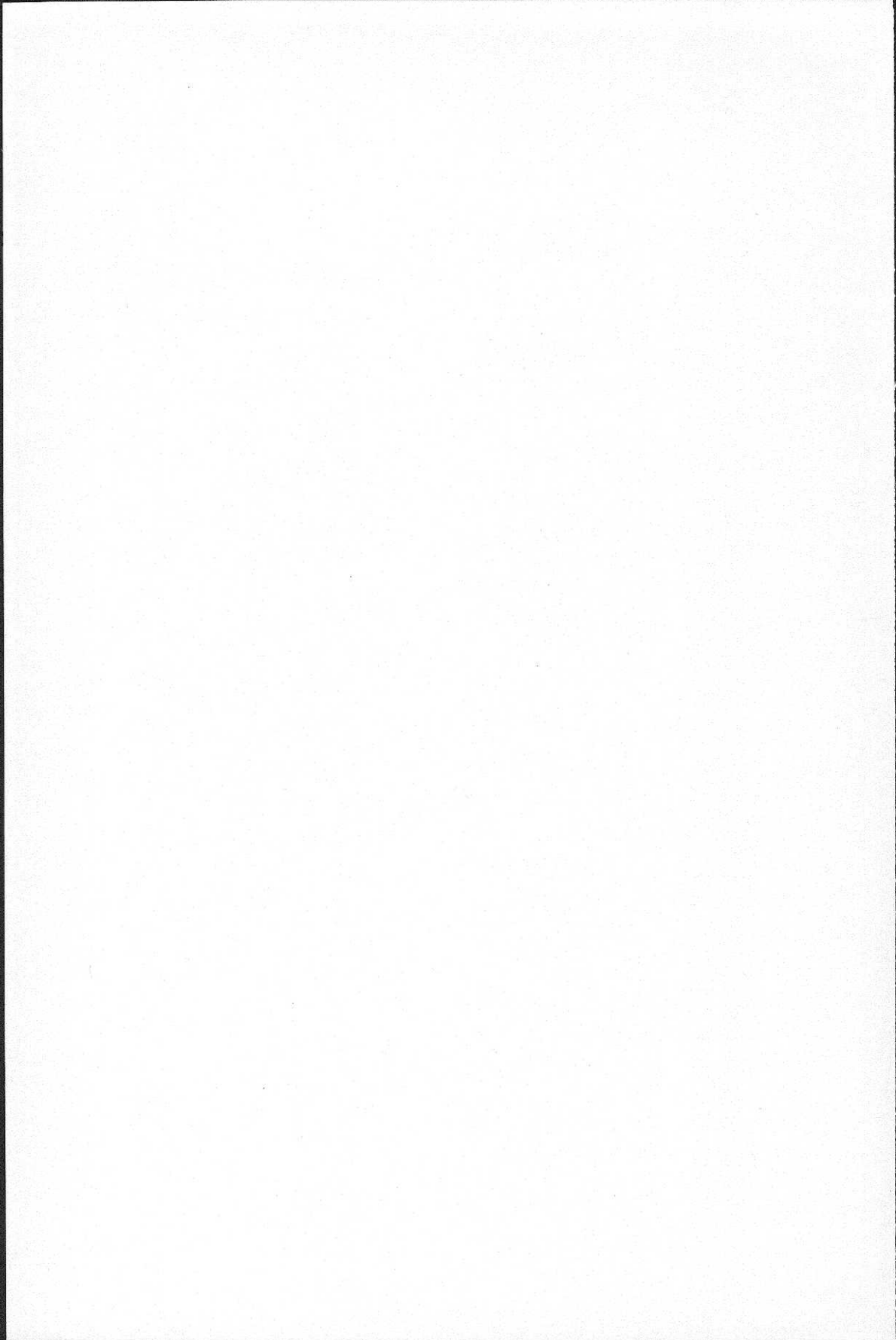


Studier över
mastceller
och kärlpermeabilitet
i perifera nerver

Dissertation
Göteborgs Universitet

Av
Yngve Olsson
med. lic.



Från Neuropatologiska Laboriet, Patologiska
Institutionen I, Göteborgs Universitet, Göteborg

Studier över mastceller och kärlpermeabilitet i perifera nerver

AKADEMISK AVHANDLING

som för vinnande av medicine doktorsgrad med
vederbörligt tillstånd av medicinska fakulteten
vid Universitetet i Göteborg offentlig försvaras
i patologiska institutionens föreläsningssal
fredagen den 14 oktober 1966 kl. 9 f. m.

Av
Yngve Olsson
med. lic.

Från Neuropatologiska Laboratoriet, Patologiska
Institutionen I, Göteborgs Universitet, Göteborg

Studier över mastceller och kärlpermeabilitet i perifera nerver

Av
Yngve Olsson
med. lic.

Till grund för denna sammanfattning ligger följande artiklar:

- I. Mast cells in normal and sectioned peripheral nerve. *Z. Zellforsch.* 66, 596—608 (1965). Tillsammans med L. Enerbäck och P. Sourander.
- II. Storage of monoamines in normal and sectioned peripheral nerve. *Z. Zellforsch.* 68, 255—265 (1966).
- III. The effect of the histamine liberator, Compound 48/80 on mast cells in normal peripheral nerve. *Acta pat. et microbiol. scandinav.* Under tryckning.
- IV. The effect of the histamine liberator, Compound 48/80 on mast cells in sectioned peripheral nerve. *Acta path. et microbiol. scandinav.* Under tryckning.
- V. Mast cell changes in INH-induced neuropathy in the rat. *Acta path. et microbiol. scand.* Under tryckning.
- VI. Studies on vascular permeability in peripheral nerves. 1. Distribution of circulating fluorescent serum albumin in normal, crushed and sectioned peripheral nerve. *Acta Neuropath. (Berlin)*. Under tryckning.
- VII. Studies on vascular permeability in peripheral nerves 2. Distribution of circulating fluorescent serum albumin in rat sciatic nerve after local injection of 5-hydroxytryptamine, histamine and Compound 48/80. *Acta physiol. scand.* 69 Supplement 284, 1966.

Hänvisningar till dessa artiklar sker genom att Arbetet I, II o. s. v. anges i texten.

Innehållsförteckning

INLEDNING	5
MATERIAL OCH METODER	8
RESULTAT OCH KOMMENTARER	11
I. Studier av mastceller i perifer nerv under normala och patologiska betingelser	11
1. Mastceller i normal perifer nerv	11
Distribution och färgbarhet	11
Innehåll av biogena aminer	11
Effekten av histaminliberatorn Compound 48/80	13
2. Mastceller vid patologiska tillstånd i perifer nerv	15
A. Mastcellsförändringar efter krosskada och avskärning av nervus ischiadicus	15
Tidiga mastcellsförändringar	15
Sena mastcellsförändringar	15
Distribution och färgbarhet	16
Innehåll av biogena aminer	16
Effekten av histaminliberatorn Compound 48/80	17
B. Mastcellsförändringar vid en med INH framkallad metabolisk perifer neuropati	17
II. Studier av kärlpermeabilitet i perifer nerv vid normala och patologiska tillstånd med fluorescerande serum albumin som indikator	18
1. Permeabiliteten av vasa nervorum i normal perifer nerv	19
2. Permeabilitetsförändringar efter krosskada och avskärning av nervus ischiadicus	20
Tidiga förändringar av kärlpermeabiliteten	20
Sena förändringar av kärlpermeabiliteten	21
III. Studier av relationen mellan mastceller och kärlpermeabilitet i perifer nerv	22
AVSLUTANDE KOMMENTARER	23
LITTERATURANVISNINGAR	27

INLEDNING

Efter avskärning av en perifer nerv inträder en serie reaktioner icke blott i axoner, myelinskidor och Schwannska celler utan också i nervens mesenkymala strukturer. Sålunda deltar vid sidan av de Schwannska cellerna även fibroblaster och blodkärl i sammanväxningen av den centrala och den perifera delen (Ramon y Cajal 1928, Nageotte 1932, Rexed 1942, Holmes & Young 1942, Essex & Rezende 1943, Guth 1956). Även i det perifera avsnittet uppkommer strukturella förändringar i den endoneurala bindväven. Denna anses spela en väsentlig roll vid nervregenerationen, bland annat som stödjande struktur för de prolifererande Schwannska cellerna (Young 1942, Hiller 1949, Thomas 1964 a). I tidigare ljus- och elektronmikroskopiska studier av perifera nervskador har intresset främst riktats mot axoner, myelinskidor och Schwannska celler, medan jämförelsevis få undersökningar har ägnats åt den mesenkymala vävnadens reaktion. I den mån tidigare arbeten har berört den endoneurala bindväven, har huvudsakligen fibrerna behandlats, medan mindre uppmärksamhet har ägnats de olika i bindväven förekommande celltyperna. Det ökade intresset för bindvävens kemi och funktion, som gjort sig gällande på senare år (Jackson 1964), motiverar att den neurala bindvävens cytologi under varierande betingelser togs upp till förnyad granskning.

Bindväven i perifera nervstammar indelas vanligen i epineuriet, perineuriet och endoneuriet (Key & Retzius 1873, 1876). Den endoneurala bindvävens sammansättning samt dess relation till de Schwannska cellerna har nyligen undersökts på ultrastrukturell nivå (Thomas 1963, Gamble 1964, Waggener, Bunn & Beggs 1965). Gräns mot de Schwannska cellerna utgöres av en basalmembran. Utanför denna förekommer bindvävsfibrer, vilka runt de grövre myeliniserade nervtrådarna kan särskiljas som två lager. Det inre skiktet uppbygges av ett luckert nätverk av smala trådar, vilka sannolikt motsvarar den av Plenk (1927) och Laidlaw (1930) beskrivna argyrofila skidan. Det yttre lagret utgöres av huvudsakligen longitudinella, grövre, kollagena fibrer. Mellan dessa fibrer kan olika bindvävs-celler samt ett plexus av övervägande kapillära blodkärl observeras (Adams 1942, Sunderland 1945, Richards 1951, Waksman 1961, Edshage 1964).

Traumatiska lesioner av perifera nerver åtföljs av en ökad fibrillogenes och av ett ökat cellbestånd i den distala endoneurala bindväven (Wechsler

& Hager 1962, Thomas 1964 a, b). Det nybildade kollagenet uppträder först i anslutning till de Schwannska cellernas basalmembran (Nathaniel & Pease 1963, a, b, Thomas 1964 a, b). Förutom fibroblaster är det möjligt, att också Schwannska celler kan delta i fibrillogenesen (Causey & Barton 1959, Barton 1962, Nathaniel & Pease 1963 b, Thomas 1964 b). Uttalade strukturella förändringar av den endoneurala bindväven kan också förekomma vid infektiöst, allergiskt och metaboliskt framkallade perifera nervskador (Krücke 1955, Waksman & Adams 1956, Schlaepfer & Hager 1964).

