

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XVI, 4

SECTIO D

1961

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

Kierownik: prof. dr med. Stanisław Grzycki

Jadwiga STAŚKIEWICZ

**Badania nad dimorfizmem płciowym leukocytów obojętnochłonnych
u dzieci i młodzieży**

**Исследования над половым диморфизмом нейтрофильных
лейкоцитов у детей и молодежи**

**Investigations on Sex Dimorphism of Neutrophile Leucocytes
in Children and Youth**

Na istnienie morfologicznych różnic płciowych w komórkach zwierząt zwrócili poraz pierwszy uwagę w r. 1949 Barr i Bertram. Obserwowali oni występowanie charakterystycznej grudki chromatynowej średnicy około 1μ w pobliżu jąderka komórki nerwowej mózgu samic kota. Tego rodzaju grudkę bardzo rzadko udawało się wykazać w komórkach nerwowych samców. Grudka ta określona najpierw (ze względu na umiejscowienie) satelitą jąderkowym (nucleolar satellite), została później nazwana przez Barra (1951) „chromatyną płciową” (sex chromatin), ponieważ zauważono, że występuje prawie wyłącznie w komórkach żeńskich i umiejscowiona jest z reguły przy błonie jądrowej.

Barr, Bertram i Lindsay (1950) zauważyli morfologiczne różnice płciowe w 12 różnych obszarach mózgu samic kota (w 56—87% komórek), u samców w 2,1—5,3% komórek, a następnie w jądrach innych komórek somatycznych kota (Graham i Barr, 1952).

W toku dalszych badań nad zróżnicowaniem płciowym komórek zwierząt i człowieka (Moore i Barr, 1953, 1954, Prince, Graham i Barr, 1955) potwierdzono obecność typowej dla osobników żeńskich płasko-wklęsłej grudki chromatynowej, przylegającej do błony jądra komórek nie tylko nerwowych, ale i innych.

Opierając się na wynikach badań, które wykazały, że chromatyna płciowa znacznie częściej (do 70% jąder) występuje w jądrach komórek skóry osobników żeńskich aniżeli męskich (do 5% jąder) Moore, Graham i Barr (1953), Barr (1954), Marberger i Nelson (1954) opracowali test biopieczny skóry (skin biopsy test) dla rozpoznawania płci genetycznej czyli chromosomowej u człowieka.

Metodę oznaczania płci genetycznej przy pomocy wykrywania grudek chro-

matyny płciowej w złuszczeniach nabłonekch błony śluzowej jamy ustnej zastosowali Moore i Barr (1955), Dixon i Torr (1956), Marberger, Bocabella i Nelson (1955), Carpentier, Stolte i Visscher (1955) w rozmazach pochwoowych, Eskelund (1956) w nabłonekach osadu moczu, a Makowski, Prem i Kaiser (1956), Shettles (1956), Sach, Serr i Danon (1956), Fuchs i Riis (1956) w nabłonekach z płynu owodni.

Wyżej podane metody wykrywania tzw. chromatyny płciowej zastosowano dla rozpoznawania płci: w zaburzeniach psychoseksualnych (Barr i Hobbs, 1954), w dysgenezjach gonad (Ehregut, 1955, Kosenow i Schönenberg 1956, Wilkins, Grumbach i van Wyk 1955, Polani, Hunter i Lennox 1956), dla określania płci komórek nowotworowych (Moore 1955, Moore i Barr 1955), dla dokładniejszego poznania patogenyzy nowotworów szczególnie potworniaków (teratoma) (Tavares 1955, Cruickshank 1955, Hunter i Lennox 1954), oraz w medycynie sądowej (Dixon i Torr 1956, Byrdy i Dzierżkraj-Rogalska 1958 i 1960). Metody te umożliwiają również ustalenie płci u płodów poronionych (Glenister 1956, Peiper i Oehme 1956).

W r. 1954 Davidson i Smith, opierając się na spostrzeżeniach Barra i współpracowników, opisali poraz pierwszy morfologiczne różnice płciowe w leukocytach obojętnochłonnych krwi człowieka. W rozmazach krwi kobiet wśród 227 przeliczonych leukocytów obojętnochłonnych znajdowali oni średnio 6 komórek zawierających charakterystyczny wyrostek jądrowy kształtu balonika na nitce, który nazwali „drumstick”. W rozmazach krwi mężczyzn natomiast nawet po przeliczeniu 500 komórek nie obserwowali podobnych wyrostków. Davidson i Smith opisali również wyrostki jądrowe posiadające inny kształt lub wielkość, a mianowicie: 1) „sessile nodules”, które mają kształt kropli, o średnicy od 1 do 1,5 μ , i częściej występują w leukocytach obojętnochłonnych krwi kobiet, 2) „small clubs”, małe maczugi o kształcie podobnym do typowych wyrostków „drumstick”, osiagające jednak średnicę do 1 μ i występujące w leukocytach obojętnochłonnych obu płci, 3) „tags”, wyrostki o kształcie pałeczek, haczyków lub nitki, występujące po kilka w jednym leukocycie obojętnochłonnym, częściej stwierdzane w komórkach mężczyzn, 4) „rackets”, charakterystyczne tylko dla leukocytów mężczyzn wyrostki rakietowe o kształcie i wielkości typowych wyrostków typu „drumstick”, ale mające przejaśnienie w środku główki; zdarzające się czasem małe płaciki („minor lobes”) połączone dwiema nitkami z płaciami jądra, odznaczające się nieregularnym kształtem, dla badającego mają o tyle znaczenie, że mogą być błędnie zaliczone jako typowe wyrostki jądrowe typu „drumstick”.

Obserwacje Davidsona i Smitha zostały potwierdzone przez szereg badaczy (Sun i Rakoff (1956), Briggs i Kuperman (1956), Wiedemann, Tolksdorf i Romatowski (1956), Kosenow i Scupin (1956), Harnack i Strietzel (1956), a także przez badaczy polskich (Czerny (1956, 1960), Dux i Dąbrowska (1957), Dzierżkraj-Rogalska (1958), Hanicki i Hanicka (1957) oraz Jonek (1958). Kosenow i Scupin (1956) wprowadzili podział wyrostków jądrowych na 4 grupy: uwzględniając typ A (drumstick), typ B (sessile nodules), typ C (small clubs i tags), oraz typ D (rackets). Przy ocenie rozmazów krwi zalecają oni uwzględnić sumę leukocytów obojętnochłonnych, w których zostały stwierdzone wyrostki typu A i typu B. W przypadkach wątpliwych Kosenow i Scupin posługują się współczynnikiem $Q = \frac{A+B}{C}$. Jeżeli współczynnik ten jest większy od 0,4 preparat należy ocenić jako żeński, jeżeli jest mniejszy od 0,4 — jako męski. Z badań tych autorów wynika, że liczba stwier-

dzonych wyrostków typu B, jak również typu C, może mieć również znaczenie przy ocenie wyniku testu.

W r. 1959 Caliezi posługując się metodą statystyczną przeanalizował znaczenie poszczególnych typów wyrostków jądrowych i wykazał, że typowymi wyrostkami żeńskimi są: 1) „drumstick”, 2) wyrostek podobny do poprzedniego ale nie posiadający nitki, lecz przylegający bezpośrednio do płata jądra (Caliezi nazywa ten wyrostek także „drumstick”) i 3) wyrostek, wielkości od 1 do 1,5 μ , kształtu kropki, umieszczony bezpośrednio na płacie jądra, lecz oddzielony od tego ostatniego małym przewężeniem „Club”. Wg Caliezi dla rozpoznania płci żeńskiej wystarcza stwierdzenie w rozmazie krwi 3 typowych żeńskich wyrostków na 500 leukocytów obojętnochłonnych, zaś dla rozpoznania płci męskiej wystarcza jeśli na 300 leukocytów obojętnochłonnych nie stwierdzi się typowych wyrostków żeńskich. Autor w odróżnieniu od Davidsona i Smitha przyjmuje wyrostki „Rackets” również za wyrostki typowo żeńskie.

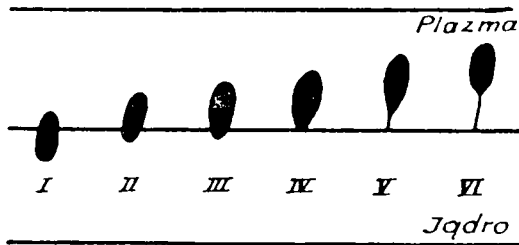
Istnieją duże różnice w zapatrywaniach co do istoty wyrostków jądrowych. Podobnie jak Barr i Bertram (1949), którzy przyjęli, że grudki chromatyny płciowej jądra powstają w wyniku zespolenia obu chromosomów X- również Davidson i Smith (1954) wyrazili pogląd, że: „it is tempting to think that the chromatin aggregation in the solitary drumstick represents the XX-chromosome combination” (cyt. wg pracy p.t. „A morphological sex differences in the polymorphonuclear neutrophil leucocytes” Brit. Med. J. 1954, s. 7) Również Carpentier i wsp. (1957) stosując zmodyfikowaną metodę Papanicolaou stwierdzili w leukocytach królika „splitting-up-phenomenon” na podstawie czego wypowiedzieli się za identycznością wyrostka jądrowego typu „drumstick” z kompleksem chromosomów XX. Za identycznością wyrostków jądrowych i chromatyny płciowej mogłyby przemawiać także poglądy Kosenowa i Scupina (1956) oraz Müllera (1959), którzy uważają, że „sessile nodules” są formami przejściowymi w wykształcaniu się wyrostków jądrowych. Dihlmann (1958) na podstawie obserwacji krwi obwodowej i rozmazów szpiku dodał jeszcze jedno ogniwo do postaci rozwojowych wyrostków jądrowych, a mianowicie wyrostek posiadający kształt boi, wylaniający się z chromatyny jądra. Kolejne stadia wykształcania się wyrostka jądrowego przedstawia schemat podany przez Dihlmanna w pracy pt. „Zur Entwicklung der Trommelschlegelkörperchen an den Granulocytenkernen” Ärztl. Wschr. 13, s. 729, 1958, (ryc. 1).

Przyjmując istnienie tych kolejnych stadiów rozwojowych możnaby sądzić, że wyrostek jądrowy typu „drumstick” wynurza się ze zgrubień chromatyny tworzącej zrąb jądrowy.

Badania nad identycznością wyrostków jądrowych i chromatyny płciowej były prowadzone także wg metod histochemicznych. Z metod tych stosowano przede wszystkim barwienie odczynnikiem Schiffa wg przepisu Feulgena-Rossenbecka, który nadaje się do wykrycia obecności kwasu dezoksyrybonukleinowego. W wyniku tych badań Sun i Rakoff (1956) przekonali się, że „small clubs” nie barwią się, a „sessile nodules” i „drumstick”, barwiąc się na kolor czerwono-fioletowy, dają dodatni odczyn na kwas dezoksyrybonukleinowy. Schaumkell i współpracownicy (1957) wykazali także w wyrostkach jądrowych typu „drumstick” leukocytów obojętnochłonnych u ludzi obecność kwasu dezoksyrybonukleinowego, a Gothe i Hinrichsen (1959) stwierdzili, że wśród 81 wyrostków jądrowych leukocytów obojętnochłonnych u ludzi 69 zawierało heterochromatynę.

