

HADINAKROH

CECHY

MORFOLOGICZNE I HISTOCHEMICZNE

DOŚWIADCZALNYCH GLEJAKÓW

MÓZGU U MYSZY

Warszawa 1976

A

H A L I N A K R O H

CECHY MORFOLOGICZNE I HISTOCHEMICZNE
DOŚWIADCZALNYCH GLEJAKÓW MÓZGU U MYSZY



25 238
H3023

Praca na stopień
doktora habilitowanego medycyny
wykonana w Zespole Neuropatologii
Centrum Medycyny Doświadczalnej i
Klinicznej Polskiej Akademii Nauk
Kierownik: Prof. dr med. M.J. Mossakowski

W A R S Z A W A 1976

Podziękowanie

Autorka wyraża serdeczną wdzięczność Panu Profesorowi dr hab. med. Mirosławowi Mossakowskiemu za umożliwienie wykonania pracy w kierowanym przez Niego Zespole Neuropatologii CMDiK PAN i za zapoznanie się z maszynopisem, a Pani Docent dr hab. med. Irminie Zelman za cenne rady przy redagowaniu ostatecznego tekstu pracy.

Kolegom z Zespołu Neuropatologii CMDiK PAN:
dr med. Krystynie Renkawek, dr n. przyr. Grażynie Szumańskiej i dr med. Tadeuszowi Majdeckiemu dziękuję za współpracę w zagadnieniach neuroonkologii wymagających badań specjalnych.

Pani Barbarze Sliwińskiej dziękuję za wieloletnią pomoc operacyjną i techniczną przy opracowywaniu materiału, a Panu Ryszardowi Szopińskiemu za wykonanie dokumentacji fotograficznej.

SPIS TREŚCI

Część I

W P R O W A D Z E N I E	str. 1 - 8
C E L P R A C Y	9
M A T E R I A Ł I M E T O D Y	10 - 13
W Y N I K I	
I. ZMIANY PRZEDNOWOTWOROWE	14 - 22
II. NOWOTWORY	
Ogólna charakterystyka materiału	23 - 27
1. Mikroguzy	28 - 29
2. Glejaki	
A. Glejaki szeregu astrocytarnego	
a. Gwiaździaki	30 - 38
b. Glejaki wielopostaciowe	38 - 45
B. Glejaki szeregu oligodendroglejowego	
a. Skąpodrzewiaki	46 - 50
C. Wyściółczaki	51 - 55
D. Glejaki złożone i mieszane	56 - 57
E. Glejaki niezróżnicowane	58 - 59
F. Glejaki niesklasyfikowane	60 - 61
3. Glejako-mięsaki	62 - 69
O M Ó W I E N I E W Y N I K Ó W I D Y S - K U S J A	70 - 96
W N I O S K I	97
P I Ś M I E N N I C T W O	

Część II

DOKUMENTACJA FOTOGRAFICZNA

W P R O W A D Z E N I E

Etiologia i patogeneza pierwotnych guzów mózgu u człowieka i zwierząt jest nieznana. Histogenetyczne podstawy klasyfikacji wskazują tylko na tkankę uważaną za wyjściową zarówno w procesie nowotworowym toczącym się w mózgu jak i w innych narządach. Stan podatności komórek macierzystych, w którym mogą one ulegać przemianie nowotworowej i procesy, które mogą taki stan wywoływać są nadal niejasne. Dotychczasowe badania doświadczalne wskazują, że musi zaistnieć szczególna zależność pomiędzy stanem podłoża a dodatkowymi czynnikami endo- i egzogennymi aby zainicjować proces, który powoduje powstanie nowotworu. Prawie każda tkanka jest potencjalnym podłożem, które pod wpływem czynników chemicznych, fizycznych lub biologicznych może ulec przemianie nowotworowej. Złożoność czynników mogących inicjować, nadawać kierunek a następnie modulować proces nowotworowy odnosi się także do doświadczalnych nowotworów układu nerwowego. Co więcej, wiele z tych czynników może działać w sposób odmienny w różnych okresach czasu.

Badania ostatnich lat dostarczyły pewnych danych dotyczących wybiórczego działania niektórych karcinogenów chemicznych takich jak etylnitrozomocznik i metylnitrozomocznik na układ nerwowy. Wybiórczość ta odnosi się jednak tylko do niektórych gatunków zwierząt.

Działanie czynników fizycznych i chemicznych powoduje prawdopodobnie mutację somatyczną, która na drodze zmiany genotypu jest trwale przekazywana pokoleniom komórek. Tak pojęta mutacja somatyczna obejmuje także skutki działania wirusów onkogennych.

Nowotworzenie wywołane miejscowym zakażeniem wirusami onkogennymi typu DNA i RNA odbywa się na zasadzie zmienionej informacji genetycznej. Uważa się, że wirusy typu DNA wprowadzają zmiany do DNA komórki powodując zaburzenia w sekwencji nukleotydów. Zmiany te są następnie powielane i wywołują trwałe zaburzenia w mechanizmie kontroli wzrostu /Miller i Miller 1971/. Wirusy onkogenne typu RNA powodują podobny efekt na drodze odwrotnego zapisu /"reverse transcription"/ poprzez RNA- zależną polimerazę DNA /Temin i Mizutani 1970, Baltimore 1970/. Nie wyklucza się, że wpływ ten może ujawnić się po długim okresie utajenia, podobnie jak w znanych z patologii ludzkiej chorobach zakaźnych układu nerwowego wywołanych tzw. "powolnymi" wirusami.

Huebner i Todaro /1969/ wysunęli hipotezę, że prawie wszystkie komórki posiadają informację dotyczącą produkcji wirusów RNA typu C, tzw. virogene, która jest przekazywana pokoleniom osobników i komórek, czyli w przekazie pionowym. Część tej informacji, tzw.

oncogene, dotyczy transformacji nowotworowej. Informacja ta w warunkach prawidłowych nie ujawnia się wskutek działania represorów. W okolicznościach zaburzających porządek genotypu informacja zawarta w virogenie powoduje naturalny biologiczny proces nowotworowy wyzwolony przez czynniki dodatkowe.

W procesach nowotworowych stwierdzono zaburzenia metylacji nukleotydów kwasu rybonukleinowego przenoszącego /t-RNA/ na poziomie zasad. Sugerowano, że funkcje nieprawidłowo zmetylowanego t-RNA w syntezie białek ulegają zmianie i w ten sposób prowadzą do nieprawidłowego różnicowania komórek. Podstawę do takich przypuszczeń stanowiły wyniki badań nad zwiększeniem ilości niektórych zmetylowanych zasad purynowych i pirymidynowych t-RNA i błędnej metylacji tych zasad w guzach narządów wewnętrznych wywołanych czynnikami chemicznymi /Magee i Farber 1962, Hancock 1967/, a także w samoistnych nowotworach mózgu człowieka /Viale i wsp. 1967/. Jednocześnie stwierdzono, że aktywność metylaz t-RNA wzrasta w samoistnych nowotworach ludzkich /Tsutsui i wsp. 1966/, a także w glejakach mózgu /Viale i wsp. 1970/ oraz w nowotworach doświadczalnych wywołanych czynnikami chemicznymi w różnych narządach /Pegg i Hawks 1971/. Podwyższenie stopnia metylacji zasad i aktywności metylaz t-RNA nie wyjaśnia jednak przebiegu poszczególnych faz procesu nowotworzenia i powstania nowotworu.

Wpływ karcinogenów chemicznych, które przed laty w warunkach naturalnych wytyczyły kierunek badań nad bezpośrednim związkiem pomiędzy substancjami chemicznymi a powstaniem raka /Pott 1775/,

nie znajduje potwierdzenia w odniesieniu do nowotworów mózgu u człowieka. Przyjmuje się, że w warunkach prawidłowych węglowodory cykliczne nie kumulują się w układzie nerwowym i dlatego nie mogą być przyczyną pierwotnych samoistnych nowotworów mózgu u ludzi /Wechsler 1972/. W warunkach doświadczalnych wykazano niewątpliwą zależność pomiędzy powstawaniem nowotworów a węglowodarami aromatycznymi wprowadzonymi do mózgu. Sposób działania tych związków nie jest wytłumaczony, zwłaszcza że domózgowa implantacja karcinogenu połączona jest z mechanicznym uszkodzeniem mózgu, co dodatkowo komplikuje przebieg procesu.

Wyniki uzyskane przez Seligmana i Sheara /1939/ zapoczątkowały serię badań nad skutkami działania węglowodorów aromatycznych podawanych bezpośrednio do mózgu. Badania te są prowadzone z powodzeniem do chwili obecnej i znacznie przekraczają zakres pionierskich prac morfologicznych. Potrzeba stałego dopływu materiału do badań teoretycznych i praktycznych stymuluje rozwój różnych modeli doświadczalnych guzów mózgu. Guzy te służą do badań etiologii i patogenezy, do badań strukturalnych, histochemicznych i biochemicznych. Dostępne do badań stały się stany utajenia nowotworowego i wczesne okresy nowotworzenia, nieosiągalne w materiale ludzkim.

Mimo zwielokrotnienia metod indukcji nowotworów i rodzajów stosowanych karcinogenów węglowodory cykliczne pozostały nadal najskuteczniejszymi środkami rakotwórczymi dla pewnych gatunków zwierząt. Optimum wyników doświadczalnych uzyskano podając metylo-

cholantren bezpośrednio do mózgu myszy. Przebieg badań w tym zakresie przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1

Chronologiczne zestawienie badań nad doświadczalnymi nowotworami mózgu myszy wywołanymi metylocholantrenem

Seligman, Shear	1939
Zimmerman, Arnold	1940, 1941, 1943, 1944
Peers	1940
Tansley, Wilson	1947
Cohn, Zimmerman	1956
Schiefer	1958, 1964
Kawai	1959
Perese, Moore	1960
Bridges	1960
Aksel, Aykan	1960, 1961, 1962
Rosner	1960, 1966
Kirsch	1963
Wechsler	1963
Haelst, Swaen	1963
Kawai, Ishida, Nagashima, Sato, Niibe	1964
Aksel, Aykan, Noyan, Erbeni	1966
Jänisch	1966, 1967
Karahashi, Sheptak, Moosy, Golding	1966
Zimmerman	1967
Wahal, Ansari	1968
Ushio, Hayakawa, Mogami	1974

Podatność mózgu na nowotworzenie jest różna w poszczególnych szczepach /Zimmerman i Arnold 1941a/ i wśród osobników należących do tego samego szczepu /Zimmerman i Arnold 1941b, Netsky 1964/. Nie stwierdzono zależności wyników od płci zwierząt /Arnold i Zimmerman 1943/, natomiast ustalono, że w młodym wieku podatność na działanie czynników rakotwórczych jest zwiększona /Homburger 1957/. Przyczyny odporności rasowej, szczepowej i osobniczej na miejscowo stosowane karcinogeny są nieznane. Oprócz synergistycznego działania kokarcinogenów, udział innych czynników w powstawaniu nowotworów wzbudzonych chemicznie jest niejasny. Ikuta i Zimmerman /1965/, Zimmerman /1967/ i Popoff i wsp. /1968/ w okresie przednowotworowym stwierdzili obecność tworów wirusopodobnych w cytoplazmie komórek odczynowych wokół implantowanych węglowodorów aromatycznych. W uformowanym nowotworze tych ciał już nie obserwowano. Od tego czasu wielokrotnie spostrzegano ciała wirusopodobne w nowotworach ludzkich i nowotworach doświadczalnych. Nie udało się dotąd rozstrzygnąć, czy ciała te były już uprzednio w tkance, czy ujawniły się pod wpływem karcinogenu, czy są wynikiem interakcji tkanki i karcinogenu, czy tylko "przygodnymi pasażerami". Nieliczne opublikowane obserwacje dotyczące morfologicznych wykładników stanów przednowotworowych i wczesnych stanów nowotworowych w ośrodkowym układzie nerwowym /Jänisch i Schreiber 1969/ nie wnoszą danych bliżej wyjaśniających te procesy.

Klasyfikacja morfologiczna nowotworów doświadczalnych ośrodko-

wego układu nerwowego nastrocza wiele trudności pogłębionych brakiem jednolitej terminologii. W nowszym piśmiennictwie neuro-onkologicznym niektórzy badacze /Wechsler 1972/ zalecają stosowanie terminologii cytogenetycznej jedynie w celach opisowych dążąc do uniknięcia w klasyfikacji nowotworów doświadczalnych implikacji cytogenetycznych i kryteriów prognostycznych ciążyących na diagnostyce guzów u ludzi. Koestner i wsp. /1972/ opierają klasyfikację doświadczalnych guzów tkanki nerwowej na cechach histologicznych i ultrastrukturalnych komórek tworzących nowotwór, a w przypadku nowotworów o mieszanym składzie stosują rozpoznanie kompilacyjne oparte na dominujących typach utkania /np. oligoastrocytoma/. Nisko zróżnicowane guzy są oznaczane jako anaplastyczne, podobnie jak glejak wielopostaciowy, a anaplastyczne glejaki z rozległym rozplemem komórek mezenchymalnych, przekraczającym granice rozplemu odnaczyniowego jako glejako-mięsaki. Liss /1972/ dzieli nowotwory doświadczalne ośrodkowego układu nerwowego na mezenchymalne i neuroektodermalne, z których następnie wydziela parenchymalne i glejowe. Jänisch i Schreiber /1969/ traktują stosowaną przez siebie klasyfikację jako podział oparty na nomenklaturze używanej w diagnostyce u ludzi, ale zawierający odmienną treść. Guzy te dzielą na mezenchymalne, neuroektodermalne /glejaki/, nowotwory mieszane glejowo-mezodermalne /glejako-mięsaki/, guzy korzonków nerwowych, guzy niesklasyfikowane. W klasyfikacji nowotworów doświadczalnych wywołanych substancjami alkylującymi stworzonej przez Zülcha i Mennela /1971/

autorzy dzielą glejaki i wyściółczaki na izomorficzne i polimorficzne.

Podane przykłady klasyfikacji używanych obecnie w neuroonkologii doświadczalnej, odzwierciedlają trudności jakie powstały na skutek braku odniesienia do samoistnych nowotworów mózgu u tego samego gatunku zwierząt. O ile jednak nowotwory doświadczalne mają służyć poznaniu tych właściwości nowotworów ludzkich, które są niedostępne bezpośrednim badaniom, wyniki uzyskane w modelach doświadczalnych powinny być maksymalnie wykorzystane do badań porównawczych.

Wydaje się również, że utrzymanie ogólnych zarysów klasyfikacji histogenetycznej, opartej na szeroko rozpowszechnionym przekonaniu o zachowaniu przez nowotwór cech komórek niżej zróżnicowanych ontogenetycznie, winno ułatwiać jedynie możliwości porozumienia się badaczom o różnych poglądach. Posługiwanie się klasyfikacjami ustalonymi dla nowotworów samoistnych może tylko częściowo ułatwić porozumienie, natomiast kryteria przyjęte dla tych klasyfikacji powinny być traktowane jako hipotezy robocze dopóki badania doświadczalne nie wyjaśnią histogenezy i etiologii procesu nowotworowego.

C E L P R A C Y

Ogólnym celem, do którego prowadzą badania doświadczalnych nowotworów mózgu myszy jest wykorzystanie wyników do poznania właściwości odpowiednich guzów u ludzi, niedostępnych w badaniach bezpośrednich.

Aby przejść do badania poszczególnych zjawisk należało ustalić czy i jakie właściwości morfologiczne i histochemiczne glejaków wzbudzonych metylocholanantrenem u myszy są porównywalne z odpowiednimi cechami glejaków u ludzi.

Podjęto próbę zbadania zjawisk trudnych do prześledzenia w materiale ludzkim i związanych z powstaniem i dynamiką procesu nowotworowego, a mianowicie:

1. Oznaki przemiany nowotworowej w okresie utajenia nowotworowego przed wystąpieniem morfologicznych cech nowotworzenia
2. Kierunek rozwoju odczynu morfologicznego związanego z obecnością karcinogenu
3. Kierunek rozwoju morfologicznego wczesnych ognisk nowotworzenia
4. Sposób szerzenia się glejaków
5. Zależność między właściwościami histoenzymatycznymi i histochemicznymi glejaków, a kształtowaniem się różnych procesów w obrębie nowotworu.

M A T E R I A Ł I M E T O D Y

Materiał doświadczalny stanowiły mózgi i nowotwory mózgu nie-
wsobnych myszy obojga płci szczepu R III i samców szczepu C3H.
Myszom tym w 8 tygodniu życia w dootrzewnowym uspieniu nembutalem
/0,015/ wszczepiano do lewej półkuli mózgu ziarno metylocholan-
trenu /"Lachema", Czechosłowacja/ o wadze około 1 mg /Seligman
i Shear 1939/.

Materiałem kontrolnym były mózgi myszy, którym w identycznych
warunkach wszczepiano domózgowo drobiny grafitu ołówkowego / Po-
lonia 340 HB/.

Od 1 do 20 tygodnia doświadczenia dekapitowano w odstępie ty-
godnia 3 myszy z implantowanym metylocholanantrenem; pomiędzy 20 -
52 tygodniem zwierzęta dekapitowano co drugi tydzień. Do badań
włączono również myszy, które przeżyły ten okres i bądź padały,
bądź ze względu na zły stan ogólny były dekapitowane. Okres ten
trwał do 137 tygodnia doświadczenia.

Myszy kontrolne były zabijane pojedynczo w odpowiednich okre-
sach do 52 tygodnia.

Do badań użyto 480 myszy /347 C3H i 133 R III/. Metylocholan-
tren wszczepiono 407 myszom; grafit 47 myszom, myszy zdrowych
użyto 26.

Do badań morfologicznych, histochemicznych, histoenzymatycz-
nych i biochemicznych w okresie przednowotworowym wykorzystano
mózgi 225 myszy /124 C3H i 101 R III, a wśród nich 184 samce i

41 samic/ ze wszczepionym metylocholanrenem, 47 myszy z grafitem oraz 26 myszy zdrowych.

Do badań mózgow z ogniskami nowotworowymi użyto 182 myszy /169 C3H i 13 R III/.

Badanie histologiczne. Materiał pobierano po dekapitacji lub bezpośrednio po śmierci zwierzęcia. Skrawki parafinowe lub mrożon barwiono rutynowo hematoksyliną-eozyną, a w wybranych przypadkach fioletem krezyłu, wg. metody van Gieson, Mallory, Gridleya, Cajala, Perlisa. Barwienia te stosowano do skrawków mózgow badanych w okresie przednowotworowym jak i do skrawków mózgu z nowotworami.

Badanie histochemiczne /41 przypadków/. Na skrawkach mózgow zwłaszcza zajętych przez nowotwór /33 przypadki/ wykonano odczyny na obecność substancji PAS-dodatnich /Mc Manus i Mowry 1958/, mukopolisacharydów kwaśnych /Bloom i Kelly 1960/, mukopolisacharydów obojętnych /Pearse 1960/ oraz glikogenu /Bulmer 1959/. W celu bliższej identyfikacji mukopolisacharydów stosowano dodatkowo uprzednie trawienie hialuronidazą jądrową lub bakteryjną /Pearse 1960/ i neuraminidazą /Quintarelli i wsp. 1961, Ravetto 1964, Castellani i wsp. 1960/. Barwienia reprezentatywnych typów nowotworów błękitem toluidyny przy pH 3.5, 5.8, 7.4 /Krygier i Kasprzyk 1961/ miało za zadanie bardziej szczegółową charakterystykę kwaśnych mukopolisacharydów.

Badanie histoenzymatyczne /156 przypadków/. Części mózgów pobranych po dekapitacji krojono w kriostacie i używano do badań enzymatycznych. Badano następujące enzymy hydrolityczne: fosfataza zasadowa /Burstone 1962/, fosfataza kwaśna /Barka i Anderson 1963, Burstone 1962/, esteraza nieswoista /Gomori 1952, Holt 1958/, beta-glukuronidaza /Hayashi i wsp. 1964/, aminopeptydaza /Nachlas w modyfikacji Głuszcza 1963a, Burstone i Folk 1956/ oraz enzymy oksydacyjno-redukcyjne: dehydrogenaza mleczanowa /Hess i wsp. 1958/, bursztynianowa /Novikoff 1963/, dehydrogenaza glukozy-6-fosforanu /Hess i wsp. 1958/ i oksydaza cytochromowa /Burstone 1962/.

Badanie w hodowli tkanek. Wycinki niektórych nowotworów /15 guzów/ hodowano wg. metody Kraśnickiej i Mossakowskiego /1965/ do 35 dni. Hodowle komórkowe barwiono błękitem krezyłu, błękitem toluidyny, impregnowano wg metody Gallyasa, wykonano odczyny histochemiczne na substancje PAS-dodatnie, glikogen oraz na tłuszcze /Sudan czarny B/. Przeprowadzono odczyny enzymatyczne na fosfatazę kwaśną /Gomori w modyfikacji Holta 1959/, beta-glukuronidazę, oksydazę cytochromową i wymienione wyżej dehydrogenazy.

Badanie ultrastruktury. Materiał nowotworowy pochodzący z tkanki in situ /9 guzów/ i z hodowli /7 przypadków/ badano w mikroskopie elektronowym. Materiał z hodowli przygotowywano wg metody Borowicza i Kraśnickiej /1971/ i oceniano w mikroskopie elektronowym JEM 7 A.

Badanie ilościowe metylaz t-RNA. Do badań w okresie przedwotworowym użyto 17 myszy doświadczalnych dekapitowanych między 23-89 tygodniem doświadczenia i tę samą liczbę myszy zdrowych w odpowiednim wieku stanowiących materiał kontrolny.

Po dekapitacji i usunięciu metylocholantrenu mózgi z 1-3 zwierząt homogenizowano w temp. 0°C w 3 ml medium zawierającego 0.3 M sacharozę i 1 mM glutation w 0.01 M buforze Tris pH 8.0. Homogenat wirowano przez 1 godz. w 105.000 g w temp. 4°C . Supernatant badano dalej oraz użyto do oznaczania białka metodą Lowry i wsp. /1951/. Mieszanina używana do oznaczania aktywności t-RNA metylaz zawierała w końcowej objętości 0.3 ml: 8 nmoli S-adenozyl-L-metioniny- ^{14}C /Amersham/ o aktywności właściwej 50 m Ci/mM; 25 μ moli Tris-HCl pH 9.0; 0.3 μ mole glutationu; różną ilość supernatantu po wirowaniu przy 105.000 g; 100 μ g t-RNA z Escherichia coli K 12 /General Biochemicals/. Próba kontrolna nie zawierała t-RNA.