Svårigheten att ljusmikroskopiskt differentiera mellan fibroblaster och Schwannska celler, som innehåller omyeliniserade axoner har tidigare framhållits av Causey (1960). En sådan differentialdiagnostisk svårighet gentemot andra celler tycks ej föreligga vid undersökningar av mastceller, eftersom dessa cellers karaktäristiska färgbarhet kan utnyttjas.

Vid studier av bindväven i andra delar av organismen har ett utomordentligt stort intresse riktats mot mastcellen (Michels 1938, Asboe-Hansen 1954, Kelsall & Crabb 1959, Riley 1959, Padawer 1963 a, Smith 1963, Selye 1965, Bloom 1965). Denna cell har förmåga att bilda och i granula i cytoplasman upplagra flera biologiskt viktiga ämnen, såsom heparin, histamin och — hos vissa djurarter — dessutom 5-hydroxytryptamin. Efter exponering för ett flertal fysikaliska, kemiska och biologiska agens kan mastcellerna degranuleras och de upplagrade produkterna frisättas, varefter dessa kan utöva verkan på strukturer i omgivningen av mastcellerna (Paton 1957, Uvnäs 1964, Beraldo & Dias da Silva 1966, Vugman 1966, Rothschild 1966, Rocha e Silva 1966, Mota 1966). För att studera både frisättningsmekanismen och effekten av mastcellsdegranulering på andra strukturer använder man i experimentellt arbete vanligen s. k. histaminliberatorer, av vilka Compound 48/80¹ är en av de mest verksamma (Paton 1957, Westerholm 1964, Rothschild 1966).

I motsats till de omfattande och talrika undersökningar av mastceller i andra vävnader som utförts, föreligger endast ett par studier, som direkt berör mastceller i normal perifer nerv (Gamble & Goldby 1961, Torp 1961). Av dessa framgår att mastceller normalt förekommer i ett flertal olika nervstammar hos flera djurarter.

Frågan, om mastcellerna deltagar i de vävnadsreaktioner, som uppkommer efter avskärning av en perifer nerv, har tidigare berörts av Holmgren och Rexed (1946) i ett arbete över metakromatisk färgning av Schwannska celler samt av Gamble och Goldby (1961), vilka kommit till delvis mot-

¹) Kondensationsprodukt mellan parametoxifenetylmetylamin och formaldehyd.

sägande resultat. Vid patologiska tillstånd hos människa har en riklig förekomst av mastceller beskrivits vid s. k. hypertrofisk neurit (Krücke 1939) samt i perifera nervtumörer (Binazzi & Landi 1961, Pineda 1965).

Vid inflammatoriska tillstånd i andra vävnader har ett samband mellan mastcellsdegranulering och ökad kärlpermeabilitet påvisats (Maximow 1904, Ernst 1926, Rowley & Benditt 1956, McGowern 1957, Gustavsson & Cronberg 1957, Spector & Willoughby 1959, Sheldon & Bauer 1960). De från mastcellerna frisatta biogena aminerna anses kunna utlösa en snabbt insättande ökad kärlpermeabilitet, vilket kan bidra till uppkomsten av ett proteinrikt ödem (Spector & Willoughby 1963, 1964, 1965, Majno 1964, Wilhelm 1962, 1965). Det är en välkänd allmänpatologisk iakttagelse, att inflammatoriska ödem kan stimulera till bindvävsnybildning (Hamperl 1957, Büchner 1966). Det förefaller sålunda möjligt, att exsudat i en traumatiserad perifer nerv skulle kunna vara en stimulerande faktor för den bindvävsnybildning, som åtföljer denna skada.

Uppgifterna i litteraturen i vad mån permeabilitetsförändringar inträder i vasa nervorum vid perifera nervskador är få och indirekta. Följande observationer tyder dock på att en ökad kärlpermeabilitet kan åtfölja traumatiska lesioner av perifera nerver. På båda sidor om en avklämning eller avsnörning av en perifer nerv kan en separation av nervfibrerna påvisas, vilken ansetts bero på förekomsten av ett endoneuralt ödem (Weiss 1943, Weiss & Davis 1943, Denny-Brown & Brenner 1944 a, b, Blackwood & Holmes 1954, Thomas 1964 a). Dessutom har en ökning av våtvikten observerats i avskurna perifera nerver (Mott & Halliburton 1901 a, b, May 1930, Abercrombie & Johnsson 1947, Johnsson, McNabb & Rositer 1949, 1950, Manell 1952, Majno & Karnowsky 1958, Rossiter 1961).

De här i sammandrag beskrivna undersökningarna på råttan utgör avsnitt av en fortlöpande serie studier över mastcellsreaktioner och kärlpermeabilitetsförändringar samt eventuella samband mellan dessa fenomen vid patologiska tillstånd i perifera nerver. I detta avsnitt har

1. mastceller undersökts i normal, krossad och avskuren perifer nerv med hänsyn till fördelning, färgbarhet av granula, monoamin-komponent samt reaktivitet mot histaminliberatorn, Compound 48/80. Dessutom har mastcellsreaktionen vid en med isonikotinsyrehydrazid (INH) framkallad perifer neuropati studerats,
2. permeabiliteten av vasa nervorum undersökts i normal, krossad och avskuren perifer nerv med fluorescerande serum albumin som indikator samt
3. en inledande studie utförts av relationen mellan mastcellsförändringar och kärlpermeabilitetsstörningar vid patologiska tillstånd i perifer nerv.

MATERIAL OCH METODER

Det undersökta materialet och de använda metoderna har ingående beskrivits i de ursprungliga arbetena, varför beträffande detaljer endast hänvisningar till dessa kommer att ges.

I föreliggande studier följdes den konventionella definitionen av mastceller, vilken baseras på närvaron av granula i cellernas cytoplasma, vilka färgas metakromatiskt med tiazinfärgämnen t. ex. toluidinblått. För demonstration av mastceller användes följande metoder. Fixeringsmedlet utgjordes av en isoton, sur, 0,6 % formaldehydlösning, IFAA (Enerbäck 1966 a). Vid jämförelse med 4 % formaldehyd och 4 % basiskt blyacetat fann man, att IFAA var bäst lämpat för studier av mastceller i perifer nerv hos råtta (arbete I). Efter paraffininbäddning färgades snitt med en 0,5 % lösning av toluidinblått i McIlwains buffert av pH 4—4,5 åtföljd av alkoholdehydratisering. I delarbete I undersöktes mastcellerna dessutom efter färgning med toluidinblåtlösningar av varierande pH-värden (0,3—5) och efter färgning med en 0,1 % lösning av astrablått (pH 0,3) enligt Bloom och Kelly (1960). Vidare studerades effekten av lipidextraktionen med metanol och kloroform före färgning med toluidinblått (arbete I, sid. 597).

I både normal och avskuren perifer nerv kan under vissa betingelser även andra strukturer än mastceller ge en metakromatisk färgreaktion (Reich 1903, 1907, Holmgren & Rexed 1946, Wislocki & Singer 1950, Noback 1953, 1954, Schnabel & Sir 1962, Bruchmüller & Scharf 1965). Av betydande differentialdiagnostiskt intresse är de av Reich (1903, 1907) beskrivna metakromatiskt färgbara s. k. π -granula i vissa Schwannska cellers cytoplasma. Histokemisk analys av dessa granula har visat, att den kromotropa substansen i dem med all sannolikhet är en sulfatid, och att färgbarheten försvinner efter lipidextraktion med metanol och kloroform (Noback 1953, 1954, Schnabel & Sir 1962, Bruchmüller & Scharf 1965). Sådana granula förekommer sannolikt ej hos råtta, och hos andra djurarter kan de endast mycket sällan påvisas i alkoholdehydratiserade paraffinsnitt (Schnabel & Sir 1962). Schwannska celler innehållande Reichs granula torde sålunda ej ha utgjort en differentialdiagnostisk möjlighet gentemot mastceller med den av oss på råtta använda tekniken.

Den klassiska metoden att efter avskärning eller krosskada av nervus ischiadicus följa förloppet i och distalt om traumat användes i första hand

för att utröna, om mastceller berörs av patologiska processer i perifera nerver (arbete I, II, IV). De neuroektodermala strukturernas reaktion efter sådana skador har tidigare varit föremål för omfattande och detaljerade ljus- och elektronmikroskopiska undersökningar (Ramon y Cajal 1928, Nageotte 1932, Young 1942, Holmes & Young 1943, Guth 1956, Terry & Harkin 1957, 1959, Engström & Wersäll 1958, Glimstedt & Wohlfart 1960 a, b, Causey 1960, Wechsler & Hager 1962, Barton 1962, Lee 1963, Nathaniel & Pease 1963 a, b, c).

Frågan om kvantitativa förändringar inträder av den endoneurala mastcellspopulationen i den distala delen efter avskärning undersöktes genom räkning av mastceller per synfält i den opererade nerven och i den kontralaterala intakta nerven (arbete I). Den osäkerhet, som vidlåter numeriska beräkningar av mastceller i andra vävnader har tidigare framhållits av Padawer (1963 b) och har beträffande normal och avskuren perifer nerv diskuterats i arbete I (sid. 598, 606—607). Eftersom förändringen av antalet mastceller i den opererade nerven relaterades till den icke opererade kontralaterala nerven från samma djur kunde felkällor betingade av variationer mellan djur och av den histotekniska proceduren reduceras.

Eftersom mastceller, vilka isolerats från peritonealvätska hos råtta, tidigare har visat sig innehålla 5-hydroxytryptamin (Benditt, Wong, Arase & Roeper 1955, Keller 1957, Archer 1961, Garcia-Arocha 1961) undersöktes i delarbete II monoaminförekomsten i mastceller i perifer nerv och jämfördes med den i andra mastceller hos råtta förekommande monoaminen. Härvid användes den av Falck och Hillarp utarbetade fluorescensmikroskopiska tekniken för påvisande av monoaminer (Carlsson, Falck & Hillarp 1962, Falck 1962, 1964, Falck & Owman 1965).

Den fluorescensmikroskopiska metoden för monoaminer baseras på att vissa tryptaminer, däribland 5-hydroxytryptamin, kan överföras av formaldehydgas till kraftigt fluorescerande 6-hydroxy-3,4-dihydro- β -karboliner med ett gult emitterat ljus och att katekolaminer kan omvandlas till grönt fluorescerande 6,7-dihydroxy-3,4-dihydroisokinoliner (Falck, Hillarp, Thieme & Torp 1962, Corrodi & Hillarp 1963, 1964, Corrodi, Hillarp & Johnsson 1964). Reaktionens specificitet kan testas genom att utesluta formaldehydgasproceduren, varvid fluorescensen ej skall framträda. Dessutom kan de fluorescerande produkterna transformeras till motsvarande icke fluorescerande 1, 2, 3, 4-tetrahydroföreningar genom behandling av preparaten med natriumborohydrid. Därefter kan fluorescensen regenereras med en förnyad formaldehydgasbehandling (Corrodi, Hillarp & Johnsson 1964). Man har nyligen också visat, att emissionsspektra för den formaldehydgasframkallade fluorescensen i råttmastceller överens-

stämmer med spektra av formaldehydgasbehandlad 5-hydroxytryptamin i modellförsök (Ritzén 1964).