Felsch (1959) przebadał 20 rozmazów krwi (10 kobiet i 10 mężczyzn) zabarwionych wg zmodyfikowanej metody Feulgena w celu wykazania obecności hete-

rochromatyny w jądrach granulocytów, monocytów i limfocytów. Autor ten nie stwierdził żadnych różnic w ilości, wielkości i kształcie ziarenek heterochromatyny położonych wewnątrz jądra komórek żeńskich i męskich. Wykazał on natomiast obecność heterochromatyny w 73,3% wyrostków jądrowych typu „drumstick” i w 90,9% w wyrostkach typu „sessile nodules”. Ponieważ wielkość stwierdzonych ziarenek heterochromatyny odpowiadała wielkości ziarenek chromatyny płciowej, Felsch wypowiada przypuszczenie, że „drumstick” może być identyczny z chromatyną płciową Barra.



Ryc. 1. Dojrzwianie wyrostka jądrowego typu „drumstick” (schemat wg Dihlman na): I — wyrostek o kształcie boi, II, III — wyrostek typu „sessile nodules”, IV — wyrostek typu beznitkowego „drumstick” siedzącego na płacie, V — dojrzewający „drumstick”, VI — dojrzały „drumstick”

Maturation of a nucleus excrescence of the „drumstick” type (scheme according to Dihlmann): I — excrescence in the form of buoy; II, III — excrescences of „sessile nodule” type; IV — excrescence of „drumstick” type without thread, attached to the lobe; V — maturing „drumstick”, VI — mature „drumstick”

Niezgodne z przedstawionymi wyżej badaniami są wyniki prac Ashleya (1957), który przy użyciu tych samych metod barwienia w prawie wszystkich stadiach rozwojowych elementów morfotycznych krwi i szpiku, posiadających jądra, wykazał występowanie grudki heterochromatyny umiejscowionej przy błonie jądrowej, rzadziej w komórkach męskich, częściej w żeńskich, którą utożsamia z chromatyną płciową Barra. Grudek tych nie udało mu się wykazać jednak w wyrostkach jądrowych (drumstick), które wg Ashleya uważać należy za charakterystyczną cechę płciową innego rzędu niż chromatyna płciowa. Również Barr (1959) nie sądzi, aby wyrostek jądrowy był identyczny z chromatyną płciową: „The relation of the accessory nuclear lobule to the sex chromatin is not known” (cyt. wg pracy pt. Sex chromatin and Phenotype in Man, Science, 130, s. 679, 1959).

Rozbieżne wyniki, uzyskane po stosowaniu testu nabłonkowego i leukocytnego oraz opisane niezgodności pomiędzy wynikami wspomnianych testów a oznaczaniem płci chromosomowej metodą cytologiczną analizy chromosomów — nakazują ostrożność w ocenie przydatności obu testów. Prócz tego istnieją trudności w interpretowaniu wyniku testu leukocytnego w przypadku stwierdzenia w rozmazie krwi mniej niż 5 i więcej niż 1 wyrostków jądrowych typu „drumstick”. W pewnym procencie przypadków testy mogą dać wynik niepewny lub nawet błędny, jak na to wskazują wyniki badań Duxa i Dąbrowskiej (1957), Ashleya i Jonesa (1958) oraz Kosenowa (1958).

Niewiele istnieje badań dotyczących zachowania się liczby wyrostków typu „drumstick” w różnych stanach fizjologicznych i patologicznych organizmu.

Briggs (1958) nie stwierdził korelacji między stopniem segmentacji leukocytów obojętnochłonnych a liczbą wyrostków jądrowych typu „drumstick” zaobserwowaną przez Davidsona i Smitha (1954). Lürs i Petzel (1958) potwierdzili obserwacje Davidsona i Smitha (1954) o niewystępowaniu wyrostków jądrowych typu „drumstick” w leukocytach osobników żeńskich z anomalią Pelger-Hueta. Podczas gdy Davidson i Smith uważali, że wiek nie wpływa na ilość wyrostków typu „drumstick”, Harnack i Strietzel (1956) obserwowali u wcześniaków i noworodków przeciętnie większą ilość tych wyrostków, aniżeli u osobników w innych grupach wieku. Czerny (1959) wykazała wahania liczby wyrostków jądrowych typu „drumstick” w różnych okresach cyklu menstruacyjnego, a Jonek (1958) na podstawie badań przeprowadzonych u kobiet ciężarnych uważa, że liczba wyrostków jądrowych typu „drumstick” w czasie ciąży nie ulega zmianom i prawdopodobnie nie podlega wpływom hormonalnym. Caratzali i Phelps (1958) stwierdzili u kobiet ciężarnych w pierwszej połowie ciąży wzrost liczby wyrostków jądrowych typu „drumstick” i wykazali u kobiet wzrost liczby wyrostków jądrowych „drumstick” pod wpływem dożylnego podania ACTH lub insuliny. Wiereschczagin (1959) stwierdził u kobiet w pierwszym okresie porodu zwiększenie się liczby wyrostków jądrowych typu B wg Kosenowa, jeżeli płód był płci żeńskiej oraz zmniejszenie się liczby wyrostków typu B u rodzącej, jeżeli płód był płci męskiej.

Briggs (1958) na podstawie badań przeprowadzonych u 100 kobiet w wieku od 18 do 30 lat, zauważył, że liczba wyrostków jądrowych typu „drumstick” u poszczególnych osobników w okresie 6 miesięcy była stała. Osobniczą stałość liczby wyrostków typu „drumstick” potwierdził Briggs badaniami prowadzonymi co miesiąc przez okres jednego roku u kilku swoich współpracowniczek.

Celem naszych badań wykonanych na rozmazach krwi, szpiku oraz komórek nabłonka jamy ustnej osobników obu płci w różnym wieku było ustalenie klasyfikacji wyrostków jądrowych, występujących w leukocytach wielojądrzastych obojętnochłonnych (A), ustalenie zależności pomiędzy liczbą wyrostków a wiekiem badanych (B) oraz przeprowadzenie analizy statystycznej otrzymanych wyników (C). W dalszym ciągu wykonano porównanie wyników testu leukocyтарnego krwi obwodowej, szpiku (D) i testu nabłonkowego oraz sprawdzono przydatność testu leukocyтарnego u osobników z zaburzeniami rozwojowymi narządu płciowego (E). Zastosowano również badania histochemiczne w celu stwierdzenia czy w wyrostkach jądrowych typu „drumstick” i „sessile nodules” występują ziarnistości Feulgen-dodatnie (F).

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Wykonano dwie serie badań. Seria I. Badania przeprowadzone u 120 osobników obu płci (60 płci żeńskiej i 60 płci męskiej) w wieku od 1 roku do 14 lat traktowano jako wstępne, mające na celu nabycie wprawy potrzebnej do prawidłowej oceny testu leukocyтарnego oraz w celu ustalenia klasyfikacji wyrostków jądrowych leukocytów obojętnochłonnych. Seria II. Badania przeprowadzono u 243 osobników w wieku od 1 dnia do 21 lat (123 osobników płci żeńskiej i 120 osobników płci męskiej), których podzielono na VI grup. W grupie I zebrano osobniki w wieku od 1 do 15 dni, w grupie II — w wieku od 30 dni

do 1 roku, w grupie III — od 1 roku do 3 lat, w grupie IV — od 4 do 7 lat, w grupie V — od 8 do 14 lat i w grupie VI — od 15 do 21 lat. Przed badaniem płeć osobników nie była znana.

Badania porównawcze krwi i szpiku przeprowadzono u 14 dzieci, badania porównawcze przy użyciu testu nabłonkowego i leukocytnego — u 12 osobników z zaburzeniami rozwojowymi narządu płciowego, a badania histochemiczne wg metody Feulgena u 20 osobników.

a) Test leukocytny Davidsona i Smitha.

W rozmazie krwi obwodowej i szpiku, przygotowanych i barwionych wg ogólnie przyjętych zasad metody May-Grünwald-Giemzy, liczono 500 leukocytów obojętnochłonnych, odnotowując liczbę komórek zawierających wyrostki jąderowe.

b) Test nabłonkowy wg Moore i Barra w modyfikacji Lupatkina i Pradera (1956).

Barwienie: Złuszczone nabłonki z błony śluzowej wewnętrznej powierzchni policzka rozmazywano na szkiełku podstawowym, pokrytym warstwą białka. Preparat natychmiast po sporządzeniu utrwalano w mieszaninie równych części alkoholu 95% i eteru (przez 2 godz.), następnie przeprowadzano przez alkohol 70% (2 min.), alkohol 50% (2 min.) i 2 razy przez wodę destylowaną (po 2 min.). Barwiono 1% wodnym roztw. fioletu krezylu (5 min.), przemywano wodą wodociagową przez 8 min. i zamykano w Gelatinolu II.

Ocena: oglądać przy użyciu obj. immersyjnego 50 jąder nieuszkodzonych i dobrze zabarwionych. Pewną trudność może sprawiać obecność bakterii w preparacie; rozpoznajemy je poruszając śrubą mikrometryczną. W rozmazach żeńskich stwierdza się chromatynę płciową przec. w 26,8% (16—64%) jąder, w rozmazach męskich przec. w 0,15% (0—4%) jąder.

c) W badaniach histochemicznych posługiwano się odczynnikiem Schiffa wg metody Feulgena-Rossenbecka. Metoda ta polega na przeprowadzeniu hydrolizy w normalnym roztworze kwasu solnego w temperaturze 60°C, i na barwieniu odczynnikiem Schiffa wg przepisu techniki histologicznej. Metoda Feulgena-Rossenbecka jest specyficzną dla wykrywania obecności kwasu dezoksyrybonukleinowego. Kilka preparatów barwiono również metodą podaną przez Ludwigę (1959).

d) Analiza statystyczna.

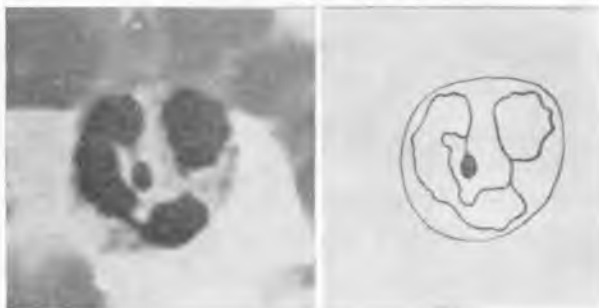
Ustalono: średnią arytmetyczną (\bar{x}), standardowe odchylenie (s), wskaźniki dyspersji (x^2) oraz wykonano testy topologiczny i von Neumanna.

BADANIA WŁASNE

A. Klasyfikacja wyrostków jądrowych

W zależności od kształtu i wielkości wyrostków jądrowych wyróżniono następujące typy: **F₁**, **F₂**, **F₃**, **F₄**, **MF₁**, **MF₂**, **M** i **R**. Przy wyborze symboli dla oznaczania wyrostków jądrowych kierowano się następującą zasadą: dla wyrostków charakterystycznych dla leukocytów żeńskich zastosowano symbole **F₁**, **F₂**, **F₃**, **F₄**, dla wyrostków występujących u obu płci, ale częściej w leukocytach męskich, symbole **MF₁**, **MF₂**, dla wyrostków jądrowych występujących znacznie częściej w leukocytach męskich symbol **M**. Dla wyrostków jądrowych, występujących bardzo rzadko u obu płci i mających kształt rakiety tenisowej — symbol **R**.

Do typu F_1 zaliczono wyrostki o kształcie balonika na nitce, średnicy 1—1,5 μ , odpowiadające wyglądem swoim opisanemu przez Davidsona i Smitha wyrostkowi jądrowemu typu „drumstick” (ryc. 2).



