mirosław J. Mossakowski.
Członkowie — prof. dr hab. med. Mirosław Kozik (kierownik Zakładu Neuropatologii Instytutu Chorób Układu Nerwowego i Narządów Żmysłów. Poznań),
— prof. dr hab. med. Jerzy Dymecki (kierownik Zakładu Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego, Warszawa),

Komisja Rewizyjna

- Przewodnicząca — dr med. Eugenia Tarnowska-Dziduszko (adiunkt w Zakładzie Neuropatologii Instytutu Psychoneurologicznego, Warszawa),
Członkowie — doc. dr hab. med. Jolanta Lehman-Borowska (docent w Zakładzie Anatomii Patologicznej AM, Gdańsk),
— doc. dr hab. med. Tadeusz Majdecki (kierownik Zakładu Ochrony Układu Nerwowego Centralnego Ośrodka Badawczego Kolejowej Służby Zdrowia, Warszawa),
— dr med. Barbara Hoppe (adiunkt Zakładu Anatomii Patologicznej, AM, Warszawa).

Z okazji Dnia Pracownika Służby Zdrowia prof. dr med. Helena Nielubowiczowa oraz prof. dr med. Jerzy Kulczycki z Instytutu Psychoneurologicznego w Warszawie otrzymali z rąk Prezydenta m. st. Warszawy nagrodę zespołową i dyplom uznania za wybitne osiągnięcia w pracy nad zdrowotnością mieszkańców Warszawy.

*

Dnia 22 kwietnia 1981 r. Rada Wydziału Lekarskiego AM w Poznaniu nadała stopień doktora nauk medycznych lek. med. Jadwidze Wigowskiej-Sowińskiej po

przeprowadzeniu obrony pracy pt.: „Zmiany morfologiczne i histoenzymatyczne wzgórza w zatruciach fungicydami rtęciowo-organicznymi”. Promotorem był prof. dr hab. med. Mirosław B. Kozik.

*

Dnia 22 czerwca 1981 r. Rada Naukowa Instytutu Psychoneurologicznego w Warszawie nadała stopień doktora nauk medycznych lek. med. Maciejowi Półtorakowi na podstawie pracy pt.: „Subpopulacje limfocytów w płynie mózgowo-rdzeniowym i krwi obwodowej w chorobach ośrodkowego układu nerwowego”. Promotorem była doc. dr hab. med. Anna Członkowska.

