

ANNALES  
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA  
LUBLIN—POLONIA

VOL. XVI, 5

SECTIO D

1961

---

Z Katedry i Zakładu Histologii i Embriologii Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej  
w Lublinie

Kierownik: prof. dr med. Stanisław Grzycki

Alina DOBRZAŃSKA

**Cytologiczne badania płynu mózgowo-rdzeniowego u dzieci zdrowych  
w różnym wieku**

**Цитологические исследования cerebro-спинальной жидкости  
у здоровых детей разного возраста**

**Cytological Investigations on the Cerebrospinal Fluid in Healthy  
Children of Different Age**

Wprowadzenie badań cytologicznych płynu mózgowo-rdzeniowego w klinice do celów rozpoznawczych i leczniczych zawdzięczamy wielu autorom (Widal (1901), Siccard (1902), Ravaut (1910), Weigeldt (1921), następnie Rehm (1932), Samson (1931), Kafka (1910), Sayk (1960) i inni), z autorów polskich zaś prace cytologiczne o płynie mózgowo-rdzeniowym ogłaszali Rotstadt (1916), Zylberlast-Zandowa (1927), Jaburek (1935), Opalski (1930), Kaczyński (1935) i Dowżenko (1950).

W diagnostyce zastosowano liczbowe badanie komórek w jednostce objętościowej płynu. Objaw ten, zwany pleocytozą, ma duże znaczenie rozpoznawcze w chorobach opon mózgowych i mózgowia. Nie mniej ważny jest stosunek liczbowy limfocytów do leukocytów obojętnochłonnych. Z badań cytologicznych (Rehm, Kafka) wynika, że liczba komórek w prawidłowym płynie mózg.-rdzen. wynosi 3 do 5 w 1 mm<sup>3</sup> i są to prawie wyłącznie komórki jednojądrzaste, limfocyty małe i duże. Według Sayka 91% stanowią limfocyty, a 9% inne formy.

Nad barwieniem i zróżnicowaniem jakościowym elementów komórkowych płynu mózg.-rdzen., podając własne metody, pracowali: Nissl (1904), Fischer (1906), Kafka (1910), Sześci (1911), Sabin (1923), Forster (1930), Rehm (1931), Alzheimer (1907), Jaburek (1935), Bannwarth (1935) i inni.

W warunkach fizjologicznych płyn mózg.-rdzen. u tego samego osobnika różni się na poszczególnych wysokościach przestworów płynowych. Od komór mózgowia w kierunku kaudalnym zwiększa się liczba komórek i zawartość białka (Weigeldt 1921). Zaznaczają się również różnice w składzie płynu mózgowo-rdzeniowego w zależności od wieku. Według Samsona i Roberta (1931) płyn mózgowo-rdzeniowy noworodków, wcześniaków i niemowląt różni się znacznie od

płynu mózg.-rdzen. dzieci starszych i osobników dorosłych. Zaznacza się większa liczba składników komórkowych i wzrost zawartości białka.

Obraz ilościowy i jakościowy elementów komórkowych szczególnie różni się w pierwszych trzech miesiącach życia. Ilość komórek w płynie w ciągu pierwszych 14 dni noworodka — wg Waitza (1928) waha się od 5—20 w  $\text{mm}^3$ , wg Debré (1955) około 20. Stewart (1922—23) znajdował od 28—54 komórek w  $1 \text{ mm}^3$ . Samson (1931) od 1 do 12 w  $1 \text{ mm}^3$ , Wyers i Bakker (1954) 0—29 w  $1 \text{ mm}^3$  płynu mózgowo-rdzeniowego. U 23 przebadanych niemowląt w wieku od 14 dni do 3 miesięcy Stewart (1922—23) znajdował w  $1 \text{ mm}^3$  od 16—24 komórek, Samson (1931) 0—5, Otila (1948) 1—4. W płynie mózgowo-rdzeniowym niemowląt w wieku od 3 do 6 miesięcy Stewart stwierdził 8—24 komórek w  $1 \text{ mm}^3$ . Samson 0—3  $\text{mm}^3$ . Liczby komórek w  $1 \text{ mm}^3$  płynu mózg.-rdzen. u niemowląt powyżej 6 miesięcy, podobne są do wyników otrzymanych u osobników dorosłych.

Ze względu na to, że nie znalazłam w dostępnym mi piśmiennictwie badań dotyczących opisów i porównania obrazu jakościowego elementów komórkowych przy zastosowaniu metody histologicznej Alzheimera u noworodków, niemowląt i dzieci starszych postanowiłam przebadać płyn mózgowo-rdzeniowy cyto logicznie u dzieci zdrowych w różnym wieku.

#### MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Przeanalizowano elementy komórkowe w preparatach histologicznych płynu mózgowo-rdzeniowego pobranego od 43 dzieci zdrowych w różnym wieku. Dzieci te pochodziły z Oddziału Noworodków II Kliniki Położniczej A. M. w Lublinie, z Oddziału Wewnętrznego Kliniki Pediatrycznej A. M. w Lublinie, z Domu Małego Dziecka w Kielcach i z Sanatorium w Kazimierzówce. Wszystkie dzieci były w obserwacji lekarskiej. Odchyłeń od stanu prawidłowego nie stwierdzono zarówno badaniem fizykalnym, jak i dodatkowymi badaniami laboratoryjnymi. Leków z wyjątkiem witamin nie otrzymywały.

W warunkach jałowych wykonywano nakłucie lędźwiowe w ułożeniu leżącym i pobierano płyn mózgowo-rdzeniowy od 2 do 4 ml do badania laboratoryjnego rutynowego, 2 ml do próbówki z 2 ml alkoholu 96% i 1 ml do próbówki z 2 ml płynu utrwalającego Carnoy. W każdym przypadku wykonywano badanie laboratoryjne płynu mózgowo-rdzeniowego oznaczając zawartość białka wg metody Robertsa-Stolnikowa, cukru wg metody Folina-Wu, chlorków wg metody Nitschego oraz obliczano ilość komórek w  $1 \text{ mm}^3$  płynu mózgowo-rdzeniowego.

Zawartość białka wahała się od 11—70 mg %, wyższe wartości ponad 40 mg % obserwowano u noworodków. Poziom cukru w płynie mózgowo-rdzeniowym wahał się od 40—90 mg %, zawartość chlorków od 695—780 mg %. Ilość komórek w płynie wyniosła od 0—10 w  $1 \text{ mm}^3$ , powyżej 5 w  $1 \text{ mm}^3$  stwierdzono u 4 noworodków i 3 niemowląt.

Celem przebadania jakościowego obrazu elementów morfotycznych płynu mózgowo-rdzeniowego zastosowano metodę histologiczną Alzheimera. Do 2 ml alkoholu 96 % bezpośrednio z igły podczas nakłucia pobierano 2 ml płynu mózgowo-rdzeniowego. Następnie wirowano 20 min przy 4000 obrotów. Po odwirowaniu odlewano z próbówki alkohol 96 % i wlewano 2 ml alkoholu bezwodnego. Otrzymane osady zatapiano w parafinie. Skrawki mikrotomowe grubości  $7 \mu$  barwiono hematoksyliną i eozyną. Wszystkie skrawki przeglądano dwukrotnie, posługując się obiektywem immersyjnym.