Epineurala, perineurala och endoneurala mastceller i normal och avskuren nervus ischiadicus undersöktes med avseende på reaktionssätt mot histaminliberatorn, Compound 48/80. Denna tillfördes dels genom intraperitoneal injektion, dels direkt till epineuriet av frilagda perifera nerver (arbete III, sid. 2—3; IV, sid. 1—2). För att studera effekten av Compound 48/80 på endoneurala mastceller i normal perifer nerv injicerades denna direkt i endoneuriet av nervus ischiadicus (arbete III, sid. 2). Mastcellernas reaktion mot Compound 48/80 demonstrerades efter färgning med toluidinblått av IFAA-fixerade paraffinsnitt.

Mastcellernas beteende vid en med isonikotinsyrehydrazid (INH) framkallad perifer nervskada undersöktes i arbete V. Liksom i de övriga arbetena visualiserades mastceller med toluidinblåfärgning. För demonstration av myelinskidor och Schwannska celler användes färgning med luxol fast blue och kresylviolett enligt Klüver och Barrera (1953). För axoner användes en silverimpregneringsteknik (Palmgren 1948), (arbete V, sid. 2).

Skillnader beträffande vasa nervorum permeabilitet mellan normal och avskuren perifer nerv undersöktes med fluorescensmikroskopiskt påvisande av intravenöst injicerat albumin märkt med fluoresceinisotiocyanat (FLA) eller med Evans blått (EBA), (Klatzo, Miquel, Tobias & Haymaker 1961, Klatzo, Miquel & Otenasek 1962, Steinwall & Klatzo 1965, Klatzo & Steinwall 1965), (arbete VI, sid. 1—2). Som indikator valdes FLA och EBA främst därför att albumin ingår som en väsentlig del i inflammatoriska exsudat (Hamperl 1957, Büchner 1966). Dessutom är känsligheten av dessa fluorescensmikroskopiska metoder överlägsen de tidigare ofta använda metoderna med ljusmikroskopiskt påvisande av Evans blått eller trypanblått (Nairn 1964).

I den påbörjade undersökningsserien av relationen mellan mastcellsförändringar och kärlpermeabilitetsstörningar vid patologiska tillstånd i perifer nerv undersöktes i arbete VII dels effekten av de lokalt injicerade mastcellsaminerna, histamin och 5-hydroxytryptamin, dels effekten av med Compound 48/80 frisatta endogena mastcellsaminer. De härigenom framkallade permeabilitetsförändringarna påvisades med den i arbete VI använda fluorescensmikroskopiska metoden för spårande av EBA.

RESULTAT OCH KOMMENTARER

I. Studier av mastceller i perifer nerv under normala och patologiska betingelser

1. Mastceller i normal perifer nerv

Distribution och färgbarhet

(Arbete I, III, V). I de perifera nervstammarna påträffades mastceller i epineuriet, perineuriet och endoneuriet. De epineurala och perineurala mastcellerna var mer frekventa än de endoneurala mastcellerna. De förra var ofta gruppvis samlade i anslutning till epineurala och perineurala blodkärl. Endoneurala mastceller påträffades i samtliga undersökta delar, dvs. plexus brachialis, plexus ischiadicus, nervus ischiadicus och dennas perifera förgreningar. De endoneurala mastcellerna i nervus ischiadicus var tämligen jämnt fördelade över nervens tvärsnitt, medan i nervus ischiadicus antalet mastceller var större i de distala delarna än i de proximala. Oftast uppträdde de endoneurala mastcellerna solitärt och cytoplasman var utdragen i längsriktningen av nervfibrerna. I motsats till de perifera nerverna kunde endoneurala mastceller ej påvisas i dorsala och ventrala spinala nervrötter eller inom spinalganglier.

Granula i såväl epineurala, perineurala som endoneurala mastceller gav en stark metakromatisk reaktion i preparat, färgade med toluidinblått av varierande pH-värden och färgkoncentrationer. Den metakromatiska färgningen kvarstod efter alkoholdehydratisering och efter lipidextraktion med metanol och kloroform. Efter färgning av preparat med astrablått (Bloom & Kelly 1960) och toluidinblått vid pH 0,3 erhöles en selektiv färgning av mastcellsgranula i de perifera nerverna.

Den för den metakromatiska färgreaktionen i mastcellsgranula ansvariga kromotropa substansen anses vara en sulfomukopolysackarid, med all sannolikhet heparin (Jorpes, Holmgren & Wilander 1937, Holmgren & Wilander 1937, Kelly 1956, Schubert & Hammerman 1956).

Innehåll av biogena aminer

(Arbete II.) Preparat från nervus ischiadicus, tunga, mesenterium och peritonealvätska frystes med propan kyld av flytande kväve samt frystorkades. Delar från mesenterium och peritonealvätska luft- eller vakuumbeständigt torkades utan föregående frysning. Vävnaderna exponerades därefter för

formaldehydgas vid 80° C under en till tre timmar. Paraffinsnitt från nerver och tunga samt direktpreparat från mesenterium och peritonealvätska undersöktes i ett fluorescensmikroskop. Mastcellerna lokaliserades med hjälp av deras karaktäristiska utseende i faskontrastmikroskopi före och identifierades med färgning efter fluorescensmikroskopin.

Mastceller i epineuriet, perineuriet och endoneuriet av nervus ischiadicus gav en kraftig, gul, till cytoplasman lokaliserad fluorescens, vilken kontrasterade mot den gröna fluorescens, som observerades i adrenerga nervfibrer runt vasa nervorum. I högre förstoring fann man, att den intensivaste fluorescensen i mastcellerna härrörde från granula i cytoplasman. Mastceller i samtliga undersökta vävnader visade denna reaktion.

Då formaldehydgasbehandlingen uteslöts, förekom ingen gul fluorescens i mastcellerna. Det var också möjligt att utsläcka den formaldehydinducerade fluorescensen med natriumborohydrid, varefter fluorescensen kunde regenereras med förnyad formaldehydgasbehandling.

Den påvisade fluorescensen i mastcellerna uppfyller de histokemiska kraven på specificitet för en monoamin (Falck 1962, 1964). Det har nyligen visats, att emissionsspektra från den formaldehydgasframkallade fluorescensen i råttmastceller överensstämmer med spektra från formaldehydgasbehandlad 5-hydroxytryptamin i modellförsök (Ritzén 1964). Vidare överensstämmer färgen hos det emitterade ljuset från mastceller i perifer nerv med färgen hos det emitterade ljuset från peritonealmastceller, i vilka man biokemiskt kunnat påvisa 5-hydroxytryptamin (Benditt, Wong, Arase & Roeper 1955, Keller 1957, Archer 1961, Garcia-Arocha 1961). Mastceller i perifer nerv torde sålunda med all sannolikhet innehålla 5-hydroxytryptamin liksom andra mastceller hos rått.

Vissa observationer tyder på att mastceller i perifer nerv har förmåga att syntetisera och upplagra histamin. Det har sålunda visats, att perifera nerver innehåller såväl histidindecarkoxylas (Holtz & Westerman 1956, Werle 1956) som histamin (Kwiatkowski 1943, Euler 1956, Werle 1956, Werle & Schauer 1956, West 1957, Green 1964). I de perifera nervstammarna synes en överensstämmelse föreligga mellan distributionen av mastceller och distributionen av histamin. Både mastceller och histamin förekommer längs hela nervstammarna, och borttagande av de yttre nervskidorna, som normalt innehåller mastceller, minskar innehållet av histamin (Rexed & Euler 1951). Om man jämför förekomsten av mastceller och histamin mellan olika nerver från flera djurarter, finner man också en överensstämmelse (Torp 1961). Däremot är det ej klarlagt, om mastcellerna innehåller allt det biokemiskt bestämbara histaminet i perifera nerver (Green 1964).

Effekten av histaminliberatorn, Compound 48/80

(Arbete III.) Riley och West noterade 1955, att vissa mastceller i hud associerade med perifera nervgrenar till skillnad från andra mastceller hos råttor förblev opåverkade av Compound 48/80 efter intraperitoneal tillförsel. Undersökningar över reaktionen hos epineurala, perineurala och endoneurala mastceller i grövre perifera nervstammar mot Compound 48/80 har tidigare ej publicerats.

Efter intraperitoneal injektion av en stor dos Compound 48/80 iaktogs vid de egna försöken en kraftig degranulering av epineurala och perineurala mastceller med spridning av granula runt cellerna. I två försöks-serier injicerades histaminliberatorn intraperitonealt dagligen under respektive tre och fjorton dagar, vilket ledde till ett nästan komplett försvinnande av epineurala och perineurala mastceller. Däremot förblev de endoneurala mastcellerna morfologiskt helt opåverkade i båda försöksgrupperna. I endoneuriet observerades intakta mastceller även mycket nära blodkärl samt i anslutning till det perineurala epitelet. Detta mastcellernas reaktionssätt återkom i samtliga undersökta nerver, dvs. plexus brachialis, plexus ischiadicus, nervus ischiadicus och dennas perifera förgreningar.

Försöken visade sålunda, att en skillnad föreligger mellan epineurala och perineurala mastceller å ena sidan och endoneurala mastceller å andra sidan beträffande reaktivitet mot Compound 48/80 efter intraperitoneal tillförsel. Frånvaron av degranulering hos endoneurala mastceller skulle kunna tänkas bero på att Compound 48/80 ej kan tränga från de endoneurala blodkärlen och från perineuriet in i det endoneurala rummet. Resistensen skulle också kunna bero på att de endoneurala mastcellerna är direkt opåverkbara av histaminliberatorn. Ett exempel på sådan mastcellsresistens föreligger i slemhinnan av råttans magtarmkanal (Enerbäck 1966 b). För att undersöka dessa två olika möjligheter utfördes dels försök med direkta injektioner av Compound 48/80 i endoneuriet, dels försök med applikation av Compound 48/80 till epineuriet av nervus ischiadicus utan föregående intraperitoneal injektion.

I försök med mikroinjektioner av Compound 48/80 i endoneuriet användes Ringer som lösningsmedel. I kontrollförsök med injektion av enbart Ringer lösning iaktogs endast lokala förändringar av mastceller på platsen för injektionen, medan endoneurala mastceller i nervernas övriga delar förblev intakta. Injektion av Compound 48/80 följdes däremot av en utbredd degranulering av endoneurala mastceller i hela den undersökta delen av nervus ischiadicus. Försöken visade sålunda, att då de endoneurala mastcellerna direkt exponeras för histaminliberatorn denna kan

framkalla degranulering av cellerna. Den efter intraperitoneal injektion observerade resistensen hos endoneurala mastceller kan sålunda ej vara bunden till någon egenskap hos de endoneurala mastcellerna. I stället förefaller den förstnämnda möjligheten högst sannolik, dvs. att histaminliberatorn ej kan nå in i det endoneurala rummet efter intraperitoneal tillförsel.