Ryc. 2. Wyrostek jądrowy, typu F_1
Nucleus excrecence, type F_1

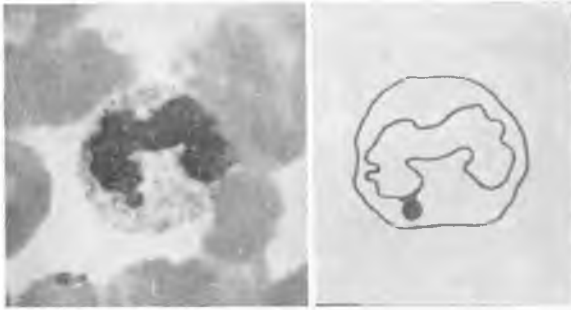
Typ F_2 tworzyły wyrostki bez nitki łączącej, bezpośrednio stykające się z płatem jądra, o kształcie owalnym lub kulistym, średnicy 1—1,5 μ . Wyrostki te zalicza Kosenow do typu B, a Caliezi do grupy typowych wyrostków jądrowych typu „drumstick” (ryc. 3).



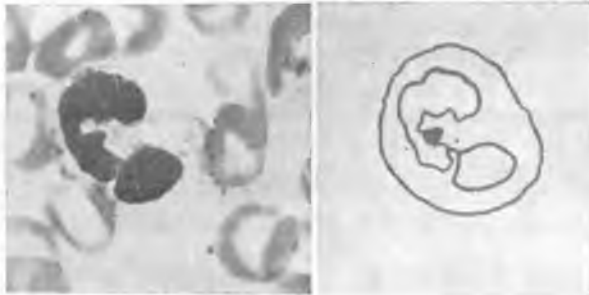
Ryc. 3. Wyrostek jądrowy, typu F_2
Nucleus excrecence, type F_2

Typ F_3 stanowiły wyrostki o kształcie kulistym lub owalnym średnicy 1—1,5 μ posiadające w miejscu zetknięcia się z płatem jądra przewężenie. Davidson i Smith zaliczają je do grupy „sessile nodules”. Kosenow i Šcupin do grupy B, zaś Caliezi nadaje im nazwę „club” (ryc. 4).

Typ F_4 obejmował wyrostki o kształcie kolbowatym, średnicy 1—1,5 μ , które tylko częściowo odpowiadały wyrostkom „sessile nodules” Davidsona i Smitha, przez Caliezi nazywane „sessile nodules” (ryc. 5)

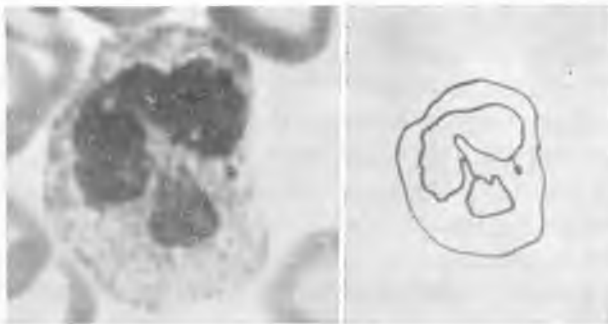


Ryc. 4 Wyrostek jądrowy, typu F_3
Nucleus excrescence, type F_3



Ryc. 5. Wyrostek jądrowy, typu F_4
Nucleus excrescence, type F_4

Typ MF_1 podobny do wyrostków F_1 , posiada jednak mniejsze wymiary, od bardzo małych do 1μ , nazwany przez Davidsona i Smitha „small club”, przez Kosenowa i Scupina zaliczany do grupy C, a przez Caliezi określony nazwą „pseudodrumstick”. (ryc. 6).



Ryc. 6. Wyrostek jądrowy, typu MF_1
Nucleus excrescence, type MF_1

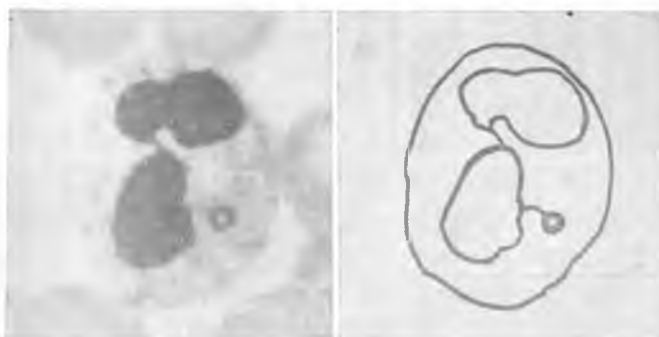
Typ MF_2 tworzyły wyrostki kształtu małej kropli ułożonej bezpośrednio na płacie jądra, bardzo małe lub średnicy do 1μ , nazywane przez Sun i Rakoffa „small sessile body” (ryc. 7).



Ryc. 7. Wyrostek jądrowy, typu MF_2
Nucleus excrecence, type MF_2



Ryc. 8. Wyrostek jądrowy, typu M
Nucleus excrecence, type M



Ryc. 9. Wyrostek jądrowy, typu R
Nucleus excrecence, type R

Do typu **M** zaliczono wyrostki posiadające kształt cienkiej pałeczki, nitki lub haczyka, oznaczane przez Davidsona i Smitha nazwą „tags”, włączone przez Kosenowa i Scupina do grupy C, i przez Caliezi nazywane „tags”. (ryc. 8).

Typem **R** określono wyrostki, kształtem i wielkością przypominające wyrostki **F₁**, ale mające wygląd pustych pęcherzyków, w których tylko osłonka zewnętrzna dawała dodatni odczyn barwny; Kosenow i Scupin zaliczają je do grupy D. (ryc. 9).

B. Ustalenie liczby poszczególnych typów wyrostków jądrowych w leukocytach obojętnochłonnych krwi w zależności od wieku i płci.

Uzyskane wyniki badań zestawiono w sześciu tabelach obejmujących I, II, III, IV, V i VI grupę osobników poddanych obserwacji. Wyrostki

Tab. 1. Grupa wieku od 0 do 15 dni — wyniki liczbowe dla poszczególnych typów wyrostków jądrowych u obu płci
Age group from 0 to 15 days — results concerning the number of separate types of excrescences in both sexes

♀							♂						
Lp.	neu- trof.	F ₁	F _{2,3,4}	MF _{1,2}	M	R	Lp.	neu- trof.	F ₁	F _{2,3,4}	MF _{1,2}	M	R
1	500	15	12	7	10	0	1	500	0	0	10	28	0
2	500	18	17	12	4	0	2	500	0	1	16	20	0
3	500	15	20	15	4	0	3	500	0	0	27	38	0
4	500	21	25	16	3	0	4	500	0	0	17	23	0
5	500	5	22	2	0	0	5	500	0	2	23	27	0
6	500	15	28	12	2	0	6	500	0	0	13	16	0
7	500	6	32	21	5	0	7	500	0	0	14	18	0
8	500	7	18	17	8	0	8	500	0	0	19	21	0
9	500	6	20	14	7	0	9	500	0	1	27	32	0
10	500	5	15	3	9	0	10	500	0	2	20	24	0
11	500	14	28	16	10	0	11	500	0	1	10	16	0
12	500	10	23	20	11	0	12	500	0	1	20	29	1
13	500	11	35	20	9	0	13	500	0	0	11	14	0
14	500	10	17	7	2	0	14	500	0	2	18	23	0
15	500	12	19	11	7	0	15	500	0	2	16	26	0
16	500	19	23	3	5	0	16	500	0	2	15	24	0
17	500	10	15	11	3	0	17	500	0	3	11	13	0
18	500	11	25	16	10	0	18	500	0	0	18	22	0
19	500	14	15	7	14	0	19	500	0	2	10	16	0
20	500	37	47	32	10	0	20	500	0	2	18	26	0

jądrowe leukocytów obojętnochłonnych sklasyfikowano wg typów F_1 , F_2 , F_3 , F_4 , MF_1 , MF_2 , M i R (ryc. 2—9 i tabele 1—6, 10).

W tab. 1—6 nie umieszczono wyników testu leukocytnego 3 osobników, ponieważ wyniki (w myśl kryteriów Davidsona i Smitha) były niezgodne z fenotypem. Wyniki testu podaje tab. 10. Tego rodzaju wyniki uznaliśmy za wątpliwe.

Tab. 2. Grupa wieku od 30 dni do 1 roku — wyniki liczbowe dla poszczególnych typów wyrostków jądrowych u obu płci
Age group from 30 days to 1 year

♀							♂						
Lp.	neu- trof.	F_1	$F_{2,3,4}$	$MF_{1,2}$	M	R	Lp.	neu- trof.	F_1	$F_{2,3,4}$	$MF_{1,2}$	M	R
1	500	11	12	18	3	0	1	500	0	1	16	31	0
2	500	6	12	7	5	0	2	500	0	2	10	25	0
3	500	10	24	20	3	0	3	500	0	1	35	27	0
4	500	12	15	6	3	0	4	500	0	2	37	12	0
5	500	18	14	7	8	0	5	500	0	0	13	25	0
6	500	16	22	12	7	0	6	500	0	1	10	27	0
7	500	14	7	20	1	0	7	500	0	0	19	15	0
8	500	12	11	5	37	0	8	500	0	0	35	35	0
9	500	9	14	20	9	0	9	500	0	2	3	10	1
10	500	9	13	15	11	0	10	500	0	2	19	30	0
11	500	16	15	16	7	0	11	500	0	0	10	25	0
12	500	13	17	20	8	0	12	500	0	3	20	37	0
13	500	11	12	20	7	0	13	500	0	1	11	17	0
14	500	19	13	7	0	0	14	500	0	1	18	16	0
15	500	11	12	11	7	0	15	500	1	0	16	30	0
16	500	18	24	3	12	0	16	500	0	2	15	7	0
17	500	16	23	11	9	0	17	500	0	2	11	30	0
18	500	7	14	16	0	0	18	500	0	0	18	10	0
19	500	12	18	16	7	0	19	500	0	2	10	17	0
20	500	9	16	32	9	0	20	500	0	0	18	12	0

W celu stwierdzenia czy liczba wyrostków jądrowych typu „drumstick” jest wartością stałą u danego osobnika, czy też ulega zmianom — u 5 osobników żeńskich (wieku od 2 mies. do 13 lat) prowadzono badania co 2 tygodnie przez okres jednego roku. Stwierdzono, że u każdego z badanych liczba wyrostków jądrowych typu „drumstick” była w ciągu tego okresu stała.

C. Analiza statystyczna.

Wyniki otrzymane po przeprowadzeniu testu *Davidsona i Smitha* u 240 osobników (120 męskich i 120 żeńskich) poddano analizie statystycznej, obliczając: średnią arytmetyczną (\bar{x}), standardowe odchylenie (s) oraz wskaźniki dyspersji (X^2) jak również posługując się testami topologicznym i *von Neumanna*.