W każdym badanym przypadku obok zasadniczego barwienia wykonywano równolegle również barwienie wg metody Bracheta bez zastosowania i po zastosowaniu roztworów zaczynów rybo- i dezoksyrybonukleazy. Do badań używano chemicznie czystych zaczynów krystalicznych rybo- i dezoksyrybonukleazy pochodzących z Mann Research Laboratories w Nowym Jorku.

Skrawki preparatu utrwalonego uprzednio w płynie Carnoy o składzie: kwas octowy, alkohol etylowy, chloroform w stosunku 1:6:3, odparafinowano, przeprowadzając od ksyleny przez szereg alkoholi. Rozmieszczono je na 3 szkiełkach podstawowych w ilości od 4 do 10. Skrawki na szkiełku pierwszym barwiono wg Unny-Pappenheima tj. mieszaniną o składzie: zieleń metylowa „Anachemia” 0,15 g, pyronina „Geigy” 0,25 g, bufor octanowy pH 4,7 — 100 ml. Szkiełko 2 umieszczono na okres 1 godziny w temp. 37°C w roztworze 0,1 mg/ml rybonukleazy krystalicznej i następnie barwiono. Czas barwienia 20 min. Po krótkim przepłukaniu w wodzie destylowanej przenoszono do acetonu, następnie do mieszaniny acetonu i ksyleny w stosunku 1:1, w końcu do ksyleny. Preparat zamknięto w balsamie i oglądano przy użyciu immersji. Szkiełko 3 umieszczono równolegle na okres 1 godziny w temp. 37°C, w roztworze 1 mg/1 ml dezoksyrybonukleazy krystalicznej i następnie barwiono w sposób wyżej opisany.

#### BADANIA WŁASNE

Łącznie sporządzono i przeanalizowano wg metody Alzheimera 1237 skrawków histologicznych. W 1 skrawku znajdowano od 1 do 26 komórek. Komórki były dobrze zachowane, co pozwalało na ich różnicowanie na podstawie prawidłowej barwliwości jądra, cytoplazmy i ziarnistości wewnątrzkomórkowych, oraz ich budowy i kształtu. Wzajemny układ jakościowy komórek płynu mózgowo-rdzeniowego u dzieci w różnym wieku przy zastosowaniu metody histologicznej Alzheimera przedstawiono w tab. 1.

Przeprowadzono także analizę statystyczną, by sprawdzić czy rozmieszczenie komórek na skrawkach jest jednorodne. Zastosowano wzór:

$$U = \sqrt{2\chi^2} - \sqrt{2y} - 1 \text{ przy } v = 1,246 \text{ stopniach swobody.}$$

Z obliczeń wynika, że  $U = 7,25 > U(0,001) = 3,291$  (wg tablic Fischera — Yatesa) przy ryzyku błędu 0,1% rozmieszczenie komórek na skrawkach nie jest jednorodne.  $\chi^2$  (chi-kwadrat) w ostatnim wzorze jest sumą 43 chi-kwadratów obliczonych na podstawie tzw. wskaźnika Poissona dla poszczególnych dzieci.

W przebadanych trzech grupach zarówno noworodków, niemowląt, jak i dzieci w wieku przedszkolnym i szkolnym w obrazie komórek płynu mózgowo-rdzeniowego przeważały limfocyty. Stanowiły one 91,46% ogółu komórek. Ze względu na znaczną przewagę limfocytów w układzie komórkowym we wszystkich przeglądniętych skrawkach oraz większą różnorodność komórek u noworodków i niemowląt, zastosowano test istotności  $\chi^2$ , by sprawdzić czy frakcja limfocytów zmienia się istotnie z wiekiem dzieci.



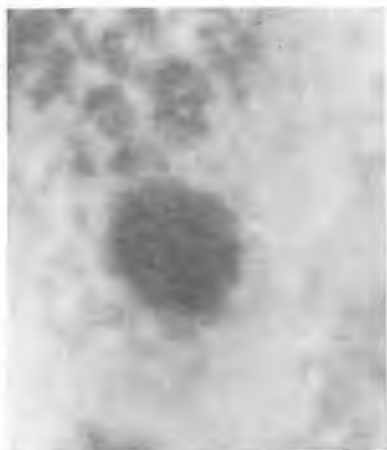


Obliczenie wykonano według wzoru:

$$\chi^2 = \frac{E \frac{f_j^2}{n_j} - p E f_j}{p(1-p)}$$

przy  $v = n - 1$  stopniach swobody,  $n_j$  — ilość komórek w preparacie,  $f_j$  — ilość limfocytów w skrawku,  $E f_j$  — ogólna suma limfocytów w preparacie i  $p$  — frakcja limfocytów.

Ponieważ wartość  $\chi^2 = 130,3$  jest większa od wartości granicznej  $\chi^2(0,05) = 53,36$  więc z ryzykiem błędu 0,05 stwierdzono istotne różnice we frakcjach limfocytów. W różnicowaniu poszczególnych form komórkowych płynu mózgowo-rdzeniowego u 11 noworodków przeanalizowano 239 skrawków histologicznych. Wyodrębniono następujące elementy morfotyczne: limfocyty małe nagojądrzaste, limfocyty duże, monocyty, granulocyty o jądrze pałeczkowatym, dwu, trój i wielopłatowym, kom. plazmatyczne, histiocyty, śródbłonki, mitozy.



Ryc. 1. Limfocyt mały płynu mózgowo-rdzeniowego niemowlęcia 2 miesięcznego. Met. Alzheimera. Wielkość komórki ca 4  $\mu$ . Jądro o zbitej chromatynie. Wąski rąbek cytoplazmy wokół jądra komórkowego. Mikrofot. Exacta Varex IIa, powiększ. ca 2800x



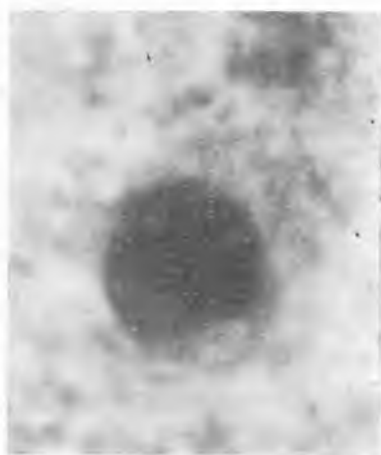
Ryc. 2. Limfocyt duży i limfocyt mały płynu mózgowo-rdzeniowego noworodka z 9 doby. Met. Alzheimera. Mikrofot. Exacta Varex IIa, powiększ. ca 2800x

W grupie badanych 23 niemowląt sporządzono z płynu mózgowo-rdzeniowego i przeanalizowano 676 skrawków histologicznych. Obserwowano limfocyty małe, nagie, duże, monocyty, rzadko granulocyty o jądrze dwupłatowym, komórki plazmatyczne, histiocyty, śródbłonki, mitozy.