Mieszaninę inkubowano w łaźni wodnej w temp. 37°C przez 45 min., po czym reakcję przerywano przez dodanie 1 ml 100% etanolu. Po wychłodzeniu mieszaniny przez 1 godz. w -30°C wirowano ją przy 7000 g przez 20 min. w temp. 4°C . Etanol dekantowano. Osad z dodatkiem 1 ml 1 M NaCl inkubowano mieszając przez 45 min. w temp. 40°C . Po inkubacji roztwór wirowano przy 12.000 rpm przez 20 min. Supernatant w ilości 0.9 ml mieszano z 3 ml zimnego 10% TCA. Po 20 min. chłodzenia w lodzie zawartość każdej próbki filtrowano na sączkach miliporowych /średnica poru 0.45 μ / i przemywano sączek 30 ml 5% TCA. Mierzono aktywność wysuszonych filtrów w 10 ml płynu scyntylicyjnego w liczniku Isocap 300.

W Y N I K I

I. ZMIANY PRZEDNOWOTWOROWE

Badanie morfologiczne

W 185 przypadkach jama po metylocholantrzenie była zlokalizowana w tkance mózgu. U pozostałych 23 zwierząt jamy nie znaleziono, ponieważ metylocholantrzenie był złączony z kością i oponami i wraz z nimi został usunięty w czasie sekcji.

Jama po metylocholantrzenie występowała 119 razy w korze i w zawoju hipokampa /ryc. 1/, a w 12 przypadkach w spoidle wielkim, w istocie białej w zetknięciu ze ścianą komór u 23 myszy, a w zwojach podstawy 3 razy. W 28 przypadkach metylocholantrzenie znaleziono w komorze bocznej.

Odczyn tkanki w bezpośrednim zetknięciu z metylocholantrzeniem.

Po 2 tygodniach doświadczenia ziarno metylocholantrzenia, niezależnie od umiejscowienia, było otoczone warstwą składającą się z komórek o wydłużonych jądrach i z komórek różnokształtnych. Po 30 tygodniach doświadczenia warstwa tych komórek zwiększała się do 2-4 rzędów. Wśród wymienionych komórek znajdowały się nie-liczne komórki o drobnych, okrągłych jądrach oraz komórki o obfitej cytoplazmie przypominające odczynowe astrocyty, przylegające do zewnętrznej warstwy komórek otoczki /ryc. 2/. Od drugiego tygodnia doświadczenia pojawiły się włókna srebrochłonne jako pojedyncze nici ściśle przylegające do metylocholantrzenia, które

w późniejszym okresie grubiały, a ilość ich zwiększała się /ryc. 3/. W żadnym okresie doświadczenia nie obserwowano włókien kolagenowych. Między wymienionymi elementami otoczki często spotykano makrofagi.

Odczyn tkanki w otoczeniu metylocholantrenu.

Na zewnątrz otoczki wokół metylocholantrenu napotymano małe ogniska martwicy i odczyn glejowy. Ogniska martwicy utrzymywały się podczas trwania całego doświadczenia. Wygląd ich się nie zmieniał, a w brzegach ognisk występował słabo zaznaczony odczyn zapalny. Tylko w pierwszym tygodniu doświadczenia w tej strefie były widoczne pojedyncze leukocyty.

Odczyn otaczającej tkanki w dużym stopniu zależał od lokalizacji metylocholantrenu. Wokół ognisk umiejscowionych w korze obserwowano pomnożenie komórek mikrogleju, z których nieliczne miały kształt pałeczkowaty lub kolbowaty. Odczyn mikrogleju miał różne nasilenie i utrzymywał się w czasie całego doświadczenia. Towarzyszył mu umiarkowany odczyn astrocytów /ryc. 4/, które po impregnacji uwidoczniały się wyraźnie już od 3 tygodnia doświadczenia.

W przypadku umiejscowienia metylocholantrenu w istocie białej odczyn astrocytów był znaczny i polegał przede wszystkim na ich przeroście. Zmiany te nasilały się w miarę upływu czasu /ryc. 5/.

Implantacja metylocholantrenu w pobliżu lub w zetknięciu ze ścianą komory bocznej powodowała poza opisanym odczynem słaby rozplem gleju podwyściółkowego i ograniczony, miejscowy rozplem

komórek wyściółki do 2-3 warstw. Przy śródkomorowej lokalizacji metylocholantrenu odczyn polegał na wytworzeniu cienkiej otoczki złożonej z wydłużonych komórek pochodzenia mezodermalnego. Splot naczyniasty był zwykle przemieszczony, a komórki jego podłoża zawierały brązowy barwnik.

Odczyn tkanki odległej od metylocholantrenu.

W istocie białej stwierdzono rozluźnienie układu włókien w strukturach odległych od karcinogenu, a nawet przechodzące na przeciwległą półkulę. Komórki oligodendrogleju układały się paciorkowato pomiędzy pasmami włókien nerwowych. Przerost i rozplem astrogleju był szczególnie nasilony w spoidle wielkim, a zwłaszcza w jego częściach brzeżnych.

Odczyn ze strony układu naczyniowego.

W pierwszych tygodniach doświadczenia zmiany w naczyniach włosowatych w pobliżu metylocholantrenu polegały na obrzęku komórek śródbłonka, poszerzeniu przestrzeni okołonaczyniowych i rozrzedzeniu otaczającej je tkanki. Od 5 tygodnia objawy obrzęku okołonaczyniowego ustępowały, utrzymywał się natomiast obrzęk komórek śródbłonka. Od 7 tygodnia rysunek naczyń włosowatych był silnie zaznaczony, głównie z powodu wybitnej nadbarwliwości jąder komórek śródbłonka. Pomiędzy 11-30 tygodniem stan ten utrzymywał się, a w niektórych przypadkach dołączyło się dyskretne pomnożenie komórek śródbłonka.

Odczyn tkanki w otoczeniu grafitu /grupa kontrolna/.

Rozmieszczenie grafitu w poszczególnych okolicach mózgu odpowiadało umiejscowieniu metylocholantrenu. Ziarno grafitu znaleziono w korze mózgu u 39 zwierząt, przykomorowo w 2 przypadkach, w świetle komory bocznej 4-krotnie, w zwojach podstawy u 1 myszy. W jednym przypadku nie ustalono lokalizacji.

W mózгах zwierząt kontrolnych nie stwierdzono nigdy otoczki wokół ziarna grafitu /ryc. 6/. W bezpośrednim otoczeniu grafitu znajdowano zwykle małe ognisko martwicy otoczone makrofagami. Od 5 tygodnia makrofagi zawierały brązowy barwnik krwiopochodny albo sfagocytowane cząstki grafitu.

Dyskretny odczyn glejowy wokół grafitu pojawiał się w 4 tygodniu doświadczenia i polegał na pomnożeniu komórek mikrogleju i pojawieniu się jego postaci pałeczkowatych. Odczynowe astrocyty występowały skąpo. Odczyn glejowy był bardziej nasilony w istocie białej niż szarej, ale nie dorównywał odczynowi występującemu w otoczeniu metylocholantrenu /ryc. 7/. Rozluźnienie włókien istoty białej ograniczało się tylko do bliskiego otoczenia grafitu.

Zmiany w układzie naczyniowym polegały na pogrubieniu śródbłonek i występowały między 1-7 tygodniem doświadczenia. Jedynie w dwu przypadkach po 33 tygodniach nastąpił rozrost sieci naczyń włosowatych wokół grafitu.

Badanie histochemiczne

Komórki tworzące otoczkę wokół metylocholantrenu nie wykazywały substancji PAS-dodatnich. Na zewnątrz otoczki substancje PAS-

dotądnie występowały w cytoplazmie odczynowych astrocytów i makro-fagów. Komórki mikrogleju były PAS-ujemne. Zawartość substancji PAS-dodatnich w komórkach podłoża spłotu naczyniastego nie ulegała zmianie po zetknięciu się z metylocholan-trenem.

Dodatni odczyn na mukopolisacharydy obojętne występował w cytoplazmie odczynowych astrocytów i pojedynczych neurocytów.

Mukopolisacharydy kwaśne nie uwidoczniły się w elementach komórkowych wokół jamy po metylocholan-trenie. Barwienie błękitem Astra ujawniało ich obecność w cienkich włókienkach odpowiadających włóknom srebrochłonny-m i w obszarach objętych obrzękiem jako błękitne smugi.

Ziarnistości glikogenu występowały jedynie w odczynowych astrocytach i w makro-fagach wokół metylocholan-trenu. Umiarkowana zawartość glikogenu w splocie naczyniastym w zetknięciu z karcinogenem nie ulegała zmianie.

Odczyn na zawartość substancji PAS-dodatnich i mukopolisacharydów obojętnych w ścianach naczyń w pobliżu jamy po metylocholan-trenie nie różnił się od odczynu w naczyniach przeciwległej nieuszkodzonej półkuli. Dodatni odczyn na mukopolisacharydy kwaśne w ścianach naczyń występował rzadko, przeważnie w polach obrzęku.

Badanie histoenzymatyczne

Badania przeprowadzono na 94 móz-gach zwierząt doświadczalnych i 33 kontrolnych.

Fosfataza zasadowa. Niezależnie od umiejscowienia metylocholantrenu śródbłonki pobliskich włósniczek wykazywały wybitne różnice w aktywności enzymu. Zmiany polegały bądź na braku odczynu lub jego obniżeniu w stosunku do materiału kontrolnego, bądź też na braku aktywności w części naczynia bliższej karcinogenu ze stopniowym wzrostem w części bardziej oddalonej /ryc. 8/. Niska aktywność enzymu obserwowana od początku doświadczenia stopniowo malała do 7 tygodnia. Od tego czasu zmiany utrzymywały się we wszystkich przypadkach na jednakowym poziomie do końca doświadczenia. Zmiany w natężeniu odczynu występowały w naczyniach o prawidłowych śródbłódkach, ze śródbłódkami pogrubiłymi i ze śródbłódkami proliferującymi. Nasilenie zmian enzymatycznych było uwarunkowane odległością naczynia od metylocholantrenu, ale obszar tkanki o zmienionej aktywności naczyń był zwykle większy w istocie białej. Aktywność fosfatazy zasadowej w komórkach spłotu naczyniastego nigdy nie ulegała zmianie w zetknięciu z metylocholantrinem.

Odczyny wykonane u zwierząt kontrolnych nie wykazały w żadnym okresie trwania doświadczenia braku lub nierównomiernej aktywności enzymatycznej śródbłódków naczyń /ryc. 9/.

Fosfataza kwaśna. Otoczka komórkowa wokół metylocholantrenu przez cały okres doświadczenia wykazywała silny odczyn enzymatyczny /ryc. 10/. Od 10 tygodnia zaznaczała się aktywność enzymu w ciałach i wypustkach odczynowych astrocytów. W spoidle wielkim,

w przypadku umiejscowienia w nim metylocholantrenu, od 6 tygodnia pojawiał się wzdłuż włókien różowy, dyfuzyjny odczyn enzymatyczny i w tej postaci utrzymywał się do końca doświadczenia. Astrocyty w spoidle wielkim ujawniały silny odczyn. Neurocyty w bezpośrednim otoczeniu metylocholantrenu wykazywały śladową aktywność enzymu. Komórki splotu naczyniastego nie zmieniały swoich właściwości enzymatycznych w zetknięciu z karcinogenem.

U zwierząt kontrolnych aktywność fosfatazy kwaśnej w komórkach nerwowych i w komórkach splotu naczyniastego pozostających w styczności z grafitem nie ulegała zmianie /ryc. 11/. Cytoplazma odczynowych astrocytów wykazywała wysoką aktywność enzymu. Dyfuzyjny odczyn w istocie białej narastał do 17 tygodnia doświadczenia i na tym poziomie utrzymywał się do końca obserwacji.

Esteraza nieswoista. Rozmieszczenie i nasilenie odczynu enzymatycznego w materiale doświadczalnym i kontrolnym było podobne do odczynu na fosfatazę kwaśną.

Aminopeptydaza. W przebiegu całego doświadczenia ziarniste i dyfuzyjne produkty reakcji występowały w wydłużonych i różnokształtnych komórkach otoczki, w odczynowych astrocytach i makrofagach /ryc. 12/.

W skrawkach mózgów kontrolnych aktywność aminopeptydazy ujawniała się tylko w makrofagach.

Beta-glukuronidaza. Cytoplazma komórek otoczki wokół metylocholantrenu wykazywała silny odczyn enzymatyczny pod postacią

ziarnistych lub dyfuzyjnych produktów reakcji.

Odczynowe astrocyty również wykazywały znaczną aktywność, niższą jednak niż makrofagi. W pericytach włóśniczek w pobliżu karcinogenu odczyn enzymatyczny był silny /ryc. 13/, podobnie jak w naczyniach mózgow kontrolnych. Cytoplazma oligodendrocytów w polach obrzęku w pobliżu ogniska zawierała produkty reakcji enzymatycznej.

Oksydaza cytochromowa. Komórki otoczki karcinogenu nie wykazywały odczynu enzymatycznego. W elementach komórkowych znajdujących się w najbliższym otoczeniu jamy obserwowano słaby odczyn enzymatyczny /ryc. 14/.

Dehydrogenaza mleczanowa. Nasilenie odczynu w komórkach otoczki nie różniło się od odczynu otaczającej tkanki, ale gdy do jamy przylegało ognisko martwicy, odczyn wokół niego był wzmożony. Cytoplazma odczynowych astrocytów wykazywała silny odczyn enzymatyczny /ryc. 15/, podobnie jak paciorkowato ułożone komórki oligodendrogleju. W zetknięciu z metylocholanantrenem komórki spłotu naczyniastego zachowywały niezmienną aktywność.

Dehydrogenaza bursztynianowa. W neuropilu wokół karcinogenu odczyn enzymatyczny był bardzo niski. Ciała przerosłych astrocytów wykazywały wysoki odczyn, podczas gdy odczyn w cytoplazmie oligodendrocytów był śladowy. Aktywność komórek spłotu naczyniastego nie zmieniała się.

Dehydrogenaza glukozy-6-fosforanu. Odczyn enzymatyczny w

cytoplazmie neuronów i komórek glejowych oraz w neuropilu był niższy wokół karcinogenu niż w bardziej oddalonych strukturach.

Badanie ilościowe metylaz t-RNA

W próbach pochodzących z mózgow 9 myszy ze wszczepionym metylocholanantrenem stwierdzono w 8 przypadkach podwyższenie aktywności właściwej enzymu w porównaniu z aktywnością uzyskaną z mózgow zwierząt prawidłowych w odniesieniu do egzogenego substratu czyli niezmetylowanego t-RNA /tabela 2/.

Tabela 2

Aktywność metylaz t-RNA w mózgach myszy ze wszczepionym metylocholanantrenem i w mózgach myszy kontrolnych wyrażona w impulsach / min / mg białka po odliczeniu impulsów przypadających na aktywność endogenego t-RNA

Czas doświadczenia /tygodnie/	Materiał	
	doświadczalny	kontrolny
23	806	756
26	2930	2404
28	3124	2556
34	4980	4098
37	3942	2845
58	2696	2038
78	3334	3388
81	6500	6180
89	3364	2850

II. NOWOTWORY

Ogólna charakterystyka materiału

Za podstawę oceny guzów przyjęto kryteria podziału ludzkich nowotworów mózgu ustalone przez Zülcha i Christensen /1956/. W toku badań klasyfikacja ta okazała się niewystarczająca zarówno w odniesieniu do nazewnictwa jak i uwzględnienia wszystkich zjawisk morfologicznych, w związku z czym korzystano z podziału Głuszcza /1972/, a w stosunku do gwiaździaków stosowano kryteria Kernohana i Sayre /1952/. Spowodowało to, że terminologia używana w pracy przekracza ramy oryginalnych klasyfikacji. Uwzględnienie tych przesłanek pozwala na możliwie wierne przedstawienie charakteru opisywanych nowotworów i porównanie ich z guzami u ludzi.

Badania morfologiczne objęły myszy, u których stwierdzono wyłącznie nowotwory mózgu lub nowotwory mózgu z komponentą zewnątrz-mózgową. Do badań nie włączono zwierząt, u których nowotwory występowały tylko pozamózgowo, ani tych u których guzy mózgu pochodziły wyłącznie z tkanki mezodermalnej.

Część uzyskanych wyników opublikowano uprzednio /Kroh 1969, 1970 a,b, 1972, Kroh i wsp. 1973 a,b, 1976, Kroh i Szumańska 1971, Kroh i Renkawek 1973, Renkawek i wsp. 1972, Szumańska i Kroh 1975/.

Zgodnie z przedstawionymi założeniami nowotwory podzielono na dwie główne grupy: glejaki i glejako-mięsaki.

Do glejaków włączono glejaki szeregu astrocytarnego, szeregu oligodendroglejowego, wyściółczaki, glejaki złożone i mieszane, glejaki niezróżnicowane.

Glejakami złożonymi nazwano nowotwory składające się z pól komórek pochodzących z różnych szeregów glejowych, leżących obok siebie lub nieznacznie przenikających swoje terytoria.

Nazwę glejaków mieszanych zastosowano do nowotworów składających się z komórek pochodzących z odmiennych populacji glejowych układających się naprzemiennie.

Glejaki niezróżnicowane odpowiadały swoimi cechami guzom należącym do grupy III/B wg klasyfikacji Głuszcza /1972/ tj. charakteryzował je anaplastyczny typ wzrostu wyrażający się przewagą rozplemu komórek nad ich różnicowaniem, brak właściwości histoformalnych i niezidentyfikowany typ komórek.

Kilku przypadków nie udało się zaklasyfikować.

Do nowotworów włączono również grupę mikroguzów, których z powodu wczesnego stadium rozwoju nie można było zaszeregować do żadnej z wymienionych grup. Udział poszczególnych rodzajów guzów w przebadanym materiale przedstawia tabela 3.

Tabela 3

Liczbowy i procentowy udział poszczególnych typów nowotworów w badanym materiale

Typ nowotworu	Liczba przypadków	%	
Gwiaździaki I ^o , II ^o , III ^o , Gwiaździaki płodowe	39	23.78	
Glejaki wielopostaciowe	31	18.90	
Skąpodrzewiaki	17	10.36	
Wyściółczaki	28	17.08	
Glejaki złożone i mieszane	12	7.31	
Glejaki niezróżnicowane	3	1.82	
Glejaki niesklasyfikowane	4	2.43	
Glejako-mięsaki	30	18.30	
	Razem	164	100.00
Mikroguzy	18		

Wielu nowotworom śródmózgowym /60/ towarzyszyły zewnątrzmożgowe guzy, które po przejściu przez otwór trepanacyjny lub zniszczeniu kości tworzyły niekiedy rozległe nacieki w powłokach czaszki. Budowa tych guzów była bądź identyczna z śródmózgową częścią, bądź w skład utkania wchodziły dodatkowo proliferujące tkanki powłok lub też guzy miały charakter mięsaków wywodzących się z powłok.

Tabela 4

Liczba i rodzaj nowotworów zewnątrzmożgowych towarzyszących poszczególnym typom guzów śródmózgowych

Liczba przypadków	Nowotwór śródmózgowy	Liczba przypadków	Nowotwór zewnątrzmożgowy
1	Gwiaździak I ^o	-	-
19	Gwiaździak II ^o	9	8 gwiaździaków z domieszką komórek mezodermalnych, 1 mięsak wrzecionowatokomórkowy
14	Gwiaździak III ^o	10	9 gwiaździaków, 1 mięsak wrzecionowatokomórkowy
5	Gwiaździak płodowy	2	1 glejako-mięsak, 1 mięsak wrzecionowatokomórkowy
31	Glejak wielopostaciowy	8	6 glejaków wielopostaciowych, 2 glejako-mięsaki
17	Skąpodrzewiak	4	4 skąpodrzewiaki
28	Wyściółczak	19	14 wyściółczaków, 5 glejako-mięsaków
12	Glejak złożony i mieszany	5	3 wyściółczaki, 1 glejak wielopostaciowy, 1 glejako-mięsak
3	Glejak niezróżnicowany	2	1 glejak, 1 mięsak wrzecionowatokomórkowy
4	Glejak niesklasyfikowany	1	jak śródmózgowy
30	Glejako-mięsak	12	2 glejako-mięsaki, 10 mięsaków wrzecionowatokomórkowych
18	Mikroguzy	5	5 mięsaków wrzecionowatokomórkowych

Tabela 5 przedstawia czas przeżycia zwierząt z poszczególnymi rodzajami nowotworów śródmózgowych.

Tabela 5

Sredni czas przeżycia w poszczególnych rodzajach nowotworów ^x

Rodzaj guza	Liczba przy- padków	Padło	Sredni czas prze- życia /tygodnie/	Deka- pito- wano	Sredni czas prze- życia /tygodnie/
Gwiaździak I	1	-		1	81.0
Gwiaździak II	19	8	50.7	11	42.1
Gwiaździak III	14	3	52.0	11	45.6
Gwiaździak płodowy	5	2	47.0	3	41.1
Glejak wieloposta- ciowy	31	17	52.9	14	46.1
Skąpodrzewiak	17	17	53.3		
Wyściółczak	28	6	38.3	22	45.3
Glejak niezróżnicowany	3	2	41.0	1	28.0
Glejak złożony	12	6	37.1	6	43.0
Glejak niesklasy- fikowany	4	3	38.0	1	27.0
		Srednia	45.9		
Glejako-mięsak	30	11	43.5	19	41.3
Meniנגeogluzy	18	7	53.4	11	36.8

^{x/} Sredni czas przeżycia obliczono zarówno dla zwierząt, które padły samoistnie jak i dla tych, które dekapitowano.

Ustalenie lokalizacji metylocholantrenu w poszczególnych typach nowotworów było trudne. W większości przypadków jamy nie udało się odnaleźć. O ile jamę odnaleziono, była ona otoczona naciekiem nowotworowym, czasem tak zniekształcającym mózg, że identyfikacja struktury anatomicznej była niemożliwa.