Tab. 3. Grupa wieku od 2 roku do 3 lat — wyniki liczbowe dla poszczególnych typów wyrostków jądrowych u obu płci
Age group from 2 to 3 years

♀							♂						
Lp.	neu- trof.	F ₁	F _{2,3,4}	MF _{1,2}	M	R	Lp.	neu- trof.	F ₁	F _{2,3,4}	MF _{1,2}	M	R
1	500	12	11	18	5	0	1	500	0	0	16	21	0
2	500	7	10	7	9	0	2	500	0	1	10	6	0
3	500	16	9	20	0	0	3	500	0	3	35	19	0
4	500	9	11	6	5	0	4	500	0	0	37	17	0
5	500	8	11	7	6	0	5	500	0	1	13	20	0
6	500	13	18	12	17	0	6	500	0	2	10	32	0
7	500	20	5	20	8	0	7	500	0	2	19	14	0
8	500	9	12	5	0	0	8	500	0	3	35	26	0
9	500	21	23	20	4	0	9	500	0	0	3	17	0
10	500	11	17	15	0	0	10	500	0	1	19	12	0
11	500	17	7	18	8	0	11	500	0	1	10	13	0
12	500	20	9	10	6	2	12	500	0	0	7	13	0
13	500	16	19	20	7	0	13	500	0	0	9	12	0
14	500	8	12	10	7	0	14	500	0	2	25	37	0
15	500	22	23	11	0	0	15	500	0	1	10	44	0
16	500	7	12	11	11	0	16	500	0	2	19	17	0
17	500	16	11	16	11	0	17	500	0	2	29	30	0
18	500	6	11	7	6	0	18	500	0	0	21	14	0
19	500	9	21	12	6	0	19	500	0	0	22	10	0
20	500	20	12	17	9	0	20	500	0	1	20	24	0

1. Różnice pomiędzy osobnikami męskimi a żeńskimi stwierdzono dla cech F_1 , F_2 , F_3 i F_4 i M , nie stwierdzono natomiast dla cechy MF_1 , MF_2 (niezależnie od klasy wieku — (patrz tab. 7).

2. Wszystkie cechy wykazują duże (nielosowo) wskaźniki dyspersji rzędu tego samego, jak w pracy *Dzierżykraj-Rogalskiej* (28). Obserwujemy tu różną zmienność cech F_2 , F_3 , F_4 , u osobników żeńskich i męskich. U osobników żeńskich zmienność F_2 , F_3 , F_4 jest nielosowo

zbyt duża, zaś u osobników męskich pozostaje w granicach losowości. Może to być związane z trudnościami identyfikacji cechy F_2 , F_3 , F_4 (np. u osobników żeńskich rozgraniczenie jest mniej ostre, a formy są bogatsze w postaci morfologicznej). Nie obserwujemy różnicowania zmienności związanej z wiekiem (patrz tab. 8).

Tab. 4. Grupa wieku od 4 lat do 7 lat — wyniki liczbowe dla poszczególnych typów wyrostków jądrowych u obu płci
Age group from 4 to 7 years

♀							♂						
Lp.	neu- trof.	F_1	$F_{2,3,4}$	$MF_{1,2}$	M	R	Lp.	neu- trof.	F_1	$F_{2,3,4}$	$MF_{1,2}$	M	R
1	500	9	10	18	9	0	1	500	0	0	9	12	1
2	500	9	4	22	7	0	2	500	0	1	8	13	1
3	500	14	9	20	6	0	3	500	0	2	25	30	0
4	500	14	9	17	14	0	4	500	0	2	10	13	0
5	500	6	11	11	2	0	5	500	0	0	9	12	0
6	500	6	20	10	12	0	6	500	0	0	11	15	0
7	500	9	11	20	0	0	7	500	0	1	14	17	0
8	500	7	9	11	9	0	8	500	0	3	35	42	0
9	500	22	23	8	4	0	9	500	0	0	7	11	0
10	500	9	10	12	2	0	10	500	0	2	20	35	0
11	500	9	17	7	3	0	11	500	0	2	15	24	0
12	500	11	27	6	7	1	12	500	0	3	19	23	0
13	500	10	30	9	0	0	13	500	0	2	16	26	0
14	500	6	17	17	4	0	14	500	0	0	13	16	0
15	500	9	14	11	2	0	15	500	0	1	17	23	0
16	500	22	27	8	16	0	16	500	0	0	10	16	0
17	500	12	10	11	5	0	17	500	0	3	23	27	0
18	500	18	7	17	11	0	18	500	0	0	0	3	0
19	500	16	11	30	8	0	19	500	0	0	3	7	0
20	500	7	9	11	4	0	20	500	0	1	20	36	0

3. Następnym zagadnieniem będzie czy istnieje zależność częstości występowania wyrostków poszczególnych typów od wieku. Test X^2 daje nam na to pytanie odpowiedź pozytywną dla wyrostków F_1 , F_2 , F_3 , F_4 i M u osobników żeńskich i dla MF_1 u osobników męskich.

Dla stwierdzenia jaki charakter ma ta zależność, tj. czy z wiekiem rośnie lub maleje, czy też charakter tej zależności jest bardziej skomplikowany, przeprowadzony został test von Neumanna oparty na różnicach kolejnych. Test ten w przypadku zależności przedstawiającej jednolitą

tendencję winien dać wynik niełosowo za mały. W naszym przypadku istotną wartość dał test ten tylko dla cechy F_2 , F_3 , F_4 u osobników męskich (empiryczny iloraz $\frac{\delta^2}{S^2} = 0,89$ krytyczna wartość wg tablic H a r t a z ryzykiem błędu 5% jest 1,068). Zależność obserwowana jest tego typu, że po początkowym wzroście już od wieku lat 7 obserwujemy spadek (patrz tab. 9).

Tab. 5. Grupa wieku od 8 do 14 lat — wyniki liczbowe dla poszczególnych typów wyrostków jądrowych u obu płci
Age group from 8 to 14 years

♀							♂						
Lp.	neu- trof.	F_1	$F_{2,3,4}$	$MF_{1,2}$	M	R	Lp.	neu- trof.	F_1	$F_{2,3,4}$	$MF_{1,2}$	M	R
1	500	5	7	9	6	0	1	500	0	0	13	26	0
2	500	11	0	8	7	0	2	500	0	2	11	22	0
3	500	6	9	7	9	0	3	500	0	0	15	17	0
4	500	12	9	23	11	0	4	500	0	3	16	18	0
5	500	12	16	11	7	0	5	500	0	0	19	22	0
6	500	10	9	18	9	0	6	500	0	0	25	32	0
7	500	8	12	0	7	0	7	500	0	0	16	9	0
8	500	7	15	20	5	0	8	500	0	0	22	33	0
9	500	11	21	10	7	0	9	500	0	0	21	28	0
10	500	5	12	18	5	0	10	500	1	0	24	32	0
11	500	7	14	16	7	0	11	500	0	2	20	31	0
12	500	6	9	21	10	0	12	500	0	1	9	0	0
13	500	6	14	19	6	1	13	500	0	1	25	26	0
14	500	9	11	11	9	0	14	500	0	2	14	23	0
15	500	19	23	20	12	0	15	500	0	2	22	9	0
16	500	9	6	21	7	0	16	500	0	2	27	32	0
17	500	23	21	17	14	0	17	500	0	1	20	2	0
18	500	7	9	12	3	0	18	500	0	2	25	38	0
19	500	16	18	11	12	0	19	500	0	0	10	13	0
20	500	23	11	11	3	0	20	500	0	1	3	19	0

Dla innych typów wyrostków nie możemy stwierdzić jednolitej tendencji zarówno u osobników żeńskich, jak i męskich. Jeśli podzielimy cały materiał na dwie klasy: mniejszą do 3 lat i powyżej 3 lat, to X^2 dla tablicy czteropolowej da nam wynik istotny dla cechy F_1 u osobników żeńskich ($X^2 = 7,97$ z jednym stopniem swobody) i dla cechy F_2 , F_3 , F_4 u osobników żeńskich ($X^2 = 12,19$ z jednym stopniem swobody) zaś w pozostałych przypadkach otrzymaliśmy wyniki nieistotne ($X^2 < 2$).

D. Analiza testu leukocytnarnego krwi obwodowej i szpiku.

Zachowanie się testu leukocytnarnego w szpiku i krwi obwodowej przebadano u 7 dziewczynki i 7 chłopców. Celem tych badań było zorientowanie się w możliwości ustalania płci w rozmazach szpiku. Dla kontroli wyników obu testów określano płeć tych samych osobników przy pomocy testu nabłonkowego. Wyniki tych badań zebrano w tab. 11.

Tab. 6. Grupa wieku od 15 do 21 lat — wyniki liczbowe dla poszczególnych typów wyrostków jądrowych u obu płci
Age group from 15 to 21 years

♀							♂						
Lp.	neu- trof.	F ₁	F _{2,3,4}	MR _{1,2}	M	R	Lp.	neu- trof.	F ₁	F _{2,3,4}	MR _{1,2}	M	R
1	500	21	12	18	9	0	1	500	0	0	16	26	0
2	500	12	25	7	0	0	2	500	0	0	10	28	0
3	500	6	33	20	11	0	3	500	0	2	35	34	0
4	500	27	13	6	13	0	4	500	0	0	37	16	0
5	500	6	19	7	5	1	5	500	0	1	13	22	0
6	500	5	18	12	6	0	6	500	0	1	10	17	0
7	500	12	11	20	7	0	7	500	0	0	19	18	0
8	500	11	15	5	4	0	8	500	0	0	35	23	0
9	500	19	12	20	6	0	9	500	0	1	3	26	0
10	500	13	17	15	0	0	10	500	0	2	19	28	0
11	500	7	13	16	10	0	11	500	0	3	20	27	0
12	500	18	16	21	9	0	12	500	0	0	9	19	0
13	500	7	25	19	6	0	13	500	0	0	25	8	0
14	500	15	11	11	12	0	14	500	0	0	14	25	0
15	500	8	13	20	11	0	15	500	0	0	22	13	0
16	500	11	23	21	0	0	16	500	0	4	27	49	0
17	500	12	11	17	12	0	17	500	0	0	20	39	0
18	500	14	29	12	24	3	18	500	0	0	25	18	0
19	500	7	18	11	6	0	19	500	0	1	10	17	0
20	500	6	11	11	9	0	20	500	0	3	3	16	0

Uzyskane wyniki wskazują, że rozmazy ze szpiku nadają się, podobnie jak rozmazy, z krwi, do oznaczania płci chromatynowej. Zarówno w rozmazach ze szpiku, jak i z krwi u poszczególnych osobników stwierdzono prawie takie same ilości i takie same typy wyrostków jądrowych.

E. Analiza testów: leukocytnarnego krwi obwodowej i nabłonkowego u osobników z zaburzeniami rozwojowymi narządu płciowego.

Oznaczanie płci chromatynowej testem leukocytnarnym przeprowadzono u 12 osobników z zaburzeniami rozwojowymi narządu płciowego

(2 przypadki zespołu Turnera), 4 przypadki obojnectwa i po jednym przypadku mongolizmu, spodziectwa, braku miesiączki, zespołu eunochidyzmu, niedorozwoju narządów płciowych i zespołu Stein-Levehala. U osobników tych kontrolą testu leukocytarnego był test nabłonkowy. Wyniki badań podaje tab. 12.

Tab. 7. Wyniki testu topologicznego (X^2) i odpowiednie różnice średnich dla porównania grup osobników męskich i żeńskich
Results of topological test (X^2) and corresponding differences of mean values for comparing groups of male and female individuals

Grupa wieku	F ₁		F _{2,3,4}		M		MF _{1,2}	
	X ²	różnice średnich	X ²	różnice średnich	X ²	różnice średnich	X ²	różnice średnich
0—15	40	13,50	40	21,75	32,4	—12,15	2,51	—4,0
30—1r	40	12,4	40	14,3	22,6	—14,3	0,4	—3,1
2—3	40	13,35	40	12,1	28,9	—13,95	1,6	—5,35
4—7	40	11,25	40	13,1	19,6	—13,8	0,4	—0,4
8—14	40	10,55	40	11,35	12,1	—13,8	0,9	—3,8
15—21	40	11,85	40	16,6	28,9	—15,35	0,9	—4,15

Tab. 8. Wskaźniki dyspersji
Dispersion indices

Grupa wieku	osobniki żeńskie				osobniki męskie			
	F ₁	F _{2,3,4}	M	MF _{1,2}	F ₁	F _{2,3,4}	M	MF _{1,2}
0—15	78,79	59,88	40,31	79,15	—	18,08	35,34	28,20
30—1r	21,82	27,65	150,34	70,63	—	16,21	75,33	93,51
2—3	42,83	39,31	65,47	41,06	—	18,03	93,35	104,05
4—7	42,35	75,97	63,14	52,84	—	21,39	104,69	90,39
8—14	56,75	50,19	21,51	49,64	—	19,98	105,32	44,78
15—21	56,57	47,91	72,66	40,68	—	34,38	76,21	106,36

(w kolumnie F₁ osobników męskich brak zmienności, zaś w F_{2,3,4} u osobników męskich oczekiwane zawsze mniejsze od 5).

