

Academia R.S.R., Baza de cercetări științifice Tirgu-Mureș
(cond.: prof. M. Gündisch, doctor-docent în științe) și Catedra de anatomie umană
(cond.: prof. T. Maros, doctor docent în științe) a I.M.F. din Tg.-Mureș

CERCETĂRI ASUPRA ENCEFALOPATIILOR EXPERIMENTALE XXIII.

Caracterele morfologice ale encefalomielitei alergice experimentale (EAE) la ciini *

T. Maros, L. Lázár, Virginia V. Kovács

Caracterul primar sau secundar al dezintegrării mielinice, mai ales în faza incipientă a sclerozei în plăci, poate fi considerat și azi ca o problemă controversată (11).

Fiind vorba de o afecțiune demielinizantă a sistemului nervos, este evident că toate cercetările axate pe studiul procesului de dezintegrare toxică (primară) sau inflamatorie (secundară) a mielinei contribuie în oarecare măsură la elucidarea unor aspecte legate de patogenia sclerozei în plăci.

Cu toate că procesele demielinizante, declanșate pe cale experimentală, nu pot fi considerate nici din punct de vedere morfologic ca fiind echivalente cu boala umană denumită scleroză în plăci (24), nu este mai puțin adevărat că EAE prezintă numeroase trăsături comune cu această boală deccamdată puțin cunoscută (18, 19). Tabloul microscopic al EAE este de multe ori complet asemănător cu cel al encefalomielitelor umane desiminate acute, acestea din urmă fiind considerate de unii autori (9) identice cu formele acute ale sclerozei în plăci la om.

Caracterele morfologice ale encefalomielitelor postvaccinale, postinfecțioase și ale celor hemoragice acute nu numai că sînt asemănătoare, dar și identice în multe privințe cu leziunile morfologice întilnite în EAE (5).

Dintre animalele de experiență maimuța și ciinele par a fi cele mai adecvate în cercetările care urmăresc dinamica proceselor demielinizante (15). Puținele studii efectuate pe ciini (29) au confirmat faptul că la aceste animale procesul de EAE este însoțit de simptome clinice și alterări morfologice ale sistemului nervos central, care se aseamănă mult cu cele întilnite în encefalitele alergice cunoscute din patologia umană.

Dacă ne însușim concepția, potrivit căreia scleroza în plăci este de origine alergică (10), devine de la sine înțeleasă utilitatea modelului experimental folosit de noi la studiul patogeniei bolii amintite (25). De aceea credem că prezentarea sintetică a alterărilor morfologice înregistrate în cursul EAE provocată la ciini cu ajutorul acestui model experimental poate suscita interesul neurologilor.

Material și metodă

Cercetările noastre au fost efectuate pe 20 ciini de ambele sexe cu greutate corporală între 5—15 kg. Înainte de începerea tratamentului encefalitogen ciinii au fost sensibilizați prin injectare intraperitoneală a 1 ml de vaccin Pertussis (20 mi-

* Com. la ședința din 1 aprilie 1965 a Secției de neuropatologie a Acad. R.S.R. Baza de cerc. științifice din Tg.-Mureș și a Secției de morfologie și patologie comparată a U.S.S.M. filiala Reg. Mureș A. M.

liarde germeni). Se știe și din cercetările anterioare că prin această metodă susceptibilitatea alergică a animalelor de experiență poate fi mărită (20, 25, 37, 38). După 3 zile începe tratamentul propriu-zis care constă din administrare repetată la intervale de cite 5 zile a unei suspensii de creier heterolog în asociație cu adjuvantul Freund, injectările făcându-se intracutan, în regiunea cefii și a spatelui, în narcoză cu thiopental sau evipan sodic. Modul de preparare a emulsiei și unele detalii de ordin tehnic sint descrise într-o lucrare anterioară (25).

La 50% a animalelor supuse regimului encefalitogen s-au mai efectuat în plus — din 3 în 3 săptămâni — puncții eisternale, extrăgând de fiecare dată 4—5 ml de lichid cefalorahidian. Această intervenție s-a făcut cu scopul de a urmări dacă puncția cisternală are vreun efect asupra evoluției procesului patologic. Potrivit citorva date (2, 22) ar exista o atare acțiune a puncțiilor cisternale.