I försöken med intraperitoneal injektion av Compound 48/80 kunde intakta endoneurala mastceller ibland observeras i mycket nära anslutning till de endoneurala blodkärlens väggar. Detta tyder på, att ett hinder för Compound 48/80 är beläget i eller i mycket nära anslutning till blodkärlens väggar. Direkta belägg för att permeabiliteten hos endoneurala blodkärl skiljer sig från permeabiliteten hos epineurala blodkärl framkom i försök med fluorescerande serum albumin som indikator. Efter intravenös injektion av märkt serumalbumin kunde fluorescens i endoneuriet påvisas endast i lumen av blodkärl till skillnad från vad förhållandet var i epineuriet och perineuriet, där fluorescens dessutom kunde iakttagas i och utanför blodkärlens väggar.

De endoneurala mastcellernas resistens mot intraperitoneal tillförsel av Compound 48/80 kan förklaras endast om man räknar med att histaminliberatorn också hindras från att diffundera från omgivningen in i endoneuriet. För att kunna isolerat studera de yttre nervskidornas förmåga att hindra Compound 48/80 att inträda i endoneuriet applicerades detta ämne till epineuriet hos nervus ischiadicus utan föregående intraperitoneal injektion. Detta resulterade i degranulering av såväl epineurala som perineurala mastceller, medan endoneurala mastceller även omedelbart under det perineurala epitelet förblev opåverkade. Sålunda förefaller de inre skikten av perineuriet ha förmåga att hindra inträde av Compound 48/80 i endoneuriet. Denna funktion är sannolikt delvis knuten till det perineurala epitelet, vilket omsluter nervfasciklarna och avgränsar endoneuriet från omgivande vävnader. Tidigare har ett stort antal undersökningar klarlagt, att perineuriet kan fungera som en diffusionsbarriär för en rad andra substanser av varierande kemisk karaktär (Lehman 1957, Martin 1964, arbete VI).

Sammanfattningsvis kan sägas, att de här refererade försöken visade, att såväl endoneurala, perineurala som epineurala mastceller är känsliga för histaminliberatorn Compound 48/80, då de bringas i omedelbar kontakt med denna. Den observerade resistensen hos endoneurala mastceller efter intraperitoneal injektion betingas med all sannolikhet av att de endoneurala blodkärlen och perineuriet har förmåga att blockera inträdet av substansen från blodet och från det omgivande extracellulära rummet.

2. Mastceller vid patologiska tillstånd i perifer nerv

För att utröna, om mastceller berörs av patologiska tillstånd i perifera nerver, studerades mastceller dels efter krosskada och avskärning av nervus ischiadicus, dels efter en med INH framkallad metabolisk perifer neuropati.

A. Mastcellsförändringar efter krosskada och avskärning av nervus ischiadicus. (Arbete I, II, IV)

Försöken med krosskada och avskärning av nervus ischiadicus åtföljdes av två strukturellt och tidsmässigt åtskilda mastcellsreaktioner.

Tidiga mastcellsförändringar

Hos djur, som studerades ett fåtal timmar efter avskärning av nervus ischiadicus iaktogs degranulerade mastceller i såväl epineuriet som i endoneuriet. Degranulerade mastceller observerades endast i området för och i närheten av det direkta traumat, medan sådana ej förekom i den distala delen.

Det är känt från ett flertal experimentella undersökningar, att mastceller i andra vävnader är mycket reaktiva och vulnerabla celler, vilka degranuleras efter exponering för en rad stimuli, såsom mekaniskt trauma, biologiska och kemiska agens samt joniserande strålning (Paton 1957, Uvnäs 1964, Beraldo & Dias da Silva 1966, Vugman 1966, Rothschild 1966, Rocha e Silva 1966, Mota 1966). Den här observerade degranuleringen av mastceller torde sålunda stå i direkt relation till traumat vid avskärningen. I vilken omfattning degranulering av mastceller förekommer vid andra patologiska processer i perifera nerver synes för närvarande vara outrett.

Sena mastcellsförändringar

Under de första veckorna efter avskärning av nervus ischiadicus iaktogs i hela den perifera delen ett stort antal endoneurala mastceller, vilkas utseende och inbördes lokalisation avvek från de i normal nerv förekommande mastcellernas. Däremot kunde liknande förändringar hos endoneurala mastceller ej påvisas i den centrala delen av de avskurna nerverna eller hos mastceller i epineuriet. Storleken av den endoneurala mastcellsökningen på varierande tider efter avskärning av nervus ischiadicus illustreras i figur 1. I figuren anges den procentuella ökningen av antalet mastceller per synfält i den distala delen av avskurna nerver jämförd med den intakta kontralaterala nerven från samma djur. Varje stapel representerar ett försöksdjur.

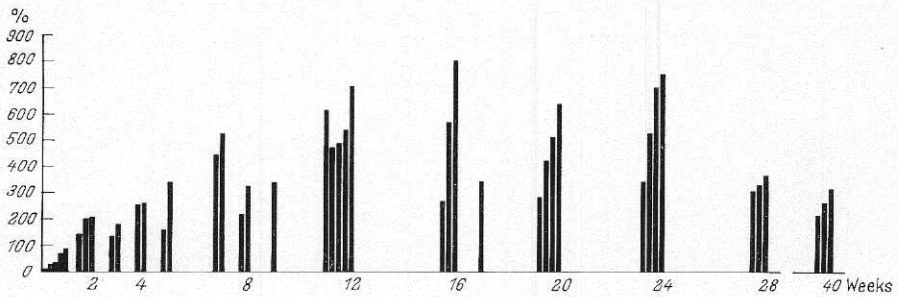


Fig. 1. Reproducerad från arbete I, sid. 605.

Distribution och färgbarhet. (Arbete I.)

Under de två första veckorna efter avskärning observerades solitärt förekommande mastceller i den distala delen, vilka var mindre och hade en mer rundad cytoplasma, än endoneurala mastceller i normal perifer nerv. Cytoplasman innehöll endast ett fåtal granula. De endoneurala mastcellerna i avskuren perifer nerv hos djur med längre överlevnadstid var ofta parvis eller gruppvis anordnade, och cytoplasman var fylld av granula.

Liksom i normal perifer nerv gav mastcellerna i de avskurna nerverna en kraftig metakromatisk färgreaktion med toluidinblått, vilken kvarstod efter alkoholdehydratisering och efter lipidextraktion med metanol och kloroform. De färgades också selektivt med astrablått och toluidinblått vid mycket lågt pH (0,3).

Innehåll av biogena aminer. (Arbete II.)

Monoaminförekomsten hos mastceller i avskurna nerver studerades med Falcks och Hillarps histokemiska metod. Liksom i normal perifer nerv gav dessa mastceller en intensiv, gul fluorescens efter formaldehydkondensering av frystorkade preparat. Fluorescensen försvann efter behandling av snitten med natriumborohydrid och förekom ej i obehandlade preparat. Liksom i normal perifer nerv tyder detta på att de nytillkomna mastcellerna i avskuren nerv innehåller 5-hydroxytryptamin. Ökningen av antalet endoneurala mastceller borde då medföra en ökning av 5-hydroxytryptaminhalten i den distala delen av avskurna nerver jämfört med normala nerver hos råttan. Att så är fallet har senare konstaterats med biokemiska metoder (Andén & Olsson 1966). Denna undersökning visade också en god överensstämmelse mellan tidsförloppen av 5-hydroxytryptaminstegetring och mastcellsökning.

Det förefaller sannolikt, att de nytillkomna mastcellerna i avskurna nerver liksom andra mastceller även innehåller histamin. Detta skulle kunna

förklara den av Kwiatkowski (1943) hos råtta påvisade stegringen av histamininnehållet i den distala delen av avskurna perifera nerver.

Effekten av histaminliberatorn, Compound 48/80. (Arbete IV)

De nytillkomna endoneurala mastcellernas reaktivitet mot histaminliberatorn, Compound 48/80 studerades vid olika tider efter nervavskärning. Histaminliberatorn injicerades intraperitonealt antingen en gång per dag med början på operationsdagen eller i form av en stor dos på varierande tider efter avskärning.

Till skillnad från normal perifer nerv visade den avskurna nerven hos de djur, som erhållit intraperitoneal injektion av Compound 48/80, en utbredd degranulering av endoneurala mastceller i den distala delen. Effekten av histaminliberatorn gav intryck av att vara kraftigare hos de råttor, som hade erhållit en stor intraperitoneal dos två till fyra veckor efter avskärning, än hos dem som undersöktes sex till tolv veckor efter avskärning. Däremot förblev de endoneurala mastcellerna i den kontralaterala icke opererade nerven helt opåverkade.

Undersökningen visar sålunda, att de nytillkomna endoneurala mastcellerna i den distala delen av avskurna nerver är känsliga för histaminliberatorn, Compound 48/80. Till skillnad från normal perifer nerv framkommer den degranulerande effekten i avskuren perifer nerv redan efter intraperitoneal tillförsel av histaminliberatorn. Nervavskärning medför sålunda permeabilitetsförändringar av antingen de endoneurala blodkärlen eller av det perineurala epitelet, så att Compound 48/80 kan tränga in i det endoneurala rummet.

I försök med kortvarig lokal applikation av Compound 48/80 till epineuriet av tidigare avskuren nervus ischiadicus påvisades degranulerade epineurala och perineurala mastceller samt degranulerade mastceller i ärret. Däremot förblev de endoneurala mastcellerna i det distala endoneuriet opåverkade. Försöket tyder på att epineuriet distalt om lesionen fortfarande kan hindra inträde av Compound 48/80 till det endoneurala rummet. Hållpunkter för att en permeabilitetsförändring av vissa endoneurala blodkärl inträder i den distala delen efter avskärning av nervus ischiadicus framkom i nedan refererade försök med fluorescerande serumalbumin som indikator.

B. Mastcellsförändringar vid en med INH — framkallad metabolisk perifer neuropati (Arbete V)

För att undersöka om mastcellsförändringar förekommer även vid andra tillstånd än Wallers degeneration efter nervavskärning undersöktes mast-

cellerna i perifer nerv efter en med INH (isonikotinsyrehydrazid) framkallad perifer nervfiberskada. Tidigare undersökningar har visat, att långvarig behandling av försöksdjur med INH leder till axon och myelinskador i perifera nerver (Schlaepfer & Hager 1962 a, b, c). Skadorna, som åtföljs av en lätt endoneural fibros, anses uppkomma genom en interferens med vitamin B₆-omsättningen.