Jak wynika z przeprowadzonych badań u osobników z wyżej wymienionymi zaburzeniami, interpretacje testu leukocytarnego nastęrcza poważne trudności jak w przypadku nr 1 (zespół Turnera) i nr 10 (*adipositas, hypoplasia testicularum*). Stwierdzono także niezgodność wyniku testu leukocytarnego ♀ z wynikami testu nabłonkowego ♂ w przypadku nr 2 (zespół Turnera).

Tab. 9. Zestawienie sum odpowiednich cech dla różnych klas wieku i wyniki testu von Neumanna oraz X^2

Sums of corresponding traits for various age groups and results of the von Neumann and X^2 tests

Grupa wieku	Liczba leukocytów	Osobniki żeńskie				Osobniki męskie			
		F ₁	F _{2,3,4}	M	MF _{1,2}	F ₁	F _{2,3,4}	M	MF _{1,2}
0—15	10,000	270	456	133	262	—	21	456	342
30—1	10,000	249	308	153	282	—	22	439	344
2—3	10,000	267	264	119	262	—	22	398	369
4—7	10,000	225	285	125	276	—	23	401	284
8—14	10,000	212	248	156	283	—	19	432	359
15—21	10,000	237	347	160	289	—	15	467	372
	X ²	11,21	94,85	11,4	2,41	—	2,17	9,59	15,71
wartość krytyczna P = 0,005, $x^2 = 11,1$									
Test v. Neumanna		1,50	1,48	2,01	2,01	—	0,89	1,25	3,13
wartość krytyczna P = 0,005, $x^2 = 1,0682$									

Tab. 10. Wyniki testu leukocytnego niezgodne z fenotypem
Results of leucocyte test disagreeing with the phenotype

L. p.	Nazwisko	Wiek	Fenotyp	F ₁	F _{2,3,4}	MF ₁	MF ₂	M	Wynik
1	W. R.	6 m	♀	2	6	2	5	—	?
2	G. R.	3 m	♀	3	5	4	7	3	?
3	W. J.	7 m	♀	2	4	7	12	7	?

F. Badania histochemiczne

Do badań histochemicznych wg metody Feulgena-Rossenbecka (wg A. G. Everson *Pearse: Histochemia*. W-wa 1957, s. 115 i 436) użyto 10 rozmazów z krwi obwodowej od dziewczynek i 10 rozmazów krwi od chłopców. Celem tych badań było zorientowanie się, czy w wyrostkach jądrowych leukocytów obojętnochłonnych występują ziarenka Feulgen dodatnie, jak to opisał Felsch i inni. Wyniki badań przedstawiono w tab. 13. W preparatach krwi żeńskiej ustalono liczbę ziarenek Feulgen dodatnich w wyrostkach jądrowych typu F₁, F₂, F₃, i F₄, natomiast w rozmazach krwi chłopców — w wyrostkach typu MF₁ i MF₂. Badania te pozwoliły stwierdzić, że spośród 406 wyrostków jądrowych typu F₁ 78% zawierało ziarenka Feulgen dodatnie, a spośród 346 wyrostków jądrowych typów F₂, F₃ i F₄ 86% dawało dodatnią reakcję Feulgena. W rozmazach krwi męskiej spośród 396 wyrostków typu MF₁ i MF₂ 18,2% zawierało ziarenka Feulgen dodatnie.

Tab. 11. Wyniki testu leukocytnego z krwi obwodowej i szpiku
Results of leucocyte test from peripheral blood and bone marrow

D z i e w c z y n k i												
S z p i k							K r e w					Test na- błonkowy
		F ₁	F _{2,3,4}	MF ₁	MF ₂	M	F ₁	F _{2,3,4}	MF ₁	MF ₂	M	X 100
1	W. R.	2	6	1	4	—	2	6	2	5	—	12
2	I. K.	3	19	9	15	8	4	20	12	19	12	27
3	J. G.	5	4	5	16	1	5	5	17	7	3	25
4	B. E.	15	10	10	3	15	16	11	14	9	17	32
5	C. M.	6	3	—	—	4	6	5	—	—	1	10
6	G. M.	20	10	22	10	2	2	4	—	3	32	32
7	P. J.	13	25	24	7	—	15	4	4	9	—	—
C h ł o p c y												
1	S. T.	—	1	11	5	9	—	1	15	6	10	1
2	W. J.	—	—	—	—	1	—	—	—	—	3	0
3	K. W.	—	—	5	7	4	—	—	6	8	7	1
4	P. S.	—	—	—	2	—	—	—	1	2	—	0
5	M. S.	—	—	2	—	1	—	—	3	—	4	0
6	O. J.	—	—	7	6	27	—	—	7	7	31	2
7	R. K.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2

Tab. 13. Ziarenka Feulgen-dodatnie w wyrostkach jądrowych
Feulgen-positive granules in nucleus excrescences

Lp.	Dziew- czynki Nazwi- sko	Liczba leuko- cytów	F ₁		F _{2,3,4}		Lp.	Chłopcy Nazwi- sko	Licz- ba leuko- cytów	MF _{1,2}	
			Feulgen		Feulgen					Feulgen	
			+	—	+	—				+	—
1	B. R.	1000	16	6	45	2	1	G. M.	1000	4	26
2	K. J.	1000	21	9	31	6	2	A. B.	1000	1	14
3	K. E.	1000	28	4	21	1	3	N. L.	1000	10	60
4	G. R.	1000	29	10	36	4	4	W. R.	1000	17	50
5	C. L.	1000	39	6	69	11	5	L. J.	1000	6	22
6	S. R.	1000	28	3	57	9	6	K. S.	1000	5	33
7	C. A.	1000	11	7	10	4	7	S. A.	1000	11	37
8	C. J.	1000	22	11	9	0	8	K. R.	1000	9	41
9	W. J.	1000	28	9	20	4	9	M. O.	1000	8	29
10	K. W.	1000	15	4	17	6	10	J. J.	1000	2	11
Ogółem			237	69	295	47				73	323
%			78	22	86	14				18,2	81,8

Tab. 12. Oznaczenie płci chromatynowej testem leukocytarnym i nabłonkowym u dzieci z zaburzeniami rozwojowymi narządów płciowych
 Determination of chromatin sex by the leucocyte and epithelium test in children with developmental disturbances of genital organs

L. p.	Imię i nazwisko	Anomalie płciowe	Fenotyp	Płeć metrykalna	Wiek	Test leukocytarny						Test nabłonkowy	
						F ₁	F _{2,3,4}	MF ₁	MF ₂	M	Wy-nik	Wy-nik	X/100
1	E. K.	Zespół Turnera. Zewnętrzne narządy płciowe żeńskie.	♀	żeńską	14 lat.	3	2	17	5	51	♂?	3	♂
2	K. S.	Zespół Turnera jak wyżej.	♀	żeńską	9 lat.	5	10	19	6	39	♀	2	♂
3	S. M.	Znaczny przerost techtaczki o cechach слабо wykształconego jądra. Wargi sromowe duże pomarszczone.	♀♂	żeńską	5 mies.	6	11	7	6	21	♀	23	♀
4	A. H.	Znaczny przerost techtaczki. Wargi sromowe duże, pomarszczone jak moszna.	♀♂	żeńską	9 mies.	2	2	12	26	15	♂	3	♂
5	M. W.	Narządy płciowe zewnętrzne obojnaka, duże jądro, wargi sromowe małe i duże, prawie normalne.	♂♀	żeńską	21 lat.	3	2	11	5	37	?	12	♀
6	K. W.	Prawidłowej długości jądro, wargi sromowe duże lekko pomarszczone, małe prawidłowe.	♀♂	żeńską	7 lat.	11	23	7	9	29	♀	42	♀
7	J. F.	(Mongolismus), Prawidłowe jądro, brak jąder w mosznie.	♂	męską	5 tyg.	2	3	6	11	4	♂	4	♂
8	K. L.	Znaczny niedorozwój jądra 1/2 cm długości, worek mosznowy b. mały bez jąder.	♂	męską	5 mies.	2	2	16	9	27	♂	1	♂
9	M. C.	Zespół Stein Leventhala. Przerost techtaczki.	♀	żeńską	21 lat.	15	22	11	9	17	♀	20	♀
10	J. J.	Otyłość typu Babińskiego Fröhlicha. Hypoplasia testiculorum.	♂	męską	13 tyg.	3	2	22	17	39	?	2	♂
11	K. S.	Hypospadiasis. Niedorozwój jądra, слабо wykształcony worek mosznowy, giadki.	♂	męską	5 mies.	1	3	7	15	11	♂	2	♂
12	W. K.	Przerost techtaczki, infantylne wargi sromowe. Skąpe owłosienie łonowe.	♀	żeńską	21 lat.	2	3	17	27	11	♂	3	♂

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Szybki rozwój badań nad rozpoznawaniem płci genetycznej zapoczątkowany opisaniem przez Barra i Bertrama (1949) tzw. chromatyny płciowej, świadczy o wielkim znaczeniu naukowym i praktycznym tego odkrycia. Jest rzeczą zrozumiałą, że dziesięcioletni okres, który upłynął od ogłoszenia wyników pracy Barra i Bertrama, był zbyt krótki na wyjaśnienie wszystkich zagadnień, związanych z rozpoznawaniem płci genetycznej na podstawie wykrywania chromatyny płciowej lub morfologicznego różnicowania leukocytów wielojądrzastych i dlatego też dziedzina ta wymaga prowadzenia dalszych badań.

Wprowadzony przez Davidsona i Smitha (1954) test leukocytarny dla rozpoznawania płci jest w dalszym ciągu przedmiotem badań i dyskusji. Po okresie potwierdzania wyników badań Davidsona i Smitha pojawiły się głosy wyrażające pewne zastrzeżenia. Najistotniejszym zastrzeżeniem, wysuwanym w stosunku do testów opartych na wykrywaniu chromatyny płciowej i testu leukocytarnego jest dająca się spostrzec wątpliwość, czy istotnie posługując się nimi, można określić płć genetyczną.

Barr (1956) jako jeden z pierwszych przestrzegł przed zbyt pochopnym rozpoznawaniem płci genetycznej na podstawie stwierdzenia chromatyny płciowej w przypadkach zaburzeń rozwojowych narządów płciowych. Nowakowski i współpracownicy (1959) stwierdzili niezgodność pomiędzy wynikami testu leukocytarnego i nabłonkowego, a płcią genetyczną u osobników z syndromem Klinefeltera. Daleko idącą ostrożność w stawianiu znaku równości pomiędzy wynikiem testu opartego na wykrywaniu chromatyny płciowej a płcią genetyczną wykazują autorzy fransuscy Bertrand i Girard (1959), Lelong i wsp. (1959). Dali oni temu wyraz stwarzając termin „płć chromatynowa” (sex chromatinien). Wg Lelonga i współpracowników przy posługiwaniu się testem opartym na wykrywaniu tzw. chromatyny płciowej w jądrach spoczynkowych komórek naskórka lub nabłonka można ustalić płć chromatynową, ale nie płć genetyczną.