Ţînii au fost sacrificați la diverse intervale de timp, în faza de agravare a simptomelor nervoase și a stării generale, cînd exista riscul pierderii spontane. Fragmente de țesut recoltate din diverse segmente ale creierului (25), au fost fixate în formalină (1:4) și colorate pentru mielină (16), hematoxilină-eozină și procedeul Masson.

Rezultate

Luînd în considerare că sacrificările s-au făcut la diverse intervale de la instituirea tratamentului encefalitogen, modificările sistemului nervos central înregistrate reflectă diferite stadii de evoluție ale procesului de EAE. Analiza sintetică a datelor obținute ne permite să facem deducții asupra ordinii de apariție în timp a alterărilor morfologice, și ajută la stabilirea caracterelor etapelor evolutive ale procesului patologic.

Modificările cele mai timpurii iau naștere la nivelul vaselor cerebrale și al zonelor învecinate: spațiile perivascularare la început se dilată (în special cele corespunzătoare segmentelor pre- și postcapilare), rezultînd apoi o invazie a elementelor celulare hematogene în spațiile largite din jurul vaselor (fig. 1 și 2).

De asemenea pot fi considerate ca fenomene reactive precoce disocierea structurală și infiltrația celulară a pereților arteriolelor și venulelor, urmate de o reacție inflamatoare a zonelor perivascularare, care va da naștere unor infiltrate celulare dispuse ca centuri inelare în jurul vaselor (fig. 3).

Etapa următoare se caracterizează prin disocierea edematoasă a zonelor perivascularare, care provoacă tumefierea, degenerescența și dezintegrarea mielinei din teritoriul compromis. Astfel pe traiectul vaselor vor lua naștere zone circumscrise de demielinizare, ferm limitate de țesutul nervos învecinat.

După injectarea unei noi doze de antigen și sub acțiunea altor factori care mobilizează mecanismele imunoalergice ale organismului, reapăr pe traiectul vaselor exsudatele și extravazatele amintite, cauzînd în limitele vechiului focar apariția unei borduri inelare de hematii, plasată direct pe vas sau în sectorul periferic al zonei perivascularare (fig. 4). Corespunzător acestor focare reaprinse se produc noi edeme și infiltrate celulare, imprimînd procesului de demielinizare un caracter de extindere asupra altor contigente de fibre nervoase. Așa se explică sporirea numerică a focarelor demielinizante după fiecare reinjecție de antigen.

Din contopirea focarelor învecinate, dispuse în jurul vaselor, iau naștere în substanța albă a sistemului nervos central arii extinse de demielinizare, cu margini sinuoase, neregulate, în formă de hartă (fig. 5).

Un factor esențial în evoluția procesului este vasculita, care în unele cazuri avansează pînă la stadiul de trombangită, obturînd lumenul vasului. Menționăm că în zonele demielinizate am putut totdeauna identifica vasul obturat pe secțiuni seriate.

În afară de focarele demielinizante dispuse în jurul vaselor, la majoritatea animalelor s-au manifestat — concomitent cu acestea sau în timpi diferiți — focare difuze care nu respectau topografia vasculară.

Corespunzător sectoarelor alterate, la început se dezvoltă o intumescență și un edem de mare extindere (frecvent pe tot teritoriul substanței albe aparținînd



Fig. nr. 1: Polul frontal. Limita dintre substanța albă și cenușie. Spațiu perivascular lărgit, cu puține elemente hematogene. (Impregnație argentică. Mărire de 86 μ).

Fig. nr. 2: Porțiunea toracică a măduvei spinării. Zona limitrof: cordonul anterior și cornul anterior. Spațiul perivascular lărgit este plin de elemente hematogene, peretele vasului apare disociat. (Impregnație argentică. Mărire de 86 μ).