Jerzy Dymecki

SPIS TREŚCI

B. Gajkowska, J. W. Borowicz: Ultrastrukturalne badania wpływu kolchicyny na układ podwzgórzowo-przysadkowy szczura	317
E. Matyja, K. Renkawek: Obraz morfologiczny komórek glejowych w hodowli organotypowej prążkowie, poddanej działaniu kwasu kainowego	329
L. J. Maziarz, A. Godlewski: Zmiany morfologiczne i histoenzymatyczne w korze amonalnej i w korze mózdzku zachodzące pod wpływem dużych dawek chlorku cynku	341
E. Kida, K. Renkawek, I. Victorov: Ocena dojrzewania istoty czarnej w hodowli organotypowej. I. Badania w mikroskopie świetlnym i fluorescencyjnym	355
J. Kulczycki, A. Krygier-Stojałowska, K. Jaszczak, K. Honczarenko, P. Nowacki, M. Madej: Dezoksyrybonukleoproteidy w neuronach i komórkach gleju mózgowi myszy w różnym wieku	365
E. Tarnowska-Dziduszko: Analiza kliniczno-morfologiczna nietypowych przypadków choroby Picka i choroby Alzheimerera	377
A. Brzecki, J. Dąbrowska, P. Olejniczak: Młodzieńcza, rodzinna postać stwardnienia zanikowego bocznego	391
M. J. Mossakowski, E. Kida: Niema demielinizacja z ogniskowym i rozlanym rozrostem retikuloblastycznym mózgu	397
P. P. Liberski, J. Alwasiak, Z. Węgrzyn: Nietypowa, wielogniskowa postępująca leukoencefalopatia w przypadku pierwotnego chłoniaka mózgu	413
J. Borowska-Lehman: Limfocyty krwi obwodowej i ich subpopulacje w pierwotnych nowotworach śródczaszkowych. (Badanie przed i po operacyjnym usunięciu nowotworu w korelacji z miejscowym odczynem limfocytarnym)	421
E. Kida, H. Kroh, Z. Kraśnicka, K. Renkawek: Gruźlica ośrodkowego układu nerwowego o nietypowym przebiegu klinicznym i obrazie patomorfologicznym	437
P. P. Liberski, J. Alwasiak, Z. Węgrzyn, W. Krul: Badanie patokliniczne w przypadku zmartwiającego zapalenia mózgu	451
E. Matyja: Obraz ultrastrukturalny komórek nerwowych prążkowie w hodowli organotypowej in vitro	457
A. Kapuściński, M. J. Mossakowski: Niezgodność pomiędzy powrotem korowej aktywności bioelektrycznej i postępowaniem zmian morfologicznych po niedokrwieniu mózgu u chomików mongolskich	471
M. Laure-Kamionowska, T. Majdecki: Zespół zmian w układzie nerwowym płodów jako następstwo uszkodzenia śródciażowego	475
P. Nowacki, K. Honczarenko, J. Kulczycki, K. Wichert, M. Brandowska: Zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym w przebiegu ostrej białaczki	483
S. Krajewski: Kryptokokowe zapalenie opon i mózgu w przypadku długotrwałej immunosupresji po przeszczepieniu nerki	495
P. P. Liberski, J. Alwasiak, Z. Węgrzyn, R. Maculewicz: Zespół Sturge-Webera skojarzony z zaburzeniem rozwojowym półkuli mózgu	505
J. Kulczycki: Sprawozdanie z V Krajowej Konferencji Neuropatologicznej SNP	511
J. Dymecki: Dział kroniki i informacji	515

СОДЕРЖАНИЕ

Б. Гайковска, Е. Борович: Ультраструктурные исследования гипоталамо-гипофизарной системы крысы под влиянием колхицина	317
Э. Матыя, К. Ренкавек: Морфологическая картина глиозных клеток в органотипичной культуре полосатого тела подвергнутой действию каиновой кислоты	329
Л. Я. Мазаяж, А. Годлевски: Морфологические и гистоэнзиматические изменения в коре аммоного рога и в коре мозжечка возникающие под влиянием больших доз хлористого цинка	341
Э. Кида, К. Ренкавек, И. Викторов: Оценка созревания черного вещества во внеорганической органотипичной культуре	355
Е. Кульчицки, А. Крыгер-Стояловска, К. Ящак, К. Гончаренко, П. Новацки, М. Мадей: Дезоксирибонуклеопротейды в нейронах и клетках глии мозгов мышей разного возраста	365
Э. Тарновска-Дзидушко: Клинико-морфологический анализ нетипичных случаев болезни Пика и болезни Альцгеймера	377
А. Бжецки, Ю. Домбровска, П. Олейничак: Юношеская, семейная форма амиотрофического бокового склероза	391
М. Я. Моссаковский, Э. Кида: Немая демиелинизация с очаговой и разлитой ретикулобластической гиперплазией головного мозга	397
П. П. Либерски, Я. Альвасяк, З. Венгжин: Атипичная прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия и первичная мозговая лимфома	413
И. Боровска-Леман: Лимфоциты периферической крови и их субпопуляции в первичных внутричерепных опухолях (Исследование перед и после операционного удаления опухоли в корреляции с местной лимфоцитарной реакцией)	421
Э. Кида, К. Ренкавек, Г. Крох, З. Красницка: Нетипичное клиническое течение и сложная патоморфологическая картина туберкулеза центральной нервной системы	437
П. П. Либерски, Я. Альвасяк, З. Венгжин, В. Круль: Пато-клинические исследования в случае некротизирующего энцефалита	451
Э. Матыя: Ультраструктурная картина нервных клеток полосатого тела в органотипичной культуре in vitro	457
А. Капусьиньски, М. Я. Моссаковский: Дезорганизация между возвращением биоэлектрической корковой активности и прогрессом морфологических изменений после ишемии головного мозга у монгольских хомяков	471
М. Ляуре-Камионовска, Т. Майдески: Симптомокомплекс изменений в нервной системе плодов как последствие средибеременного повреждения	475
П. Новацки, К. Гончаренко, Е. Кульчицки, К. Вихерт, М. Брандовска: Изменения в центральной нервной системе в течение острой лейкемии	483
С. Краески: Криптококковый менингоэнцефалит в случае длительной иммуносупрессии после трансплантации почки	495
П. Либерски, Я. Альвасяк, З. Венгжин, Р. Мацулевич: Синдром Стурдже-Вебера сочетанный с нарушением развития полушарий головного мозга	505
Е. Кульчицки: Отчет из 5 всеобщей невропатологической конференции ОПН	511
Е. Дымецки: Отдел хроники и информации	514