Grupper av försöksdjur erhöll dagligen INH genom ventrikelsond under en till två veckor, varefter de avlivades på varierande tider. Delar av perifera nerver undersöktes efter färgning med luxol fast blue och kresylvioletten enligt Klüver och Barrera för myelinskidor, med Palmgrens silverimpregneringsmetod för axoner samt med toluidinblått för mastceller.

Försöken avslöjade, att markanta lesioner av axoner och myelinskidor hade uppkommit i nervus ischiadicus och dennas förgreningar och i anslutning härtill liknande endoneurala mastcellsförändringar som i den distala delen av avskurna perifera nerver. Sålunda iaktogs här ett stort antal små och sparsamt granulerade mastceller, vilka ofta förekom i närheten av endoneurala blodkärl. Dessa små och rundade endoneurala mastceller var ofta ordnade parvis eller gruppvis i endoneuriet. Ibland påträffades diskreta cytoplasmatiske förbindelser mellan bredvid varandra liggande celler. I senstadierna hade mastcellerna däremot en avlång form, och cytoplasman var fylld av granula.

Resultatet utgör ett exempel på att lokal nybildning av endoneurala mastceller förekommer icke blott i avskurna perifera nerver utan även vid perifera neuropatier av annan orsak. Eftersom mastcellsförändringen i båda experimentella situationerna såväl strukturellt som tidsmässigt är korrelerad till nervfiberskadan, föreligger möjligheten, att den har utlösts av denna.

II. Studier av kärlpermeabilitet i perifer nerv vid normala och patologiska tillstånd med fluorescerande serum albumin som indikator

Undersökningarna av effekten av histaminliberatorn, Compound 48/80 på mastceller i perifer nerv tydde på att de endoneurala blodkärlens permeabilitet avviker från de epineurala blodkärlens, och att nervavskärning åtföljs av inträde av histaminliberatorn i endoneuriet. Dessa observationer utgjorde incitamentet till studier av vasa nervorums permeabilitet vid normala och patologiska tillstånd med hjälp av fluorescerande serum albumin som indikator. Undersökningarna var också avsedda att utgöra en grund för fortsatta studier av samspelet mellan nervfiberskada, mastcells-

reaktion och permeabilitetsförändringar vid patologiska tillstånd i perifera nerver.

1. Permeabiliteten av vasa nervorum i normal perifer nerv (Arbete VI)

I centrala nervsystemet har de faktorer, som reglerar utbytet av substanser mellan blodbana och parenkym, blivit föremål för ingående studier (för ref. om blod-hjärn-barriären se Davson 1960, Dobbing 1961, Lajtha 1962, Tower 1962, Tschirgi 1960, Broman och Steinwall). Däremot är våra kunskaper om permeabilitetsegenskaperna hos det perifera nervsystemets blodkärl synnerligen begränsade. Tidigare har Waksman (1961) framhållit, att hos kanin permeabilitetsegenskaperna hos blodkärl i perifera nerver liknar motsvarande egenskaper hos centrala nervsystemets blodkärl. Studier av fördelningen i perifera nerver av intravenöst injicerade färglösningar har däremot visat, att speciesskillnader föreligger beträffande permeabilitetsegenskaperna av vasa nervorum (Doinikow 1913, Waksman 1961).

I föreliggande studie injicerades intravenöst bovint serum albumin, märkt med fluoresceinisotiocyanat eller med Evans blått, varefter det märkta äggviteämnet spårades med fluorescensmikroskopi. Likartat resultat erhöles med båda märkningsmetoderna.

Efter injektionen studerades råttor på varierande tider mellan fem minuter och fyra dygn. I samtliga fall påvisades en skillnad mellan distributionen av det märkta albuminet i endoneuriet jämfört med motsvarande distribution i epineuriet och perineuriet. I endoneuriet kunde fluorescens observeras endast i lumen av blodkärlen. I epineuriet och perineuriet förekom fluorescens dessutom i blodkärlens väggar redan fem minuter efter injektionen. Senare iaktogs en diffus fluorescens i den epineurala och perineurala bindväven, vilken spred sig in till men ej förbi den inre delen av perineuriet.

Försöken visar, att en skillnad föreligger beträffande permeabiliteten mellan endoneurala och epineurala blodkärl i normal nervus ischiadicus. De endoneurala blodkärlen hos råttor liknar i detta avseende blodkärlen i centrala nervsystemet. De epineurala och perineurala blodkärlen är t. ex. i likhet med hudens och magtarmkanalens blodkärl normalt i viss mån permeabla för märkt albumin (Mancini 1963). Resultatet av de här refererade undersökningarna stöder också det ovan hävdade antagandet, att det perineurala epitelet och de endoneurala blodkärlen i normal perifer nerv hos råttor har förmåga att reglera inflödet av vissa substanser i det endoneurala rummet och därmed influera på dettas sammansättning.

2. *Permeabilitetsförändringar efter krosskada och avskärning av nervus ischiadicus (Arbete VI)*

Det har tidigare observerats, att en separation av nervfibrerna åtföljer avskärning av en perifer nerv i den distala delen (Weiss 1943, Weiss & Davis 1943, Denny-Brown & Brenner 1944 a, b, Blackwood & Holmes 1954, Thomas 1964 a). En liknande uppluckring förekommer på båda sidor om en konstriktion av en perifer nervstam (Weiss 1943). Separationen av nervfibrerna proximalt om en konstriktion ansåg Weiss (1943) uppkomma genom uppdamning av en i distal riktning normalt flödande vätskeström. Denny-Brown och Brenner däremot hävdade, att ödemet var av rent vaskulärt ursprung.

I föreliggande studie undersöktes kärlpermeabiliteten i nervus ischiadicus dels omedelbart efter krosskada, dels på varierande tider efter avskärning. Den använda tekniken med fluorescerande serum albumin erbjöd en möjlighet att studera exsudation från vasa nervorum samt att följa spridningen av det märkta albuminet i endoneuriet.

Tidiga förändringar av kärlpermeabiliteten

En serie försöksdjur erhöll den märkta albuminlösningen intravenöst strax före krosskada av nervus ischiadicus. Grupper av djur avlivades efter respektive 10 minuter, 3 timmar och 24 timmar.

Redan 10 minuter efter krosskadan iaktogs en markant exsudation av det märkta albuminet såväl i epineuriet som i endoneuriet på platsen för traumat. De djur, som avlivades 3 eller 24 timmar efter ingreppet, visade till skillnad från den förra gruppen dessutom rikligt med extravaskulärt fluorescerande albumin i hela den undersökta delen av nervus ischiadicus. Proximalt om lesionen iaktogs däremot exsuderat albumin i endoneuriet endast för en mycket kort sträcka.

Frågan om ursprunget av det exsuderade albuminet i den distala delen efter krosskada belystes genom försök med injektion av den märkta albuminlösningen på varierande tider efter ingreppet (3—24 timmar). Djuren fick nu överleva 15 minuter efter injektionen. Samtliga försöksdjur visade läckage av albumin, vilket var begränsat till området runt avklänningsstället. Detta tyder på att den väsentligaste exsudationen sker från läckande blodkärl på platsen för det primära traumat.

Tillsammans visar de här refererade försöken, att krosskada av nervus ischiadicus hos råttan åtföljes av en snabbt insättande stegring av vasa nervorums permeabilitet, ledande till en utsvämning av cirkulerande serumalbumin, vilket därefter snabbt sprids från det traumatiserade området ut i endoneuriet av den distala delen. Det ödem i endoneuriet av

avskurna och avsnörda perifera nerver som tidigare beskrivits (Weiss 1943, Weiss & Davis 1943, Denny-Brown & Brenner 1944 a, b, Blackwood & Holmes 1954, Thomas 1964 a), torde sålunda till största delen vara av vaskulärt ursprung. Helt nyligen har liknande observationer, som här beskrivits i krosskadad perifer nerv hos råtta, även gjorts i experiment på kyckling med hjälp av kvantitativ och autoradiografisk bestämning av J^{31} -märkt serum albumin som indikator (Mellick 1966). I dessa experiment åtföljdes krosskada samt avsnörning av nervus ischiadicus av en snabbt insättande kraftig exsudation av det märkta albuminet, vilket var mest uttalat i området för och distalt om traumat. I motsvarande segment kunde dessutom en ökning av våtvikten påvisas.

Sena förändringar av kärlpermeabiliteten

I en försöksserie studerades kärlpermeabiliteten 2 till 12 veckor efter avskärning med en cirkulationstid för det märkta albuminet av 15 minuter eller 24 timmar.

Samtliga djur, som undersöktes 15 minuter efter injektionen, visade abnormt permeabla endoneurala blodkärl dels ställvis i den distala delen, dels på platsen för det direkta traumat. I båda områdena iakttogs nämligen fluorescens såväl i som strax utanför de endoneurala blodkärlens väggar. Efter en cirkulationstid av 24 timmar påvisades en diffus extravaskulär fluorescens i hela det distala endoneuriet.

Undersökningen avslöjade sålunda, att en abnorm kärlpermeabilitet kvarstår på platsen för det direkta traumat lång tid efter avskärning. På tidigt stadium kan den ökade permeabiliteten sammanhånga med nybildning av blodkärl i det traumatiserade området (Essex & Rezende 1943, Blümcke 1962, Thomas 1966). Det är känt, att nybildade kärl i allmänhet är mer permeabla än deras mogna motsvarigheter (Abell 1939, 1946, Dihlmann, Liebaldt & Undeutsch 1961, Schoefl 1963).

Även i den distala delen av avskurna nerver har sålunda en förändring av de endoneurala blodkärlens permeabilitet inträtt. Orsaken till denna sent förekommande stegrade permeabilitet för märkt albumin är oklar och fordrar ytterligare studier. Det är i detta sammanhang intressant att notera, att man i endoneuriet av den distala delen i traumatiserade humana perifera nerver tidigare har funnit avancerade endoneurala kärlförändringar, omgivna av ödematös uppluckring (Krücke 1949).

III. Studier av relationen mellan förändringar av mastceller och kärlpermeabilitet i perifer nerv (Arbete VII.)

En inledande studie av samband mellan mastcellsdegranulering och ökad permeabilitet hos vasa nervorum vid patologiska tillstånd i perifera nerver utfördes. En relation mellan mastcellsdegranulering och ökad kärlpermeabilitet har tidigare påvisats i andra vävnader, där de frisatta biogena aminerna från mastcellerna ansetts spela den väsentligaste rollen som mediatorer (Spector & Willoughby 1963, 1964, 1965, Majno 1964, Wilhelm 1962, 1965.) Därför att de cerebrala blodkärlen tidigare har rapporterats vara opåverkbara av histaminets permeabilitetsökande effekt (Broman & Lindberg-Broman 1945) föreföll det väsentligt att isolerat studera effekten av mastcellsaminer på permeabiliteten hos vasa nervorum. Effekten av syntetiskt histamin och 5-hydroxytryptamin samt av histaminliberatorn, Compound 48/80 studerades efter lokal injektion i endoneuriet och efter applikation till epineuriet av normal nervus ischiadicus. Kärlpermeabilitetsförändringar i nerverna visualiserades med hjälp av den tidigare utnyttjade fluorescensmikroskopiska tekniken för påvisande av albumin, märkt med Evans blått (arbete VI).