Tabela 6

Lokalizacja metylocholantrenu w poszczególnych typach nowotworów

Typy nowotworów	Liczba przypadków	Liczba zlokalizowanych ognisk	Struktura zajęta przez nowotwór		Guz
			Komora mózgu	Komora boczna	
Szereg astrocytarny	70	25	23	1	1
Szereg oligodendroglejowy	17	7	3	3	1
Wyściółczaki	28	8	-	8	-
Glejaki złożone	12	4	2	2	-
Glejako-mięsaki	30	9	2	1	6
Mikroguzy	18	18	10	1	7 ⁺

⁺ Ziarno metylocholantrenu stykało się z korą, istotą białą i komorą mózgu

1. Mikroguzy

Niewielkie skupienia komórek nowotworowych wokół jamy po metylocholantrenie stwierdzono w mózгах 18 myszy pomiędzy 17-103 tygodniem doświadczenia.

Badanie morfologiczne

Ogniska nowotworzenia wokół karcinogenu nie miały cech stałych. Najczęściej występowały one w postaci kilku-kilkudziesięciu polimorficznych komórek o nadbarwliwych jądrach leżących pośród licznych komórek mikrogleju, w tym również pałeczkowatego, bezpośrednio na zewnątrz glejowo-łącznotkankowej otoczki jamy. Takie małe gniazda komórek leżały pojedynczo lub w kilku skupieniach wokół otoczki /ryc. 16/.

W przypadkach śródkomorowego ułożenia karcinogenu, tuż na zewnątrz otoczki znajdowano okrągłe komórki, o nadbarwliwych jądrach, skupione w małe gniazda lub tworzące dodatkowe warstwy otoczki. Zmianom tym towarzyszył nieznaczny rozplem podścieliska spłotu naczyniastego, wyściółki komory i gleju podwyściółkowego /ryc. 17/.

W większości przypadków komórki nowotworowe nie miały cech histologicznych, które pozwoliłyby ustalić ich przynależność. Jedynie w dwu przypadkach charakter zmian wykazywał wyraźnie ich mezodermalne pochodzenie, zwłaszcza przy współistniejącym rozplemie ścian naczyniowych, z których oddzielały się komórki olbrzymie /ryc. 18, 19/.

W dwu przypadkach komórki drobne, okrągłojądrzaste tworzyły luźno skupione ogniska. Wygląd komórek i sposób układania się mógł wskazywać na glejowe pochodzenie mikroguzów /ryc. 20, 21/. Towarzyszyły im drobne, a czasami duże ogniska krwotoczne układające się pomiędzy komórkami lub na pograniczu z mózgiem. We wczesnych okresach nowotworzenia komórki leżące bezpośrednio przy otocze nie impregnowały się sposobem Cajala.

W bliżnie glejowo-łącznotkankowej w korze dwukrotnie obserwowano rozplem nowotworowy elementów pochodzenia glejowego i mezodermalnego.

Badanie histochemiczne

Obfita ilość substancji PAS-dodatnich i glikogenu występowała w cytoplazmie wrzecionowatych komórek mikroguzów typu mezodermalnego /ryc. 22/. W skupieniach komórek nowotworowych typu glejowego nie obserwowano substancji PAS-dodatnich i glikogenu z wyjątkiem cytoplazmy dużych komórek bezpośrednio otaczających jamę.

Badanie histoenzymatyczne

Odczyn na fosfatazę zasadową nie występował ani w śródbłonkach naczyń wokół karcinogenu ani w gniazdach komórek nowotworowych /ryc. 23/.

Aktywność fosfatazy kwaśnej była umiarkowana lub dość wysoka w większości komórek nowotworowych /ryc. 24/.

Odczyn na esterazę nieswoistą w komórkach nowotworowych był niski, a odczyn na aminopeptydazę nie występował wcale.

2. Glejaki

A. Glejaki szeregu astrocytarnego

a. Gwiaździaki

Grupa ta obejmuje nowotwory mózgu, które według podziału Kernohana odpowiadają gwiaździakom I, II, III stopnia. Spośród nich wydzielono guzy, które według klasyfikacji Zülcha przypominają gwiaździaki płodowe.

Badanie morfologiczne

G w i a ź d z i a k I^o /1 przypadek/. Bardzo rozległy guz rozciągał się od jamy po karcinogenicie naciekając bezładnie prawie całą półkulę /ryc. 25/. Przeważały komórki o słabo barwiących się jądrach, izomorficzne, które po impregnacji wydawały się drobne i bezwypustkowe /ryc. 26/. W utkaniu występowały dość liczne komórki oligodendrogleju. Figur podziału nie obserwowano. Ściany naczyń w obszarze nowotworu nie wykazywały zmian. Ogniska martwic i ogniska krwotoczne nie występowały.

G w i a ź d z i a k II^o /19 przypadków/. Cechą wspólną tej grupy gwiaździaków było rozległe naciekanie nowotworowe mózgu. Guzy zajmowały przeważnie duże obszary naciekając korę obydwu półkul i przerastając szczelinę podłużną mózgu, innym razem zajmowały jedną półkulę wrastając w jądra podstawy i pień mózgu, obrastały komory boczne i wnikały do ich światła oraz przerastały opony mózgu. Czasem np. w spoidle wielkim naciek posuwał się

wzdłuż struktur anatomicznych /ryc. 27/, a wówczas komórki nowotworu ulegały spłaszczeniu i wydłużeniu. Niekiedy naciek rozprzestrzeniał się bezładnie /ryc. 28/. Guzy miały umiarkowane zagęszczenie komórkowe, ale napotymano również pola o większej gęstości /ryc. 29/. Większe zagęszczenia komórkowe spostrzegano w korze. Wybitna satelitoza okołoneuronalna występowała w 1/3 przypadków.

Komórki nowotworowe odznaczały się mierną barwliwością jąder, średnią wielkością i izomorfizmem /ryc. 30/. W każdym guzie można było znaleźć pośród stosunkowo jednostajnego utkania kilkanaście dużych komórek. Po zastosowaniu metody impregnacyjnej uwidoczniła się przewaga komórek bezwypustkowych /ryc. 31/. Mniej liczne komórki miały krótkie, śladowe wypustki. Nieliczne figury podziału były obecne w 4 przypadkach.

Na brzegach nowotworów występował wał utworzony przez odczynowe astrocyty o dużych perikariach i dobrze rozwiniętych, długich wypustkach /ryc. 32/. Takie astrocyty spotykano również w obszarze guzów i w I warstwie kory, w pobliżu nowotworu. W przeciwieństwie do odczynowych astrocytów na obwodzie guza, nie stwierdzano by astrocyty zachowane w obszarze guza miały łączność z naczyńcem.

W dwu przypadkach wśród luźnego, bezładnego utkania nowotworu występowały gniazda komórek ostro odgraniczone od reszty guza, o zbitej budowie, o girlandowatym układzie komórek, które tworzyły wieńce okołonaczyniowe. Te gniazda były usiane dzielącymi się

komórkami, przeciwnie niż podstawowe utkanie nowotworu.

Zwyrodnienie torbielkowe występowało w małych obszarach kilku gwiazdziaków /ryc. 33/. Ogniska martwicy spotkano w jednym guzie. Krwinkotoki i ogniska krwotoczne były przeważnie umiejscowione w centralnych częściach nowotworów, ale również układały się na pograniczu mózgu i guza.

G w i a ź d z i a k i III^o /14 przypadków/. Guzy te charakteryzował naciekający wzrost, nierównomierne zagęszczenie i bezładny układ komórek. W większości przypadków /10/ występował znaczny polimorfizm komórkowy /ryc. 34/. Ilość mitoz wahała się od umiarkowanej do obfitej, która cechowała większość guzów /11/.

Obraz impregnowanych komórek nie różnił się zasadniczo od spostrzeganych w gwiazdziakach II^o, jednak ciała komórek były bardziej niekształtne, ubogowypustkowe lub pozbawione wypustek. Satelitoza neuronalna występowała rzadko /2 guzy/.

Ogniska krwotoczne o różnej wielkości obserwowano w obszarze nowotworów w połowie przypadków. Rzadziej towarzyszyły im ogniska krwotoczne leżące w bezpośredniej styczności z guzem lub w pewnym oddaleniu od nowotworu. Ogniska martwicy spostrzegano rzadko. Tylko jeden guz miał rozpoczynające się zwyrodnienie torbielkowe.

W większości przypadków /10/ ściany naczyń nie wykazywały zmian. Tylko w 3 przypadkach ściany naczyń guza miały wzmożony rysunek lub wykazywały nieznaczny rozplem elementów mezodermalnych łącznie z włóknami srebrochłonnymi. Niekiedy obserwowano

zagęszczenie komórek nowotworowych wokół naczyń, a nawet wieńce typowe dla gwiaździka płodowego.

Badanie w hodowli tkanek

W hodowli tkankowej przeprowadzono badania wyłącznie gwiaździków III^o. Komórki tych nowotworów rosły szybko i rozlegle, cechował je znaczny polimorfizm. Posiadały one obfitą cytoplazmę, wyraźnie zarysowaną błonę komórkową, a ich wypustki bardziej rozwinięte niż w guzach macierzystych miały różną długość i grubość /ryc. 35/. Jądra zawierały zmienną ilość chromatyny. Komórki olbrzymie i wielojądrzaste występowały bardzo licznie. Często obserwowano komórki w trakcie podziału. Cechy powyższe występowały ze zmiennym nasileniem w poszczególnych hodowlach. W późnym okresie /4 tygodnie/ niektóre hodowle wykazywały oprócz nasilonego polimorfizmu znaczne zmiany wsteczne.

W obrazie ultrastruktury stwierdzono, że komórki guza charakteryzują się niską gęstością elektronową. Jądra owalne lub okrągłe zawierały umiarkowaną ilość drobnogrudkowej chromatyny, niekiedy skupionej pod otoczką jądrową. Jąderka były słabo odgraniczone. Organelle cytoplazmatyczne występowały w umiarkowanej ilości, jedynie mitochondria zwracały uwagę swoim dużym rozmiarem /ryc.36/. Gliofibryle były obecne w większości komórek; w pobliżu jądra leżały pojedynczo i bezładnie, a w wypustkach układały się w pasma. W cytoplazmie nielicznych komórek napotymano cząstki, o jednakowym wyglądzie i średnicy ok. 500 Å, okrągłe, składające się z elektronowo gęstego pierścienia otaczającego bardziej

przezierny rdzeń. W niektórych cząstkach spostrzegano drugi, subtelniej zarysowany pierścień występujący tuż pod pierścieniem zewnętrznym /ryc. 37/. Rybosomy miały tendencję do układania się wokół tych cząstek nadając im wygląd koła zębatego. Cząstki te tworzyły skupienia składające się z kilku do kilkudziesięciu elementów i zawsze leżały w przejaśnionym polu cytoplazmy. Cząstek tych nie widziano w wypustkach ani w przestrzeni międzykomórkowej.

G w i a ż d z i a k i p ł o d o w e /5 przypadków/.

Wszystkie guzy charakteryzowały się bardzo ostrym odgraniczeniem od tkanki mózgu i litym utkaniem /ryc. 38/. Zajmowały one przede wszystkim korę i okolice komór mózgu, niekiedy je przerastając. Guzy składały się z komórek średniej wielkości, o umiarkowanie barwliwych jądrach z charakterystycznymi układami okołonaczyniowymi /ryc. 39, 40/. Nasilenie polimorfizmu było zmienne. Ilość mitoz wahała się od pojedynczych do bardzo licznych.

Impregnacja wg metody Cajala uwidoczniała komórki o różnej wielkości, różnym stopniu impregnacji, w większości pozbawione wypustek lub z wypustkami szczątkowymi. Granicę guza wyznaczały odczynowe astrocyty o obfitej cytoplazmie i długich wypustkach.

Naczynia nowotworu były niezmiennione, cienkościenne. Ogniska martwicy spotykano przeważnie w obwodowych częściach guzów. Ogniska krwotoczne występowały w centralnych i obwodowych częściach nowotworów.

Badanie histochemiczne

Cytoplazma większości komórek gwiazdziaków *in vivo* nie zawierała substancji PAS-dodatnich. Odczyn dyfuzyjny lub ziarnisty o nierównomiernym nasileniu występował w komórkach przypominających gemistocyty /ryc. 41/. Komórki w stanie podziału nigdy nie zawierały substancji PAS-dodatnich. W niektórych polach gwiazdziaków pomiędzy komórkami występowały pasmowate skupienia substancji PAS-dodatnich. Ściany naczyń guzów wykazywały dodatni odczyn PAS, o nasileniu nieco niższym niż ściany naczyń w mózgu niezmiennym.

W hodowli tkanek ziarnistości PAS-dodatnie występowały obficie w cytoplazmie komórek wielojądrzastych i olbrzymich. Pozostałe komórki zawierały zmienną ilość substancji PAS-dodatnich /ryc.35/.

Odczyny na mukopolisacharydy obojętne wypadają umiarkowanie dodatnio w cytoplazmie gemistocytów i w przestrzeniach międzykomórkowych tkanki *in vivo*. Odczyn w ścianach naczyń guzów był zwykle dość wysoki. Uprzednie trawienie neuraminidazą powodowało obniżenie odczynu.

Odczyn na mukopolisacharydy kwaśne wykazywał obecność tych substancji w przestrzeniach międzykomórkowych, szczególnie w centralnych częściach guzów. Trawienie neuraminidazą powodowało obniżenie odczynu na mukopolisacharydy kwaśne. Trawienie hialuronidazą jądrową znosiło całkowicie odczyn, podczas gdy trawienie hialuronidazą bakteryjną prowadziło jedynie do obniżenia odczynu.

Barwienie błękitem toluidyny ujawniło różne powinowactwo komórek gwiazdziaków do barwnika o zmiennym pH. Przy pH 5.8 występowało różowe, metachromatyczne zabarwienie cytoplazmy i substancji w przestrzeniach międzykomórkowych, natomiast przy pH 7.4 metachromazja cytoplazmy malała.

Nie wykazano glikogenu w komórkach gwiazdziaków ani *in vivo* ani *in vitro*.

Badanie histoenzymatyczne

Aktywność fosfatazy zasadowej w naczyniach guzów była bardzo niska lub nie występowała wcale /ryc. 42/. Jedynie w gwiazdziaku płodowym zarówno komórki jak i ściany naczyń wykazywały umiarkowany dyfuzyjny odczyn. W polach zwyrodnienia torbielkowego nie stwierdzano aktywności enzymatycznej w ścianach naczyń.

Aktywność fosfatazy kwaśnej była bardzo niska w cytoplazmie komórek nowotworowych niezależnie od stopnia ich zróżnicowania, natomiast wzrastała w komórkach nacieku korowego i w astrocytach odczynowych na pograniczu guza. W polach zwyrodnienia torbielkowego wszystkie komórki, niezależnie od stopnia zaawansowania zmian wstecznych, wykazywały śladową aktywność enzymu.

W hodowli tkanek aktywność fosfatazy kwaśnej wykazywała nasilenie w poszczególnych komórkach, przy czym najwyższą aktywność miały zwykle komórki olbrzymie i wielojądrzaste.

Odczyn na esterazę nieswoistą był dodatni w cytoplazmie pojedynczych komórek nowotworu /ryc. 43/.

Odczyn na aminopeptydazę nie występował w utkaniu gwiazdzia-
ków.

Produkty reakcji enzymatycznej na beta-glukuronidazę w postaci
ziarnistej lub dyfuzyjnej obserwowano tylko w niektórych komór-
kach gwiazdziaaków III^o /ryc. 44/; gwiazdziaaki wyżej zróżnicowane
wykazywały aktywność enzymatyczną jedynie w pericytach naczynio-
wych podobnie jak w mózgu prawidłowym.

W hodowli tkanek w komórkach gwiazdziaaka III^o stwierdzono wy-
soką aktywność enzymu w cytoplazmie licznych komórek. Odczyn dy-
fuzyjny lub ziarnisty miał różne nasilenie, najwyższe w komórkach
wielojądrzastych /ryc. 45/.

Aktywność dehydrogenazy mleczanowej ujawniała się pod postacią
ziarnistych produktów reakcji w cytoplazmie komórek i w neuro-
pilu, a natężenie odczynu było dość wysokie, jednolite. W komór-
kach hodowanych aktywność enzymu była również wysoka.

W porównaniu z aktywnością prawidłowej tkanki nerwowej, aktywność dehydrogenazy bursztynianowej w komórkach *in vivo* była bardzo niska, natomiast w hodowanych komórkach nowotworowych - nieco wyższa.

Aktywność dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu w gwiazdziaakach II^o i III^o była niska /ryc. 46/. Nasilenie aktywności tego enzymu zajmuje miejsce pośrednie między aktywnością dehydrogenazy mleczanowej a bursztynianowej - zarówno w materiale z tkanki jak i z hodowli. Komórki pochodzące z hodowli miały aktywność nieco wyższą niż komórki *in vivo*.

Komórki gwiazdziaka II^o in vivo wykazywały jednolitą, śladową aktywność cytoplazmatyczną oksydazy cytochromowej.

b. Glejaki wielopostaciowe

Badanie morfologiczne

Do tej grupy zaliczono 31 nowotworów. Z 24 przypadków, w których dokładnie udało się ustalić zasięg i sposób wzrostu guza, w 16 mózgach główna masa nowotworu, zwłaszcza w częściach korowych była dobrze odgraniczona /ryc. 47/, a wzrost wybitnie naciekający dotyczył istoty białej i głębokich struktur mózgu. Po wyjściu z kory guzy wrastały zwykle przez spoidło wielkie do przeciwległej półkuli, a w półkuli wyjściowej poza szerzeniem się w korze zajmowały komorę boczną, jądra podstawy i często jednostronnie pień mózgu. W wymienionych okolicach nowotwory wrastały w sposób rozproszony naciekając bezładnie tkankę /ryc. 48/, chociaż ich części korowe bywały wyraźnie odgraniczone.

W guzach występowały różne typy utkania zależne w pewnym stopniu od umiejscowienia. W korze przeważało utkanie zbite składające się z komórek wielokształtnych, wielojądrzastych, o różnym stopniu nadbarwliwości, o obfitej, niejednorodnej, często zwakuo-
lizowanej cytoplazmie. Wśród nich były widoczne syncytia komórkowe /ryc. 49, 50/. Jądra komórek charakteryzowały się znacznym polimorfizmem dotyczącym kształtu oraz bogactwa i rozmieszczenia chromatyny. Czasem była ona nierównomiernie skupiona, czasem rozproszona, w innych komórkach grudki chromatyny leżały w

cytoplazmie. Obserwowano jądra zepchnięte ku obwodowi komórki i jądra uciskane przez bezpostaciową substancję znajdującą się w cytoplazmie. W obrębie jąder podstawy naciek był nierównomiernie zagęszczony, coraz luźniej utkany ku obwodowi. Głównymi elementami komórkowymi tych części nowotworu były małe, okrągłe, nadbarwliwe komórki o prawie niewidocznej cytoplazmie. Pomiędzy nimi leżały rozproszone duże komórki globoidalne o wyraźnej eozynochłonnej cytoplazmie /ryc. 51/.

Komórki w trakcie podziału występowały zarówno w polach o przewodze komórek globoidalnych jak i w polach komórek nadbarwliwych drobnojądrzastych, najobficiej w gniazdach komórek wielokształtnych. Liczba mitoz była zmienna, w 25 guzach mitozy były bardzo liczne.

Wygląd i układ komórek guza zależały w znacznym stopniu od budowy podłoża. W spoidle wielkim komórki były wydłużone, spłaszczone i układały się szeregowo /ryc. 52/; w jądrach podstawy i pniu naciek nowotworowy rozprzestrzeniał się w sposób nieuporządkowany. Zbite struktury anatomiczne ograniczały rozrost guza /ryc. 53/ lub też pozostawały zaoszczędzone w polach zbitego nacieku nowotworowego /ryc. 54/.

W obrębie luźnego nacieku widywano mankiety okołonaczyniowe utworzone przez komórki nowotworowe. Wyraźnej satelitozy okołoneuronalnej nie spostrzegano.

Wygląd impregnowanych komórek guza nie różnił się istotnie od wyglądu komórek gwiaździaków. W większości były to małe komórki,

o nieostrych zarysach, owalne lub o nieregularnym kształcie /ryc. 55/. Te ostatnie posiadały szczątkowe wypustki. Pomiedzy nimi i na obwodzie guzów silnie impregnowały się odczynowe komórki astrocytarne. Również w I warstwie kory, uciskanej przez guzy zewnątrzmożgowe występował silny odczyn astrogleju /ryc. 56/. Komórki nowotworowe w porównaniu z odczynowymi astrocytami były znacznie mniejsze i impregnowały się słabiej.

W dwu przypadkach sklasyfikowanych na podstawie barwień przeglądowych jako glejaki wielopostaciowe wrzecionowatokomórkowe, metoda impregnacyjna potwierdziła odmienny kształt komórek. Komórki były lekko wydłużone, niekształtne, z pojedynczymi biegunowymi wypustkami.

Liczne ogniska krwotoczne cechowały 26 glejaków wielopostaciowych. Występowały one najczęściej w polach komórek wielokształtnych. Drugą okolicą predylekcyjną dla zmian krwotocznych było pobrzeże nowotworu i tkanki mózgu, w którym ogniska krwotoczne lub krwinkotoki układały się szczelinowato, niezależnie od sposobu wzrostu guza.

Małe pola zwyrodnienia torbielkowego były obecne w dwu guzach.

Ogniska martwicy stwierdzono w 18 przypadkach. Większość ognisk o szczelinowatym kształcie była otoczona komórkami tworzącymi pseudopalisady /ryc. 57/.

Rozrostowe zmiany w naczyniach występowały w centralnych i obwodowych częściach nowotworów. Rozplem śródbłonek prowadzący niekiedy do zamknięcia światła naczynia /ryc. 58/, przerost mięśniówk

/ryc. 59/ i rozplem elementów przydanki /ryc. 60/ stwierdzono w 5 nowotworach. Umiarkowany rozplem elementów mezenchymalnych ścian naczyń ze słabym udziałem włókien srebrochłonnych lub bez nich spostrzegano w 20 przypadkach.

W obrazie elektronowo-mikroskopowym w materiale pochodzącym z tkanki przeważały komórki z nielicznymi wypustkami lub bezwypustkowe, nie stykające się ze sobą. Jądra komórek miały chromatynę o umiarkowanej gęstości elektronowej, rozmieszczoną dość regularnie /ryc. 61/. Obserwowano zmiany w otoczce jądrowej. Wielokrotnie napotymano na znaczne poszerzenie przestrzeni okołojądrowej, miejscami tworzącej balonowate rozdęcia, które uciskały jądro poprzez błonę jądrową wewnętrzną i wpuklały się w kierunku cytoplazmy. Przestrzenie te zwężały się przy porach otoczki. Zawartość przestrzeni okołojądrowych stanowiła substancja bezpostaciowa, albo substancja przypominająca chromatynę, układająca się w postaci drobnych grudek na powierzchni błony jądrowej wewnętrznej /ryc. 62/. Niekiedy w poszerzonych przestrzeniach okołojądrowych znajdowały się niezidentyfikowane twory błoniaste /ryc. 63/.