CONTENTS

B. Gajkowska, J. W. Borowicz: Ultrastructural study of the hypothalamo-neurohypophyseal system in rats after colchicine treatment	317
E. Matyja, K. Renkawek: Morphology of striatal glial cells in organotypic tissue culture submitted to kainic acid	329
L. J. Maziarz, A. Godlewski: Morphological and histoenzymatic changes in the Ammon's horn and cerebellar cortex due to the influence of the high zinc chloride doses	341
E. Kida, K. Renkawek, I. Victorov: Maturation of nigral cultures in vitro	355
J. Kulczycki, A. Krygier-Stojałowska, K. Jaszczak, K. Honczarenko, P. Nowacki, M. Madej: Deoxyribonucleoproteins in neurons and glial cells in the brain of mice at different age	365
E. Tarnowska-Dziduszko: Clinical and morphological analysis of atypical cases of Pick's and Alzheimer's diseases	377
A. Brzecki, J. Dąbrowska, P. Olejniczak: Juvenile family form of amyotrophic lateral sclerosis	392

M. J. Mossakowski, E. Kida: Silent demyelination with focal and diffuse reticuloblastosis of the brain	397
P. P. Liberski, J. Alwasiak, Z. Węgrzyn: Atypical progressive multifocal leucoencephalopathy and primary cerebral lymphoma	413
J. Borowska-Lehman: Circulating lymphocytes and their subpopulations in the primary intracranial tumors. (Study before and after surgical removal and correlation with local lymphocytic reaction)	421
E. Kida, H. Kroh, Z. Kraśnicka, K. Renkawek: Tuberculosis of the central nervous system with atypical course and various pathomorphological picture	431
P. P. Liberski, J. Alwasiak, Z. Węgrzyn, W. Krul: The clinicopathological study of the case of necrotizing encephalitis	451
E. Matyja: Ultrastructure of nerve cells in organotypic cultures of the rat neostriatum	457
A. Kapuściński, M. J. Mossakowski: Uncoupling between recovery of cortical bioelectric activity and progression of morphological alterations after cerebral ischemia in gerbils	471
M. Laure-Kamionowska, T. Majdecki: Changes in the central nervous system of fetuses following impairment during pregnancy	475
P. Nowacki, K. Honczarenko, J. Kulczycki, K. Wichert, M. Brandowska: Changes in the central nervous system in the course of acute leukemia	483
S. Krajewski: Cryptococcal meningoencephalitis after long-lasting immunosuppression in the case of kidney transplantation	495
P. P. Liberski, J. Alwasiak, Z. Węgrzyn, R. Maculewicz: Sturge-Weber syndrome with unilateral maldevelopment of the cerebral hemisphere	505
J. Kulczycki: Report of Vth Conference on Neuropathology of Association of Polish Neuropathologists	511
J. Dymecki: Chronicle and Information	515

Cena zł 120.—

Indeks 36668