Obraz komórkowy płynu mózgowo-rdzeniowego w grupie 9 dzieci w wieku od 3 do 10 lat był ubogokomórkowy. Obserwowano w 322 skrawkach wyłącznie limfocyty małe, nagojądrzaste i duże, pojedyncze monocyty i śródbłonki. Formy komórkowe wyodrębniano na podstawie budowy i barwliwości. Limfocyty małe w płynie mózgowo-rdzeniowym miały okrągłe lub owalne jądro i wąską otoczkę cytoplazmy (ryc. 1 i 2). Jądro wysyczone gęstą masą chromatyny barwiło się ciemnoniebiesko. Czasem obserwowano tzw. „nagie” jądra limfocytów małych. Jądra limfocytów dużych nie miały tak gęstego zrębu, jak limfocyty małe, zrąb jądra był delikatniejszy (ryc. 3 i 4). Cytoplazma była znacznie obfitsza, tworząc szerszy pas wokół jądra. Różnicowanie monocytów i limfocytów dużych ze względu na podobieństwo morfologiczne i różne postacie przejściowe było czasem trudne. Jądro monocyta o strukturze delikatnej było kształtu nieregularnego, okrągłe, częściej nerkowate (ryc. 5) położone mimośrodkowo, lub brzeźnie. W cytoplazmie rzadko obecne były wakuole.



Ryc. 3. Limfocyt duży płynu mózgowo-rdzeniowego noworodka z 7 doby. Met. Alzheimera. Wielkość komórki ca.  $8\mu$ . Jądro komórki wyraźnie wybarwione, rąbek cytoplazmy dobrze widoczny wokół jądra komórkowego. Mikrofot. Exacta Varex IIa, powiększ. 2800x



Ryc. 4. Limfocyt duży płynu mózgowo-rdzeniowego niemowlęcia 10 tygodniowego. Met. Alzheimera. Jądro dobrze wybarwione, umieszczone obwodowo. Na jednym z biegunów jądra, szerszy rąbek cytoplazmy — zawierający wodniczkę. Mikrofot. Exacta Varex IIa, powiększ. 2800x

W skrawkach histologicznych płynu mózgowo-rdzeniowego noworodków i młodych niemowląt obserwowano pojedyncze granulocyty obojętnochłonne. W większości były to granulocyty o jądrze dwupłatowym (tab. 2). Kształt granulocytów płynu był mniej regularny jak we krwi (ryc. 6). Czasem zarysy cytoplazmy były nieostro odgraniczone (ryc. 7 i 8).

Według Junckera zmiany te zachodzą wskutek przejścia granulocytów przez śródbłonki naczyń.

Plazmocyty łatwo odróżnić ze względu na ich intensywnie barwiącą się niebieską cytoplazmę i leżące odśrodkowo i przybrzeżnie jądro. Chromatyna jądrowa, podobnie jak w plazmocytach krwi, przypominała ułożeniem szprychy koła.

Tab. 2. Sumaryczny skład odsetkowy komórek płynu mózgowo-rdzeniowego u 43 dzieci

Summary picture of cerebrospinal fluid cells (in percentage) in 43 children

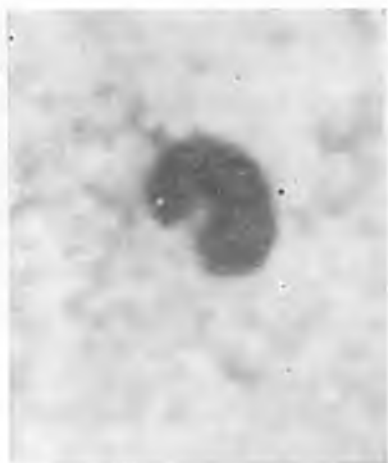
	Limfocyty			Mo- no- cyty	Granulocyty				Kom. plazmatycz.	Komórki układu ś. ś.		Mi- tozy
	małe	nagie	duże		pa- teczki	2-pła- towe	3-pła- towe	wielo- płato- we		hi- stio- cyty	śró- d- błon- kowa	
Ogólna ilość komórek = 2591	76,34	2,12	13,00	2,89	0,11	1,73	0,34	0,038	0,26	0,50	1,52	0,98
Komórek 905 u 11 noworodków	66,62	3,42	17,23	4,19	0,33	3,97	0,99	0,11	0,33	0,55	1,65	0,44
Komórek 1408 u 23 niemowląt	80,04	1,63	11,00	2,62	—	0,63	—	—	0,28	0,49	1,56	1,56
Komórek 278 u 9 dzieci w wieku od 3 do 10 lat	89,20	0,35	9,35	0,35	—	—	—	—	—	—	0,74	—

Fibrocyty (histiocyty) płynu mózgowo-rdzeniowego są to komórki kształtu wrzecionowatego. Jądro ich okrągłe lub owalne, leżące często odśrodkowo, wykazywało w swej budowie luźną ziarnisto-siatkową lub bardziej zbitą chromatynę. Cytoplazma obfita o różnokształtnych wydłużonych wypustkach. Rozróżnienie komórek śródbłonkowych naczyń i splotów naczyniowych od komórek ependymy (wyściółki opon) jest problemem trudnym. Komórki ependymy rzadko bywają nie uszkodzone. Jądra okrągłe lub owalne są pyknotyczne, cytoplazma nierówno ograniczona.

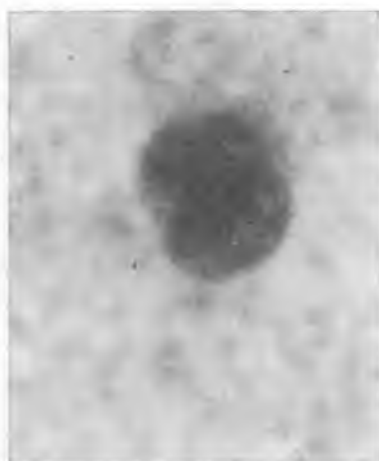
Komórki epitelialne splotów naczyniowych, morfotycznie zbliżone do wyżej opisanych, wyglądem swym przypominały również komórki nabłonka płaskiego o nieregularnych zarysach.

Cytochemiczną i cytoenzymatyczną metodę Bracheta zastosowano do badania elementów morfotycznych płynu mózgowo-rdzeniowego. Łącznie przeanalizowano 394 skrawków histologicznych, w tym 212 barwionych wyłącznie mieszaniną zieleni metylowej i pyroniny wg





Ryc. 5. Monocyt płynu mózgowo-rdzeniowego niemowlęcia 10-tygodniowego. Met. Alzheimera. Wielkość komórki ca 9  $\mu$ . Jądro komórkowe kształtu nerkowatego, umieszczone mimośrodkowo. Mikrofot. Exacta Varex IIa, powiększ. 2800x



Ryc. 6. Granulocyt płynu mózgowo-rdzeniowego noworodka z 7 doby. Met. Alzheimera. Wielkość komórki ca 12  $\mu$ . Jądro dwupłatowe o wyraźnym zgrębie chromatynowym. Cytoplazma bez widocznych ziarnistości. Mikrofot. Exacta Varex IIa, powiększ. 2800x