W licznych komórkach, łącznie z zawierającymi opisane poszerzenie przestrzeni okołojądrowej obserwowano przechodzenie chromatyny przez poszerzone pory jądrowe do cytoplazmy / ryc. 62,64/. Wypływanie chromatyny odbywało się czasem przez kilka porów widocznych na jednym przekroju /ryc. 65/. W masie wypływającej chromatyny widziano również jąderko /ryc. 66/.

Organelle cytoplazmatyczne były obfite. Aparat Golgiego, zwykle

wybitnie rozwinięty, miewał workowato poszerzone kanały, podobnie jak szorstka siatka śródplazmatyczna, która tworzyła bardzo liczne zbiorniki /ryc. 61, 67/. Długie mikrotubule /ryc. 67/ i liczne gliofibryle /ryc. 68/ były nieregularnie rozrzucone.

Wszystkie elementy ścian naczyń wykazywały zmiany. Spotykano komórki śródbłonka umiarkowanie pogrubiłe, z pojedynczymi kosmkami wystającymi do światła naczynia lub też wybitnie przerosłe, z licznymi długimi kosmkami, które zamykały prawie całe światło. W komórkach przerosłego śródbłonka występowały jądra o bogato pofałdowanych otoczkach, a w cytoplazmie obserwowano bardzo liczne pęcherzyki pinocytarne. Niektóre z dużych wodniczek leżących pod błoną komórkową od strony światła naczynia sprawiały wrażenie utworzonych przez pofałdowane kosmki. Złącza komórek śródbłonka tworzyły kanały, o długim, krętym przebiegu. Odcinki tych kanałów w pobliżu światła naczynia były zamknięte, a odcinki stykające się z błoną podstawną przeważnie poszerzone. Taki wygląd złącz międzyśródbłonkowych przeważał również w naczyniach o względnie prawidłowej budowie. Błona podstawna wykazywała również zmiany przebiegu, zarysów i gęstości. W większości naczyń przebieg błony podstawnej był kręty, nieregularny. Zarys zewnętrzny błony podstawnej był niekiedy całkowicie zatarty, niewidoczny i wówczas błona ta łączyła się bezpośrednio z przestrzenią międzykomórkową. W niektórych naczyniach lub nawet ich odcinkach nie stwierdzano wogóle błony podstawnej wokół komórek śródbłonka. Błony podstawne zniekształcone, pogrubiłe, pozbawione zarysów miały niejednorodną

gęstość elektronooptyczną, o miejscowych zagęszczeniach /ryc. 69/.

W hodowli tkankowej populacja komórkowa odznaczała się nasilonym polimorfizmem. Występowały w niej komórki wielojądrzaste, olbrzymie, o dziwacznych jądrach i przeważnie obfitej cytoplazmie oraz nielicznych wypustkach różnej długości i grubości. Występowały również syncytia komórkowe. Figury podziału były obecne we wszystkich hodowlach. Małe komórki o ciemnym jądrze i skąpej cytoplazmie wchodziły w skład każdej hodowli /ryc. 70/.

Obraz mikroskopowo-elektronowy komórek glejaków wielopostaciowych hodowanych in vitro różnił się od obrazów spostrzeganych w materiale in vivo. Otoczka jądrowa była zwykle pofałdowana, a zawartość chromatyny w jądrze większa niż w komórkach tkanki /ryc. 71, 72/. Obraz organelli był podobny w materiale pochodzącym z tkanki i z hodowli.

Badanie histochemiczne

Komórki guzów in vivo były przeważnie PAS-ujemne. Substancje PAS-dodatnie występowały w cytoplazmie nielicznych komórek wielojądrzastych i olbrzymich dając odczyn dyfuzyjny. Substancja międzykomórkowa również była PAS-dodatnia. Nasilenie odczynu PAS w ścianach naczyń było znacznie mniejsze niż w naczyniach prawidłowego mózgu. Włókna srebrochłonne w proliferujących naczyniach były wybitnie PAS-dodatnie. Dodatni odczyn PAS wykazywała również substancja wypełniająca ogniska martwicy. Ślady tej substancji znajdowały się w podłożu brzegów martwicy. Komórki tworzące pseudo-

palisady nie zawierały substancji PAS-dodatnich. W hodowli tkanek substancje PAS-dodatnie występowały jako drobne ziarnistości w komórkach olbrzymich i wielojądrzastych.

W skrawkach tkankowych stwierdzano silny odczyn na mukopolisacharydy obojętne, zwłaszcza w ścianach naczyń i płynie przesiekowym /ryc. 73/. Lokalizacja odczynu pokrywała się z odczynem PAS.

Mukopolisacharydy kwaśne występowały najwyraźniej w przestrzeni międzykomórkowej, w której tworzyły pasma włóknistej substancji. Błękitne zabarwienie neuropilu obserwowano niekiedy na pograniczu guza z tkanką, a czasem w odległych okolicach wykazujących cechy obrzęku. Ściany naczyń nowotworu również podbarwiały się błękitnie. Trawienie hialuronidazą jądrową powodowało całkowite zniknięcie, a trawienie hialuronidazą bakteryjną częściowe obniżenie odczynu na mukopolisacharydy kwaśne. Trawienie neuraminidazą obniżało zarówno odczyn na mukopolisacharydy obojętne jak i kwaśne. Cytoplazma komórek i substancja w przestrzeni międzykomórkowej barwiły się metachromatycznie różowo przy pH 3.5. W wyższym pH metachromazja zanikała.

Badanie histoenzymatyczne

Sródbłonki naczyń guza nie ujawniały aktywności fosfatazy zasadowej.

W tkance odczyn na beta-glukuronidazę ograniczał się do nie-licznych komórek, które zawierały w cytoplazmie ziarniste lub dyfuzyjne produkty reakcji /ryc. 74/. Komórki ścian naczyńiowych

nie wykazywały odczynu. Astrocyty odczynowe na obwodzie nowotworu wykazywały umiarkowany odczyn enzymatyczny.

Z dehydrogenaz najwyższą aktywność w komórkach guza wykazywała dehydrogenaza mleczanowa. Ziarniste produkty reakcji wypełniały szczelnie perikarion i krótkie wypustki. Różnice w nasileniu reakcji pomiędzy poszczególnymi komórkami były nieznaczne.

Większość komórek nowotworowych miała niską aktywność dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu /ryc. 75/, a tylko pojedyncze komórki ujawniały śladową aktywność dehydrogenazy bursztynianowej.

W materiale pochodzącym z hodowli tkanek komórki olbrzymie i wielojądrzaste wykazywały najwyższą aktywność fosfatazy kwaśnej. Produkty reakcji były nieregularnie rozproszone w cytoplazmie.

Silny odczyn enzymatyczny na beta-glukuronidazę miał charakter ziarnisty lub dyfuzyjny i był również najwyższy w komórkach wielojądrzastych i olbrzymich /ryc. 76/.

Aktywność dehydrogenaz miała różne nasilenie zależnie od rodzaju enzymu. We wszystkich trzech odczynach komórki olbrzymie i wielojądrzaste wykazywały najwyższą aktywność enzymatyczną, przy czym aktywność dehydrogenazy mleczanowej była najwyższa, dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu umiarkowana /ryc. 77/, a bursztynianowej - bardzo niska.

Produkty reakcji na oksydazę cytochromową wypełniały szczelnie perikarion i wypustki wszystkich komórek hodowanych glejaków wielopostaciowych /ryc. 78/.

B. Glejaki szeregu oligodendroglejowego

a. Skąpodrzewiaki

Badanie morfologiczne

Do grupy zaliczono 17 przypadków. Wielkość nowotworów wahała się znacznie; czasem guz ograniczał się tylko do kory i spoidła wielkiego, czasem zajmował całą półkulę, wrastał w pień i przerastał przestrzenie płynowe mózgu.

Najbardziej charakterystyczne, pozwalające na ustalenie rozpoznania były małe, okrągłe komórki o bardzo jasnej, przezierniej cytoplazmie, występujące w niektórych guzach jedynie w pojedynczych skupieniach.

Tylko 4 nowotwory składały się w przeważającej części z komórek izomorficznych o jasnym "halo", które tworzyły typowe struktury plastra miodu /ryc. 79/. Jeden guz wytworzył brodawkę korową.

Najliczniejszą grupę /5 przypadków/ stanowiły skąpodrzewiaki o przewadze komórek wielopostaciowych, które bądź tworzyły większe pola bądź występowały naprzemian z komórkami o jasnym "halo" /ryc. 80/.

Budowę szczególnie odbiegającą od wzorca plastra miodu miały 3 skąpodrzewiaki, w których oprócz pól komórek z "halo" większość stanowiły komórki globoidalne o wyraźnej błonie komórkowej, eozynochłonnej cytoplazmie i centralnie ułożonym jądrze /ryc. 81/. Cytoplazma tych komórek zwykle była jednorodna, niekiedy piankowata, czasem zawierała wodniczki. W komórkach globoidalnych nigdy

nie spostrzegano figur podziału.

Dwa nowotwory cechowały się całkowicie odmiennym obrazem. Składały się one przeważnie z komórek małych, z ciemnym jądrem i niewidoczną cytoplazmą. Zależnie od przekroju komórki te tworzyły skupienia, były rozproszone lub też zgromadzone na obwodzie nowotworu /ryc. 82/. W tych komórkach figur podziału nie obserwowano. Nowotwory te także miały niewielkie pola komórek z "halo".

Spostrzegano również skąpodrzewiaki, w których występowały wszystkie rodzaje komórek, a więc komórki z "halo", drobne nadbarwliwe, globoidalne i wielopostaciowe /3 przypadki/.

Figury podziału występowały nielicznie lub umiarkowanie w 12 przypadkach.

Okolice zajęte przez skupienia komórek polimorficznych miały najgęstsze utkanie; utkanie luźne miały pola komórek globoidalnych i komórek drobnych, nadbarwliwych. Występowanie pól o różnym zagęszczeniu komórek wiązało się nie tylko z rodzajem komórek, ale zależało w pewnym stopniu od budowy nowotworu i struktury nacieczzonego podłoża. Pola komórek wielopostaciowych występowały przeważnie w centralnych częściach guza, w których przeważało większe zagęszczenie komórkowe. W luźno utkanych polach komórek anaplastycznych występowały także zbite gniazda komórek, niezależnie od odległości od centrum guza. Szczególnie gęstokomórkowe ogniska nowotworowe spotykano w korze, gdzie dodatkową cechą była satelitoza okołoneuronalna /ryc. 83/.

Naciekanie nowotworowe postępowało bądź w sposób rozproszony,

nieuprządkowany, a naciek był tym luźniejszy im był bardziej oddalony od centrum guza, bądź też posuwał się pomiędzy strukturami anatomicznymi. Obserwowano szerzenie się nacieku między włóknami spoidła wielkiego, ale także ograniczenie nacieku nowotworowego przez warstwy neuronów.

W polach o luźnym utkaniu spostrzegano przynaczeniowe zagęszczenia komórek, a mankietowate nacieki nowotworowe również w tkance mózgu na obwodzie guza.

Komórki przydanki naczyń wewnątrz nowotworu wykazywały w 9 przypadkach rozplem o różnym stopniu nasilenia. W guzach o znacznej proliferacji przydanki można było spostrzec odnaczeniowe tworzenie komórek olbrzymich /ryc. 84/.

Bardzo liczne i rozległe ogniska krwotoczne występowały w większości guzów i zajmowały przeważnie centralne części nowotworów lub układały się na pograniczu nowotworu i tkanki mózgu. Ogniska martwicy były obecne w 7 nowotworach.

W obszarze skąpodrzewiaków często spotykano odczynowe astrocyty

Guzy wrastające do środka komory zachowywały typową strukturę skąpodrzewiaków /ryc. 85/. W wypadku wrastania nowotworu w opony lub w splot naczyniasty, komórki zachowywały swoje cechy /ryc. 86/

Ze względu na brak świeżego materiału nie przeprowadzono badań w hodowli tkanek, mikroskopie elektronowym ani badań enzymatycznych.

Badanie histochemiczne

Substancje PAS-dodatnie występowały w większości komórek nowotworowych, w ilości małej lub umiarkowanej. W polimorficznych częściach guzów, zwłaszcza w komórkach o obfitej cytoplazmie ilość substancji PAS-dodatnich była większa. Wokół ciał komórkowych lub grup komórek nowotworowych występowały cienkie pasma włóknistej i bezpostaciowej substancji, miejscami zlewającej się w grubsze pasemka /ryc. 87/. Naczynia w obszarze nowotworu wykazywały dodatni odczyn PAS, słabszy niż w ścianach naczyń niezmiennego mózgu.

Zawartość obojętnych mukopolisacharydów w cytoplazmie komórek nowotworowych była mniejsza niż substancji PAS-dodatnich /ryc.88/. Zabarwienie substancji międzykomórkowej nie ulegało zmianie, natomiast odczyn w ścianach naczyń guza był bardzo silny. Małe jeziora płynu przesiękowego wokół naczyń dawały również wybitny odczyn. Trawienie neuraminidazą powodowało osłabienie odczynu w komórkach i w przestrzeni międzykomórkowej.

Odczyn na mukopolisacharydy kwaśne występował szczególnie wyraźnie wokół ciał komórek nowotworowych jako pasemka i zlewiska amorficznej substancji. Substancja ta tworzyła jak gdyby gęstą sieć, w której znajdowały się komórki guza /ryc. 89/. Część komórek skąpodrzewiaków zawierała również tę substancję w cytoplazmie.

Ściany naczyń wewnątrz nowotworu wykazywały niekiedy dodatni

odczyn. Odczyn ten dawały również włókna srebrochłonne w ścianach naczyń i w oponowych częściach nowotworów. Trawienie neuraminidazą nie obniżało odczynu na mukopolisacharydy kwaśne /ryc. 90/. Trawienie hialuronidazą jądrową powodowało całkowity zanik odczynu histochemicznego w komórkach i przestrzeni międzykomórkowej /ryc. 91/, natomiast działanie hialuronidazy bakteryjnej odczyn ten obniżało /ryc. 92/.

Barwienie błękitem toluidyny przy pH 3.5 powodowało silne metachromatyczne zabarwienie substancji międzykomórkowej. Utrzymywało się ono również przy wyższym pH i zanikało przy pH 7.4, natomiast metachromatyczne zabarwienie cytoplazmy komórek skąpodrzewiaków pojawiało się dopiero przy pH 7.4 roztworu.

Ani komórki nowotworu, ani brzegi ognisk martwicy nie wykazywały glikogenu.

C. Wyściółczaki

Grupę tę reprezentowało 28 nowotworów.

Badanie morfologiczne

Nowotworowe bujanie wyściółki komór stwierdzono u 8 myszy. Spostrzegano bądź wielorzędową, falistą wyściółkę wpuklającą się do komór, bądź drobne guzki zwisające z powierzchni zmienionej wyściółki do światła komory /ryc. 93/. "Pączkowaniu" wyściółki w jednych odcinkach towarzyszył często lity rozrost nowotworowy w innych odcinkach. Komórki w drobnych ogniskach były jednokształtne, gęsto ułożone i nie tworzyły żadnych układów.

W masach nowotworowych wypełniających układ komorowy niekiedy wraz z wodociągiem, zagęszczenie utkania nowotworowego było znaczne. Guzy położone wewnątrz układu komorowego nie wykazywały typowych układów histoformatywnych. Przeważały w nich drobne komórki o nadbarwliwych jądrach i skąpej cytoplazmie, wśród których obserwowano niekiedy duże komórki o niekształtnych, owalnych lub wydłużonych jądrach.

W nowotworach naciekających tkankę nerwową przeważały jednorodne komórki o nadbarwliwych, owalnych jądrach. W większości przypadków /21/ stwierdzono znaczny polimorfizm komórek, zwłaszcza w częściach centralnych guza /ryc. 94/. W kilku guzach /6/ komórki odznaczały się obfitą cytoplazmą o nierównomiernej barwliwości i tendencją do tworzenia syncytiów. Gniazda anaplastycznych komórek, bardzo ciemnych i drobnych napotkano w 3 przypadkach.

W nacieczonej istocie szarej i białej występowały typowe rozety i pseudorozety, zwłaszcza w guzach o przewodze komórek izomorficznych /ryc. 95/. Ortoplastyczny typ wzrostu nigdy nie dotyczył całego przekroju nowotworu i w najwyraźniejszej postaci występował zaledwie w 12 przypadkach. Obserwowano też niezupełne wykształcenie typowych układów, pod postacią niepełnych rozet i zagęszczonych układów kępkowych prowadzących od odkształcenia sąsiadujących komórek /9 przypadków/. W polach nowotworu o znacznej ilości komórek polimorficznych tendencja do tworzenia typowych układów rozetowych lub rzekomorozetowych była słabo zaznaczona /ryc. 96/.

Figury podziału w 16 przypadkach były liczne, niezależnie od charakteru komórek i od wzorca wzrostu.

W 9 przypadkach główna masa guza była względnie dobrze odgraniczona, zaś w 12 przypadkach wzrost guza był naciekający i strefy brzeżnej nacieku nie można było wyosobnić. Tylko impregnacja sposobem Cajala ujawniała pośrednią strefę odczynową /ryc. 97/. W wielu guzach naciek szerzył się między włóknami spoidła wielkiego, co wpływało na zmianę kształtu komórek.

W kilku przypadkach występowały mankietowate okołonaczyniowe nacieki nowotworowe w tkance otaczającej guz i w bardziej oddalonych obszarach mózgu. Satelitoza nowotworowa była wyraźna, zwłaszcza wokół neuronów w górnych warstwach kory /ryc. 98/.

We wszystkich przypadkach stwierdzono liczne drobne i dość duże ogniska krwotoczne wewnątrz i na obwodzie guza. Szczelinowate ogniska martwicy /19 przypadków/ występowały zwykle w

centralnych częściach nowotworu.

Obraz mikroskopowo-elektronowy charakteryzował się dość luźnym układem komórek. Sporadycznie obserwowano zespolenia desmomalne. Wielkość komórek była umiarkowana, a jądro w stosunku do cytoplazmy wydawało się dość duże. Chromatyna miała układ nieregularny a jąderko było słabo odgraniczone. Organelle cytoplazmatyczne zawierały silnie rozwinięty aparat Golgiego, o poszerzonych kanałach i obfitą, szorstką siatkę śródplazmatyczną, która tworzyła zbiorniki i workowate rozszerzenia. Ilość mitochondriów była umiarkowana. Niektóre mitochondria miały kształt klepsydrowaty, ciemną macierz i układały się w pobliżu błony jądrowej /ryc. 99/.

W hodowli tkanek wyściółczaki wykazywały uderzające podobieństwo do tkanki *in vivo*. Populacja komórkowa była raczej jednorodna i składała się z drobnych, okrągłych lub owalnych, często przylegających do siebie komórek, z nielicznymi wypustkami lub bezwypustkowych /ryc. 100/. Komórki wielokształtne były na ogół nieliczne, jedynie w części hodowli stanowiły one dominujący element komórkowy. Figury podziału obserwowano rzadko. Przeważał promienisty układ komórek; rozetowy spotykano rzadko. Oprócz wzrostu płaszczyznowego w obwodowej części strefy wzrostu występowały wysepki komórek o układzie brukowym.

Badanie histochemiczne

Komórki nowotworowe w tkance nie zawierały substancji PAS-dodatnich ani mukopolisacharydów obojętnych i kwaśnych. Obecność

substancji międzykomórkowych ujawniła się zarówno w odczynie PAS jak i w odczynie na mukopolisacharydy, przy czym wykazywały one szczególnie silny odczyn na mukopolisacharydy kwaśne. Trawienie neuraminidazą powodowało obniżenie odczynu barwnego na obecność mukopolisacharydów kwaśnych i obojętnych. Trawienie hialuronidazą jądrową powodowało zniknięcie odczynu na mukopolisacharydy kwaśne, a bakteryjną - obniżenie odczynu. Pasemka substancji międzykomórkowej wykazywały różową metachromazję po barwieniu błękitem toluidyny o pH 3.5. Glikogen występował jedynie w cytoplazmie odczynowych astrocytów.

Odczyn na zawartość substancji PAS-dodatnich w hodowanych wyściółczakach ujawnił małą ilość tych substancji w cytoplazmie komórek.

Badanie histoenzymatyczne.

Aktywność fosfatazy zasadowej w ścianach guzów była niska lub nie ujawniała się w ogóle /ryc. 101/.

Część komórek wykazywała umiarkowaną aktywność fosfatazy kwaśnej /ryc. 102/.

Aktywność esterazy nieswoistej uwidoczniono w cytoplazmie komórek nowotworowych, w których produkty reakcji wypełniały całą cytoplazmę, albo tworzyły czapeczkę przyjądrową lub ziarnisty rąbek /ryc. 103/.

Zwracał uwagę silny odczyn beta-glukuronidazy w nowotworze w porównaniu z otaczającą tkanką nerwową /ryc. 104/, aczkolwiek

ilość produktów reakcji w poszczególnych komórkach była niewielka /ryc. 105/.

Dehydrogenaza mleczanowa wykazywała wysoką aktywność komórek wyściółczaka, niezależnie od typu /ryc. 106/. Ziarna diformazanu układały się w postaci zbitej czapeczki położonej przyjądrowo, przy czym natężenie odczynu różniło się w poszczególnych komórkach.

Dehydrogenaza glukozy-6-fosforanu wykazywała słabe lub umiarkowane natężenie odczynu.

W hodowli tkanek natężenie odczynów na fosfatazę kwaśną, esterazę nieswoistą i beta-glukuronidazę odpowiadało odczynom obserwowanym w tkance nowotworowej in situ.

Aktywność dehydrogenazy mleczanowej i glukozy-6-fosforanu była wysoka, a produkty reakcji równomiernie ułożone w cytoplazmie komórek nowotworowych.

W komórkach hodowanych aktywność oksydazy cytochromowej była bardzo wysoka w całej cytoplazmie łącznie z wypustkami /ryc. 107/.