Ostrożną ocenę testu leukocytarnego wypowiada Kosenow (1958), który uważa, że na podstawie tego testu możemy ocenić, czy mamy do czynienia z męskim lub żeńskim obrazem krwi, natomiast wynik testu nie upoważnia do wypowiedzania się o płci genetycznej badanego osobnika.

Dotychczas nie zostało ustalone, czy charakterystyczny wyrostek jądrowy leukocytów obojętnochłonnych typu „drumstick” jest identyczny z tzw. chromatyną płciową Barra. Nie wiemy również z całą pewnością, czy tzw. chromatyna płciowa Barra jest tworem powstałym ze

stopienia się chromosomów XX, jak przypuszcza Barr, czy też jest charakterystycznym dla płci produktem metabolizmu jądra komórkowego, jak sądzi Hienz (1957) i inni.

Stwierdzenie przez Fergussona i wsp. (1960) u osobników fenotypowo męskich, posiadających układ chromosomów XXXY podwójnej grudki chromatyny płciowej (double sex chromatin) w komórkach nabłonkowych jamy ustnej podważa pogląd Barra o pochodzeniu chromatyny płciowej z zespolenia obu chromosomów X. Przeciw pogładowi Barra przemawiają również badania Kosina i Ichizaki (1959) przeprowadzone u kura domowego (*Gallus domesticus*), które wykazały w komórkach nabłonkowych samic posiadających jeden chromosom X obecność chromatyny płciowej oraz brak chromatyny płciowej u samców, które, jak wiadomo, posiadają dwa chromosomy X.

Nie zostały również w dostateczny sposób rozstrzygnięte wątpliwości co do interpretacji wyników testu leukocytarnego Davidsona i Smitha w przypadku stwierdzenia liczby wyrostków jądrowych typu „drumstick” mniejszej od 5 a większej od 1. Dla dokładności testu jest pożądane, aby pomiędzy wynikami liczbowymi, uzyskanymi z krwi męskiej i żeńskiej istniała wyraźna różnica. Tego rodzaju różnice zaobserwował Davidson i Smith (u osobników męskich brak wyrostka typu „drumstick”, u osobników żeńskich powyżej 5 takich wyrostków). Jednakże na podstawie badań Kosenowa i Scupina (1956) granica ta stała się mniej wyraźna, u osobników męskich od 0 do 4 wyrostków jądrowych typu „drumstick” u osobników żeńskich powyżej 5, co zmusiło tych autorów do posługiwania się sumą wyrostków jądrowych grupy A i grupy B, (u osobników męskich suma $A + B$ jest mniejsza od 8, u osobników żeńskich suma $A + B$ jest większa od 11), a nawet w przypadkach wątpliwych zastosowanie współczynnika Q (u osobników męskich współczynnik mniejszy od 0,3, a u osobników żeńskich większy od 0,5). Warto zaznaczyć, że w pracy opublikowanej w r. 1958 Kosenow podaje, że dla rozpoznania krwi żeńskiej wystarczy stwierdzenie 6 wyrostków łącznie z grupy A i B.

Z badań Caliezi (1959) wynika, że różnica pomiędzy liczbą wyrostków typowych żeńskich w leukocytach obu płci jest nieznaczna (u osobników męskich wyrostki te w ogóle mają nie występować, natomiast u osobników żeńskich powyżej 3).

W przypadkach kiedy stwierdzamy liczbę wyrostków typu „drumstick” powyżej 1 i poniżej 5, test Davidsona i Smitha nie pozwoli na ustalenie płci. Dlatego Kosenow (1958) proponuje równoległe stosowanie testu leukocytarnego i testu nabłonkowego.

W badaniach własnych ustalono, że charakterystycznymi wyrostkami jądrowymi leukocytów żeńskich są wyrostki typów F_1 , F_2 , F_3 i F_4 . Ze

względów metodycznych wyrostki F_1 i M były liczone oddzielnie, natomiast wyrostki F_2 , F_3 i F_4 oraz MF_1 i MF_2 łącznie. W badaniach własnych wykazano wyraźną różnicę pomiędzy liczbą leukocytów obojętnochłonnych męskich, zawierających wyrostki F_1 (spośród 120 osobników męskich jedynie u 3 obserwowaliśmy po jednym leukocycie obojętnochłonnym, zawierającym wyrostek F_1), a liczbą leukocytów obojętnochłonnych żeńskich (spośród 123 osobników żeńskich u 3 stwierdziłam mniej niż 5 leukocytów obojętnochłonnych, zawierających wyrostek jądrowy typu „drumstick”, a u 120 osobników najmniej 5 leukocytów obojętnochłonnych, zawierających wyrostek F_1). Również w grupie wyrostków F_2 , F_3 i F_4 wykazałam wyraźną różnicę pomiędzy leukocytami obojętnochłonnymi męskimi a żeńskimi. Spośród 120 osobników męskich u 69 stwierdziłam po 1, 2 i 3 leukocyty obojętnochłonne, zawierające wyrostki typów F_2 , F_3 i F_4 , natomiast spośród 120 osobników żeńskich — oprócz jednego osobnika — obserwowaliśmy zawsze powyżej 4 leukocytów, zawierających wyrostki jądrowe typów F_2 , F_3 i F_4 . Wyrostki jądrowe oznaczone przeze mnie jako typy MF_1 , MF_2 i M występują w leukocytach obojętnochłonnych u obu płci. Różnica pomiędzy leukocytami męskimi a żeńskimi, zawierającymi wyrostki jądrowe typów MF_1 i MF_2 nie jest statystycznie istotna, co wykazano testem topologicznym. Natomiast zauważyłam istotną różnicę pomiędzy liczbą wyrostków jądrowych typu M , które częściej występują w leukocytach męskich. Wyróżnione w tabelach 1—6 wyrostki jądrowe typu R (nie odpowiadają one opisanym przez Davidsona i Smitha wyrostkom nazwanym „Rackets”) mogłam obserwować w liczbie 4 na 60,000 leukocytów obojętnochłonnych męskich i w liczbie 8 na taką samą liczbę leukocytów obojętnochłonnych żeńskich. Wg moich spostrzeżeń wyrostki jądrowe typu R nie przedstawiają wartości dla oceny testu leukocytarnego.

Przy posługiwaniu się testem leukocytarnym Davidsona i Smitha wystarczy ograniczyć się do obliczenia liczby leukocytów obojętnochłonnych, zawierających wyrostek jądrowy typu F_1 . Jeżeli naliczy się 5 takich leukocytów obojętnochłonnych na 227, wynik testu można ocenić jako dodatni. Jeżeli nie stwierdzi się 5 wyrostków jądrowych typu F_1 należy przeglądanie rozmazu prowadzić dalej, aż do naliczenia 500 leukocytów obojętnochłonnych. Wg moich spostrzeżeń wyniki testu w przypadku mniejszej od 5 liczby wyrostków jądrowych typu F_1 oraz wyniki w przypadku więcej niż jednego wyrostka jądrowego typu F_1 , należy oceniać jako wątpliwe. W takich wypadkach powinno się wziąć pod uwagę obecność i liczbę innych wyrostków jądrowych.

Dla uzyskania prawidłowego wyniku testu leukocytarnego konieczną jest umiejętność prawidłowej klasyfikacji wyrostków jądrowych. Szczególnie niektóre postacie wyrostków jądrowych typu MF_1 mające śred-

nicę główki większą od przeciętnej (nazywane czasem „większe small clubs”) mogą być ocenione jako prawdziwe wyrostki jądrowe typu F_1 , różnią się jednak od nich tym, że posiadają zamiast cienkiej nitki grubą nóżkę i słabiej się barwią. Zdarzające się często wyrostki jądrowe o kształcie i wielkości typowej dla wyrostków typu F_1 , ale posiadające przejaśnienie w środku główki, należy klasyfikować jako typowe wyrostki typu F_1 .

Uzyskane wyniki liczbowe występowania wyrostków jądrowych typu F_1 w poszczególnych grupach wieku poddano analizie statystycznej, która nie wykazała zależności pomiędzy liczbą wyrostków jądrowych typu F_1 a wiekiem badanych osobników. Otrzymane wyniki różnią się od wyników Harnacka i Strietzela (1956), którzy stwierdzili u wcześniaków i noworodków przeciętnie większą liczbę wyrostków jądrowych typu „drumstick”.

Zbadano również możliwość ustalenia płci w rozmazach ze szpiku. Do badań tych pobrano od 14 osobników szpik i krew obwodową i porównano liczbę poszczególnych typów wyrostków jądrowych w komórkach szpiku i krwi, przy czym nie stwierdzono różnic co do liczby poszczególnych typów wyrostków.

Zachowanie się testu leukocytarnego i nabłonkowego u osobników z dającymi się stwierdzić klinicznie zaburzeniami rozwojowymi narządu płciowego przeprowadzono u 12 osobników. Jak wynika z przytoczonej tabeli 12 w przypadku oznaczania płci u osobników z zaburzeniami rozwojowymi narządu płciowego napotyka się na trudności, na co wskazują rozbieżne wyniki obu testów w 1 przypadku syndromu Turnera.

Badania histochemiczne, przeprowadzone na 20 rozmazach krwi (10 osobników męskich i 10 osobników żeńskich), barwionych wg metody Feulgena-Rossenbecka, pozwoliły wykazać ziarenka Feulgen-dodatnie, występujące przede wszystkim w wyrostkach typów F_1 , F_2 , F_3 , F_4 , a bardzo rzadko w wyrostkach typów MF_1 i MF_2 . Najczęściej chromatynę Feulgen-dodatnią stwierdzano w wyrostkach typów F_2 , F_3 i F_4 , a nieco rzadziej w wyrostkach typu F_1 . Częstość występowania ziarenek chromatyny Feulgen-dodatniej w poszczególnych typach wyrostków jest zbliżona na ogół do wyników uzyskanych przez Felscha (1959).

WNIOSKI

1. Na podstawie badań rozmazów krwi 120 dzieci (60 dziewczynek i 60 chłopców) od 1 roku do 14 lat zaproponowano podział wyrostków jądrowych leukocytów obojętnochłonnych na następujące typy: F_1 , F_2 , F_3 , F_4 , MF_1 , MF_2 , M i R .

2. Przeprowadzone u 240 dzieci i młodzieży od 1 mies. do 21 lat

(120 osobników żeńskich i 120 osobników męskich) badania morfologiczne leukocytów obojętnochłonnych, jak również badania statystyczne potwierdziły możliwość ustalania u dzieci normalnych płci chromatynowej na podstawie obecności w leukocytach obojętnochłonnych żeńskich charakterystycznych wyrostków jądrowych. W rozmazach krwi żeńskiej stwierdza się powyżej 5 wyrostków jądrowych typu F_1 na 500 leukocytów obojętnochłonnych, w rozmazach krwi męskiej — nie stwierdza się żadnego lub wyjątkowo jeden wyrostek typu F_1 na 500 leukocytów obojętnochłonnych.

3. Wynik testu leukocyтарnego należy oceniać jako wątpliwy w przypadku stwierdzenia więcej niż 1 i mniej niż 9 wyrostków jądrowych typu F_1 . Należy wtedy w celu ustalenia płci chromatynowej wykorzystać wyrostki typów F_2 , F_3 i F_4 . Liczba tych wyrostków w leukocytach obojętnochłonnych męskich nie przekracza 4, natomiast u osobników żeńskich występują one w znacznie większej liczbie ($\bar{x} > 12,13$). W przypadkach wątpliwych należy również wykonać jeden z testów opartych na wykrywaniu tzw. chromatyny płciowej.