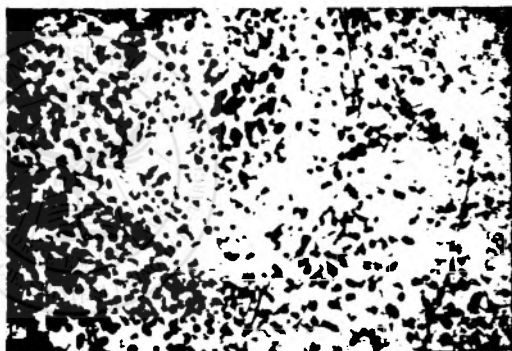


Fig. nr. 3: Capsula internă. Spațiul perivascular și peretele vasului sînt inundați de elemente celulare caracteristice proceselor inflamatorii. Infiltratul perivascular este format preponderent de celule mononucleate (Impregnație argentică. Mărire de 86 μ).

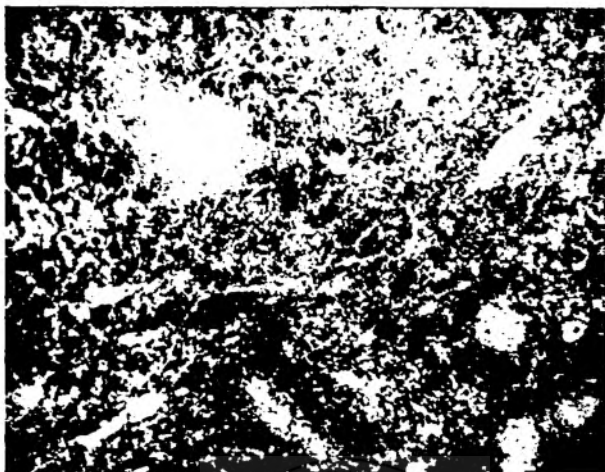


Fig. nr. 4.: Polul temporal. Vecinătatea nucleului amigdalian. În jurul unor focare demielinizate recrudescența hiperergică se manifestă sub forma unor hemoragii „inelare”. (Colorare pentru mielină. Mărire de 22^x).

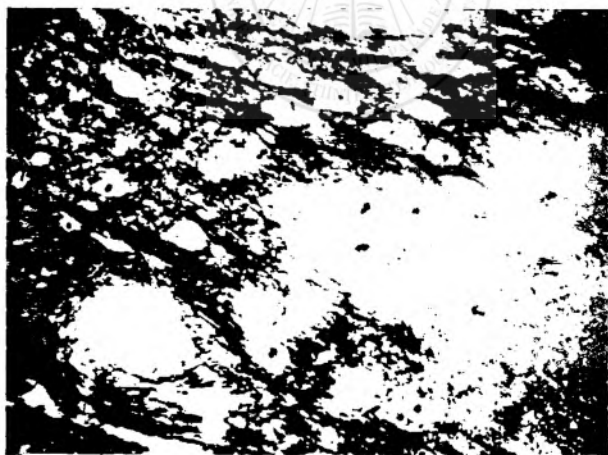


Fig. nr. 5.: Lobul parietal. Se observă numeroase zone perivascularare de demielinizare (cu vasul trombotizat în centrul lor), din contopirea cărora rezulta zone extinse de demielinizare. (Colorare pentru mielină. Mărire de 22^x).