D. Glejaki złożone i mieszane

Grupa ta obejmowała 12 nowotworów. Dane o ich składzie przedstawiono poniżej.

Glejaki złożone:

skąpodrzewiaki dysplastyczne z gwiaździakiem II^o /2 przypadki/
skąpodrzewiaki polimorficzne z wyściółczakiem /2 przypadki/
wyściółczaki z gwiaździakiem II^o /2 przypadki/
wyściółczak polimorficzny z gwiaździakiem II^o /1 przypadek/
wyściółczak z gwiaździakiem III^o /1 przypadek/
wyściółczak z glejakiem wielopostaciowym /1 przypadek/

Glejaki złożone z domieszką utkania mieszanego:

skąpodrzewiaki ortoplastyczne z gwiaździakiem II^o /2 przypadki/
skąpodrzewiak ortoplastyczny z glejakiem
wielopostaciowym /1 przypadek/

Z podanego zestawienia wynika, że w guzach złożonych najczęstszą komponentą stanowiły gwiaździaki /8 razy/, następnie skąpodrzewiak i wyściółczaki /po 7 razy/. Najczęściej występowało połączenie skąpodrzewiaka z gwiaździakiem i wyściółczaka z gwiaździakiem /po 4 razy/.

Badanie morfologiczne

Wszystkie guzy tej grupy zajmowały duże obszary mózgu, zwykle całą półkulę. Współistnienie morfologicznie odmiennych glejaków nie wpływało wyraźnie na ich cechy. Tak skąpodrzewiako-gwiaździaki jak i wyściółczako-gwiaździaki zachowywały w swoich obszarach swoje cechy cytologiczne i histoformatywne. Pola wyściółczaków charakteryzowały się znacznym zagęszczeniem komórek, polimorfizmem i dużą ilością figur podziału w przeciwieństwie do pól gwiaździaków o luźnym, izomorficznym utkaniu, bez figur podziału.

Tylko w guzach złożonych z pól skąpodrzewiaka i gwiaździaka II^o

oraz glejaka wielopostaciowego spostrzegano w małych obszarach przenikanie się utkań i tworzenie populacji mieszanej /ryc. 108/.

Nowotwory złożone nie były hodowane ani badane w mikroskopie elektronowym.

Badanie histochemiczne i histoenzymatyczne

Wyniki badań histochemicznych i histoenzymatycznych nie różniły się od obserwowanych w odpowiednich grupach glejaków.

E. Glejaki niezróżnicowane

Badanie morfologiczne

We wszystkich 3 przypadkach nowotwór zajmował korę i spoidło wielkie. Wszystkie nowotwory tej grupy charakteryzowało bardzo znaczne bogactwo komórkowe, prowadzące do deformacji sąsiadujących ze sobą komórek. Największe bogactwo komórek cechowało ogniska położone w korze mózgu. Na obwodzie guza występowała satelitoza okołoneuronalna. W obrębie istoty białej naciek nowotworowy był mniej gęsty, a komórki włóczne pomiędzy włókna ulegały odkształceniu.

Sposób wzrostu różnił się znacznie w poszczególnych przypadkach i poszczególnych polach tego samego guza, mimo że nie tworzyły się żadne struktury. Obserwowano względnie dobre odgraniczenie od tkanki mózgowej, bądź szeroki i luźny front naciekania, zagęszczenia przynaczyniowe bądź mankietowate nacieki wokół okolicznych naczyń.

Komórki odznaczały się jednolitym wyglądem, zawierały ciemne jądra i wąski rąbek cytoplazmy /ryc. 109/. Na skrawkach impregnowanych wg metody Cajala w masie niewyimpregnowanych komórek widoczne były nieliczne, większe, niekształtne komórki z pojedynczymi wypustkami lub bezwypustkowe. Jedynie nacieki w oponach oprócz opisanych komórek anaplastycznych zawierały komórki wielokształtne.

Guzy były miernie unaczynione. Ogniska krwotoczne i krwinkotoki występowały w dwu guzach. Ognisk martwicy nie obserwowano.

W obrazie mikroskopowo-elektronowym zwracał uwagę niestosunek wielkości jądra do cytoplazmy i komórek nowotworowych oraz obfitość nierównomiernie ułożonej chromatyny /ryc. 110, 111/. W ubogowypustkowej cytoplazmie poza bardzo licznymi rybosomami ilość innych organelli była niewielka a organizacja cytostruktury uboga.

W hodowli tkanek w młodych hodowlach komórki rosły w rozproszeniu, a w starszych kilkotygodniowych - w sposób bardziej zbity. Większość komórek była mała, o ciemnych jądrach i pojedynczych, krótkich wypustkach. W obrazie mikroskopowo-elektronowym komórki te zachowywały cechy komórek macierzystych, lecz miały bardziej pofałdowane otoczki jądrowe /ryc. 112, 113/.

Badanie histoenzymatyczne

Odczyn na beta-glukuronidazę nie ujawnił aktywności enzymu w komórkach nowotworowych w tkance.

Aktywność dehydrogenazy mleczanowej była bardzo wysoka i nierównomiernie nasiloną w poszczególnych komórkach i polach nowotworu. Aktywność dehydrogenazy glukozo-6-fosforanu była w tych komórkach zaledwie śladowa, natomiast odczyn na dehydrogenazę bursztynianową - ujemny.

W komórkach hodowanych aktywność dehydrogenazy mleczanowej i dehydrogenazy glukozo-6-fosforanu była dość wysoka, a ziarna diformazanu ułożone równomiernie w cytoplazmie i wypustkach. Aktywność dehydrogenazy bursztynianowej była śladowa.

F. Glejaki niesklasyfikowane

Nie objęto klasyfikacją 4 guzów.

Badanie morfologiczne

Dwa nowotwory miały zbliżone cechy. Impregnacja wg metody Cajala wykazywała w korze w sąsiedztwie metylocholantrenu rozlane nacieki nowotworowe składające się z komórek o różnej wielkości, prawie bezwypustkowych o różnym powinowactwie do soli złota. W obydwu przypadkach guzy nie miały tendencji histoformatywnych. Ognisk martwicy ani krwotocznych nie spostrzegano.

W innym przypadku główna masa guza była umiejscowiona w szczelinie naczyniówkowej i stąd naciekała korę i jądra podstawy w sposób rozproszony lub tworząc zbite nacieki okołonaczyniowe. Naciek w korze miał luźne utkanie. Przeważały w nim komórki okrągławe o słabo zarysowanej cytoplazmie i umiarkowanie barwliwych, nakrapianych jądrach. Wśród opisanych komórek występowały niezbyt licznie duże komórki wielojądrzaste i komórki w trakcie podziału. W nacieku korowym zwracały uwagę wielojądrzaste komórki olbrzymie z mnogimi wodniczkami w jądrze i cytoplazmie, nie wykazujące związku z naczyniami /ryc. 114/. Naczynia w obszarze nowotworu były niezmiennione, występowały przy nich pojedyncze włókna srebrochłonne. Ognisk martwicy nie spostrzegano, nieliczne ogniska krwotoczne były umiejscowione w centralnej części nowotworu.

Ostatni z nowotworów zajmował całe mózgowie oszczędzając korę półkul. Gęsty naciek nowotworowy składał się z komórek drobnych, okrągłych, które nie tworzyły typowych układów /ryc. 115/.

W korze oszczędzonej przez nowotwór występowały zbite nacieki okołonaczyniowe. Figur podziału nie spostrzegano. Obecne były ogniska martwicy i krwotoczne.

Badanie histoenzymatyczne

Sródbłonki naczyń guza nie ujawniały aktywności fosfatazy zasadowej.

Odczyn na fosfatazę kwaśną był niski w cytoplazmie komórek nowotworowych.

3. Glejako-mięsaki

Podstawą do wyodrębnienia tej grupy przypadków było współ-
istnienie w utkaniu guza nowotworowej tkanki glejowej i mezoder-
malnej. Do grupy glejako-mięsaków włączono guzy 30 zwierząt.

Ze względu na proporcje udziału tkanki pochodzenia glejowego
i mezodermalnego w utkaniu guza, wyodrębniono 3 podgrupy, nieostro
przechodzące jedna w drugą, a mianowicie:

- a. guzy glejowe z nowotworowym rozplemem elementów komórkowych
ścian naczyniowych,
- b. nowotwory o ilościowo zbliżonym udziale elementów komórkowych
glejowych i mezodermalnych,
- c. mięsaki z towarzyszącym rozrostem nowotworowym gleju.

Poniżej przedstawiono czas przeżycia myszy w tej grupie.

Tabela 7

Średni czas przeżycia myszy w poszczególnych podgrupach
glejako-mięsaków

Pod- grupa	Liczba przypadków	Liczba zwierząt padłych	Średni czas przeżycia /tygodnie/	Liczba zwierząt dekapi- towanych	Średni czas przeżycia /tygodnie/
a.	13	5	34.5	8	54.3
b.	12	4	47.5	8	37.1
c.	5	2	48.5	3	29.0
Średni czas przeżycia			43.5		

Badanie morfologiczne

Podgrupa a. zawierała 13 guzów. Większość nowotworów miała utkanie typu astrocytarnego /2 gwiazdziaki II⁰, 2 gwiazdziaki III⁰ 1 glejak podwyściółkowy, 2 glejaki wielopostaciowe z komponentą wyściółczaka/. Ponadto w skład podgrupy wchodziły 3 guzy o przewodze komórek niezróżnicowanych oraz 3 glejaki anaplastyczne .

We wszystkich przypadkach źródłem rozplemu elementów mezodermalnych były ściany naczyń guza /ryc. 116/. Większość proliferujących naczyń występowała w postaci wielowarstwowych pasm komórek wrzecionowatych. W komórkach tych często obserwowano figury podziału. Rozplem dotyczył przeważnie naczyń w centralnych częściach guzów ale w niektórych przypadkach obejmował większość naczyń. Rozplem nie zależał od typu utkania glejowego ani od odległości od ognisk martwicy czy zmian torbielkowych. Oprócz typowego bujania komórek wrzecionowatych obserwowano tworzenie się komórek olbrzymich w ścianach naczyń.

Rozplem komórek śródbłonna wystąpił w 3 przypadkach. Prowadził on do zamknięcia światła naczyń i współuczestniczył w tworzeniu kłębków naczyniowych.

W dwu przypadkach poza umiarkowanym rozplemem odnaczyniowym spostrzegano bardzo liczne wydłużone komórki o ziarnistej cytoplazmie leżące wolno między komórkami glejaka.

W gwiazdziaku III⁰ wychodzącym z okolicy międzykomorowej dodatkową komponentę mezodermalną stanowił stykający się z nim mięsak wrzecionowatokomórkowy opon.

Udział włókien srebrochłonnych był umiarkowany. W początkowych stanach rozplemu odnaczyniowego nie występowały ani włókna srebrochłonne ani kolagenowe, lub też występowały sporadycznie. Włókna srebrochłonne o różnej grubości obserwowano w litych pasmach komórek wrzecionowatych i w odoponowych mięsakach wrzecionowatokomórkowych.

Podgrupę b. tworzyło 12 nowotworów. W ośmiu mózgach utkanie glejaka i mięsaka stykało się ze sobą nie przenikając się w wyraźny sposób /ryc. 117/. Trzy guzy były wyściółczakami, a dwa z nich zawierały ponadto pola o utkaniu gwiaździaków II^o. Guzy te stykały się z dobrze ograniczonymi mięsakami wrzecionowatymi opony twardej. W części glejakowej glejako-mięsaków nie występował rozplem odnaczyniowy.

W 5 guzach szeregu astrocytarnego o różnym stopniu zróżnicowania komórek, oprócz współistniejącego, dobrze ograniczonego mięsaka wrzecionowatokomórkowego opony twardej u 3 myszy, w 4 z nich występował rozplem nowotworowy ścian naczyń o różnym nasileniu. Proliferacja komórek wrzecionowatych i olbrzymich przeważała nad rozplemem śródbłonek. Pasma proliferujących naczyń dzieliły niekiedy nowotwory na mniejsze pola i często wnikały do tkanki mózgu poza obręb guza /ryc. 118, 119/.

W glejaku złożonym, któremu towarzyszył odoponowy mięsak, rozplem elementów ścian naczyń był znaczny, podobnie jak w skąpodrzewiaku współistniejącym z mięsakiem odoponowym. W omawianych guzach pola części glejakowych i części odoponowych, mięsakowych były

dobrze odgraniczone i stanowiły guzy niezależne, natomiast nowotworowo proliferujące naczynia w częściach glejakowych zdawały się być ich integralnym składnikiem. Włókna srebrochłonne występowały głównie w mięsakach odoponowych, mniej licznie w mięsakach odnaczyniowych.

Całkowite wymieszanie komórek glejakowych i mięsakowych /ryc. 120/ występowało w 2 nowotworach. Naczynia w ich obrębie wydawały się mniej liczne i bardziej wtopione w utkanie. Obydwa guzy nie przekraczały granic mózgu i nie posiadały komponenty odoponowej.

Podgrupa c. zawierała 5 nowotworów. Wszystkie guzy miały charakter zbitych mięsaków wrzecionowatokomórkowych. Przynależność do tej podgrupy zawdzięczały obecności pól glejakowych w komorach bocznych lub między pasmami mięsaka wrastającymi w tkankę mózgu /ryc. 121/. Pola składały się z luźno rozrzuconych polimorficznych komórek i komórek dysplastycznych miejscami przypominając glejaka wielopostaciowego, również dzięki obecności ognisk krwotocznych i martwicy. W obszarach tych znajdowały się także odczynowe astrocyty, makrofagi, oligodendroglej o wodojasnej cytoplazmie oraz komórki globoidalne. Figury podziału w polach glejakowych występowały rzadko w przeciwieństwie do pól mięsaka. Poza litą częścią guzów nie spotykano włókien srebrochłonnych ani kologenowych.

W hodowli tkankowej komórki rosły wolno, w sposób niezorganizowany, rozproszony lub układały się w pasma. Obserwowano dwa

zasadnicze typy komórek: dwubiegunowe wrzecionowate o silnie nadbarwliwym jądrze i komórki o bladych nakrapianych jądrach i kilku wypustkach. Stosunek ilościowy obu typów komórek był różny w poszczególnych hodowlach /ryc. 122/. Figury podziału występowały często. Dodatkowym składnikiem tych hodowli były komórki wielojądrzaste, olbrzymie i drobne, okrągłe.

W obrazie mikroskopowo-elektronowym zasadniczą cechą była niejednakowa gęstość optyczna elementów nowotworowych. Występowały dwa rodzaje komórek różniących się gęstością elektronową. Komórki małe wydawały się elektronowo-gęstsze. Ich jądra zawierały obfitą chromatynę, a błona komórkowa była bogato pofałdowana. Wśród organeli przeważały mitochondria o różnych rozmiarach i rozbudowany aparat Golgiego /ryc. 123/. Większe komórki o mniejszej gęstości elektronowej miały liczne, grube wypustki, które się ściśle kontaktowały. Jądra miały kształt regularny. Cytoplazma była obfitsza i zawierała duże mitochondria i dobrze rozwinięty aparat Golgiego oraz szorstką siatkę śródplazmatyczną. Gliofibryle występowały w nich w zmiennej ilości /ryc. 124/.

Niektóre cechy komórek pochodzących z hodowli tkanek były znacznie bardziej nasilone niż w komórkach guza in situ co wyrażało się mn. większym pofałdowaniem otoczki jądrowej /ryc. 125/. Wyłącznie w materiale pochodzącym z hodowli tkanek zaobserwowano w cytoplazmie komórek o mniejszej gęstości elektronowej skupienia ciał wirusopodobnych identycznych z opisanymi w hodowanym gwiaździaku /ryc. 126/.

Badanie histochemiczne

Badane guzy miały oprócz utkania mięsaka komponentę gwiazdzia-
ka, skąpodrzewiaka lub wyściółczaka.

W reakcji z odczynnikiem Schiffa wybarwiały się silnie części
mezodermalne guzów i włókna srebrochłonne. Ściany naczyń miały
różną barwliwość; odnaczyniowe pasma komórek wrzecionowatych były
silnie PAS-dodatnie, natomiast odnaczyniowe komórki olbrzymie
zawierały śladowe ilości substancji PAS-dodatnich. Komórki nowo-
tworowe pochodzenia glejowego nie zawierały tych substancji. Za-
barwienie substancji międzykomórkowej w polach glejakowych było
słabo dostrzegalne. Te same struktury, które barwiły się odczyn-
nikiem Schiffa wykazywały wyraźny odczyn na mukopolisacharydy
obojętne. Odczyn na mukopolisacharydy kwaśne występował w substan-
cji międzykomórkowej pól glejaków i w obrzękłym neuropilu.

W hodowli tkanek substancje PAS-dodatnie były obecne w cyto-
plazmie komórek wrzecionowatych, a w pozostałych występowały w
zmiennym nasileniu.

W żadnym z elementów strukturalnych tych guzów w warunkach
in vivo i in vitro nie znaleziono glikogenu.

Badanie histoenzymatyczne

Odczyn na fosfatazę zasadową nie uwidocznił się lub był śla-
dowy w ścianach naczyń zarówno w obrębie utkania glejaka jak i
mięsaka, niezależnie od nasilenia rozplemu elementów komórkowych
ścian naczyń.

Odczyn na fosfatazę kwaśną w komórkach pól glejakowych wykazywał śladową lub umiarkowaną aktywność enzymu w poszczególnych komórkach, najwyższą w komórkach dużych. Komórki części mięsakowych, a zwłaszcza komórki wrzecionowate wykazywały wybitną lub znaczną aktywność enzymu. Ogólnie, aktywność fosfatazy kwaśnej charakteryzowała się różnorodnym natężeniem i niejednakową lokalizacją w częściach glejakowych i mięsakowych nowotworów /ryc.127/.

W hodowli tkanek komórki również wykazywały znaczne różnice w nasileniu odczynu na fosfatazę kwaśną. Najwyższa aktywność występowała w komórkach wrzecionowatych.

Podobne różnice w aktywności i lokalizacji odczynu na esterazę nieswoistą obserwowano w tkance i w komórkach hodowanych /ryc.128/

Zmienione ściany naczyń wykazywały śladową aktywność aminopeptydazy. Aktywność tego enzymu była umiarkowana w gniazdach komórek i rozrzuconych komórkach mięsakowych części guzów.

Spośród trzech badanych dehydrogenaz zarówno w materiale tkankowym jak i hodowanym dehydrogenaza mleczanowa wykazywała najwyższą aktywność. Ziarniste produkty reakcji występowały obficie w cytoplazmie komórek pól glejakowych i mięsakowych guzów różniąc się natężeniem w poszczególnych komórkach i polach.

Dehydrogenaza glukozy-6-fosforanu w materiale tkankowym odznaczała się niską aktywnością w polach glejakowych i nieco wyższą w częściach mięsakowych. W materiale pochodzącym z hodowli aktywność tego enzymu była wysoka w komórkach wrzecionowatych, a nieco niższa w komórkach glejaków.

Aktywność dehydrogenazy bursztynianowej w skrawkach tkankowych była śladowa lub bardzo niska w komórkach glejaków, a za-
ledwie zaznaczona w polach mięsakowych. W komórkach hodowanych
aktywność enzymu była zwykle niska.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

Przeprowadzone badania wykazały, że w okresie poprzedzającym ujawnienie się zmian nowotworowych w mózgu, zarówno w bezpośrednim jak i w dalszym otoczeniu wszczepionego karcinogenu, występowały liczne nieprawidłowości strukturalne. Odczyn tkankowy charakteryzujący się udziałem zarówno elementów glejowych jak i łącznotkankowych pojawiał się już w pierwszych tygodniach okresu utajenia nowotworowego. Okres ten jest bardzo różny i według Zimmermana /1956, 1957/ oraz Netskyego /1964/ może wynosić ponad 200 dni od wszczepienia karcinogenu. Zjawiskiem stałym, występującym wyłącznie w mózгах zwierząt doświadczalnych było wytwarzanie otoczki glejowo-łącznotkankowej wokół metylocholantrenu. Jej brak w otoczeniu grafitu wszczepianego zwierzętom kontrolnym przy obecności innych wykładników odczynu tkankowego pozwala na wiązanie faktu wytwarzania otoczki ze swoistym działaniem karcinogenu. Analiza składu morfologicznego otoczki wokół metylocholantrenu uzasadnia przypuszczenie, że komórkowe i włókniste elementy łącznotkankowe otoczki pochodzą ze ścian naczyń mózgu niezależnie od lokalizacji karcinogenu w poszczególnych okolicach ośrodkowego układu nerwowego. Jänisch i Schreiber /1969/ sądzą natomiast, że elementy tkanki łącznej w otocze wywodzą się z opon miękkich lub z podścieliska splotu naczyniastego. Przeciwno temu pogładowi przemawia brak różnic ilościowych i jakościowych w łącznotkankowym składzie otoczki związanych z umiejscowieniem karcinogenu w

pobliżu powierzchni mózgu, w głębi tkanki lub w układzie komórkowym.

Obserwacje licznych badaczy wskazują, że wystąpienie odczynu tkankowego po implantacji karcinogenu nie jest zjawiskiem stałym. Arnold i Zimmerman /1943/ nie stwierdzali w ogóle proliferacji komórkowej po upływie roku od wszczęcia dibenzantracenu do mózgu myszy C3H, a Zimmerman /1956/ obserwował pojawienie się poronnego rozplemu glejowego w bezpośrednim otoczeniu karcinogenu dopiero po 200 dniach trwania doświadczenia. Nakamura /1956/ nie spostrzegł odczynu komórkowego u 1/3 szczurów, którym implantowano domózgowo 40% zawiesinę metylocholantrenu w cholesterolu. Być może, różnice te w stosunku do przedstawionych spostrzeżeń własnych wynikają z odmienności stosowanego karcinogenu i różnych warunków doświadczalnych. Za taką interpretacją przemawia fakt, że Popoff /1967/ pracująca w laboratorium Zimmermana stwierdzała występowanie wyraźnego odczynu tkankowego i otoczki wokół karcinogenu stosując tę samą metodę implantacji metylocholantrenu, którą posługiwano się w przedstawionej serii doświadczeń.