Ryc. 7. Granulocyt płynu mózgowo-rdzeniowego noworodka z 11 doby. Met. Alzheimera. Wielkość komórki ca 12  $\mu$ . Jądro komórkowe trójpłatowe, o wyraźnym zgrębie chromatynowym. W poszczególnych płatach widoczne jasne plamy przemawiające za brakiem chromatyny. Mikrofot. Exacta Varex IIa, powiększ. 2800x



Ryc. 8. Granulocyt płynu mózgowo-rdzeniowego niemowlęcia z 14 doby. Met. Alzheimera. Wielkość komórki ca 15  $\mu$ . Jądro komórkowe wielopłatowe. Cytoplazma drobnoziarnista. Widoczne nieregularne zarysy cytoplazmy. Mikrofot. Exacta Varex IIa, powiększ. 2800x

Bracheta. 113 skrawków po działaniu roztworu rybonukleazy i 69 skrawków po działaniu roztworu dezoksyrybonukleazy. Ogólna liczba komórek we wszystkich skrawkach barwionych metodą Bracheta wynosiła 423. Skład odsetkowy był następujący: limfocytów małych — 78,3%, limfocytów dużych 15,9%, monocytów 3,4%, granulocytów 1,4%, komórek plazmatycznych 0,2%, komórek układu siateczkowo-śródbłonkowego 1,4%, mitoz 0,6%. W 212 skrawkach barwionych wyłącznie zielenią metylową i pyroniną wg Bracheta można było obserwować rozmieszczenie kwasów nukleinowych w badanych komórkach płynu



Ryc. 9. Granulocyt płynu mózgowo-rdzeniowego niemowlęcia z 14 doby. Preparat utrwalony w płynie Carnoy. Barwiony met. Bracheta po zadziałaniu rybonukleazy. W środkowej części płatków jądra komórkowego widoczne przejaśnienia świadczące o wytrawieniu kwasu rybonukleinowego. Obwodowe, pierścieniowate wybarwienie płatków jądra zielenią metylową. Mikrofot. Exacta Varex IIa, powiększ. 1700x



Ryc. 10. Limfocyt duży płynu mózgowo-rdzeniowego noworodka z 10 doby. Preparat utrwalony w płynie Carnoy. Barwiony met. Bracheta po zadziałaniu dezoksyrybonukleazy. Widoczny wąski rąbek cytoplazmy i 2 intensywnie wybarwione pyroniną jąderka. Mikrofot. Exacta Varex IIa, powiększ. ca 1700x

mózgowo-rdzeniowego. We wszystkich komórkach intensywność odczynu pyroninochłonnego cytoplazmy była wyraźna. Odczyn ten był równomierny na całym obszarze cytoplazmy komórek. Nie spostrzegano zgrupowania kwasu rybonukleinowego w postaci grudek czy ziarenek, jedynie w strefie błony jądrowej nasilenie odczynu było niekiedy większe. Odczyn pyroninochłonny jąderka był bardziej intensywny aniżeli cytoplazmy, co wskazywałoby na duże nagromadzenie kwasu rybonukleinowego.

wego w tym organoidzie. Intensywność zabarwienia kwasu dezoksyrybonukleinowego jąder komórkowych była różna w poszczególnych komórkach. Największe nasilenie odczynu z zielenią metylołą można było obserwować w jądrach limfocytów małych, w których grudki chromatyny były duże i ściśle przylegały do siebie. W jądrach komórkowych limfocytów dużych i monocytów intensywność zabarwienia kwasu dezoksyrybonukleinowego była znacznie mniejsza. Grudki chromatyny na obszarze jądra komórkowego były duże, luźno leżące najczęściej w sąsiedztwie jąderek. W jądrach granulocytów rozmieszczenie



Ryc. 11. Limfocyty małe płynu mózgowo-rdzeniowego niemowlęcia 14-dniowego. Preparat utrwalony w płynie Carnoy. Barwiony met. Bracheta po zadziałaniu dezoksyrybonukleazy. Cytoplazma ziarnista otaczająca pierścieniem jądra. Mikrofot. Exacta Varex IIa, powiększ. 1700x



Ryc. 12. Limfocyt mały płynu mózgowo-rdzeniowego noworodka 9 dniowego. Preparat utrwalony w płynie Carnoy. Barwiony met. Bracheta po zadziałaniu większego stężenia (3 mg/1ml) roztworu dezoksyrybonukleazy. Jądro komórkowe pozbawione kwasu dezoksyrybonukleinowego. Cytoplazma otaczająca pierścieniem jądro intensywnie wybarwia się pyroniną. Mikrofot. Exacta Varex IIa, powiększ. ca 1700x

kwasu dezoksyrybonukleinowego po zabarwieniu zielenią metylołą nie było równomierne. Kwas dezoksyrybonukleinowy rozmieszczał się pod postacią drobnych ziarenek, w formie nieregularnej siatki o większych lub mniejszych oczkach. W okolicy jąderek można było spotkać jedną lub dwie grudki kwasu dezoksyrybonukleinowego. W oczkach tej sieci obserwowano się zabarwienie różne w wyniku wybarwienia pyroniną kwasu rybonukleinowego.

Równolegle barwiono 113 skrawków po działaniu roztworu rybo-

nukleazy. Wyniki były następujące: kwas rybonukleinowy cytoplazmy, jąderek i jądra granulocytów obojętnochłonnych został wytrawiony i nie barwił się (ryc. 9). Przeciwnie jądra limfocytów, monocytów, kom. plazmatycznych i kom. układu siateczkowo-śródbłonkowego barwiły się intensywnie zielono z wyjątkiem jąderek, które straciły — podobnie jak cytoplazma — zdolność barwienia się i występowały jako miejsca puste.

Po działaniu roztworu dezoksyrybonukleazy otrzymano wśród elementów komórkowych w 69 skrawkach barwionych zielenią metylową i pyroniną obraz wytrawienia kwasu dezoksyrybonukleinowego jąder limfocytów, monocytów, plazmocytów, komórek układu siateczkowo-śródbłonkowego. Jąderka i cytoplazma ulegały zabarwieniu pyroniną (ryc. 10 i 11). W celu uzyskania pełnego wytrawienia kwasu dezoksyrybonukleinowego jąder limfocytów małych należało użyć wyższego stężenia zaczynu dezoksyrybonukleazy (ryc. 12).

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Analiza histologiczna i histochemiczna obrazów komórek płynu mózgowo-rdzeniowego 43 zdrowych dzieci w różnym wieku pozwoliła ustalić następujący skład jakościowy w odsetkach: limfocytów 91,46, granulocytów 2,21, monocytów 2,89, komórek plazmatycznych 0,26, komórek układu siateczkowo-śródbłonkowego 1,97, mitoz 0,98. W grupie limfocytów wyodrębniono limfocyty małe 76,34, nagojądrzaste 2,12, limfocyty duże 13,0. W grupie granulocytów o jądrze pałeczkowatym 0,11, o jądrze dwupłątowym 1,73, o jądrze trójpłątowym 0,34 i wielopłątowym 0,038. W grupie komórek układu siateczkowo-śródbłonkowego histiocyty 0,45, śródbłonki 1,52. Tab. 2 przedstawia sumaryczny skład odsetkowy komórek płynu mózgowo-rdzeniowego u 43 dzieci.