4. Test leukocyтарny pozornie łatwy — może nastroczać badającemu duże trudności, ponieważ przy braku dostatecznej wprawy w klasyfikowaniu różnych typów wyrostków jądrowych stosunkowo łatwo można przyjąć wyrostki typu MF_1 za wyrostki F_1 , co może być źródłem błędnych wyników testu.

5. Podobnie jak w rozmazach krwi obwodowej — test leukocyтарny można wykonać posługując się rozmazami szpiku; liczba wyrostków jądrowych w leukocytach szpiku i krwi nie wykazuje większych różnic.

6. U osobników z zaburzeniami rozwojowymi narządu płciowego zaobserwowano w 1 przypadku niezgodne wyniki testu leukocyтарnego i nabłonkowego, a w dwóch przypadkach nie można było określić płci testem Davidsona i Smitha.

7. Badaniami histochemicznymi (metoda Feulgena) wykazano w 78% wyrostków typu F_1 i w 86% wyrostków typów F_2 , F_3 i F_4 występowanie ziarenek Feulgen-dodatnich.

8. Test leukocyтарny, podobnie jak test nabłonkowy, pozwala na ustalenie płci chromatynowej a nie płci chromosomowej. W przypadku zgodności fenotypu z genotypem test leukocyтарny pozwala na ustalenie płci genetycznej. Test leukocyтарny może być zawodny dla ustalenia płci genetycznej w przypadku stosowania go u osobników z różnymi zaburzeniami rozwojowymi narządu płciowego.

9. Należałoby przestrzec przed zbyt pochopnym ustaleniem płci genetycznej na podstawie testu leukocyтарnego i nabłonkowego szczególnie u dzieci, aż do okresu pokwitania.

PIŚMIENNICTWO

1. Ashley, D. J. B.: Occurrence of Sex Chromatin in the Cells of the Blood and Bone Marrow in Man. *Nature* **179**, 969—971, 1957.
2. Ashley, D. J. B., Jones, S. H.: Discrepancies in the Diagnosis of Genetic Sex by Leucocyte Morphology. *Lancet* **274**, 240—242, 1958.
3. Barr, M. L.: Morphology of Neuroglial Nuclei in the Cat according to Sex. *Exper. Cell Res.* **2**, 288—289, 1951.
4. Barr, M. L.: Sex Chromatin and Phenotype in Man. *Science*, **130**, 679—685, 1959.
5. Barr, M. L.: Cytological Test of Sex. *Lancet* **270**, 47, 1956.
6. Barr, M. L.: An Interim Note on the Application of Skin Biopsy Test of Chromosomal Sex to Hermaphrodites. *Surg. Gynec. Obstetr.* **99**, 184—186, 1954.
7. Barr, M. L., Bertram, E. G.: A Morphological Distinction between Neurons of the Male and Female, and the Behaviour of the Nucleolar Satellite during Accelerated Nucleoprotein Synthesis. *Nature* **163**, 676—677, 1949.
8. Barr, M. L., Bertram, E. G., Lindsay, H. A.: Morphology of Nerve Cell Nucleus according to Sex. *Anat. Rec.* **107**, 283—297, 1950.
9. Barr, M. L., Hobbs, G. E.: Chromosomal Sex in Transvestites. *Lancet*, **1**, 1109—1110, 1954.
10. Bertrand, J., Girard, C.: La chromatine sexuelle et diagnostic du sexe génétique dans les états intersexuels. *Ann. d'Endocrin. (Paris)* **19**, 228—247, 1958.
11. Briggs D. K.: The Individuality of Nuclear Chromatin with Particular Reference to Polymorphonuclear Neutrophil Leucocytes. *Blood* **13**, 986—1000, 1958.
12. Briggs D. K., Kupperman H. S.: Sex Determination by Leucocyte Morphology. *J. Clin. Endocr.* **16**, 1163—1179, 1956.
13. Byrdy M., Dzierżykraj-Rogalska I.: Zastosowanie metody oznaczania chromatyny płciowej w medycynie sądowej. *Pol. Tyg. Lek.* **13**, 607—610, 1958.
14. Byrdy M., Dzierżykraj-Rogalska I.: Dalsze badania nad przydatnością w medycynie sądowej metody oznaczania tzw. chromatyny płciowej. *Pol. Tyg. Lek.* **15**, 1474—1481, 1960.
15. Caliezi J. M.: Beitrag zur blumorphologischen Geschlechtsbestimmung. *Schw. med. Wschr.* **19**, 499—453, 1959.
16. Caratzali A., Phleps A.: Considérations sur le déterminisme des corpuscules sexuels des leucocytes. *C. r. Soc. Biol. (Paris)* **152**, 1114—1115, 1958.
17. Carpentier P. J., Stolte L. A., Visschers G. P.: Sexing nuclei. *Lancet*, **268**, 874, 1955.
18. Carpentier P. J., Stolte L. A. M., Dobelaar M. J.: The Sex-linked Difference in Rabbit Neutrophils, *Nature* **180**, 554—555, 1957.
19. Cruickshank D. B.: Sex of Mediastinal Terratomata. *Lancet*, **268**, 254—255, 1955.
20. Czerny K.: Recherches concernant la sexe-chromatine dans les leucocytes neutrophiles du sang des femmes durant le cycle menstruel. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska (Lublin) Sec. D.* **14**, 29—39, 1959.
21. Czerny K.: Różnice płciowe w budowie jąder granulocytów obojętnochłonnych krwi obwodowej u *Canis domesticus*. *Ann. Univ. M. Curie Skłodowska Sec. D.* **15**, 33—38, 1960.

22. Czerny K.: Wyrostki jądrowe granulocytów obojętnochłonnych występujących w wydzielinie ropnej. *Ann. Univ. M. Curie Skłodowska. Sec. D.* **15**, 59—62, 1960.
23. Davidson W. M., Smith D. R.: A Morphological Sex Difference in the Polymorphonuclear Neutrophil Leucocytes, *Brit. Med. J.* **2**, 6—7, 1954.
24. Dihlmann W.: Zur Entwicklung der Trommelschlegelkörperchen an den Granulocytenkernen. *Ärztl. Wschr.* **13**, 729—730, 1958.
25. Dixon A., Torr J.: Sex Chromatin in Oral Smear. *Brit. med. J.* **2**, 799, 1956.
26. Dixon A. D., Torr J. B. D.: Sex Chromatin as an Aid to the Identification of Sex in Forensic Medicine, *Nature*, **178**, 797—799, 1956.
27. Dux K., Dąbrowska K.: O rozpoznawaniu płci genetycznej (chromosomowej) u człowieka. *Post. Wiedzy Med.* **4**, 47—54, 1954.
28. Dzierżykraj-Rogalska I.: Z badań nad dymorfizmem płciowym granulocytów obojętnochłonnych. *Endokr. Polska*, **9**, 1—11, 1958.
29. Dzierżykraj-Rogalska I.: Najnowsze badania nad dymorfizmem płciowym komórki. *Pol. Tyg. Lek.* **11**, 1802—1956.
30. Ehrengut W.: Das Chromosomengeschlecht bei Gonadenmangel u. Differenzierung der Geschlechtsorgane. *Zschr. Kinderhkl.* **77**, 322—335, 1955.
31. Eskelund V.: Determination of Genetic Sex by Examination of Epithelial Cells in Urine. *Acta endocrin. (Copenhagen)*, **23**, 246—248, 1956.
32. Felsch G.: Heterochromatin und morphologische Geschlechtsmerkmale menschlicher Leukocyten. *Ärztl. Wschr.* **14**, 813—817, 1959.
33. Fergusson-Smith M. A., Johnston A. W., Handmayer S. D.: Primary Amentia and Micro-Orchidism Associated with an XXXY Sex-chromosome Constitution, *Lancet*, **2**, 184—187, 1960.
34. Fuchs F., Riis P.: Antenatal Sex Determination. *Nature* **177**, 330, 1956.
35. Glenister T. W.: Determination of Sex in Early Human Embryos, *Nature*, **177**, 1135—1136, 1956.
36. Gothe H. D., Hinrichsen K.: Die Chromatinstruktur der Granulocytenkerne in ihrer Beziehung zu den Geschlechtsspezifischen Kernanhangsgebilden. *Kiln-Wochenscht.* **37**, 506—511, 1959.
37. Graham M. A., Barr M. L.: A Sex Difference in the Morphology of Metabolic Nuclei in Somatic Cells of the Cat. *Anat. Rec.* **112**, 709—723, 1952.
38. Hanicki U., Hanicka M.: Obraz chromatyny granulocytów jako podstawa ustalania płci. *Pol. Tyg. Lek.* **12**, 564—567, 1957.
39. Harnack G. A., Strietzel H. N.: Die Altersabhängigkeit der geschlechtsbedingten Leukocytenmerkmale. *Klin. Wschr.* **32**, 401—402, 1956.
40. Hienz W. A.: Zellkernmorphologische Geschlechtererkennung bei Säugetier u. *Mensch. Dtsch. Med. Wschr.* **82**, 1986—1991, 1957.
41. Hunter W. P., Lennox B.: The Sex Terratomata. *Lancet* **253**, 683—689, 1954.
42. Jonek J.: Zachowanie się chromatyny płciowej w granulocytach neutrofilnych krwi obwodowej w czasie ciąży u kobiet. *Patol. Polska* **9**, 227—231, 1958.
43. Kosenow W.: Nutzen und Problematik der chromosomalen Geschlechtsdiagnose mit dem Leukocyten u. Mundepitheltest. *Dtsch. med. Wschr.* **83**, 971—978, 1958.
44. Kosenow W., Scupin R.: Geschlechtsbestimmung auf Grund morphologischer Leukocytenmerkmale. *Klin. Wschr.* **34**, 51—53, 1956.
45. Kosenow W., Schönenberg H.: Hämatologische Geschlechtsbestimmung bei Gonadenagenesie. *Klin. Wschr.* **34**, 53 1956.