Obserwacje własne wskazują, że odczyn komórkowy ze strony mikro i astrogleju ma charakter odczynu nieswoistego i różni się w mózgach zwierząt doświadczalnych i kontrolnych jedynie nasileniem i rozległością. Na podkreślenie zasługuje szczególnie silny odczyn astrocytarny, znacznie bardziej wyrażony w mózgach myszy doświadczalnych. Przerosłe astrocyty osiągające bardzo duże rozmiary otaczały zarówno karcinogen jak i grafit, ale u myszy doświadczalnych występowały one również w stosunkowo rozległych obszarach

oddalonych od karcinogenu. Przerost astrocytów wokół karcinogenu opisywali również inni autorzy /Nakamura 1956, Zimmerman 1957, Ikuta i Zimmerman 1965/. Przerost astrogleju zarówno wokół karcinogenu jak i grafitu można traktować jako odczyn reparatorny związany z mechanicznym uszkodzeniem tkanki podczas implantacji. W materiale własnym zwraca jednak uwagę pokrywanie się obszaru odczynu glejowego z obszarem zmian obrzękowych tkanki, które w przypadku grafitu były nieznaczne, a rozległe wokół implantowanego karcinogenu. Ta lokalizacyjna zgodność pozwala przypuszczać, że odczyn glejowy jest reakcją na obrzęk mózgu i uszkodzenie naczyń-mózgowych mechanizmów barierowych. Rozrostowy odczyn astrocytarny stanowi typowe następstwo naczyniopochodnego obrzęku mózgu /Rubinstein i wsp. 1962, Klatzo 1967/. Różnicę pomiędzy rozległością obrzęku i odczynu astrocytarnego w grupie zwierząt kontrolnych i doświadczalnych można zapewne odnieść do wyłącznie mechanicznego uszkodzenia tkanki przez grafit, i mechaniczno-toksycznego działania metylocholantrenu prowadzącego do zmian w przepuszczalności naczyń mózgu. Kałuża /1971/ wykazał zależność nasilenia zaburzeń barierowych i obrzęku mózgu od rodzaju czynnika uszkadzającego, stwierdzając między innymi, że uraz mechaniczny tkanki prowadzi do ograniczonego okołogniskowego obrzęku. Przyjmując, że stwierdzone w badanym materiale rozplem i przerost astrocytów stanowią reakcję na obrzęk mózgu związany z toksycznym uszkodzeniem mechanizmów barierowych, nie można wyłączyć również toksycznego wpływu metylocholantrenu bezpośrednio na elementy glejowe tkanki. Prze-

mawia za tym obecność nasilonego odczynu ze strony mikrogleju, którego udział w odczynie tkanki nerwowej na obrzęk jest zwykle nieznaczny /Rubinstein i wsp. 1962/. W świetle powyższych danych odczyn glejowy obserwowany po wszczepieniu metylocholantrenu należy traktować jako wypadkową działania obu wymienionych czynników. Bingham /1972/ nie wyklucza możliwości wtórnego obrzęku zdrowej tkanki jako reakcji na działanie czynników pochodzących z oddalonego ogniska uszkodzenia.

Obok histopatologicznych wykładników naczyniopochodnego obrzęku mózgu związanego z uszkodzeniem bariery krew-mózg na zaburzenie przepuszczalności naczyń mózgowych w przypadku implantowanego metylocholantrenu wskazuje w przedstawionym materiale nagromadzenie mukopolisacharydów kwaśnych i obojętnych w obszarach tkanki objętej obrzękiem. Przemawia za tym również obecność w cytoplazmie odczynowych astrocytów substancji PAS-dodatnich i mukopolisacharydów, które w warunkach prawidłowych nie występują ani w komórkach glejowych ani w neuropilu. Pojawiają się natomiast w warunkach uszkodzonej bariery krew-mózg /Klatzo i wsp. 1958/ jako wyraz zaburzenia przepuszczalności naczyń.

Podstawowym wykładnikiem zaburzeń w ścianach naczyń mózgu w następstwie implantacji metylocholantrenu było trwałe obniżenie lub brak aktywności fosfatazy zasadowej w śródbłonkach naczyń wokół karcinogenu. Wydaje się, że zmiany enzymatyczne były wywołane bezpośrednim toksycznym działaniem karcinogenu na włóściczkę prowadzącym do zaburzeń czynności bariery krew-mózg. Analogiczne

zmiany w aktywności fosfatazy zasadowej w naczyniach mózgu wykrywalne zarówno metodami histochemicznymi jak i biochemicznymi stwierdzał Kirsch /1963/ po podaniu domózgowym zawiesiny metylocholantrenu w cholesterolu. Zmiany te nie mające cech swoistych dla działania metylocholantrenu, podobnie jak w naszym materiale, utrzymywały się przez kilkumiesięczny okres doświadczenia. Znany jest między innymi wpływ zatrucia związkami ołowiu na aktywność fosfatazy zasadowej; Brun i Brunk /1967/ stwierdzali obniżenie fosfatazy zasadowej w naczyniach mózgu u zwierząt doświadczalnych cofające się po zaprzestaniu intoksykacji.

W badanym materiale zwracały uwagę różnice w nasileniu zaburzeń aktywności fosfatazy zasadowej w różnych obszarach mózgu. Brak lub obniżenie aktywności enzymu występowały jedynie w tych częściach mózgu, w których występuje bariera krew-mózg. W splocie naczyńs-tym wykazującym odmienne właściwości bariery mózg-płyn mózgowo-rdzeniowy, zmiany aktywności fosfatazy zasadowej w śródbłónkach naczyń nie występowały, nawet w bezpośredniej styczności z metylocholantrinem, podobnie jak nie stwierdzano zmian aktywności enzymatycznej wokół implantowanego grafitu niezależnie od jego położenia. Różnice te mogą wskazywać na istotny udział fosfatazy zasadowej w mechanizmie naczyniowo-tkankowego układu barierowego i na jej odrębne właściwości w różnych strukturach ośrodkowego układu nerwowego.

Udział fosfatazy zasadowej w mechanizmie bariery krew-mózg podkreślano wielokrotnie, chociaż rola biologiczna tego enzymu

nie jest jednoznacznie określona /Bourne 1958, Landers i wsp. 1962, Nandy i Bourne 1963/. Enzymowi temu przypisywano między innymi funkcje związane z przenoszeniem substancji z krwi do tkanki nerwowej /Leduc i Wislocki 1952/, jak również udział w zabezpieczeniu tkanki nerwowej przed niektórymi czynnikami szkodliwymi znajdującymi się we krwi /Wislocki i Dempsey 1948/. W przeciwieństwie do innych hydrolaz fosfataza zasadowa nie jest enzymem lizosomalnym i jej aktywność nie wiąże się z metaboliczną czynnością lizosomów /Bingham 1972/.

Zmianom histoenzymatycznym w śródbłonkach naczyń towarzyszyły wzmożone procesy metaboliczne w komórkach otoczki glejowo-łącznotkankowej wokół karcinogenu i w odczynowych astrocytach oraz makrofagach wyrażające się podwyższoną aktywnością enzymów hydrolytycznych, proteolitycznych i oksydacyjno-redukcyjnych. Nie różniły się one od zmian opisywanych jako typowe dla wytwórczych odczynów tkankowych w mózgu /Mossakowski 1963, 1970, Mossakowski i Penar 1972/.

Omówione powyżej nieprawidłowości histologiczne, histochemiczne i histoenzymatyczne w mózgach zwierząt doświadczalnych w okresie utajenia nowotworowego nie wykazywały żadnych cech swoistych, które pozwoliłyby na uznanie ich za wykładnik toczącej się transformacji nowotworowej. Jedyną zmianą, którą można uznać za wyraz dokonujących się przemian nowotworowych było podwyższenie aktywności metylazy t-RNA w mózgach zwierząt po wszczepieniu metylocholantrenu. Stopień metylacji t-RNA nie wykazywał żadnej zależności od czasu ekspozycji tkanki na działanie karcinogenu.

Wysoką aktywność metylazy t-RNA stwierdzono w ludzkich glejakiach i mięsakach mózgu /Viale i wsp. 1970, Viale 1971/ oraz w samoistnych nowotworach innych narządów u ludzi i zwierząt /Tsutsui i wsp. 1966, Turkington i Riddle 1970, Riddick i Gallo 1971/, a także w guzach wywołanych środkami rakotwórczymi /Hancock 1967, Stewart i Corrance 1969, Waalkes i wsp. 1971/. Zjawisko to potwierdzają również obserwacje własne dotyczące znacznego wzrostu aktywności metylazy t-RNA w mięsakach mózgu myszy w porównaniu z aktywnością tego enzymu w mózгах zwierząt kontrolnych /Kroh i wsp. 1976/. W świetle powyższych obserwacji pojawienie się znacznego wzrostu aktywności enzymu w mózгах zwierząt dorosłych w okresie przednowotworowym może być uznane za wykładnik dokonującej się transformacji nowotworowej przy braku jej morfologicznego wykładnika, niezależnie od tego czy wzrost ten jest związany z nowotworzeniem czy tylko mu towarzyszy.

Spośród 407 zwierząt, którym wszczepiono karcinogen, guzy wystąpiły w mózгах 182 myszy, tj. u 44.85% osobników. Odsetek glejaków o jednym typie utkania wynosił 30.63, chociaż myszy użyte do doświadczenia nie stanowiły szczepowo jednolitego materiału. Według Zimmermana i Arnold /1944/ podatność myszy C3H na indukcję glejaków metylocholanantrenem wynosi 24%, a według Perese i Moore /1960/ - 38.1%. Czynnikiem zmniejszającym odsetek uzyskanych guzów w przedstawionej serii doświadczeń własnych była niewątpliwie dekapitacja wykonywana zgodnie z założeniem pracy przed pojawieniem się klinicznych objawów nowotworu. Aby uniknąć błędu obniżającego wynik statystyczny, przeprowadzono oddzielnie obliczenia

dla 334 myszy pozostających w obserwacji po pojawieniu się pierwszego glejaka, tj. po 17 tygodniach doświadczenia. Obliczenia wykazały, że uformowane guzy wynoszą w tym materiale 54.77%, a glejaki - 37.43%.

Samoistne glejaki mózgu są niezwykle rzadkie i wydaje się mało prawdopodobne, aby w badanej serii zwierząt ujawniły się przypadkowe guzy mózgu. Do sporadycznie opisanych przypadków guzów mózgu u myszy należy wyściółczak i śródbłonniak /Slye i wsp. 1931/, wyściółczak /Ngowyang 1930/, skąpodrzewiak /Cottier i Luginbühl 1951/, glejak wielopostaciowy /Andervont i wsp. 1958/ oraz rdzeniak i glejak /Cloudman 1941/.

Średni czas przeżycia zwierząt z glejakami i glejako-mięsakami oraz z poszczególnymi rodzajami glejaków i z wyodrębnionymi glejako-mięsakami obliczono oddzielnie dla zwierząt padłych i dekapitowanych. Wśród zwierząt które padły, najdłuższy średni czas przeżycia miały myszy, u których znaleziono mikroguzy mózgu i wynosił on 53.4 tygodnie, następnie myszy z glejakami - 45.9 tygodnie; najkrócej żyły myszy z glejako-mięsakami - 43.5 tygodnie /Tabela 5/.

W porównaniu z większością danych statystycznych pochodzących z prac innych autorów, wyniki uzyskane w badanym materiale wskazują na wydłużenie czasu przeżycia myszy - nosicieli glejaków. Średni czas przeżycia myszy z glejakami przedstawia się następująco u różnych badaczy:

Badania własne		45.9 tygodni
Wahal i Ansari	/1968/	35.0
Kawai	/1959/	35.8
Jänisch	/1966/	38.4
Jänisch i Schreiber	/1969/	38.5
Zimmerman i Arnold	/1943/	39.4
Perese i Moore	/1960/	40.0
Bridges	/1960/	41.0
Tansley i Wilson	/1947/	41.8
Schiefer	/1958/	42.2
Haelst i Swaen	/1963/	49.3

Informacje dotyczące średniego czasu przeżycia myszy ze wzbudzonymi glejako-mięsakami są bardzo skąpe. Wahal i Ansari /1968/ podają 30.5 tygodnia, a więc czas krótszy niż uzyskany przez tych samych autorów dla glejaków. W przedstawionym materiale średni czas przeżycia myszy z glejako-mięsakami był również krótszy o 2 tygodnie niż myszy z glejakami. W poszczególnych podgrupach glejako-mięsaków stwierdzano także zróżnicowanie czasu przeżycia; najkrótszy obserwowano w podgrupie guzów mieszanych z przewagą utkania glejowego /Tabela 7/.

Z własnych nieopublikowanych obserwacji wynika, że czas przeżycia myszy z mięsakiem mózgu wynosi średnio 37.7 tygodni. Inni autorzy także uważają, że jest on znacznie krótszy niż u myszy z glejakami /Zimmerman i Arnold 1943, Kawai 1959, Bridges 1960/. Wyjątek stanowią wyniki uzyskane przez Jänischa i Schreibera /1969/, którzy wykazali dłuższy czas przeżycia myszy z mięsakami

niż z glejakami. Z porównania danych dla glejaków i mięsaków wynika, że czas przeżycia myszy z glejako-mięsakami zajmuje pozycję pośrednią.

Różny czas ujawniania się nowotworów próbowano wiązać między innymi z głębokością wszczepienia metylocholantrenu /Schiefer 1964/. Własne obserwacje wskazują, że czynnik ten nie ma istotnego znaczenia. Ustalono bowiem, że u większości zwierząt ziarno karcinogenu umieszczone było w korze mózgu, przy czym nie miało to żadnego wpływu na czas ujawnienia się guza.

W poszczególnych grupach glejaków nie stwierdzono wyraźnych różnic w średnim czasie przeżycia zwierząt. Kryteria klasyfikacyjne stosowane w patologii ludzkiej do glejaków uważanych za łagodne lub złośliwe okazały się prognostycznie zawodne w odniesieniu do materiału doświadczalnego. Brak różnic najwyraźniej występuje pomiędzy gwiazdziakami II⁰ /50.7 tyg./, skąpodrzewiakami /53.2 tyg./ i glejakami wielopostaciowymi /52.9 tyg./. Zwraca jednak uwagę stosunkowo krótki czas przeżycia myszy z wyściółczakami /38.3 tyg./, który wiąże się prawdopodobnie z dynamicznym wzrostem tych guzów.

Morfologia mikroguzów wzbudzonych u zwierząt nie ma odpowiednika w materiale ludzkim. W badanym materiale wygląd wczesnych ognisk rozplemu nowotworowego nie daje podstaw do wnioskowania o ich ewentualnym dalszym rozwoju. Tylko w pojedynczych przypadkach charakter mikroguzów mógł sugerować glejakowy lub mięsakowy kierunek ich późniejszej ewolucji. Według Jänischa i Schreiber

/1969/ mikroguzy wywołane u szczurów neurotropowymi pochodnymi nitrozomocznika składają się przeważnie z komórek pochodzenia oligodendroglejowego lub z komórek astrocytopodobnych, co mogłoby świadczyć o wybiórczej reaktywności tych komórek. We wczesnych stadiach rozwoju ani w materiale własnym ani w materiale Jänischa i Schreibera mikroguzy nie przypominały polimorficznych glejaków czy glejako-mięsaków. Wymienieni autorzy przypuszczają, że dopiero w trakcie postępującego rozwoju mikroguzów wykształcają się dalsze różnicujące je cechy nadające im indywidualne piętno. Według opinii Zimmermana /1955, 1956/ różne komórki glejowe jednocześnie pobudzone do rozplemu przez miejscowo działający karcinogen od początku tworzą mieszaną populację nowotworową, której skład zależy od ilości i rodzaju stymulowanych komórek. Uważa się, że w miarę upływu czasu szybciej rosnące komórki eliminują komórki rosnące wolniej, ale mimo to poszczególne obszary guza mogą zachować odrębność morfologiczną.

Z porównania cech morfologicznych mikroguzów i ukształtowanych już nowotworów można przypuszczać, że w przedstawionym materiale "czyste" glejaki o przewadze jednego typu komórek i glejaki złożone, zwłaszcza o utkaniu gwiazdziaka i wyściółczaka lub gwiazdziaka i skąpodrzewiaka, powstają zgodnie z sugestiami Zimmermana /1955, 1956/ w wyniku równoczesnego rozplemu komórek glejowych o różnym pochodzeniu. Więcej wątpliwości nastrocza patomechanizm powstawania glejako-mięsaków. Zarówno w omawianym materiale jak i w materiale Jänischa i Schreibera /1969/ nie obserwowano

początkowych okresów rozwoju glejako-mięsaków, poza proliferacją glejowo-mezodermalną stwierdzaną w pooperacyjnej bliznie mózgu, chociaż zgodnie z cytowanym poglądem Zimmermana oraz obserwacjami Perese i Moore /1960/ powinny się one rozwijać bardzo wcześnie. W patogenezie nowotworów mieszanych, obok możliwości równoczesnej transformacji elementów komórkowych pochodzących z różnych listków zarodkowych przez miejscowo działający karcinogen, uwzględnić należy możliwość indukcji nowotworowej jednej tkanki przez drugą. Za taką ewentualnością przemawiają obrazy morfologiczne spostrzeżone zarówno we własnym materiale doświadczalnym jak i opisywane przez innych autorów. Najbardziej charakterystycznym przykładem jest dynamika zmian naczyniowych w glejakiach, przede wszystkim w glejaku wielopostaciowym. Proliferacja elementów komórkowych ścian naczyń jest stałą cechą charakterystyczną glejaków wielopostaciowych u ludzi i u zwierząt doświadczalnych. W przedstawionej serii nowotworów rozplem elementów ścian naczyń wahał się od nieznacznego odczynu do zmian o charakterze nowotworowym z tworzeniem litych pasm komórek wrzecionowatych i olbrzymich, i obecnością w nich figur podziału. Wśród wczesnych postaci guzów nie występowały glejaki z proliferującymi naczyniami, natomiast rozplem elementów ścian naczyniowych był cechą glejaków w pełni rozwiniętych. Wtórna mezenchymacja nowotworowa guzów glejowych jest zjawiskiem znanym z patologii ludzkiej /Mossakowski 1961, Rubinstein 1964/. Istnieją liczne dane wskazujące na występowanie odwrotnego zjawiska - indukcji nowotworzenia glejowego przez nowotwory o innym

pochodzeniu tkankowym. Przykładem jest bujanie nowotworowe gleju wokół wzbudzonych mięsaków stwierdzone we własnym materiale doświadczalnym jak i przez Jänischa i Schreiberera /1969/. Podobne zmiany opisywano w przypadkach glejako-mięsaków mózgu u ludzi /Rubinstein 1956, 1964/. Analogicznie interpretować można obecność glejaków w przypadkach przerzutów nowotworów z innych narządów do mózgu /Posnikoff i Stratford 1960/. W świetle powyższych danych wydaje się w pełni uzasadnione przyjęcie możliwości indukcji nowotworowej jako ważnego czynnika w patogenezie 30 zbadanych doświadczalnych glejako-mięsaków. Nie wydaje się natomiast możliwe przypisywanie indukującej roli jednej z komponent glejako-mięsaków jedynie na podstawie jej przewagi ilościowej w obszarze nowotworu

Charakterystyczną cechą materiału doświadczalnego jest znacznie częstsze występowanie glejaków złożonych i glejako-mięsaków niż w materiale ludzkim. W przedstawionym materiale glejako-mięsaki stanowiły 18.3% glejaków, podczas gdy w zestawieniu Wisławskiego /1970/ - tylko 1.7% guzów glejowych u ludzi. Na różnicę tę zwracają również uwagę Schiefer /1964/ i Rubinstein /1964/.

W badanym materiale nie udało się ustalić determinującego wpływu umiejscowienia karcinogenu w mózgu na typ wzbudzonego nowotworu. Zależność ta podkreślana jest przez Zimmermana /1956, 1967/ jako zjawisko charakterystyczne dla nowotworów doświadczalnych. Tylko w części wyściółczaków karcinogen umiejscowiony był wewnątrz komory bocznej. W przypadku innych glejaków lokalizacja metylocholantrenu była różna a zależność rodzaju nowotworu od

położenia ziarna karcinogenu w tkance niemożliwa do ustalenia.

Prawie wszystkie nowotwory uzyskane po wszczepieniu metylocholantrenu udało się zakwalifikować do grup odpowiadających poszczególnym typom glejaków ludzkich. Wyjątek stanowiły glejaki złożone i glejako-mięsaki, które nie są włączone do najbardziej rozpowszechnionych klasyfikacji nowotworów pochodzenia glejowego, mimo że ich występowanie jest uznawane w neuroonkologii ludzkiej i znajduje wyraz w doniesieniach kazuistycznych /Hart i wsp. 1974/.

Tylko część glejaków doświadczalnych wykazywała jednolity typ wzrostu. Typ ortoplastyczny o określonych tendencjach histofornatywnych występował najrzadziej. Znacznie częściej spostrzegano glejaki, w których na podłożu jednorodnego ortoplastycznego utkania występowały gniazda komórek o cechach anaplazji. Ogniska komórek anaplastycznych spotykane w glejakach ludzkich świadczą o złośliwości tych pól nowotworowych /Kunicki 1963/.

Guzy szeregu astrocytarnego o jednorodnym utkaniu obserwowano rzadko. Często występowała w nich komponenta utkania anaplastycznego i dysplastycznego, przy czym charakterystyczne było zróżnicowanie proporcji poszczególnych komponent utkania.

To samo zjawisko stwierdzono w skąpodrzewiakach, w których występowały z różną częstością i w różnych proporcjach komórki globoidalne. Komórki te, których cechy morfologiczne przypominały właściwości gemistocytów traktowano jako dysplastyczną postać nowotworowych oligodendrocytów. Komórki tego typu obserwowano również w nowotworach ludzkich / Zülch i Christensen 1956, Wisłowski 1970, Głuszczyk 1972/. Głuszczyk /1972/ opisał je w nowotworach,

które zaliczał do grupy III/B własnej klasyfikacji glejaków, a według Zülcha /1956/ podobne komórki /komórki przejściowe, komórki "nabłonkowe"/ stanowią składowy element skąpodrzewiaków o silnie wyrażonych zmianach wstecznych. W badanym materiale doświadczalnym komórki globoidalne stanowiły niekiedy dominujący element komórkowy skąpodrzewiaka i tylko obecność nielicznych komórek lub pól komórek o typowych cechach nowotworowego oligodendrogleju pozwalała na rozpoznanie guza. Guzy o przewadze komórek globoidalnych przez analogię do opisanych przez Zülcha /1956/ szczególnych postaci skąpodrzewiaków zakwalifikowano jako skąpodrzewiaki dysplastyczne. Odmienne cechy wykazywały skąpodrzewiaki o przewadze komórek z drobnym, nadbarwliwym jądrem i prawie niewidoczną cytoplazmą. Pola o przewadze tego typu komórek charakteryzowały się większym bogactwem komórkowym niż w ortoplastycznych skąpodrzewiakach. Skąpodrzewiaki o przewadze tego typu utkania komórkowego kwalifikowano jako skąpodrzewiaki anaplastyczne. W skąpodrzewiakach, podobnie jak w glejakach szeregu astrocytarnego spotykano naprzemienne występowanie pól o przewadze komponenty ana- i dysplastycznej, nierzadko rozsianych wśród typowego ortoplastycznego utkania nowotworu. Należy podkreślić, że niezmiernie rzadkie w patologii ludzkiej zjawisko dysplazji komórkowej w skąpodrzewiakach występowało w materiale doświadczalnym w 28% przypadków.