W płynie mózgowo-rdzeniowym noworodków obserwowano znaczny odsetek limfocytów 87,27, w tym limfocytów dużych o delikatnej strukturze zrębu jądrowego i szerokim rąbku cytoplazmy 17,23. S h a m b u r o w i S i n e g u b k o (1939) uważali, że są to formy komórek genetycznie młodsze. S a y k (1960) starał się różnicować limfocyty zależnie od pochodzenia na formy hematogenne i retikuloendotelialne. Limfocyty hematogenne według S a y k a barwią się szybciej i są mniejsze.

Również odsetek granulocytów był w grupie noworodków najwyższy: 5,4, przeważały granulocyty o jądrze dwupłątowym. Poza tym w mniejszej ilości obecne były monocyty (4,19), komórki plazmatyczne (0,33), histiocyty (0,55), śródbłonki (1,65) i mitozy (0,44).

Wśród elementów morfotycznych płynu mózgowo-rdzeniowego w grupie niemowlęcej, podobnie jak w innych, przeważały limfocyty 92,67, w tym odsetek dużych 11,0. Obserwowano pojedyncze granulocyty (0,63)

o mało zróżnicowanym jądrze dwupłciowym, następnie komórki plazmatyczne (0,28), histiocyty (0,49), śródbłonki (1,56) i formy mitotyczne (1,56).

W różnicowaniu komórek płynu mózgowo-rdzeniowego u dzieci starszych w wieku od 3 do 10 lat wyodrębniono prawie wyłącznie limfocyty — 98,70, w tym limfocytów dużych 9,35. Sporadycznie występowały monocyty (0,35) i śródbłonki (0,74).

Bogatszy i bardziej urozmaicony obraz komórek płynu mózgowo-rdzeniowego noworodków i niemowląt młodszych może być uzależniony między innymi od zwiększonej przepuszczalności opon mózgowo-rdzeniowych w tym okresie życia dziecka. Ułatwia to pasaż elementów morfotycznych do płynu mózgowo-rdzeniowego.

Prace wielu autorów potwierdziły zwiększoną przepuszczalność bariery krew-płyn u noworodków i młodszych niemowląt. Leonow (1927) wykazał większą przepuszczalność dla uraniny w 1 roku życia, Kruse (1929) wzrost przepuszczalności dla bromku, a Kafka (1933) większą przepuszczalność dla przeciwciał we wczesnym okresie życia dziecka. Zasadnicze znaczenie dla składu elementów morfotycznych płynu mózgowo-rdzeniowego mają właściwości sekrecyjne spłotu naczyniowego. Fischer (1906) badając preparaty opony pajęczej stwierdził monocyty, limfocyty, różniące się nieznacznie wielkością i zarysami od analogicznych komórek we krwi. Key (1870) i Retzius (1870) między beleczkami i w przestrzeni podpajęczynówkowej obserwowali pojedyncze komórki mono-limfocytarne, czasem podobne do histiocytów ze względu na obecność wypustek. Następnie zarysy ich zaokrąglały się i przekształcały w typowe limfocyty lub monocyty płynu mózgowo-rdzeniowego.

Za wyżej opisanym pochodzeniem elementów limfo-monoplazmocytnych w płynie wypowiedają się również Sigmond, Schonenberg (1952) i Schultz (1952).

Do komórek pochodzenia retikulo-endotelialnego, Rehm (1942), Sayk (1960), Bischoff (1960) i inni zaliczają histiocyty-fibrocyty, które czasem trudno jest odróżnić od tzw. form ogoniastych limfocytów dużych. Komórki epitelialne spłotów naczyniowych i komórki ependymy wyściółki opon, ze względu na duże podobieństwo nie można badaniem mikroskopowym odróżnić. Bischoff (1960) wyodrębnił je w badaniach przeprowadzonych na zwłokach. Metody cytochemiczne i cytomorfotyczne ułatwiają nam zróżnicowanie poszczególnych elementów morfotycznych.

Metody cytoenzymatyczne do badań morfologicznych wprowadzili Brachet (1957), Dubos (1937), Laves (1952), Thoma (1950), Aleksandrowicz (1955), Blicharski (1950) i inni. Autorzy ci w badaniach swych stwierdzili różnice w rozmieszczeniu kwasów nuklei-

nowych w komórkach ciałek białych. Po zadziałaniu roztworu zaczynu rybonukleazy na utrwalone w płynach Carnoy, Serra, Zenkera preparaty lub rozmazy krwinek białych — następował rozkład kwasu rybonukleinowego drogą depolimeryzacji. Jądra neutrocytów zarówno dojrziałych, jak i postaci młodszych, nie ulegały zabarwieniu barwnikami zasadowymi z powodu znacznej zawartości kwasu rybonukleinowego. Przeciwnie jądra limfocytów, monocytów, plazmocytów, granulocytów kwaso- i zasadochłonnych oraz komórek układu siateczkowo-śródbłonkowego — nie ulegały strawieniu przez rybonukleazę, zachowały swą budowę, barwiły się barwnikami zasadowymi. Zauważono natomiast brak zasadochłonności jąderki i cytoplazmy. Laves (1952) stwierdził, że pod wpływem rybonukleazy zasadochłonność cytoplazmy limfocytów znika w znacznie mniejszym stopniu, niż w komórkach układu neutrocytów. Według Lavesa zarówno pod wpływem rybo- jak i dezoksyrybonukleazy ulegały rozkładowi jądra najmłodszych komórek, tj. mieloblastów, promielocytów o ziarnistościach obojętno- kwaso- i zasadochłonnych. Jądra mielocytów, metamielocytów, pałeczek i wielopłatkowych kwaso- i zasadochłonnych z wyjątkiem jąderki odporne są na działanie rybonukleazy, natomiast ulegają strawieniu podobnie jak jądra limfocytów, monocytów, komórek plazmatycznych i komórek układu siateczkowo-śródbłonkowego — pod wpływem roztworu zaczynu dezoksyrybonukleazy. Laves kontrolował odczyn Feulgena-Rossenbecka po zastosowaniu rybo- i dezoksyrybonukleazy i zauważył, że odczyn ten jest uchylony tylko przez dezoksyrybonukleazę.

Badania histochemiczne ułatwiają wykrycie kwasów nukleinowych w komórce poprzez reakcję z ich komponentami: kwasem fosforowym, rybozą lub dezoksyrybozą, zasadami purynowymi i pirymidowymi.

Brachet (1940), Danielli (1952), Davidson (1950), Kunitz (1940), Kurnick (1953), Vercauteren (1953) i inni obserwowali duże powinowactwo kwasów nukleinowych do barwników zasadowych, jak: zieleń metylowa, błękit metylenowy, tionina, błękit toluidynowy, azur B, pyronina, gallocjanina. Oba kwasy nukleinowe są silnie zasadochłonne ze względu na grupy fosforanowe zawarte w ich drobinach. Vercauteren stwierdził, że o powinowactwie zieleni metylowej z kwasem dezoksyrybonukleinowym decyduje czynnik stereochemiczny, budowa przestrzenna cząstek biorących udział w reakcji. Brachet wykazał, że zieleń metylowa wchodząca w skład barwnika Unny-Pappenheima zabarwia wybiórczo kwas dezoksyrybonukleinowy chromałyny, podczas gdy pyronina G barwi wybiórczo kwas rybonukleinowy jąderka i cytoplazmy. Następnie Brachet wprowadził do cytochemii metodę wybiórczego trawienia enzymatycznego kwasu rybonukleinowego. Po inkubacji preparatu w roztworze rybonukleazy i po zabarwie-

niu mieszaniną zieleni metylowej i pyroniny występujące w komórce cząsteczki pyroninofilne nie barwią się. Wzorując się na metodzie trawienia rybonukleazą wg Bracheta, wprowadzono do identyfikowania kwasu dezoksyrybonukleinowego w komórkach trawienie dezoksyrybonukleazą.