46. Kosin I., Ichizaki H.: Incidence of Sex-Chromatin in *Gallus domesticus*. Science, 130, 43—44, 1959.
47. Lelong M., Petit P., Canlorne P., Sebacun-Zuckman M., Cendros J., Borniche P., Scholler R.: Les Anomalies de la détermination sexuelle. Sem. Hop. 35, 3540—3572, 1959.
48. Ludwig K. S.: Eine vereinfachte Färbungsmethode zur Darstellung des Geschlechtschromatins. Münch. Med. Wschr. 100, 342—343, 1959.
49. Lürs Th., Petzel G.: Zellkernmorphologische Geschlechtsdiagnose bei Pelger-Anomalie der Blutkörperchen. Blut, 4, 185—189, 1958.
50. Lupatkin M., Prader A.: Welches ist die einfachste Methode zur Bestimmung des chromosomalen Geschlechtes. Schw. med. Wschr. 86, 928—930, 1956.
51. Makowski E. L., Prem K. A., Kaiser I. H.: Detection of Sex of Foetuses by the Incidence of Sex Chromatin Body in Cells in Amniotic Fluid. Science, 123, 542—543, 1956.
52. Mueller D.: Zur Entwicklung der Geschlechtsspezifischen sogenannten Drumsticks an segmentkernigen Leukocyten. Arztl. Wschr. 14, 260—262, 1959.
53. Marberger E., Bocabella R. A., Nelson W. O.: Oral Smear as Method of Chromosomal Sex Detection. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 89, 488—490, 1955.
54. Marberger E., Nelson W. C.: Sexuel Differences in Nuclei of Human Skin. J. Clin. Endocrin. 14, 768—769, 1954.
55. Moore K. L.: The sex Chromatin in Cells of Human Benign Tumors. Anat. Rec. 121, 409, 1955.
56. Moore K. L., Barr M. L.: Nuclear Morphology according to Sex in Human Tissues. Acta anat. 21, 197—208, 1954.
57. Moore K. L., Barr M. L.: Morphology of Cell Nucleus in Mammals with Special Reference to Sex Chromatin. J. Comp. Neurol. 98, 213—231, 1953.
58. Moore K. L., Barr M. L.: Smears from the Oral Mucosa in the Detection of Chromosomal Sex. Lancet, 2, 57—58, 1955.
59. Moore K. L., Barr H. L.: The Sex Chromatin in Benign Tumours and Related Conditions in Man. Brit. J. Cancer, 9, 246—253, 1955.
60. Moore K. L., Graham M. A., Barr M. L.: Detection of Chromosomal Sex in Hermaphrodities from Skin Biopsy. Surg. Gynec. Obst. 96, 641—648, 1953.
61. Nowakowski H., Lenz W., Parada J.: Diskrepanz zwischen Chromatirbefund und genetischen Geschlecht beim Klinefelter Syndrom. Acta Endocrin. (Copenhagen) 30, 296—320, 1959.
62. Peiper U., Oehme J.: Die Abhängigkeit geschlechts-gebundenen Leukocytenmerkmale bei Feten u. Frühgeborenen von der Reife. Klin. Wschr. 34, 1067—1068, 1956.
63. Polani P., Hunter W., Lennox B.: Chromosomal Sex in Turner's Syndrome with Coarctation of Aorta. Lancet 2, 120, 1954.
64. Prince R. H., Graham M. A., Barr M. L.: Nuclear Morphology according to Sex in *Macacus rhesus*. Anat. Rec. 122, 153—171, 1955.
65. Sachs L., Berr D. M., Danon M.: Prenatal Diagnosis of Sex Using Cells from the Amnion Fluid. Science, 123, 548, 1956.
66. Schaumkell K. W., Stange H. H., Rumphorst K.: Über das Vorkommen von Desoxy-Ribonucleinsäure in den Drumsticks polymorphkerniger Granulocyten. Klin. Wschr. 35, 1029—1030, 1957.

67. Shettles L. B.: Nuclear Morphology of Cells in Human Amniotic Fluid in Relation to Sex of Infant. *Am. J. Obst.* **71**, 834—838, 1956.
68. Sun L. C. Y., Rakoff A. E.: Evaluation of Peripheal Blood Smears Test in Detection of Chromosomal Sex in the Human. *J. Clin. Endocr.* **16**, 55—61, 1956.
69. Tavares A. S.: On the Sex of Cancer and Terratomata Cells. *Lancet*, **268**, 948—949, 1955.
70. Wiedemann H. R., Romatowski H., Tolksdorf M.: Geschlechtbestimmung aus dem Blutbilde. *Münch. med. Wsch.* **98**, 1090—1093, 1108—1112, 1956.
71. Wiereszczagin I. A.: Ob opridienii pola płoda po izmienienii morfolożiczeskowo sostawa krowi materii. *Sowietskaja Miedicina*, **23**, 28—35, 1959.
72. Wilkins L., Grumbach M., van Wyk.: Chromosomal Sex in Ovarian Agenesis. *J. Clin. Endocrin.* **14**, 1270, 1954.

РЕЗЮМЕ

Во введении автор дает критический обзор соответственной научной литературы. На основании обследованных мазков крови от 120 детей обоого пола установлена новая классификация ядерных отростков с выделением 8 типов и обозначением их следующими символами: F_1 = drumstick, F_2 = sessile drumstick, F_3 = club, F_4 = sessile nodule, MF_1 = pseudodrumstick, MF_2 = small sessile body, M = tags. R = rackets.

Исследования мазков крови 243 лиц обоого пола возрастом от 0 до 21 г., у которых не замечено никаких нарушений в развитии половых органов, показали согласованность результатов лейкоцитарного теста с полом у 240 лиц; в трех же случаях у лиц соматически женских не удалось при помощи лейкоцитарного теста определить пол (по критериям Давидсона и Смитса — результат теста сомнительный). Статистический анализ материала указывает на значение для распознавания пола ядерных отростков не только типа F_1 , но также типов F_2 , F_3 , F_4 и M . На основании статистического анализа не обнаружено зависимости числа ядерных отростков типа F_1 от возраста исследуемых лиц. Исследования, производимые через каждые 2 недели в течение 12 месяцев на пяти женских особях возрастом от 6 месяцев до 13 лет показали, что количество ядерных отростков у отдельных лиц за это время не изменилось. Установлено, что препараты, заготовленные из костного мозга, тоже пригодны для распознавания пола, а количество ядерных отростков, как из периферической крови, так и из костного мозга почти одинаковы.

В группе 12 лиц с расстройствами в развитии половых органов в одном случае замечены неодинаковые результаты лейкоцитарного

и эпителиального тестов, а в двух случаях не удалось вовсе определить пол тестом Давидсона и Смитса.

При помощи гистохимического метода Фейльгена-Розенбека обнаружено в ядерных отростках типа F_1 (78%) и в ядерных отростках типов F_2 , F_3 и F_4 (86%) зерна Фельгена положительные.

Основываясь на данных соответствующей научной литературы, а также на собственные исследования автор высказывает взгляд, что лейкоцитарный тест (а также и эпителиальный) позволяет определять хроматиновый пол, но не всегда — пол хромосомный либо генетический. Оговорка эта касается в особенности случаев дисгенезии гонад, а также определения генетического пола у детей перед переходным возрастом.

Рис. 1. Созревание ядерного отростка типа „drumstick” (схема по Дильманну): отросток в форме буи. II. III — отростки типа „sessile nodules”, IV — отросток типа безниточного „drumstick” сидячего на дольке, V — созревающий „drumstick”, VI — зрелый „drumstick”.

Рис. 2. Ядерный отросток. Тип F_1

Рис. 3. Ядерный отросток. Тип F_2

Рис. 4. Ядерный отросток. Тип F_3

Рис. 5. Ядерный отросток. Тип F_4

Рис. 6. Ядерный отросток. Тип MF_1

Рис. 7. Ядерный отросток. Тип MF_2

Рис. 8. Ядерный отросток. Тип M

Рис. 9. Ядерный отросток. Тип R

Рис. 10. Сравнительная таблица, иллюстрирующая типы ядерных отростков по отдельным авторам.

SUMMARY

The paper begins with a critical review of literature. Examination of blood smears from 120 children of both sexes made it possible to introduce a new classification of nucleus excrescences, of which 8 types were established and denoted with the following symbols: F_1 — drumstick. F_2 — sessile drumstick, F_3 — club, F_4 sessile nodule, MF_1 — pseudodrumstick, MF_2 — small sessile body, M — tag, R — racket.

Examination of smears of blood taken from 243 individuals of both sexes, aged from 0 to 21 years and free from developmental disturbances of genital organs, showed an agreement between the result of the leucocyte test and the sex in 240 individuals; in 3 cases leucocyte test performed in somatically female individuals failed to determine the sex (according to the criteria of Davidson and Smith, the result of the test was doubtful). Statistical analysis points to the importance for sex determination not only of nucleus excrescences of type F_1 , but also of

those belonging to types F_2 , F_3 , F_4 and M . Statistical analysis did not reveal any dependence of the number of the nucleus type F_1 excrescences on the age of the tested individuals. Tests carried out every 2 weeks for 12 months in 5 females aged from 6 months to 13 years, did not show any change of the number of type F_1 excrescences. It was found that preparations from bone marrow can be also used for sex determination; the results concerning the number of nucleus excrescences obtained from peripheral blood and from marrow are almost identical.

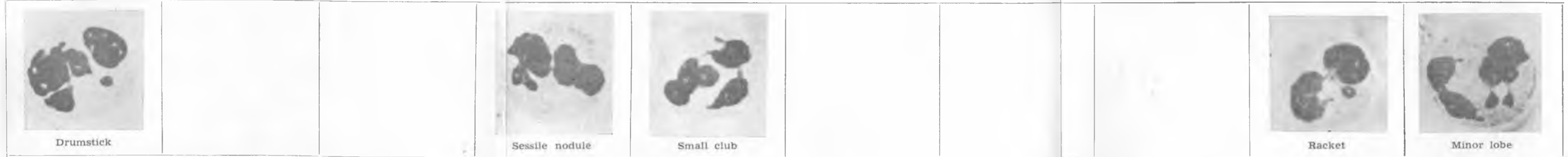
In the group of 12 individuals with developmental disturbances of genital organs, disagreement between the results of the leucocyte test and the epithelium test was observed in one case, and in two cases the sex could not be determined by the Davidson and Smith test.

Using the histochemical method of Feulgen-Rosenbeck, Feulgen-positive granules were found in 78% of type F_1 excrescences and in 86% of type F_2 , F_3 and F_4 excrescences.

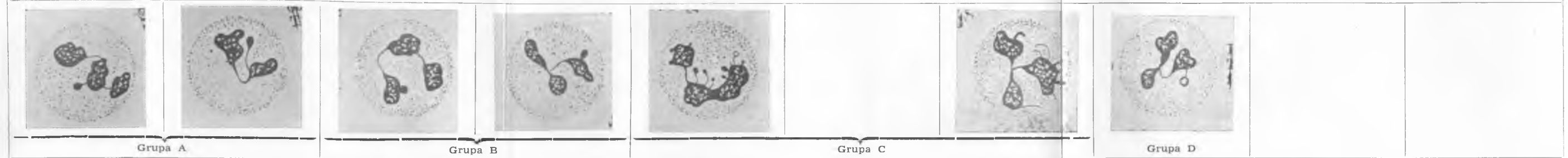
On the strength of the data found in literature and of the author's own investigations, the opinion is expressed that the leucocyte test (and the epithelium test as well) makes it possible to determine the chromatin sex, but not always the chromosome or genetic sex. This restriction concerns, especially, cases of dysgenesis of gonads, and should be also taken into consideration when genetic sex is determined in children up to the age of puberty.

Ryc. 10. Tablica porównawcza typów wyrostków jądrowych
 Comparative table of types of nucleus excrescences according to various authors

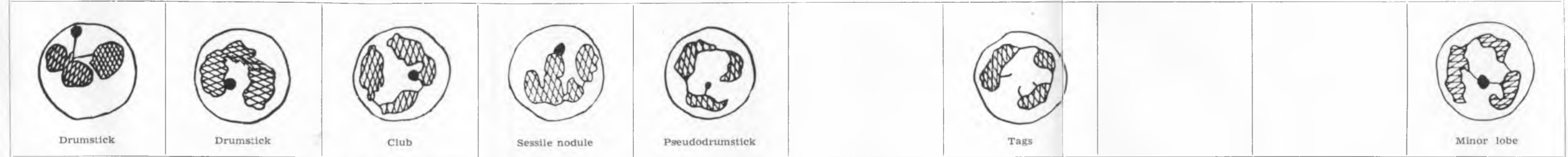
Typy wyrostków jądrowych wyróżnione przez Davidsona i Smitha



Typy wyrostków jądrowych wyróżnione przez Kosenowa i Skupina



Typy wyrostków jądrowych wyróżnione przez Caliezi



Typy wyrostków jądrowych wyróżnione przez J. Staśkiewicz (1960)