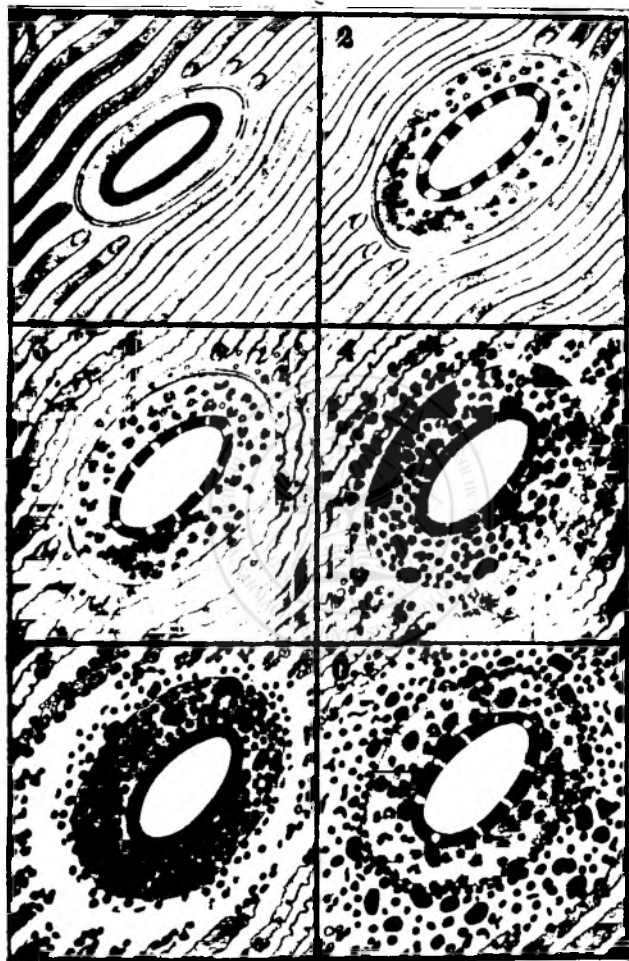


Fig. nr. 6.: Explicația a se vedea în text.

unei hemisfere) la care se adaugă pe alocuri infiltrate leucocitare sau extravazate formate de hematii. În raza acestor teritorii, dezintegrarea secundară a mielinei dă frecvent naștere la demielinizări ce se extind pe toată substanța albă.

În compoziția celulară a focarelor, menționăm că la început predomină elementele polinucleate, pentru ca apoi — în stadiul subcut — acestea să cedeze locul limfocitelor și histiocitelor. Proliferarea nevroglii apare mai târziu, abia în a treia etapă a invaziei celulare, determinând restructurări importante în sectoarele nevrxiale atinse.

Focarele perivasculare apar mai frecvent în măduva spinării, trunchiul cerebral și capsula internă, în timp ce demielinizările difuze se localizează numai la nivelul substanței albe a emisferelor. (Aceasta din urmă poate constitui însă și sediul demielinizărilor perivasculare).

Ca una din trăsăturile caracteristice ale EAE la ciine relevăm faptul că aceasta de obicei nu manifestă tendință la o progresiune spontană. Dozele de antigen administrate pe parcurs reactivează multe focare vechi, cauzând evoluția și extinderea procesului patologic. Prezența simultană — chiar pe un singur preparat — de focare multiple în diverse stadii evolutive, a fost un fenomen des întâlnit pe materialul studiat de noi.

Pe traiectul aceluiași vas se remarcă adesea segmente de aspect normal și alte compromise. Chiar și un singur focar poate reflecta prin arhitectura „inclară” a zonelor suprapuse acțiunile imuno-alergice ce s-au repetat la diverse intervale de timp. În centrul focarului de demielinizare se observă vasul, iar în jurul lui granuloame perivasculare bordate de extravazate formate de hematii, la periferia cărora apare o zonă de edem și de tumefiere mielinică.

Discuția rezultatelor

Particularitățile menționate ale EAE la ciini în faza de început (ca: reacția vasculară însoțită de edem și hemoragii — uneori necroze — perivasculare, invazia elementelor hematogene cu predominanța polinucleatelor) confirmă caracterul imunoalergic, anafilactic al procesului declanșat pe cale experimentală (32). De asemenea vasculita limfocitară și poliblastică, trombozele, microhemoragiile situate la limita dintre țesutul nervos intact și cel compromis (19), cât și edemul difuz, împreună cu invazia elementelor celulare hematogene pot fi considerate ca semne ce confirmă originea alergică a leziunilor descrise. Unii sint de părere că și granulomul perivascular este expresia unei reacții neuroalergice (8).

Procesul inflamator care afectează pereții vaselor mai mari, determinând perivasculita caracteristică, poate fi considerat ca expresia reacției hiperergice a elementelor mezenchimatoase locale (15). În ultimă instanță alterările amintite, cât și focarele demielinizante secundare, reprezintă produsul alergiei tisulare la toate formele de EAE (3, 7).

Modificările reactive perivasculare în EAE au în aparență caractere identice cu cele care apar în encefalitele perivenoase umane, ce evoluează pe un fond alergic. O parte din leziunile întâlnite la animalele noastre de experiență pot fi socotite din punct de vedere morfologic ca echivalente cu cele descrise în encefalomielitele acute diseminate ale copiilor (33, 35, 14).