Zastosowanie metody cytochemicznej i cytoenzymatycznej według Bracheta w badaniu elementów morfotycznych płynu mózgowo-rdzeniowego u dzieci zdrowych w różnym wieku pozwoliło ustalić rozłożenie kwasów nukleinowych w poszczególnych komórkach. Obserwacje nasze nie różniły się od danych doświadczalnych Lavesa (1952), Thoma (1950), Blicharskiego (1950), Lille-Szyszkowicz (1957), Aleksandrowicza (1955), którzy stwierdzili w chromatynie jąder rzędu neutrocytów przewagę kwasu rybonukleinowego, podczas gdy w chromatynie jąder wszystkich innych elementów komórkowych przeważa kwas dezoksyrybonukleinowy. Stosunki te istnieją przede wszystkim u człowieka. Niektóre ssaki — jak wykazali Aleksandrowicz i Perkowska (1954) — zawierają w jądrach granulocytów obojętnochłonnych w przewodzie kwas dezoksyrybonukleinowy.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Aleksandrowicz J. Hematologia kliniczna. P.Z.W.L. Warszawa 1955.
2. Aleksandrowicz J.: Histopatogeneza komórek krwi ze szczególnym uwzględnieniem istoty limfocytu. Pol. Tyg. Lek. VI. 1. 1961.
3. Aleksandrowicz J., Perkowska E.: Verhalten der Granulocyten gegen Ribonukleinsäure-hydrolysierenden Substanzen. Acta Haemat. 12, 6. 1954.
4. Alzheimer A.: Einige Methoden zur Fixierung der zelligen Elementen der Cerebrospinalflüssigkeit. Zentralbl. f. Nervenk. u. Psychiat. 30, 449, 1907.
5. Bannwarth A.: Die Zellen der Zerebrospinalflüssigkeit. Arch. f. Psychiat. u. Nervenk. 100, 533. 1933.
6. Bischoff A.: Der derzeitige Stand der Liquor-Cyodiagnostik. Schw. Med. Wschr. 90, 479. 1960.
7. Blicharski J.: Cytochemiczne badania komórek krwi. Pam. I. Zj. Hematol. Pol., 232. 1950.
8. Brachet J.: La détection histochimique des acides pentosenucléiques. Compt. Soc. de Biol. 133. 1940.
9. Brachet J.: Biochemical Cytology. N.Y. Acad. Press. 1957.
10. Danielli J. T.: Structural Factors in Cell Permeability and Secretion. Cambridge Univer. Press 1, 1952.
11. Davidson J. N.: The Biochemistry of the Nucleic Acids. 1950 London, Methuen.
12. Debre R., Lelong M.: de Pédiatrie. Masson, Paris 1955.
13. Dowżenko A.: Płyn mózgowo-rdzeniowy 1950. P.Z.W.L. Warszawa.
14. Dowżenko A.: Badania i diagnostyka płynu mózgowo-rdzeniowego 1952. Warszawa PZWL.

15. Dubos B.: The Decomposition of Yeast Nucleic Acid by a Heat Resistant Enzyme. *Science*, **85**, 1937.
16. Fischer A.: Klinische u. anatomische Beiträge zur Frage nach der Ursachen u. der Bedeutung der Zerebrospinalen Pleocytose. *Jahrb. f. Psychiat. u. Neurol.* **27**, 313, 1906.
17. Fisher R. A., Yates F.: *Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research*. Oliver and Boyd, Edinburgh.
18. Forster R.: Die Bedeutung des Liquorcellbildes für die Diagnostik der Tumoren des Zentralnervensystems und die Vom Plexus, *Z.f.d. ges. Neur. u. Psych.* **126**, 683, 1930.
19. Jaburek L.: O dogodnym sposobie cytologicznego badania płynu mózgowo-rdzeniowego. *Neurol. Pol.* **18**, 482, 1935.
20. Junker F.: Die Zellen des Liquor cerebrospinalis in Phasenkontrastmikroskop. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* **166**, 237, 1951.
21. Kaczyński M.: Cytologie du liquide céphalorachidien. *J. Belge Neurol. et Psych.* **94**, 36, 1936.
22. Kaczyński M.: Z cytologii płynu mózgowo-rdzeniowego. *Czas. Lek.* **12**, 1, 1935.
23. Kafka V.: Über Technik u. Bedeutung der cytologischen Untersuchung des Liquor cerebrospinalis. *Mtschr. f. Psychiat. u. Neurol.* **27**, 414, 1919.
24. Kafka V.: Untersuchungen zur Frage der Entstehung, Zirkulation u. Funktion der Zerebrospinalflüssigkeit. *Z. f. d. g. Neur. u. Psychiat* **15**, 482, 1913.
25. Kafka V.: Liquorentstehung und Permeabilität. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* **1930**, 197, 1935.
26. Key A., Retzius G.: Bidrag till kannedomen om hjärm-och ryggmärgshinnorna, med särskildt afscende pa de seresa rummen. *Nord. med. Ark.* **II**, 13, 1870.
27. Kruse F.: Untersuchungen über die Blut-Liquor-Permeabilität im Säuglingsalter mittels der Walterschen Brommethode. *Arch. f. Kinderh.* **86**, 254, 1929.
28. Kunitz M.: Crystalline Ribonuclease. *J. Gen. Physiol.* **24**, 1940.
29. Kurnick N.B., Schwartz I.L., Periser S.S., Lee A.: Specific Inhibitor Deoxyribonukleinase. *J. Clin. Investig.* **32**, 1933, 1953.
30. Laves W.: Über die Anwendung von Enzymen in der Hämatologie und die physiologische Bereutung der Nuclessen für die periphere Leukozytensteuerung. *Acta Hemat.* **S. 1**, 1952.
31. Leonow W.: Meningeale Permeabilität bei Kindern. *Mtsch. f. Kindern.* **37**, 112, 1927.
32. Levinson A.: *Cerebrospinal Fluid*. Kimpton, London 1929.
33. Levinson A.: The Cellular Elements of the Cerebrospinal Fluid. *Jour. Lab. Clin. Med.* **8**, 626, 1922.
34. Lille-Szyszkowicz I., Kołodziej Z.: Obraz morfologiczny krwi wcześniaka i noworodka w świetle badań cytologicznych. *Ped. Pol.* **32**, 480, 1957.
35. Nissel F.: Die Bedeutung der Lumbalpunktion für die Psychiatrie. *Zentralbl. f. Nervenheilk. u. Psych.* **225**, 15, 1904.
36. Opalski A.: Beitrag zur Zytologie der Zerebrospinalflüssigkeit. *Bull. de l'Académie Pol. des Sciences et des Lettres* 1930.
37. Otila E.: Studies on the Cerebrospinal Fluid in Premature Infants. *Acta Paediat. supp.* **8**, 1948.
38. Rehm O.: *Atlas der Zerebrospinalflüssigkeit*. Jena G. Fischer, 1932.