Znaczną część glejaków charakteryzował duży polimorfizm komórkowy. W sposób typowy obszary gęsto ułożonych komórek polimorficznych zajmowały centralną część glejaków. Niekiedy tylko, jak w

przypadku glejaków wielopostaciowych tworzyły one główną masę guza. Zwracał uwagę fakt, że polimorficzne obszary guza, charakterystyczne dla korowych części glejaków wielopostaciowych były ostro odgraniczone od nieuszkodzonej kory mózgu, wbrew przyjętym poglądom o rozlanym naciekającym wzroście glejaków /Kunicki i Stefanicka-Wiechowa 1965/. Obwodowe części glejaków składały się przeważnie z małych anaplastycznych komórek, które naciekały tkankę w sposób rozproszony, co szczególnie uwidoczniło się w istocie białej. Jedynie w zróżnicowanych gwiazdziakach komórki obwodowych i centralnych części guza nie różniły się od siebie.

Tak zwane struktury pierwotne stanowiące wykładnik właściwości histoformatywnych typowych dla poszczególnych postaci glejaków występowały stosunkowo często, jakkolwiek rzadko były one w pełni wykształcone. Wydaje się, że podłoże tkankowe, na którym wzrastał guz znacznie wyraźniej niż w materiale ludzkim wpływało na kształtowanie się struktur pierwotnych. Rozety i rozety rzekome, typowe dla wyściółczaków, jako w pełni uformowane struktury występowały jedynie w guzach naciekających tkankę mózgu, a nie obserwowano ich w masach nowotworowych wypełniających światło komory, nawet wtedy gdy były one obecne w śródmózgowej części guza. Jedynie w części przypadków nowotwory zachowywały typowe dla nich struktury pierwotne, przynajmniej w formie poronnej, niezależnie od rodzaju naciekanego podłoża. Obserwowano je nawet w częściach guza wzrastających w oponie lub w tkance podskórnej.

W jeszcze większym stopniu budowa anatomiczna podłoża wpływała

na sposób szerzenia się nowotworów. Znajdowało to wyraz w występowaniu tak zwanych struktur wtórnych. Charakterystycznym przykładem tego zjawiska był międzypęczkowy wzrost różnych rodzajów glejaków w spoidle wielkim, w którym dominowały ciągi wydłużonych komórek o cechach spongioblastów, podczas gdy w głębszych częściach istoty białej ten sam nowotwór utworzony był z bezładnie rozproszonych komórek szeregu bądź astrocytarnego bądź też skąpowypustkowego. Histoformatywny wpływ podłoża w strukturach szarych, zwłaszcza w korze mózgu wyrażał się obecnością okołoneuronalnych układów satelitarnych, spotykanych szczególnie często w wyżej zróżnicowanych glejakach ortoplastycznych. Zjawisko to nie występowało natomiast w mniej zróżnicowanych guzach takich jak glejaki wielopostaciowe czy gwiazdziaki płodowe. Wskazuje to na zależność występowania struktur wtórnych również od typu nowotworu i od stopnia jego zróżnicowania.

Innym rodzajem struktur wtórnych uwarunkowanych sposobem szerzenia się nowotworu były okołonaczyniowe mankiety nowotworowe w tkance mózgu w sąsiedztwie ogniska nowotworowego. Występowały one w glejakach wielopostaciowych, wyściółczakach i skąpodrzewiakach, i przypominały nacieki spotykane w glejakach u ludzi /Russel i Rubinstein 1963/ i w niektórych samoistnych nowotworach u zwierząt /Luginbühl 1964/.

Zjawiskiem zasługującym na specjalne podkreślenie ze względu na jego rzadkość w materiale ludzkim, a częste występowanie w omawianym materiale doświadczalnym było ostre zatrzymywanie się

rozrostu nowotworowego na niektórych strukturach anatomicznych mózgu, takich jak np. warstwa neuronów zawoju zębatego i inne.

Rozrost i przerost śródbłonek, pogrubienie błony mięśniowej, rozplem komórek i włókien srebrochłonnych przydanki w ścianach naczyń glejaka wielopostaciowego przypominały zmiany patologiczne najczęściej spotykane w naczyniach tych guzów u ludzi /Zülch i Christensen 1956/. Obraz mikroskopowo-elektronowy naczyń w glejaku wielopostaciowym nie różni się również w sposób istotny w badanym materiale od obrazów obserwowanych przez Longa /1970/ w glejaku wielopostaciowym u ludzi. Wykazane zarówno w materiale ludzkim jak i doświadczalnym poszerzenie złącza między komórkami śródbłonek, ich łączność ze zmienioną błoną podstawną oraz z przestrzenią międzykomórkową może stanowić morfologiczny wykładnik różnic w przepuszczalności naczyń nowotworu w stosunku do naczyń nieuszkodzonego układu nerwowego.

Zmiany wsteczne obserwowane w badanym materiale również przypominały zmiany występujące w guzach ludzkich. Na szczególną uwagę zasługują ogniska martwicy i ogniska krwotoczne. Ogniska krwotoczne występowały we wszystkich wyściółczakach, w większości glejaków wielopostaciowych i skąpodrzewiaków oraz w gwiazdziakach. Miejscem uprzywilejowanym były centralne części nowotworu oraz tkanki mózgu w otoczeniu guza. W dobrze odgraniczonych glejakach krwotoki umiejscowione w mózgu miały charakter pasmowatych ognisk i układały się równolegle do brzegów guzów, a w luźno szerzących się naciekach występowały w postaci rozproszonych, drobnych

wynaczynień i krwinkotoków. Zmiany o podobnej lokalizacji i nasileniu obserwowano jedynie w doświadczalnych glejakach wielopostaciowych szczura, natomiast w skąpodrzewiakach spostrzegano tylko ogniska umiejscowione centralnie /Jänisch i Schreiber 1969/. Podobne nasilenie zmian krwotocznych w guzach mózgu u ludzi można znaleźć tylko w glejakach wielopostaciowych.

Ogniska martwicy występowały często i licznie w glejakach wielopostaciowych, w których podobnie jak u ludzi miały wygląd szczelin otoczonych wałem komórek nowotworowych układających się w pseudopalisady /Ojak 1960/. Zjawisko to określił Głuszczyk /1963 a/ nazwą martwicy "palisadowej". Ogniska martwicy skrzepowej bez wytwarzania układów rzekomopalisadowych obserwowano zarówno w centralnych jak i obwodowych częściach glejaków wszystkich typów, z wyjątkiem gwiaździka I⁰. Wydaje się przy tym, że występowały one u myszy znacznie częściej niż w glejakach wywołanych pochodnymi nitrozomocznika u szczurów /Jänisch i Schreiber 1969/.

Zwyrodnienie drobnotorbielkowe obserwowano tylko w nielicznych przypadkach gwiaździków doświadczalnych u myszy w przeciwieństwie do tego typu zmian w gwiaździkach nadnamiotowych u ludzi /Mossakowski 1965/. Zwraca uwagę fakt, że w materiale doświadczalnym nie obserwowano w ogóle dużych torbieli, charakterystycznych dla tego rodzaju guzów u ludzi /Zülch i Christensen 1956/.

W hodowli tkanek glejaki i glejako-mięsaki zachowywały podstawowy skład populacji komórkowych i cechy morfologiczne komórek

macierzystych a nawet wykazywały tendencję do odtwarzania niektórych struktur histoformatywnych, typowych dla poszczególnych rodzajów nowotworów. Wyrażały się one między innymi szeregowym układem komórek wrzecionowatych glejako-mięsaków lub tworzeniem promienistych i brukowych układów komórek wyściółczaków. Własności takie zachowują w hodowli tkanek również wyściółczaki ludzkie /Batzdorf i Pokress 1968/. W hodowli tkanek cechy dysplastyczne i anaplastyczne komórek nowotworowych uwydatniały się wyraźniej niż w materiale macierzystym.

Badania mikroskopowo-elektronowe wykazały również pewne różnice pomiędzy budową komórek macierzystych i pochodzących z hodowli tkanki in vitro. Dotyczyły one przede wszystkim struktury jądra komórkowego. Jądra komórek nowotworowych z hodowli tkanek charakteryzowało na ogół silniejsze pofałdowanie otoczki jądrowej, a czasami wyraźnie zwiększona zawartość chromatyny. Z drugiej strony wyłącznie w materiale tkanki in situ spostrzegano w komórkach glejaka wielopostaciowego poszerzenie porów otoczki jądrowej, wypływanie przez nie chromatyny do cytoplazmy, niekiedy łącznie z jąderkiem i przenikanie substancji chromatyno-podobnej do zbiorników przestrzeni okołojądrowej. Cechy te mogą stanowić strukturalny wykładnik wzmożonej wymiany jądrowo-cytoplazmatycznej i być wyrazem zaburzeń równowagi między jądrem i cytoplazmą tak w komórkach prawidłowych /Watson 1959, Cervos-Navarro 1962, David 1964/, jak i w komórkach nowotworowych różnego pochodzenia /Hsu i Lou 1959, Burns i wsp. 1971/. Analogiczne zmiany występu-

jące w badanym materiale doświadczalnym były bardziej nasilone. Obserwacje nasze stanowiły poparcie hipotezy wyrażonej przez wspomnianych badaczy. Omawiane zjawiska występowały jedynie w komórkach glejaka wielopostaciowego i można sądzić, że mają one związek z anaplastycznym i dysplastycznym charakterem tego nowotworu.

Podobieństwo pomiędzy komórkami wszystkich badanych glejaków pochodzących tak z tkanki *in situ* jak i z hodowli *in vitro* wyrażało się ponadto obecnością mikrotubul i gliofibryli. Obecność gliofibryli stanowiła stałą cechę komórek glejaków szeregu astrocytarnego u myszy, niezależnie od stopnia zróżnicowania tych guzów, jakkolwiek występowały one w zmiennych ilościach w poszczególnych komórkach. Gliofibryle wykrywano również w komórkach glejaków ludzkich /Iuse 1958, 1960, Raimondi i wsp. 1962/ i doświadczalnych /Kawai i wsp. 1964, Lageman i wsp. 1972/. Niektórzy badacze /Benda i wsp. 1971, Koestner i wsp. 1971, Maunoury i wsp. 1971/ uważają ich obecność za stałą cechę komórek wyżej zróżnicowanych glejaków, natomiast brak tych organeli świadczy o niskim stopniu zróżnicowania komórek.

Badania mikroskopowo-elektronowe gwiazdziaków i glejako-mięsaków z hodowli *in vitro* ujawniły w cytoplazmie nielicznych komórek ugrupowania cząstek wirusopodobnych. Przypominały one wyglądem myszy wirus RNA typu A występujący w nowotworach sutka i w guzach innych narządów. Cząstki RNA typu A, Ames i Rubin /1970/ znajdowali również w komórkach wyściółczaków myszy *in vivo* i

in vitro, hodowanych przez okres do 5 miesięcy. Ciała wirusopodobne o różnej budowie i lokalizacji spostrzegano wielokrotnie w glejakiach ludzkich i doświadczalnych /Rubin i wsp. 1969, Goebel i Cravioto 1972/. Popoff i wsp. /1968/ po stwierdzeniu cząstek podobnych do wirusa typu C w komórkach fagocytujących karcinogen w mózgu w okresie przednowotworowym rozważali możliwość ujawnienia się latentnego wirusa, który pod wpływem substancji rakotwórczej ujawnił nowe, onkogenne cechy. Dotychczas jednak zagadnienie współdziałania karcinogenów chemicznych i wirusów nie zostało wyjaśnione. Sporadyczność występowania we własnym materiale cząstek wirusopodobnych i z ograniczeniem wyłącznie do hodowli tkankowych nie pozwala na wyciąganie żadnych wniosków patogenetycznych.

Z przeprowadzonych badań wynika, że większość odczynów histoenzymatycznych zachowuje się podobnie we wszystkich typach glejaków i nie wykazuje żadnej prawidłowości w ujawnianiu się aktywności zarówno w poszczególnych nowotworach jak i w elementach komórkowych. Brak powtarzalności wyników znany z szeregu prac histochemicznych prowadzonych na materiale ludzkim i doświadczalnym spowodował, że przydatność diagnostyczna badań histochemicznych i ich wykorzystanie do charakterystyki biologicznej nowotworów okazały się bardzo ograniczone.

Wśród badanych hydrolaz odczynu na fosfatazę kwaśną i esterazę nieswoistą występowały w sposób zmienny w komórkach glejaków tak in situ jak i in vitro, podobnie jak w samoistnych glejakiach u ludzi /Głuszczyk 1963 b/. Obserwowano znaczne różnice w natężeniu

odczynów w poszczególnych komórkach badanych nowotworów, np. szczególnie wysoką aktywność wykazywały polimorficzne komórki wielojądrzaste, zwłaszcza w hodowli tkanek, nie stwierdzono jednak zależności pomiędzy natężeniem odczynu wymienionych hydrolaz a stopniem zróżnicowania glejaków jak to postulował Głuszczyk /1963 b/. Wzmoczoną aktywność enzymatyczną elementów komórkowych położonych w pobliżu ognisk martwicy w tkance guza wiązano raczej z nasileniem procesów katabolicznych, w których czynny udział biorą lizosomalne enzymy hydrolityczne /Nasu i Müller 1964, Fabiani 1965, Schiffer i wsp. 1965, 1968/.

Na podkreślenie zasługuje natomiast zachowanie się odczynu na beta-glukuronidazę, wykazującego zależność nasilenia od stopnia zróżnicowania nowotworu. Zależność pomiędzy stopniem zróżnicowania glejaków a natężeniem aktywności enzymatycznej stwierdził również Allen /1961, 1972/. Przy pomocy badań ilościowych wykazał on, że aktywność beta-glukuronidazy w glejaku wielopostaciowym i anaplastycznym u ludzi przewyższa aktywność tego enzymu w wysoko zróżnicowanych gwiaździakach, skąpodrzewiakach i w prawidłowej tkance mózgu. Stwierdził on ponadto, że aktywność beta-glukuronidazy w glejakach doświadczalnych u szczurów jest dziesięciokrotnie wyższa od aktywności prawidłowej tkanki nerwowej.

W glejakach szeregu astrocytarnego pola komórek dysplastycznych cechowała wysoka aktywność beta-glukuronidazy, przy czym komórki wykazywały bądź odczyn ziarnisty bądź dyfuzyjny. Odczyn dyfuzyjny obserwowano poza tym w komórkach wyściółczaków i w

niektórych komórkach glejaków wielopostaciowych. Odczyn ziarnisty występował w dysplastycznych komórkach tych guzów oraz w odczynowych astrocytach. Schiffer i wsp. /1969, 1972/ obserwowali taki sam dwójaki charakter odczynu w glejakach u ludzi wiążąc odczyn ziarnisty ze zmianami postępowymi w komórce, a odczyn dyfuzyjny ze zmianami wstecznymi. Na podstawie przedstawionych badań nie udało się ustalić takiego związku.

Podobnie jak w przypadku hydrolaz, odczyny ujawniające aktywność enzymów oksydacyjno-redukcyjnych charakteryzowało znaczne zróżnicowanie nasilenia w poszczególnych rodzajach, polach i komórkach nowotworów. Najwyższą aktywność wykazywała dehydrogenaza mleczanowa, niezależnie od rodzaju nowotworu, umiarkowaną - dehydrogenaza glukozy-6-fosforanu, a niską lub śladową - dehydrogenaza bursztynianowa. Zasadniczy wzorzec aktywności wymienionych enzymów nie ulegał zmianie w warunkach hodowli *in vitro*. Podobne różnice w nasileniu i rozmieszczeniu aktywności badanych oksydo-reduktaz stwierdzili w glejakach doświadczalnych u szczurów i królików Osske i wsp. /1969/, Stavrou i Dahme /1969/ i Stavrou /1970/ oraz w glejakach u ludzi O'Connor i Laws /1963/, Hanefeld /1965/, Kreutzberg i wsp. /1966/ i Schubert i Kreutzberg /1967/. Wymienieni autorzy zwracali uwagę na wysoką aktywność dehydrogenazy mleczanowej niezależnie od typu badanych glejaków, zwłaszcza wysoką w glejaku wielopostaciowym, a Mori i wsp. /1968/ podkreślali niską aktywność dehydrogenazy glukozy-6-fosforanu. Mossakowski /1962/ oraz Kreutzberg i wsp. /1966/ przypisują różnice nasilenia aktywności dehydrogenaz w guzach i poszczególnych komór-

kach tego samego nowotworu różnicom w stopniu złośliwości, natomiast Nasu i Müller /1964/ wiążą je tylko z różnym nasileniem przemian cytoplazmatycznych.

Na szczególną uwagę w badanym materiale zasługują zaburzenia aktywności fosfatazy zasadowej. W większości glejaków /z wyjątkiem gwiaździka płodowego /śródbłonki naczyń wykazywały brak lub tylko śladową aktywność tego enzymu, przy czym nie stwierdzono zależności pomiędzy typem guza i stopniem jego zróżnicowania a nasileniem nieprawidłowości enzymatycznych. Obniżenie aktywności fosfatazy zasadowej w ścianach naczyń glejaków ludzkich jest znanym zjawiskiem /Landow i wsp. 1942, Feigin i Wolf 1959, Ginsbourgh i wsp. 1973/. Według Nasu i Müllera /1964/ przyczyną braku aktywności fosfatazy zasadowej w naczyniach nisko zróżnicowanych glejaków jest szybki wzrost tych guzów. W glejakach wywołanych metylocholantrenem u myszy Kirsch /1963/ wiązała brak lub obniżenie aktywności enzymu w ścianach naczyń z ogólnymi zaburzeniami metabolizmu tkanki. Znaczne obniżenie aktywności fosfatazy zasadowej w naczyniach glejaków polimorficznych u zwierząt doświadczalnych i u ludzi przypisywano zaburzeniom funkcji bariery krew-mózg /Meier-Ruge 1966, Stavrou 1970/. Według Głuszcza /1963 a, b/ osłabienie aktywności enzymu w śródbłonkach naczyń gwiaździków u ludzi jest spowodowane nieprawidłową budową młodych naczyń i obrzękiem tkanki, a wzmożenie odczynu w proliferujących ścianach naczyń glejaków złośliwych wiąże się z metabolizmem elementów mezenchymalnych. Stanowisko Głuszcza nie znajduje

potwierdzenia w przedstawionych wynikach badań doświadczalnych, ponieważ nigdy nie spostrzegano wzmożenia odczynu na fosfatazę zasadową ani w utkaniu glejaków ani glejako-mięsaków. Zmieniona budowa morfologiczna naczyń w niektórych glejakach, a względnie prawidłowa w innych, nasuwa wątpliwości co do jednakowego zachowania przez nie funkcji związanych w prawidłowym ośrodkowym układzie nerwowym z mechanizmami bariery krew-mózg. Wspólną cechą naczyń zmienionych morfologicznie i naczyń nie wykazujących uchwytnych zmian strukturalnych było obniżenie w ich śródbłonkach aktywności fosfatazy zasadowej. Brightman i wsp. /1971/ wykazali odrębność budowy mikroskopowo-elektronowej naczyń włosowatych glejaków w stosunku do prawidłowych naczyń w mózgu. Brak zespo-leń ścisłych między śródbłonkami oraz fenestracje śródbłonka mają warunkować przechodzenie przez naczynia nowotworu związków wielkocząsteczkowych z łożyska naczyniowego do tkanki guza. Brak lub obniżenie aktywności fosfatazy zasadowej w naczyniach nowo-tworu w porównaniu z aktywnością w tkance prawidłowej może sta-nowić dodatkowy wykładnik nieprawidłowej przepuszczalności na-czyń. Za takim poglądem przemawia ponadto taki sam charakter zmian aktywności enzymu w obrębie pól mózgu objętych obrzękiem. Zarówno w obszarach guzów jak i w obrzękłej tkance gromadziły się obficie substancje PAS-dodatnie zidentyfikowane jako mukopo-lisacharydy obojętne oraz mukopolisacharydy kwaśne, nie występu-jące ani w elementach komórkowych ani w neuropilu prawidłowej tkanki nerwowej. Zmiany aktywności fosfatazy zasadowej w naczy-

niach i gromadzenie się mukopolisacharydów zarówno w tkance nowotworów jak i w obszarach obrzękowej tkanki nerwowej należy zapewne wiązać z różnym stopniem zaburzenia przepuszczalności naczyń. W oparciu o spostrzeżenia mikroskopowe wydają się oczywiste wybitniejsze zmiany przepuszczalności nieprawidłowych naczyń glejaka wielopostaciowego niż naczyń nie wykazujących uszkodzeń strukturalnych np. w gwiaździaku ortoplastycznym lub w obrzękowej tkance nerwowej. Nieprawidłowe gromadzenie substancji PAS-dodatnich i mukopolisacharydów obserwowano również w nowotworach mózgu u ludzi /Earle 1959, Głuszczyk 1963 a, Arseni i wsp. 1967/, przy czym Głuszczyk uważał je także za następstwo zmienionej przepuszczalności. Obecność substancji PAS-dodatnich i mukopolisacharydów w cytoplazmie astrocytów, komórek nerwowych i części komórek nowotworowych wskazuje ponadto na zmiany w przepuszczalności ich błon komórkowych. Interferencja własnego metabolizmu komórki z gromadzącymi się w niej substancjami może prowadzić do ujawniania się nowych właściwości histochemicznych, np. metachromazji stwierdzanej w komórkach skąpodrzewiaka. Zjawisko gromadzenia się substancji PAS-dodatnich i mukopolisacharydów w elementach komórkowych jest trudne do interpretacji. W przypadku astrocytów można by je wiązać z pinocytarną funkcją tych komórek niewątpliwą w warunkach hodowli pozaustrojowej a postulowaną również w tkance in situ, zwłaszcza przy uszkodzeniu naczyniowo-tkankowych mechanizmów barierych /Klatzo i Miquel 1960/, natomiast wydaje się, że zmiany w przepuszczalności błon komórkowych oligodendrogleju a zwłaszcza neurocytów można uznać za wyraz uszkodzenia tych komórek.