Fenomenele de perivasculită, observate pe materialul studiat de noi, se deosebesc însă de caracteristicile encefalomielitelor perivenoase, întrucât ele apar ca niște focare perivasculare cu margini neregulate, întrerupte, inegal dispuse pe traiectul vaselor, cu tendință la expansiune centrifugă după fiecare reinjecție de antigen. Aceste trăsături, cât și incidența simultană la același animal (ba chiar și pe același preparat) a focarelor acute, subacute și cronice amintesc mai de grabă de leziunile întâlnite la om în unele forme ale sclerozei în plăci (19).

În această categorie pot fi încadrate și demielinizările extinse, ce se pun în evidență numai la maimuță (31, 5, 12, 27, 13) și ciine, în timp ce la cobai

«(6). șoareci (28), iepuri (17, 37, 38), șobolani (23) și pisică (30) asemenea alterări nu pot fi observate.

În cazul demielinizării emisferiale difuze a cîinelui este greu să apreciem, dacă dezintegrarea mielinei se instalează primar, sau în mod secundar, drept consecință a procesului inflamator. Exceptînd maimuța și cîinele, această problemă nu se ivește la nici un animal de laborator, deoarece la acestea fenomenele reactive se limitează strict la zonele perivascularare (4, 32).

În concluzie se poate afirma că, cu ajutorul modelului experimental preconizat de noi (25), se pot realiza leziuni caracteristice proceselor demielinizante umane de tipul sclerozei în plăci, ce se caracterizează într-o fază evoluată prin demielinizări primare și secundare (34).

Considerații conclusive

Procesul de EAE la cîinc se concretizează prin apariția focarelor de demielinizare perivasculară și difuză, cu caracter imunoalergic. Principalele etape de dezvoltare ale procesului sînt următoarele: a) dilatarea spațiilor perivascularare, b) apariția infiltratelor perivascularare, c) perivascularita acută sau subacută, d) panvasculita, e) demielinizările perivascularare strict limitate, f) contopirea focarelor demielinizante perivascularare, g) apariția extravazatelor noi (eventual bordate de microhemoragii) în interiorul sau în jurul focarului demielinizant deja format, h) edemul perifocal de-a lungul căruia procesul se propagă în sens centrifug, i) apariția edemului difuz însoțit frecvent de extravazate, invazii hematogene, eventual de microhemoragii pe teritoriile interpușe focarelor demielinizante, j) formarea focarelor de demielinizare difuză (fig. 6).

Demielinizarea alergică a teritoriilor perivascularare, înregistrată în experiențele noastre, se instalează indubitabil în mod secundar. În privința formelor difuze, aceasta nu se poate afirma cu toată certitudinea. Demielinizarea difuză se manifestă cu prisosință la nivelul hemisferelor, pe cînd cea în formă de focare perivascularare dispersate apare de obicei la nivelul măduvei spinării, al trunchiului cerebral și al capsulei interne. Ambele forme pot interesa deopotrivă formațiunile sistemului optic.

În măduvă am găsit de mai multe ori (sporadic și la nivelul emisferelor) forma necrotică, ca o manifestare hiperergică.

Este semnificativ caracterul pestrît — reflectînd diverse stadii evolutive — al focarelor împrăștiate de-a lungul aceleiași vas. Frecvent se întîmplă ca în același sector al creierului — chiar și pe același preparat — să apară simultan focare cu caracter diferit. Rezultă deci că în evoluția procesului se poate pune în evidență un caracter stadial.

În diferite stadii evolutive focarele se pot suprapune sau apar unul lângă altul.

Caracterul reacției declanșate de fiecare doză de antigen este influențat și de factori exogeni, printre care joacă rol și factorii meteorologici (26).

EAE a cîinelui prezintă o serie de trăsături foarte apropiate de cele ale encefalomielitelor acute diseminate umane, în special encefalomielitele acute demielinizante — formele acute, hemoragice ale copiilor.

Multe modificări morfologice, puse în evidență pe materialul nostru, sînt foarte asemănătoare leziunilor caracteristice sclerozei în plăci la om.

Sosit la redacție: 8 aprilie 1966.