39. Ravaut G.: La rachizentese. Velter G. Paris 1910.
40. Rehm O., Roeder F.: Die Cerebrospinalflüssigkeit. Springer. Berlin 1942.
41. Roberts J.: The Spinal Fluid in the Newborn. J.A.N.A. 85, 500. 1925.
42. Rotstadt I.: Zur Cytologie der Cerebrospinalflüssigkeit. Z. f. Ges. Neur. u. Psych. 31, 278. 1916.
43. Sabin A. B.: Studies of Living Human Blood Cells. Bull. J. Hopkins Hosp. 34, 277. 1923.
44. Samson K.: Die Liquordiagnostik im Kinders. Alter. Ergebn. inner. Med. Kindern. 41, 553, 1931.
45. Sayk J.: Cytologie der Cerebrospinalflüssigkeit. G. Fischer. Jena 1960.
46. Schaltenbrand G.: Die Liquorzirkulation und ihre anatomische Grundlage. Dtsch. Z. Nervenheilk. 140, 67, 1936.
47. Schönenberg H.: Untersuchungen über vitalspeicherung und Liquorzellen sowie Phasenkontrast und fluoreszenzmikroskopische Beobachtungen über den Zerfall der Liquorzellen. Z. f. Kindern. 72, 157. 1952.
48. Schulz H., Knibbe H.: Neue Erkenntnisse über die normale und pathologische Histologie der weichen Hirnhäute durch die Untersuchung in Häutchenpräparaten. Frank F. Z. Path. 63, 466, 1952.
49. Shamburov D. A.: Citologija likwora. G. I. M. Moskwa 1948.
50. Sicard L.: Le liquide céphalorachidien, 1902, Paris, Velter.
51. Siegmund cyt. wg Bischoff A.
52. Shamburov D. A., Sinegubko K.: Cytologie des Liquor. Newropath. 8, 11, 1939.
53. Stewart D. M.: The Cerebro-Spinal Fluid: Its Source, Distribution and Circulation. J. Neurol. a. Psychiat. 6, 537. 1911.
54. Sześci S.: Neue Beiträge zur Cytologie des Liquor cerebro-spinalis. Zschr. f. d. ges. Neurol. Psych. 6, 527, 1911.
55. Thoma K.: Gehalt und Verteilung von Ribonucleinsäuren in Kernchromatin und Plasma der Blutzellen. Schw. Med. Wschr. 80, 145, 1950.
56. Vercauteren R.: Properties of the Isolated Granules from Blood Eosinophiles. Acta Biocatalytica 15, 1. 1953.
57. Waitz R.: Le liquide céphalorachidien du nouveau-né. Rev. franç. pédiat. 4, 1. 1928.
58. Weigeldt W.: Unterschiede in der Zusammensetzung des Liquors an verschiedenen Stellen des Subarachnoidalraumes. Münch. med. Wschr. 27, 838, 1921.
59. Widai J., Sicard L., Ravaut G.: Cytologie du liquide céphalo-rachidien, au cours de quelques processus méninges chroniques. Soc. méd. d. hôp. de Paris. 18, 31. 1901.
60. Wyers H. J., Bakker J. G.: De liquor cerebrospinalis van normale, a terme geboren neonati. Meandschr. v. kindergennek. 22, 253, 1954.
61. Zylberlast-Zandowa N.: Permeabilité menings. Rev. Neurol. 1, 473, 1927.

---

## РЕЗЮМЕ

Автор проанализировала, применяя гистологический метод Альцгаймера, качественную картину морфотических элементов цереброспинальной жидкости, взятой у 43 здоровых детей. В общей сумме приготовлено по гистологическому методу Альцгаймера 123 среза.

Клетки в срезах находились в хорошем состоянии, что дало возможность точно их определить. Во всех препаратах обнаружено значительное преобладание лимфоцитов — в общем итоге 91,46%. Примененный автором статистический тест обнаружил различия во фракциях лимфоцитов в зависимости от возраста детей. У новорожденных и младших младенцев картина клеток cerebro-спинальной жидкости проявляла бóльшее разнообразие, чем у старших детей.

При помощи цитохимического и цитоферментного метода по Браше установлен распад рибо- и дезоксирибонуклеиновых кислот в клетках cerebro-спинальной жидкости. В общей сумме было проанализировано 394 гистологических среза по методу Браше, в том числе 212 срезов, окрашиваемых без применения ферментов и 182 после воздействия на них растворов рибо- и дезоксирибонуклеазы. Установлено в ядрах нейтрофильных клеток преобладание рибонуклеиновой кислоты, в то время как в хроматине ядер всех прочих преобладала дезоксирибонуклеиновая кислота. В ядрышках и цитоплазме была обнаружена рибонуклеиновая кислота.

Рис. 1. Малый лимфоцит в cerebro-спинальной жидкости 2-месячного младенца. Метод Альцгаймера. Величина клетки ок. 4 микрона. Ядро с плотным хроматином. Узкий ободок цитоплазмы вокруг клеточного ядра. Микрофот. Exacta Varex IIa. Увел ок. 2800 х.

Рис. 2. Большой и малый лимфоциты в cerebro-спинальной жидкости 9-суточного новорожденного. Метод Альцгаймера. Микрофот. Exacta Varex IIa. Увел. ок 2800 х.

Рис. 3. Большой лимфоцит cerebro-спинальной жидкости 7-суточного новорожденного. Метод Альцгаймера. Величина клетки около 8 микронов. Клеточное ядро интенсивно окрашено, хорошо виден вокруг клеточного ядра ободок цитоплазмы, Микрофот. Exacta Varex IIa. Увелич 2800 х.

Рис. 4. Большой лимфоцит cerebro-спинальной жидкости 10-недельного младенца. Метод Альцгаймера. Ядро хорошо окрашено, расположено на периферии клетки. На одном из полюсов ядра более широкий ободок цитоплазмы, содержащий вакуолю. Микрофот. Exacta Varex IIa. Увелич 2800 х.

Рис. 5. Моноцит cerebro-спинальной жидкости 10-недельного младенца. Метод Альцгаймера. Величина клетки около 9 микронов. Клеточное ядро почковидной формы, расположенное эксцентрически. Микрофот. Exacta Varex IIa. Увелич 2800 х.

Рис. 6. Гранулоцит cerebro-спинальной жидкости 7-суточного новорожденного. Метод Альцгаймера. Величина клетки около 12 микронов. Ядро двудольчатое с отчетливо зарисованным хроматином. В цитоплазме нет заметных зёрнышек. Микрофот. Exacta Varex IIa. Увелич 2800 х.