Endoneurala injektioner samt epineurala applikationer av både histamin och 5-hydroxytryptamin åtföljdes av en kraftigt ökad permeabilitet hos vasa nervorum med ett snabbt insättande och en kort duration. Dessa effekter kunde elimineras genom förbehandling av försöksdjuren med en histaminantagonist, mepyramin maleat, och en 5-hydroxytryptaminantagonist, methysergid bimaleinat. Försöken tyder sålunda på att såväl endoneurala som epineurala blodkärl är känsliga för exogent tillförda mastcellsaminer, vilka har förmåga att framkalla ökad permeabilitet för märkt serumalbumin.

Frisättning av endogena mastcellsaminer med Compound 48/80 åtföljdes också av en ökad permeabilitet av vasa nervorum. Till skillnad från vad som var fallet i försöken med exogena aminer var effekten i endoneuriet av längre duration, och den kunde ej helt utsläckas genom förbehandling med histamin- och 5-hydroxytryptaminantagonisterna. Dessa resultat talar för att den permeabilitetsökande effekten av Compound 48/80 till största delen medieras av frisatta aminer från degranulerade mastceller i de perifera nerverna.

Resultaten av de här presenterade undersökningarna stöder uppfattningen, att den mastcellsdegranulering och aminfrisättning som kan åtfölja traumatiska perifera nervskador, bidrager till utvecklingen av den snabbt insättande ökningen av permeabiliteten hos vasa nervorum för serum albumin och den ödemutveckling, som förekommer vid dessa skador.

AVSLUTANDE KOMMENTARER

De här refererade undersökningarna har visat, att hos råtta mastceller konstant förekommer i endoneuriet, perineuriet och epineuriet av perifera nervstammar. Varken i tidigare eller föreliggande arbeten har mastceller påvisats i spinala nervrötter (Gamble 1964). Dessa innehåller också mindre mängder av andra bindvävskomponenter såsom fibroblaster och kollagen (Gamble 1964, Nathaniel & Pease 1963 a).

Efter avskärning av nervus ischiadicus inträder en betydande ökning av antalet endoneurala mastceller i den distala delen, vilka har ett flertal egenskaper gemensamma med andra mastceller hos råtta såsom färgbarhet av granula, innehåll av monoaminer och reaktivitet mot histaminliberatorn Compound 48/80. Ett ökat antal mastceller i avskuren perifer nerv har tidigare beskrivits i ett kort meddelande av Gamble och Goldby (1961). Dessa författare fann en fyra- till femfaldig ökning av antalet mastceller i fyra avskurna eller krosskadade nerver åtta månader efter ingreppet. Medan våra resultat bearbetades har liknande observationer gjorts av mastceller i avskuren nervus ischiadicus hos hund (Boschi 1964). Denna mastcellsreaktion är ej begränsad till traumatiserade nerver, vilket resultatet av den med INH framkallade perifera neuropatin demonstrerar. Det faktum, att små, rundade endoneurala mastceller har observerats i degenererade perifera nerver hos diabetiker (Olsson, Angervall, Sourander & Säve-Söderberg 1966), tyder på att en motsvarande mastcellsreaktion också kan förekomma vid patologiska tillstånd i humana perifera nerver.

Bland de funktioner som möjligen tillskrivits mastcellerna är relationen till lipidomsättningen i detta sammanhang intressant (Michels 1938, Smith 1963, Selye 1965). Den rikliga förekomsten av mastceller i anslutning till lipofager och fettväv har tidigare tagits som uttryck för att ett sådant samband kan föreligga (Spicer 1963, Hellman, Larsson & Westman 1963).

Mastcellernas eventuella förmåga att påverka lipidmetabolismen har tillmätts effekten av deras heparinkomponent (Selye 1965). Det är känt, att heparin kan framkalla en ökad frisättning av fettsyror från lipoproteiner i serum genom inverkan på enzymet lipoproteinlipas (Robinson & French 1963). Det är också möjligt, att en liknande effekt av heparin kan erhållas på fosfolipaser. Sålunda har Vogel och Zieve (1964) nyligen angivit, att ägg fosfatidyletanolamin bryts ned till lysofosfatidyletanolamin och fettsyror av ett fosfolipas i plasma efter tillsats av heparin. Detta

stod i överensstämmelse med hypotesen, att heparin kan stimulera ett fosfolipas i plasma.

Enligt Rossiter (1961) kan Wallers degeneration indelas i tre stadier. Det andra stadiet karaktäriseras av proliferation av Schwannska celler samt av kemisk nedbrytning och bortförande av myelinlipider. Vid denna nedbrytning degraderas de i myelinet ingående glycerofosfolipiderna lecithin och kefalin till motsvarande lysoföreningar. Det är möjligt, att heparin influerar på denna enzymatiska nedbrytning. Det ökade antalet endoneurala mastceller under det andra stadiet kan då tänkas vara producenter av en ökad mängd heparin, tillgängligt för stimulering av fosfolipaser i den distala degenererande nervdelen.

Resultaten av försöken med avskärning visar också, att traumatiska lesioner åtföljs av en snabbt insättande lokal degranulering av endoneurala, perineurala och epineurala mastceller. Det är troligt, att de genom degranuleringen frisatta biogena aminerna kan inverka på strukturer i mastcellernas omgivning. Sålunda är det sannolikt, att en av effekterna av de frisatta aminerna är en snabbt insättande permeabilitetsökning av vasa nervorum. Detta torde bidra till utvecklingen av det ödem, som uppkommer i anslutning till traumatiska perifera nervskador.

De här presenterade undersökningarna har också aktualiserat ett flertal tidigare föga beaktade frågor om kärlpermeabiliteten i perifer nerv under normala och patologiska betingelser. Dessa frågor förefaller delvis vara intimt förknippade med den ovan beskrivna tidiga mastcellsreaktionen.

Det är känt, att i andra vävnader ett utbyte av serumproteiner normalt förekommer mellan blod och det extracellulära rummet (Wright 1955, Mancini 1963). Efter intravenös injektion av märkt serumalbumin kan detta spåras i och utanför blodkärl i bindväven, varifrån en del kan resorberas av lymfkärl och återföras till blodet. Den här presenterade undersökningen med märkt albumin tyder på att ett sådant utbyte normalt sker i epineuriet och i perineuriet. Däremot förefaller en motsvarande cirkulation i endoneuriet ej trolig, eftersom märkt albumin ej kunde påvisas i och utanför väggarna av de endoneurala blodkärlen efter intravenös injektion. Detta förhållande föreligger dock ej i spinalgangliernas endoneurium. Efter intravenös injektion kan nämligen rikligt med fluorescerande albumin påvisas i och utanför blodkärl i spinalganglier hos råttor (Olsson 1966). Om sådana topografiska variationer av kärlpermeabiliteten har betydelse för uppkomsten och utvecklingen av exsudativa processer i perifera nervsystemet får framtiden utvisa.

Efter avskärning och krosskada av en perifer nerv uppkommer en mycket kraftigt stegrad permeabilitet av vasa nervorum och ett proteinrikt

exsudat, vilket till stor del sprids ut i den distala endoneurala bindväven. De här refererade undersökningarna har också visat, att båda dessa fenomen har påbörjats redan tio minuter efter traumat. Detta torde vara en av de allra tidigaste förändringar, som har beskrivits i den distala delen av avskurna eller krossade nerver. Vid sidan av det här påvisade endoneurala ödemet har i avskurna nerver också en tidigt insättande vakuolisering i de Schwannska cellernas cytoplasma observerats, vilken tolkats som ett intracellulärt ödem (Blümcke 1963).

I andra vävnader har inflammatoriska exsudat bland annat tillmätts betydelse som en näringsrik faktor för bindväven, vilket kan bidra till aktiveringen av såväl fibrocyter som histiocyter (Hamperl 1957, Büchner 1966). Det förefaller sålunda möjligt, att en följd av det inflammatoriska exsudatet i traumatiserade perifera nerver kan vara att som i andra vävnader stimulera den endoneurala bindväven och därmed influera på den fibros, som senare utbildas i det distala endoneuriet.

De undersökningar, som här i sammandrag redovisats, har utförts under åren 1963 till 1966.

Till Prosektor Patrick Sourander vill jag framföra ett hjärtligt tack i första hand för uppslaget till dessa studier och för alla idégivande och kritiska diskussioner under dessa år.

Jag vill också rikta ett hjärtligt tack till Professor Jan Mellgren, främst för den perfekta och personliga undervisning i allmänpatologi, som jag erhållit och som skapat en grund för detta arbete.

Till Professor Arvid Carlsson, Göteborgs Universitet, riktas ett varmt tack för all hjälp och för den kritiska granskningen av den del av avhandlingen som berör monoaminer i mastceller.

För värdefulla och idégivande anvisningar om mastcellernas möjliga betydelse för myelinedbrytning i perifera nerver tackar jag hjärtligt Laborator Lars Svennerholm, Göteborgs Universitet, och Doctor G. R. Webster, London University.

Dessutom tackar jag Professor Igor Klatzo, NIH, Bethesda, USA; Prosektor Bengt Falck, Lunds Universitet; Doktor Lennart Enerbäck och Doktor Oscar Steinwall, Göteborgs Universitet, samt Doctor J. B. Cavanagh, London University, för värdefulla metodologiska anvisningar och stimulerande diskussioner om mastceller och kärlpermeabilitet.

Till Fröken Kristina Müntzing framföres ett hjärtligt tack för ett noggrant och skickligt utfört histotekniskt arbete.

Medicinska fakulteten i Göteborg har genom anslag stött det vetenskapliga arbetet.

Göteborg 1966.