Bibliografie

1. ARNOUITS CH.: Acta Neurol. et Psychiatr. Belg. (1959), 59, 796; 2. BUNGE M. B., BUNGE R. P. and H. RIS: J. Biophysic. and Biochem. Cytol. (1961), 10, 67;
3. FERRARO A. and CAZZULLO C. L.: J. Neuropathol. Exper. Neurol. (1948), 7, 235; 4. FERRARO A. and ROIZIN L.: J. Neuropathol. Exper. Neurol. (1954), 13, 60;
5. FERRARO A.: J. Neuropathol. Exper. Neurol. (1958), 17, 278; 6. FREUND J. și

colab.: citat de Lecomte, J.; 7. GOOD R. A.: Citat de Lehoczky T.; 8. GODDARD J. W.: citat de Lehoczky T.; 9. BREENFIELD J. G.: *Neuropathology*. Edw. Arnold. Publ. London (1958); 10. HALASY-LEHOCZKY M.: *Acta Neurol. et Psychiatr. Belg.* (1962), 62, 732; 11. HENNEAUX J.: *Acta Neurol. et Psychiatr. Belg.* (1959), 59, 702; 12. JERVIS H. și colab.: citat de Lecomte J.; 13. KABAT E. A.: *J. Exper. Med.* (1947), 85, 117; 14. KRUPINA T. N., HOHLOVA Z. E.: *Jurn. Nevropatol. i Psihiatr. Imeni S. S. KORSAKOVA* (1964), 7, 974; 15. LATERRE E. C.: *Acta Neurol. et Psychiatr. Belg.* (1959), 59, 720; 16. LÁZÁR L.: *Arhiv. Patol. (Moskva)*, (1960), 6, 82; 17. LECOMTE J.: *Acta Neurol. et Psychiatr. Belg.* (1959), 59, 732; 18. LEHOCZKY T.: *Die neuroallergischen Beziehungen in der Histopathologie der Multiplen Sklerose*. Akad. Kiadó Budapest (1957); 19. LEHOCZKY T.: *Acta Neurol. et Psychiatr. Belg.* (1962), 62, 719; 20. LEVINE S. and WENK E. J. *Science* (1963), 141, 529; 21. I HERMITTE F.: *Les Leucoencéphalites* Edit. Flammarion Paris (1950); 22. LHERMITTE F. et GAUTHIER J. C.: *Wld. Neurol.* (1962), 3, 696; 23. LIPTON M. and FREUND J.: citati de Lecomte J.; 24. LUMSDEN C.: *Acta Medica Belgica (Bruxelles)* (1957), 27; 25. MAROS T., LÁZÁR L., KOVÁCS V. V., FÓRIKA M. M.: *Stud. Cercet. Neurol.* (1965), 10, 517; 26. MAROS T., KOVÁCS V. V., LÁZÁR L., MARI-NICĂ D.: *Contribuții la problema influenței factorilor meteorologici asupra evoluției encefalomielitei alergice experimentale (Manuscris)*; 27. MORGAN I. M.: *J. Exper. Med.* (1947), 85, 131; 28. OLITSKY P. and YAGER R.: citat de Lecomte J.; 29. PÁLFFY G. und ENDRŐCZI E.: *Dtsch. Zschr. f. Nervenheilk.* (1958), 177, 405; 30. PATTERSON P. and BRAND E.: citati de Lecomte J.; 31. RIVERSE R.: citat de Lecomte J.; 32. ROIZIN L. and KOLB L.: *Acta Medica Belgica (Bruxelles)*, (1957), 57; 33. ROUSSEL J.: *Acta Neurol. et Psychiatr. Belg.* (1959), 59, 781; 34. TAL C. and BEHAR J.: *Pathol. Bacteriol.* (1958), 76, 482; 35. VAN BOGAERT L. et MATTHYS E.: *Acta Neurol. et Psychiatr. Belg.* (1959), 59, 815; 36. WAKSMAN B. H. and ADAMS R. D.: *Am. J. Path.*, (1962), 41, 135; 37. GYERGYAY F., FESZT T., POZSGI N., WAITSUK P., MISKOLCZY D.: *Șt. cercet. științific. Acad. R.P.R., Fil. Iași Medicală* (1963), 14, 79; 38. MISKOLCZY D. GYERGYAY F., FESZT T.: *Z. ges. exp. Med.* (1963), 137, 82.