Рис. 7. Гранулоцит cerebro-спинальной жидкости 11-суточного новорожденного. Клеточное ядро трехдольчатое с отчетливо видимым хроматином. В отдельных сегментах ядра видны светлые пятна, свидетельствующие об отсутствии хроматина. Микрофот. Exacta Varex IIa. Увелич 2800 х.

Рис. 8. Гранулоцит cerebro-спинальной жидкости 14-суточного младенца. Метод Альцгаймера. Величина клетки около 15 микронов. Клеточное ядро многодоль-

чатсе. Цитоплазма мелкозернистая. Видны нерегулярные контуры цитоплазмы. Микрофот. Ехаста Vаrех IIа. Увелич 2800 х.

Рис. 9. Гранулоцит церебро-спинальной жидкости 14-суточного младенца. Препарат фиксирован в растворе Карноя. Окрашенный по методу Браше после воздействия рибонуклеазы. В центральной части сегментов метилгрюном. Микрофот. Ехаста Vаrех IIа. Увелич около 1700 х.

Рис. 10. Большой лимфоцит церебро-спинальной жидкости 10-суточного новорожденного. Препарат фиксирован в растворе Карноя. Окрашенный по методу Браше после воздействия дезоксирибонуклеазы. Видны узкий ободок цитоплазмы и два интенсивно окрашенных пиронином ядрышка. Микрофот. Ехаста Vаrех IIа. Увелич около 1700 х.

Рис. 11. Малые лимфоциты церебро-спинальной жидкости 14-дневного младенца. Препарат фиксирован в растворе Карноя. Окраска по методу Браше после воздействия дезоксирибонуклеазы. Видны нежные контуры клеточных ядер. Цитоплазма зернистая, окружающая перстнеобразно ядро. Микрофот. Ехаста Vаrех IIа. Увелич 1700 х.

Рис. 12. Малый лимфоцит церебро-спинальной жидкости 9-дневного новорожденного. Препарат фиксирован в растворе Карноя. Окрашенный по методу Браше после воздействия более концентрированного раствора дезоксирибонуклеазы (3 мг/мл). В клеточном ядре дезоксирибонуклеиновая кислота отсутствует. Цитоплазма окружающая перстнеобразно ядро окрашивается интенсивно пиронином. Микрофот. Ехаста Vаrех IIа. Увелич около 1700 х.

---

## S U M M A R Y

Using Alzheimer's histological method, the author analysed the qualitative picture of morphotic elements of the cerebrospinal fluid in 43 healthy children. The total number of preparations obtained by Alzheimer's histological method was 1237. The cells in the preparations were well preserved, which made it possible to differentiate them accurately. In all preparations a considerable preponderance of lymphocytes was found, altogether 91.46%. The statistical test of significance revealed differences in the lymphocyte fractions depending on the children's age. In the newborn and in young infants the picture of the cells of the cerebrospinal fluid was more varied than in older children.

The cytochemical and cytoenzymatic method according to Brachet was used to determine the distribution of ribo- and desoxyribonucleic acids in the cells of the cerebrospinal fluid. The total number of histological preparations analysed by Brachet's method was 394, of which 212 were stained without using enzymes, and 182 after application of solutions of ribo- and desoxyribonuclease. In the nuclei of the cells of the neutrocyte order a preponderance of ribonucleic acid was found, while desoxyribonucleic acid prevailed in the chromatin of the nuclei of all other cells. In the nucleoli and in cytoplasm ribonucleic acid was found.

Fig. 1. Small lymphocyte from cerebrospinal fluid of an infant 2 months old. Alzheimer's method. Size of cell ca. 4  $\mu$ . Nucleus with compact chromatin. Narrow chromatin rim round nucleus. Microphot. Exacta Varex IIa, magn. ca. 2800x.

Fig. 2. Large and small lymphocyte from cerebrospinal fluid of a newborn 9 days old. Alzheimer's method. Microphot. Exacta Varex IIa, magn. ca. 2800x.

Fig. 3. Large lymphocyte from cerebrospinal fluid of a newborn 7 days old. Alzheimer's method. Size of cell ca. 8  $\mu$ . Nucleus distinctly stained, cytoplasm rim round nucleus clearly visible. Microphot. Exacta Varex II a, magn. 2800x.

Fig. 4. Large lymphocyte from cerebrospinal fluid of an infant 10 weeks old. Alzheimer's method. Nucleus distinctly stained, located peripherally. On one pole of the nucleus broader cytoplasm rim containing vacuole. Microphot. Exacta Varex IIa, magn. 2800x.

Fig. 5. Monocyte from cerebrospinal fluid of an infant 10 weeks old. Alzheimer's method. Size of cell ca. 9  $\mu$ . Nucleus kidney-shaped, located eccentrically. Microphot. Exacta Varex IIa, magn. 2800x.

Fig. 6. Granulocyte from cerebrospinal fluid of a newborn 7 days old. Alzheimer's method. Size of cell ca. 12  $\mu$ . Nucleus bilobate, with distinct chromatin stroma. Cytoplasm without visible granules. Microphot. Exacta Varex IIa, magn. 2800x.

Fig. 7. Granulocyte from cerebrospinal fluid of a newborn 11 days old. Alzheimer's method. Size of cell ca. 12  $\mu$ . Nucleus trilobate, with distinct chromatin stroma. In separate lobes light spots can be seen, which suggest the absence of chromatin. Microphot. Exacta Varex IIa, magn. 2800x.

Fig. 8. Granulocyte from cerebrospinal fluid of an infant 14 days old. Alzheimer's method. Size of cell ca. 15  $\mu$ . Nucleus multilobate. Cytoplasm of a finely granular structure. Irregular outlines of cytoplasm are seen. Microphot. Exacta Varex IIa, magn. 2800x.

Fig. 9. Granulocyte from cerebrospinal fluid of an infant 14 days old. Preparations fixed in Carnoy's fluid, stained according to Brachet after application of ribonuclease. In central parts of nucleus lobes discolorations are seen, pointing to digestion of ribonucleic acid. Peripheral annular staining of nucleus lobes with methyl green. Microphot. Exacta Varex II a, magn. ca 1700x.

Fig. 10. Large lymphocyte from cerebrospinal fluid of a newborn 10 days old. Preparation fixed in Carnoy's fluid, stained according to Brachet after application of desoxyribonuclease. Narrow cytoplasm rim and 2 nucleoli, intensely stained with pyronin, are seen. Microphot. Exacta Varex IIa, magn. ca. 1700x.

Fig. 11. Small lymphocytes from cerebrospinal fluid of an infant 14 days old. Preparation fixed in Carnoy's fluid, stained according to Brachet after application of desoxyribonuclease. Delicate outlines of nucleoli are visible. Granular cytoplasm surrounds nuclei. Microphot. Exacta Varex IIa, magn. 1700x.

Fig. 12. Small lymphocyte from cerebrospinal fluid of a newborn 9 days old. Preparation fixed in Carnoy's fluid, stained according to Brachet after application of stronger solution (3 mg/ml) of desoxyribonuclease. Nucleus devoid of desoxyribonucleic acid. Cytoplasm surrounding nucleus intensely stained with pyronin. Microphot. Exacta Varex IIa, magn. ca. 1700x.