YNGVE OLSSON

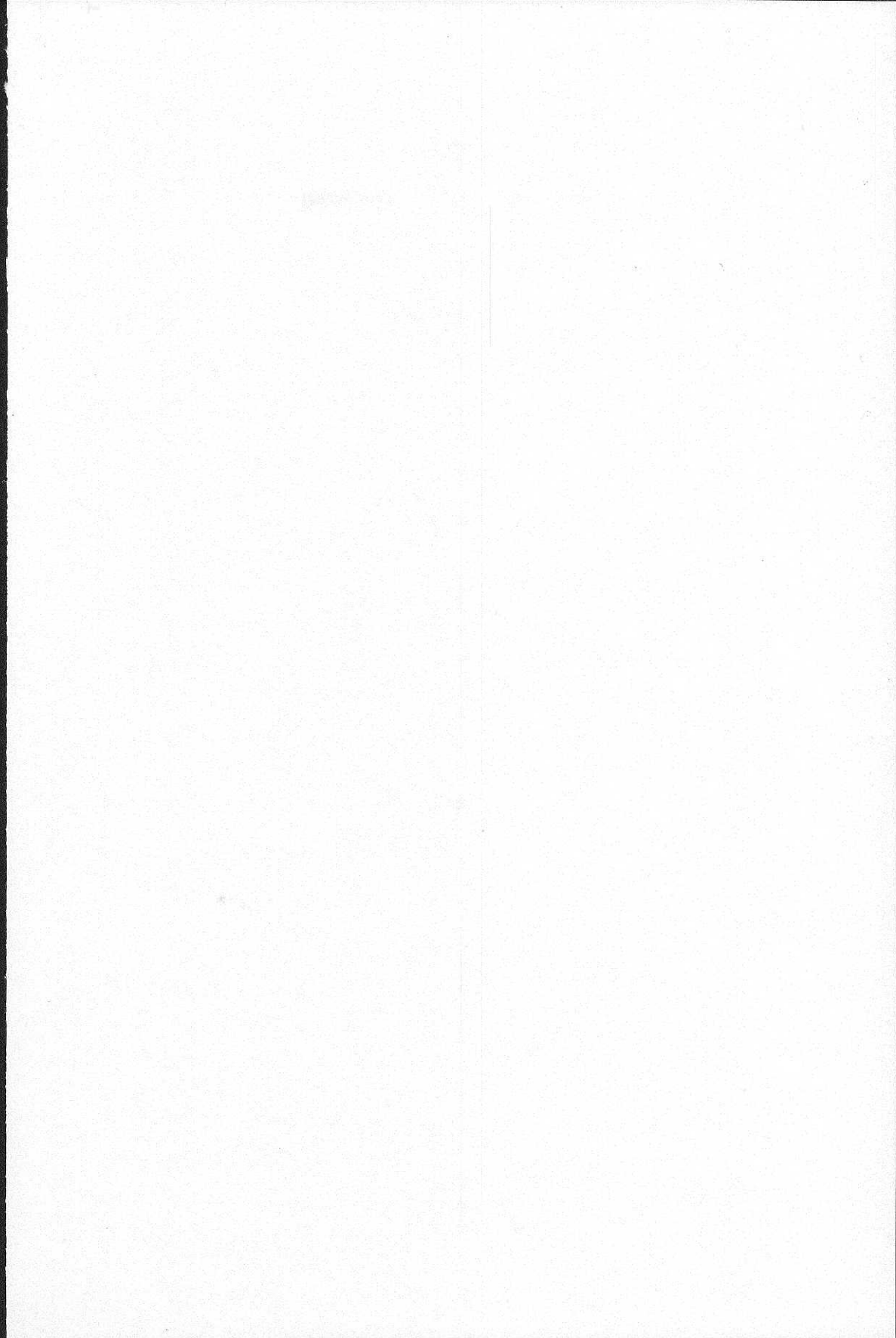
LITTERATURANVISNINGAR

- ABELL, R. G.: *Collecting Nct 14*, 213—214 (1939).
 — *Amer. J. Physiol.* *147*, 237—241 (1946).
- ABERCROMBIE, M & M., L. JOHNSON: *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* *10*, 89—92 (1947).
- ADAMS, W. E.: *J. Anat. (Lond.)* *76*, 323—341 (1942).
- ANDÉN, N.-E. & Y. OLSSON: *Att publiceras*.
- ARCHER, G. T.: *Nature (Lond.)* *190*, 350 (1961).
- ASBOE-HANSEN, G.: *Int. Rev. Cytol.* *3*, 399—436 (1954).
- BARTON, A. A.: *Brain* *85*, 799—808 (1962).
- BENDITT, E. P., R. L. WONG, M. ARASE & E. ROEPER: *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* *90*, 303—304 (1955).
- BERALDO, W. T. & W. DIAS DA SILVA: I "Handbuch der experimentellen Pharmakologie". Ed. O. Eichler & A. Farah. Vol. XVIII/1 Histamine and Anti-Histaminics. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag 1966.
- BINAZZI, M. & G. LANDI: *Gionale Ital. Dermatol.* *102*, 208—221 (1961).
- BLACKWOOD, W. & W. HOLMES: I "Peripheral nerve injuries". Ed. H. J. Seddon, 88—105 (1954).
- BLOOM, G. D.: I "The inflammatory process". Ed. B. W. Zweifach, L. Grant & R. T. McCluskey, 355—388. New York & London: Academic Press 1965.
 — & J. W. KELLY: *Histochemie* *2*, 48—57, (1960).
- BLÜMCKE, S.: *Zbl. allg. Path. path. Anat.* *104*, 228—241 (1962).
 — *Beitr. path. Anat.* *128*, 238—258 (1963).
- BOSCHI, E.: *Sist. Nerv.* *16*, 129—139 (1964).
- BROMAN, T. & A. M. LINDBERG-BROMAN: *Acta Physiol. Scand.* *10*, 102—125 (1945).
 — & O. STEINWALL: I "Neuropathology". Ed. J. M. Minchler, New York: McGraw-Hill. *Att publiceras*.
- BRUCHMÜLLER, W. & J.-H. SCHARF: *Morphol. Jahrbuch* *108*, 71—121 (1965).
- BÜCHNER, F.: *Allgemeine Pathologie*. 5 uppl. München, Berlin, Wien: Urban & Schwarzenberg 1966.
- CARLSSON, A., B. FALCK, & N.-Å. HILLARP: *Acta Physiol. Scand.* *56*, suppl. 196 (1962).
- CAUSEY, G.: *The Cell of Schwann*. Edinburgh & London: E. & S. Livingstone (1960).
- CORRODI, H. & N.-Å. HILLARP: *Helv. chim. Acta* *46*, 2425—2430 (1963).
 — — *Helv. chim. Acta* *47*, 911—918 (1964).
 — — & G. JOHNSON: *J. Histochem. Cytochem.* *12*, 582—586 (1964).
- DAVSON, H.: "Handbook of Physiology". Ed. J. Field, H. W. Magoun & V. E. Hall 1761—1768. Baltimore: Williams & Wilkins Co. 1960.
- DENNY-BROWN, D. & C. BRENNER: *Arch. Neurol. Psychiat. (Chic.)* *52*, 1—19 (1944a).
 — — *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* *7*, 76—95 (1944b).
- DIHLMANN, W., G. LIEBALDT & W. UNDEUTSCH: *Strahlentherapie* *114*, 552—564 (1961).
- DOBING, J.: *Physiol. Rev.* *41*, 130—188, (1961).
- DOINIKOW, B.: *Folia neuro-biologica* *7*, 731—749 (1913).
- EDSHAGE, S.: *Acta chir. scand. Suppl.* *331* (1964).
- ENERBÄCK, L.: *Acta path. et microbiol. Scand.* *66*, 289—302 (1966a).
 — *Acta path. et microbiol. Scand.* *66*, 313—322 (1966b).
- ENGSTRÖM, H. & J. WERSÄLL: *Exp. Cell Res.* *14*, 414—425 (1958).
- ERNST, T.: *Beitr. path. Anat.* *75*, 299—258 (1926).
- ESSEX, H. & N. DE REZENDE: *Am. J. Physiol.* *140*, 107—114 (1943).
- EULER, U. S.v.: I "Ciba Foundation Symposium on Histamine". London: J. A. Churchill Ltd 235—241 (1956).
- FALCK, B.: *Acta Physiol. Scand.* *56*, suppl. 197 (1962).
 — I "Progress in Brain Research". Ed. H. E. Himwich & W. A. Himwich. Vol. 8, 28—44. Amsterdam, London, New York: Elsevier Publ. Co. 1964.
 —, N.-Å. HILLARP, G. THIEME & A. TORP: *J. Histochem. Cytochem.* *10*, 348—354, (1962).
 — & C. OWMAN: *Acta Univ. Lundensis* II:7 (1965).

- GAMBLE, H. J.: *J. Anat. (Lond.)* 98, 17—25 (1964).
- & S. GOLDBY: *Nature (Lond.)* 189, 766—767 (1961).
- GARCIA-ARCHA, H.: *Canad. J. Biochem.* 39, 395—402 (1961).
- GLIMSTEDT, G. & G. WOHLFART: *Acta morph. neerl.-scand.* 3, 135—146 (1960a).
- — *Lunds Universitets Årsskrift N. F.* 56, 1—22 (1960b).
- GUTH, L.: *Physiol. Rev.* 36, 441—478 (1956).
- GUSTAVSSON, B. E. & S. CRONBERG: *Acta Rheumat. Scand.* 3, 189—202 (1957).
- HAMPERI, H.: *Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und der Pathologischen Anatomie*. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer Verlag 1957.
- HELLMAN, B., S. LARSSON & S. WESTMAN: *Acta Physiol. Scand.* 58, 255—262 (1963).
- HOLMES, W. & J. Z. YOUNG: *J. Anat. (Lond.)* 77, 63—96 (1943).
- HOLMGREN, H. & B. REXED: *Acta Anat. (Basel)* 2, 287—293 (1946).
- & O. WILANDER: *Z. mikr.-anat. Forsch.* 42, 242—278 (1937).
- HILLER, F.: *Deutsche Z. Nervenheilk.* 160, 176—195 (1949).
- HOLTZ, P. & E. WESTERMANN: *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* 227, 538—546 (1956).
- JACKSON, SYLVIA FITTON: I “The Cell”. Ed. J. Brachet & A. E. Mirsky. 6, 387—509 (1964).
- JOHNSON, A. C., A. R. MCNABB & R. J. ROSSIER: *Biochem. J.* 45, 500—508 (1949).
- , —, — *Arch. Neurol. Psychiat. (Chic.)* 64, 105—121 (1950).
- JORPES, J. E., H. HOLMGREN & O. WILANDER: *Z. mikr.-anat. Forsch.* 42, 279—300 (1937).
- KELLER, R.: *Helv. physiol. pharmacol. Acta* 15, 371—375 (1957).
- KELLY, J. D.: *Protoplasmalogia* 2, 1—98 (1956).
- KEY, A. & G. REZZIUS: *Arch. mikr. Anat.* 9, 308—386 (1873).
- — *Studien in der Anatomie des Nervensystemes und des Bindegewebes*. Stockholm: Samson & Wallin 1876.
- KELSALL, M. A. & E. D. CRABB: *Lymphocytes and mast cells*. Baltimore: Williams & Wilkins Co. 1959.
- KLATZO, I., J. MIQUEL, C. TOBIAS & W. HAYMAKER: *J. Neuropath. exp. Neurol.* 20, 459—483 (1961).
- — & R. OTENASEK: *Acta Neuropath. (Berl.)* 2, 144—160 (1962).
- & O. STEINWALL: *Acta Neuropath. (Berl.)* 5, 161—175 (1965).
- KLÜVER, H. & E. BARRERA: *J. Neuropath. exp. Neurol.* 12, 400—403 (1953).
- KRÜCKE, W.: *Virchows Arch. path. Anat.* 304, 442—463 (1939). *Allg. Z. f. Psych.* 124, 361—395 (1949).
- I “Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie”. Ed. W. Scholz. Vol. XIII/5, 1—103. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer Verlag 1955.
- KWIATKOWSKI, H.: *J. Physiol. (Lond.)* 102, 32—41 (1943).
- LAIDLAW, G. F.: *Amer. J. Path.* 6, 435—444 (1930).
- LAJTHA, A.: I “Neurochemistry”. Ed. K. A. C. Elliot, I. H. Page & J. H. Quastel, 2 suppl. 399—430. Springfield: Thomas 1962.
- LEE, J. Ch.: *J. Comp. Neurol.* 120, 65—80 (1963).
- LEHMANN, H.-J.: *Z. Zellforsch.* 46, 232—241 (1957).
- McGOVERN, V. J.: *J. Path. Bact.* 73, 99—106 (1957).
- MAJNO, G.: I “Injury, inflammation and immunity”. Ed. L. Thomas, J. Uhr & L. Grant, 58—93. Baltimore: The Williams & Wilkins Co. 1964.
- & M. L. KARNOWSKY: *J. exp. Med.* 108, 197—214 (1958).
- MANELL, W. A.: *Canad. J. med. Sci.* 30, 173—179 (1952).
- MANCINI, R. E.: *Int. Rev. Cytol.* 14, 193—222 (1963).
- MARTIN, K. H.: *Z. Zellforsch.* 64, 404—428 (1964).
- MAXIMOW, A.: *Beitr. path. Anat.* 35, 93—126 (1904).
- MAY, M. R. M.: *Bull. Soc. Chim. Biol. (Paris)* 12, 934—953 (1930).
- MELLICK, R. S.: Thesis on blood vessel permeability in peripheral nerve following trauma and during Wallerian degeneration. London University 1966.
- MICHELS, N. A.: The mast cells. I “Handbook of Haematology”. Ed. Downey. New York: P. B. Hoeber Inc. 1. (1938).
- MOTA, I.: I “Handbuch der experimentellen Pharmakologie”. Ed. O. Eichler & A. Farah. Vol. XVIII/1 Histamine and Anti-Histaminics. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag 1966.
- MOTT, F. W. & W. D. HALLIBURTON: *Phil. Trans. B* 194, 437—466 (1901a).
- — *Lancet* 1, 1077—1078 (1901b).

- NAGEOTTE, J.: I "Cytology and Cellular Pathology of the Nervous System". Ed. W. Penfield. New York: Hoeber 1932.
- NAIRN, R. C.: Fluorescent protein tracing. Edinburgh & London: E. & S. Livingstone Ltd. 2 uppl. 1964.
- NATHANIEL, E. J. H. & D. C. PEASE: J. Ultrastructure Research 9, 511—532 (1963a).
—, — J. Ultrastructure Research 9, 550—560 (1963b).
—, — J. Ultrastructure Research 9, 533—549 (1963c).
- NOBACK, C. R.: J. Comp. Neurol. 99, 99—101 (1953).
— J. Neuropath. exp. Neurol. 13, 161—166 (1954).
- OLSSON, Y.: Att publiceras.
—, L. ANGERVALL, P. SOURANDER & J. SÄVE-SÖDERBERG: Att publiceras.
- PADAWER, J.: Ed. Conf. on Mast Cells and Basophils. Trans. N. Y. Acad. Sci. 103 (1963a).
— Trans. N. Y. Acad. Sci. 103, 87—138 (1963b).
- PALMGREN, A.: Acta zool. 29, 377—392 (1948).
- PATON, W. D. M.: Pharmacol. Rev. 9, 269—328 (1957).
- PLENK, H.: Ergebn. Anat. Entw. Gesch. 27, 302—412 (1927).
- PINEDA, A.: Arch. Neurol. 13, 372—382 (1965).
- RAMON Y CAJAL, S.: Degeneration and regeneration of the nervous system. New York: Hafner Publ. Co. 1928.
- REICH, F.: Arch. Anat. Physiol., Physiol. Abt. 1903, 208—214 (1903).
— J. Psychol. Neurol. (Lpc.) 8, 244—273 (1907).
- REXED, B.: Z. mikr.-anat. Forsch. 51, 177—205 (1942).
— & U. S. v. EULER: Acta Psych. Neurol. Scand. 26, 61—65 (1951).
- RICHARDS, R. L.: J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 14, 76—87 (1951).
- RILEY, J. F.: The mast cells. Edinburgh & London: E. & S. Livingstone Ltd 1959.
— & G. B. WEST: J. Path. Bact. 69, 269—282 (1955).
- RITZÉN, M.: Proc. 2nd Intern. Congr. of Histochemistry and Cytochemistry. Abstract, 187, (1964).
- ROBINSON, D. S. & J. E. FRENCH: Pharmacol. Rev. 12, 241—263 (1960).
- ROCHA E SILVA, M. J.: I "Handbuch der experimentellen Pharmakologie". Ed. O. Eichler & A. Farah. Vol. XVIII/1 Histamine and Anti-Histaminics. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag 1966.
- ROSSITER, R. J.: "Chemical pathology of the nervous system". Ed. J. Foch-Pi, 207—227, Oxford: Pergamon Press 1961.
- ROTHSCHILD, A. M.: I "Handbuch der experimentellen Pharmakologie". Ed. O. Eichler & A. Farah. Vol. XVIII/1 Histamine and Anti-Histaminics. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag 1966.
- ROWLEY, D. A.: Brit. J. Exp. Path. 44, 56—67 (1964).
— & E. P. BENDITT, J. Exp. Med. 103, 399—412 (1956).
- SELYE, H.: The mast cells. London: Butterworths 1965.
- SCHLAEPFER, W. W. & H. HAGER: Am. J. Path. 45, 209—219 (1964a).
— Amer. J. Path. 45, 423—433 (1964b).
— Amer. J. Path. 45, 679—689 (1964c).
- SCHNABEL, R. & G. SIR: Z. Zellforsch. 56, 1—19 (1962).
- SCHOEFL, GUTTA I.: Virchows Arch. path. Anat. 337, 97—141 (1963).
- SCHUBERT, M. & D. HAMMERMAN: J. Histochem. Cytochem. 4, 159—180 (1956).
- SHELDON, W. H. & H. BAUER: J. exp. Med. 112, 1069—1083 (1960).
- SMITH, P. E.: Int. Rev. Cytol. 14, 327—386 (1963).
- SPECTOR, W. G. & D. A. WILLOUGHBY: J. Path. Bact. 77, 1—17 (1959).
— Bact. Rev. 27, 117—154 (1963).
— Trans. N. Y. Acad. Sci. 116, 839—845 (1964).
— I "The inflammatory process". Ed. B. W. Zweifach, L. Grant & R. T. McCluskey, 427—448 New York & London: Academic Press 1965.
- SPICER, S. S.: Trans. N. Y. Acad. Sci. 103, 322—333 (1963).
- STEINWALL, O. & I. KLATZO: Acta Neurol. Scand. 41, suppl. 13, R 31/1—R 31/5 (1965).
- SUNDERLAND, S.: Arch. Neurol. Psychiat. (Chic.) 53, 91—115 (1945).
- TERRY, R. D. & J. C. HARKIN: Exp. Cell. Research 13, 193—197 (1957).
— I "Progress in Neurobiology IV. The biology of myelin". Ed. S. R. Korey. New York: Hoeber-Harper Book 303—320, 1959.

- THOMAS, P. K.: *J. Anat. (Lond.)* 97, 35—44 (1963).
 — *J. Anat. (Lond.)* 98, 175—182 (1964a).
 — *J. Cell Biol.* 23, 375—382 (1964b).
 — *J. Anat. (Lond.)* 100, 287—303 (1966).
 TORP, A.: *Med. exp. (Basel)*. 4, 180—182 (1961).
 TOWER, D. B.: I "Properties of membranes and diseases of the nervous system". 1—40. New York: Springer 1962.
 TSCHIRGI, R. D.: I "Handbook of Physiology". Ed. J. Field, H. W. Magoun & V. E. Hall. 1865—1890. Baltimore: Williams & Wilkins 1960.
 UVNÄS, B.: *Trans. N. Y. Acad. Sci.* 116, 880—890 (1964).
 VOGEL, W. C. & L. ZIEVE: *J. Lipid Res.* 5, 177—183 (1964).
 VUGMAN, I.: I "Handbuch der experimentellen Pharmakologie". Ed. O. Eichler & A. Farah. Vol. XVIII/1 Histamine and Anti-Histaminics. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag 1966.
 WAGGENER, J. D., S. M. BUNN & J. BEGGS: *J. Neuropath. exp. Neurol.* 24, 430—443 (1965).
 WAKSMANN, B. H.: *J. Neuropath. exp. Neurol.* 20, 35—77 (1961).
 — & R. D. ADAMS: *J. Neuropath. exp. Neurol.* 15, 293—334 (1956).
 WECHSLER, W. & H. HAGER: *Beitr. path. Anat.* 126, 352—380 (1962).
 WEISS, P.: *Anat. Rec.* 86, 491—522 (1943).
 — & H. DAVIS: *J. Neurophysiol.* 6, 269—286 (1943).
 WERLE, E.: I "Ciba Foundation Symposium on Histamine". 264—269 London: J. A. Churchill Ltd. 1956.
 — & A. SCHAUER: *Z. ges. exp. Med.* 127, 16—21 (1956).
 WEST, G. B.: I "Metabolism of the nervous system". *Proc. 2nd Int. Neurochem. Symp.* Ed. D. Richter. 578—581. London, New York, Paris, Los Angeles: Pergamon Press 1957.
 WESTERHOLM, B.: Frisättning av histamin och 5-hydroxytryptamin in vitro. En djurexperimentell studie. Stockholm: Ivar Haeggströms Tryckeri AB 1964.
 WILHELM, D. L.: *Pharmacol. Rev.* 14, 251—280 (1962).
 — I "The inflammatory process". Ed. B. W. Zweifach, L. Grant & R. T. McCluskey 389—425. New York & London: Academic Press 1965.
 WISLOCKI, G. B. & H. SINGER: *J. Comp. Neurol.* 92, 71—91 (1950).
 YOUNG, J. Z.: *Physiol. Rev.* 22, 318—374 (1942).
 WRIGHT, S.: *Applied Physiology*. 9 uppl. London, New York, Toronto: Oxford University Press 1955.



ORSTADIUS BOKTRYCKERI AKTIEBOLAG
GÖTEBORG 1966