W N I O S K I

1. Glejaki mózgu wywołane u myszy metylocholanantrenem stanowią pod względem budowy morfologicznej odpowiedniki najczęściej spotykanych typów glejaków nadnamiotowych u ludzi. W grupie nowotworów doświadczalnych znacznie częściej występują glejaki złożone i glejako-mięsaki.
2. Doświadczalne glejaki mózgu wykazują podobieństwo strukturalne do samoistnych nowotworów pochodzenia glejowego u ludzi, przy czym charakteryzuje je wybitniejszy polimorfizm, bardziej nasiloną anaplazją i silniej zaznaczone właściwości dysplastyczne. Sposób ich szerzenia się jest zależny od struktury naciekanego podłoża.
3. Średni czas przeżycia myszy ze wzbudzonymi glejakami nie wykazuje uchwytnej zależności od stopnia anaplazji guzów. Zwierzęta z glejakami mózgu przeżywają dłużej niż myszy z glejako-mięsakami.
4. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy właściwościami histoenzymatycznymi, a stopniem zróżnicowania poszczególnych typów guzów. Zależność tę wykazuje jedynie aktywność beta-glukuronidazy zwiększająca się ze stopniem anaplazji nowotworu.
5. Obniżenie aktywności fosfatazy zasadowej zarówno w obrzękłej tkance jak i obszarze guzów wiąże się ze zwiększoną przepuszczalnością naczyń. Wykładnikiem tych zaburzeń jest obecność mukopolisacharydów w neuropilu oraz w mięszu glejaków. Występowanie mukopolisacharydów w komórkach guza i tkanki nerwowej wskazuje na uszkodzenie błon komórkowych.
6. We wczesnych ogniskach nowotworzenia komórki nowotworowe nie wykazują na ogół wyraźnych oznak przynależności histogenetycznej ani nie wyznaczają kierunku dalszego rozwoju guza.
7. Zmiany w mózgu w okresie przednowotworowym nie mają cech swoistych dla transformacji nowotworowej z wyjątkiem podwyższenia aktywności metylazy t-RNA.

1. Aksel I., Aykan T.: Transplantation des tumeurs cerebrales experimentales. Rev.Neurol. 1960, 201, 153-165.
2. Aksel I., Aykan T.: Growth behaviour of the rabies virus in the glioblastomatous tumor induced with methylcholantrene in mice. Wld. Neurology 1961, 2, 298-405.
3. Aksel I., Aykan T.: Das Verhalten der durch Methylcholantren erzeugten transplantierbaren Hirntumoren der Mäuse in Gewebekulturen. Proc. IV Int.Cong.Neuropath. Ed.: H.Jacob, Thieme Verl. Stuttgart 1962, 2, 259-262.
4. Aksel I., Aykan T., Noyan B., Erbençi T.: Die elektronenmikroskopische Untersuchung der experimentellen Hirntumoren. Proc. 5 Int.Cong.Neuropath. Ed.: F.Lüthy, A.Bischoff. Exc.Med. Foundation, Amsterdam 1966, 935-944.
5. Allen N.: Beta-glucuronidase activities in tumors of the nervous system. Neurology /Minneapolis./ 1961, 11, 578-596.
6. Allen N.: Acid hydrolytic enzymes in brain tumors. Progr.exp. Tumor Res. Ed.: Karger, Basel, 1972, 17, 291-307.
7. Ames E., Rubin R.: Morphology of virus-like particles persisting in murine ependymoblastoma in vitro. Cancer Res. 1970, 30, 1142-1148.
8. Andervont H., Dunn T., Canter H.: Susceptibility of agent-free inbred mice and their hybrids to estrogen induced mammary tumors. J.Nat.Cancer Inst. 1958, 21, 783-811.
9. Arnold H., Zimmerman H.: Experimental brain tumors. Cancer Res. 1943, 3, 682-685.
10. Arseni C., Carp N., Mestes E., Adel M.: Histochemistry of mucopolysaccharides in brain tumors. Acta neuropath. 1967, 7, 275-284.

33. Fabiani A.: Alcuni rilievi sull'attività fosfatasica acida nei tumori cerebrali. *Minerva Chir.* 1965, 20, 670-671.
34. Feigin I., Wolf A.: The alkaline phosphomonoesterase activities of brain tumors. *Arch.Path.* 1959, 67, 670-678.
35. Ginsbourg M., Foncin J., Le Bean J.: Les anomalies vasculaires des tumeurs cerebrales. Etude comparative de l'activite enzymatique et de la permeabilite aux traceurs fluorescents. *Rev. Neurol.* 1973, 129, 275-288.
36. Głuszczyk A.: Badania histologiczne i histochemiczne glejaków mózgu ze szczególnym uwzględnieniem ich zrębu naczyniowego. *Łódzkie Tow.Nauk. Prace Wydz. IV Nauk Lek. Łódź*, 1963 a, 47.
37. Głuszczyk A.: A histochemical study of some hydrolytic enzymes in tumors of the nervous system. *Acta neuropath.* 1963 b, 3, 184-201.
38. Głuszczyk A.: The grouping system of supratentorial gliomas according to their dominant biomorphological features. *Acta neuropath.* 1972, 22, 110-126.
39. Goebel H., Cravioto H.: Ultrastructure of human and experimental ependymomas. *J.Neuropath.exp.Neurol.* 1972, 32, 54-71.
40. Gomori G.: *Microscopic histochemistry*. Ed.: Univ.Chicago Press, Chicago, 1952.
41. Hancock R.: Utilization of L-methionine and s-adenosyl-L-methionine for methylation of soluble RNA by mouse liver and hepatoma extracts. *Cancer Res.* 1967, 27, 646-653.
42. Hanefeld F.: Histochemische Untersuchungen zum Verteilungsmuster oxydativer Fermente in Gliomen. *Dsch.Z.Nervenheil.* 1965, 187, 244-255.
43. Hart M.N., Petito C.K., Earle K.M.: Mixed gliomas. *Cancer* 1974, 33, 134-140.

44. Hayashi M., Nakaiima Y., Fishman W.: The cytologic demonstration beta-glucuronidase employing naphthol AS-BI-glucuronide and hexazonium pararosanilin; a preliminary report. *J.Histochem. Cytochem.* 1964, 12, 293-297.
45. Haelst V., Swaen G.: Résultats de l'application intra cérébrale de methylcholantrene chez les souris. *Bull.Ass.franc.Cancer*, 1963, 50, 659-669.
46. Hess R., Scarpelli D., Pearse A.: The cytochemical localization of oxydative enzymes. Pyridine nucleotid linked dehydrogenases. *J.Bioph.Biochem.Cytol.* 1958, 4, 753-760.
47. Holt S.: W: "General Cytochemical Methods". J.Danielli. Ed.: Academic Press, N.York, 1958, 1, 375-398.
48. Holt S.: Factors governing the validity of staining methods for enzymes and their bearing upon Gomori acid phosphatase technique. *Exp.Cell.Res.* 1959, Suppl. 7, 1-28.
49. Homburger F.: The biologic basis of cancer management. Ed.: Hoeber, Harper, N.York, 1957.
50. Hsu T.C., Lou T.Y.: Nuclear extrusion in cells of Cloudman melanoma in vitro. *Pigment Cell Biology*. Ed.: U.Gordon, Academic Press, New York, 1959.
51. Huebner R., Todaro G.: Oncogenes of RNA tumor viruses as determinants of cancer. *Proc.Nat.Acad.Sci.* 1969, 64, 1087-1094.
52. Ikuta F., Zimmerman H.: Virus particles in reactive cells induced by intracerebral implantation of dibenzanthracene. *J.Neuropath.exp.Neurol.* 1965, 24, 225-243.
53. Jänisch W.: Die Induktion von experimentellen Hirngeschwülsten mit cancerogenen Kohlenwasserstoffen. *Z.Krebsforsch.* 1966, 68, 224-225.
54. Jänisch W.: Experimentální mozkové nádory. *Ceskosl.Path.* 1967, 3, 193-196.

55. Jänisch W., Schreiber D.: Experimentelle Geschwülste des Zentralnervensystems. Fischer Verl., Jena, 1969.
56. Kałuża J.: Experimental brain edema. Comparison of the brain wound and cryogenic necrosis. Acta Med.Pol. 1971, 12, 487-502.
57. Kawai S.: Experimental studies on brain tumors. Acta path. Jap. 1959, 9, 707-722.
58. Kawai S., Ishida Y., Nagashima J., Sato K., Niibe H.: Experimental studies on brain tumors. Acta path. Jap. 1964, 14, 311-344.
59. Karahashi Y., Sheptak P., Moossy J., Golding S.: Intracellular potentials from experimental glial tumors. Arch.Neurol. 1966, 15, 538-540.
60. Kernohan J., Sayre G.: Tumors of the central nervous system. Armed Forces Inst.Path. Washington, D.C. 1952.
61. Kirsch W.: Histochemical and quantitative analysis of alkaline phosphatase during the course of experimental intracranial neoplasia. Neurology 1963, 13, 123-134.
62. Klatzo I.: Neuropathological aspects of brain edema. J.Neuropath.exp.Neurol. 1967, 26, 1-14.
63. Klatzo I., Miquel J.: Observations on pinocytosis in nervous tissue. J.Neuropath.exp.Neurol. 1960, 19, 475-487.
64. Klatzo I., Piraux A., Laskowski E.: The relationship between edema, blood-brain barrier and tissue elements in a local brain injury. J.Neuropath.exp.Neurol. 1958, 17, 548-564.
65. Koestner A., Swenberg J., Wechsler W.: Transplacental production with ethylnitrosourea of neoplasms of the nervous system in Sprague-Dawley rats. Am.J.Path. 1971, 63, 37-50.
66. Koestner A., Swenberg J., Wechsler W.: Experimental tumors of the nervous system induced by resorptive N-nitro-urea compound. Progr.exp.Tumor Res. Ed.: Karger, Basel, 1972, 17, 9-30.

67. Kraśnicka Z., Mossakowski M.: Zagadnienie zmienności morfologicznej tkanki glejowej hodowanej in vitro. *Neuropat.Pol.* 1965, 3, 397-408.
68. Kreutzberg G.W., Minauf M., Gulotta F.: Enzyme histochemistry of human brain tumors and their tissue cultures with special reference to the oxidoreductases in the glioblastoma multiforme. *Histochemie* 1966, 6, 8-16.
69. Kroh H.: Preneoplastic changes in the central nervous system of mice induced by methylcholantrene. *Neuropat.Pol.* 1969, 7, 55-72.
70. Kroh H.: Morphological and histoenzymatic features of mouse brain gliomas induced by methylcholantrene. *Folia Histochem. Cytochem.* 1970 a, 8, 329-352.
71. Kroh H.: Doświadczalne nowotwory mózgu myszy o utkaniu glejako-mięsaków. *Neuropat.Pol.* 1970 b, 8, 429-438.
72. Kroh H.: Morphological and enzymatic characteristics of experimental cerebral tumors in mice. *Neuropat.Pol.* 1972, 10, 235-239.
73. Kroh H., Majdecki T., Groniowski J.: Electron microscopic observation on cell nuclei of experimentally induced gliomas in mice. *Symposium "Experimentelle Geschwülste des Nervensystem"*, Halle, 1973 a.
74. Kroh H., Majdecki T., Renkawek K.: Ultrastructure of experimental brain gliomas in mice. *Z.Krebsforsch.* 1973 b, 80, 159-168.
75. Kroh H., Matysiak Z., Albrecht J.: Activity of transfer RNA methylases in the mice brain after methylcholantrene implantation and in experimental tumors. *Neuropat.Pol.* 1976, 14, 273-278.
76. Kroh H., Renkawek K.: Cytochemical distribution of beta-glucuronidase activity in experimental brain tumors and brain tissue in vivo and in vitro. *Histochemie* 1973, 34, 317-324.

77. Kroh H., Szumańska G.: Aktywność enzymów oddechowych w doświadczalnych nowotworach mózgu myszy. *Neuropat.Pol.* 1971, 9, 359-370.
78. Krygier K., Kasprzyk K.: The influence of hydrogen-ion concentration and some other ions on metachromasia in staining mucopolysaccharides with toluidine blue. *Acta Med.Pol.* 1961, 2, 123-145.
79. Kunicki A.: Uwagi na temat morfologicznych podstaw oceny złożowości glejaków mózgu. *Neuropat.Pol.* 1963, 1, 189-197.
80. Kunicki A., Stefanicka-Wiechowa A.: Remarks on the mode of spread of cerebral gliomas. *Neuropat.Pol.* 1965, 3, 373-380.
81. Lageman A., Jänisch W., Dietz W.: Elektronmikroskopische Untersuchungen an experimentellen Hirntumoren von Ratten. *Zbl.allg. Path.* 1972, 115, 13-21.
82. Landers J., Chason J., Gonzales J., Palutke W.: Morphology and enzymatic activity of rat cerebral capillaries. *Lab.Invest.* 1962, 11, 1253-1259.
83. Landow H., Kabat A., Newman W.: Distribution of alkaline phosphatase in normal and neoplastic tissues of the nervous system. *Arch.Neurol.* 1942, 48, 518-530.
84. Leduc E., Wislocki G.: The histochemical localisation of acid and alkaline phosphatases, nonspecific esterase and succinic dehydrogenase in structures comprising the hematoencephalic barrier of the rat. *J.Comp.Neurol.* 1952, 97, 241-279.
85. Liss L.: Classification of brain tumors and experimental models. *Progr.exp.Tumor Res. Ed.: Karger, Basel, 1972, 17, 1-8.*
86. Long D.: Capillary ultrastructure and the blood-brain barrier in human malignant brain tumors. *J.Neurosurg.* 1970, 32, 127-144.
87. Lowry O.H., Rosenbrough J., Farr A.L., Randall R.J.: Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J.Biol.Chem.* 1951, 193, 265-270.

88. Luginbühl H.: Oligodendrogliomas in animals. *Acta Neuroch.* 1964, Suppl. X, 173-184.
89. Luse S.: Ultrastructure of reactive and neoplastic astrocytes. *Lab. Invest.* 1958, 7, 401-417.
90. Luse S.: Electromicroscopic studies of brain tumors. *Neurology* 1960, 10, 881-905.
91. Magee P., Farber E.: Toxic liver injury and carcinogenesis. Methylation of rat liver nucleic acids by dimethylnitrosamine in vivo. *Biochem. J.* 1962, 83, 114-124.
92. Maunoury R., Vedrenne C., Arnoult J., Constans J., Febvre H.: Culture in vitro de tissue glial normal et neoplasique. Croissance, cytologie, ultrastructure. *Neuro-chirurgie*, 1972, 18, 101-120.
93. McManus J., Mowry R.: Effects of fixation on carbohydrate histochemistry. *J. Histochem. Cytochem.* 1958, 6, 309-316.
94. Meier-Ruge W.: Das Gliom und seine Differentialdiagnose im enzymhistotopochemischen Bild. *Z. Krebsforsch.* 1966, 68, 276-283.
95. Miller J., Miller E.: Chemical carcinogenesis: Mechanisms and approaches to its control. *J. Nat. Cancer Inst.* 1971, 47, V-XIV.
96. Mori M., Matsuura H., Morishita M.: Histochemical observation of NADP-dependent isocitrate and glucose-6-phosphate dehydrogenase in the human neoplasms. *Acta Histochem. Cytochem.* 1968, 1, 154-185.
97. Mossakowski M.J.: Elementy pochodzenia mezodermalnego w gwiazdziakach mózgu i mózdzku. *Pat. Pol.* 1961, XII, 151-159.
98. Mossakowski M.: The activity of succinic dehydrogenase in glial tumors. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 1962, 21, 137-146.
99. Mossakowski M.J.: The activity of succinic dehydrogenase in the reactive glia. *Acta neuropath.* 1963, 2, 282-290.

100. Mossakowski M.J.: Gwiaździaki mózgu i mózdzku. *Neuropat. Pol.* 1965, 3, 131-214.
101. Mossakowski M.J.: Histochemistry of pathological glia. *Proc. VI Int.Cong. of Neuropath. Ed.: Masson et Cie Paris* 1970, 366-373.
102. Mossakowski M.J., Penar B.: Some aspects of the biochemistry of the reactive glia. *Neuropat.Pol.* 1972, 10, 317-323.
103. Nakamura Y.: Histopathological studies on experimental brain tumors. *Med.J.Osaka Univ.* 1956, 6, 919-945.
104. Nandy K., Bourne G.: Alkaline phosphatases in brain and spinal cord. *Nature* 1963, 200, 216-217.
105. Nasu H., Müller W.: Enzymhistochemische Untersuchungen an Gliomen. *Dsch.Z.Nervenheilk.* 1964, 186, 67-86.
106. Netsky M.: Experimental induction and transplantation of brain tumors in animals. *Acta Neuroch.* 1964, Supp. X, 46-56.
107. Ngowyang M.: Une tumeur dans la corne d'Ammon chez la souris blanche. *Rev.Neurol.* 1930, 2, 584-585, cyt. wg Jänisch W., Schreiber D. *Experimentelle Geschwülste des Zentralnervensystems.* Fischer Verl., Jena, 1969.
108. Novikoff A.: Electron transport enzymes biochemical and tetrazolium studies. *Proc. I Int.Cong.Histochem.Cytochem.* 1963, 465-481.
109. O'Connor J., Laws E.: Histochemical survey of brain tumor enzymes. *Arch.Neurol.* 1963, 9, 641-651.
110. Ojak M.: Zmiany wsteczne w glejaku wielopostaciowym. *Rozprawy Wydz.Nauk Med.* 1960, II, 5-35.
111. Osske G., Warzok R., Jänisch W.: Enzymhistochemische Untersuchungen an experimentellen Hirntumoren der Ratte. *Exp.Path.* 1969, 3, 280-288.

112. Pearse A.: Histochemistry, theoretical and applied. Ed.: Churchill Ltd., London, 1960.
113. Peers J.: The response of the central nervous system to the application of carcinogenic hydrocarbons. II. Methylcholantrene. *Am.J.Path.* 1940, 16, 799-816.
114. Pegg E., Hawks A.: Increased transfer ribonucleic acid methylase activity in tumors induced in the mouse colon by the administration of 1,2-dimethylhydrazine. *Biochem.J.* 1971, 122, 121-123.
115. Perese D., Moore G.: Methods of induction and histogenesis of experimental brain tumors. *J.Neurosurg.* 1960, 17, 677-699.
116. Popoff N., Sutton C., Zimmerman H.: Virus-like particles in reactive cells associated with crystals of implanted carcinogen. *Acta neuropath.* 1968, 10, 308-323.
117. Popoff N.: *Informacja osobista*, 1967.
118. Posnikoff J., Stratford J.: Carcinoma metastasis to malignant glioma. *Arch.Neurol.* 1960, 3, 559-563.
119. Pott P.: Chirurgical observations relative to the cataract, the polypus of the nose, the cancer of the scrotum, the different kind of ruptures, and the mortification of the toes and feet. Ed.: Hawes, Clarke, Collins, London 1775, cyt. wg Wechsler W: Old and new concepts of oncogenesis in the nervous system of man and animals. *Prog.exp.Tumor Res.* Ed.: Karger, Basel 1972, 17, 219-278.
120. Quintarelli G., Tsuiki D., Hashimoto Y., Pigman W.: Studies of sialic-acid-containing mucins in bovine submaxillary and rat sublingual glands. *J.Histochem.Cytochem.* 1961, 9, 176-183.
121. Raimondi A., Mullan S., Evans J.: Human brain tumors: an electron microscopic study. *J.Neurosurg.* 1962, 191, 731-753.
122. Ravetto C.: Histochemical identification of sialic /neuraminic acids. *J.Histochem.Cytochem.* 1964, 12, 306.

123. Renkawek K., Kroh H., Krasnicka Z.: Experimental gliomas cultured in vitro. Morphological and histochemical study. Z.Krebsforsch. 1972, 77, 247-256.
124. Riddick D., Gallo R.: Correlation of transfer RNA methylase activity with growth and differentiation in normal and neoplastic tissue. Cancer Res. 1970, 30, 2484-2492.
125. Rosner S.: Further studies in the chemotherapy of carcinoma of the brain. J.Int.Coll.Surg. 1960, 34, 467-473.
126. Rosner S.: The formation and cure of brain tumors in C3H mice. Int.Surg. 1966, 46, 29-32.
127. Rubin R., Ames R., Sutton C., Zimmerman H.: Virus-like particles in murine ependymoblastoma. J.Neuropath.exp.Neurol. 1969, 28, 371-387.
128. Rubinstein L.J.: The development of contiguous sarcomatous and gliomatous tissue in intracranial tumors. J.Pat.Bact. 1956, 71, 441-459.
129. Rubinstein L.J.: Morphological problems of brain tumors with mixed cell population. Acta Neuroch. 1964, Suppl. X, 141-165.
130. Rubinstein L., Klatzo I., Miquel J.: Histochemical observations on oxidative enzyme activity of glial cells in a local brain injury. J.Neuropath.exp.Neurol. 1962, 21, 116-136.
131. Russel D., Rubinstein L.J.: Pathology of tumours of the nervous system. Ed.: E.Arnold Ltd., London 1963.
132. Schiefer B.: Über das experimentelle Erzeugung von Gehirntumoren mit Methylcholantren. Zbl.Neuroch. 1958, 18, 364-385.
133. Schiefer B.: Morphology of experimental brain tumors. Acta Neuroch. 1964, Suppl. X, 56-63.
134. Schiffer D., Fabiani A., Cognazzo A., Monticone G.: A histochemical study of the distribution of localization of beta-glucuronidase activity in cerebral tumors. Acta neuropath. 1969, 13, 91-96.

135. Schiffer D., Fabiani A., Monticone G., Cognazzo A.: Non-specific esterase in cerebral tumors. *Acta neuropath.* 1968, 10, 143-150.
136. Schiffer D., Fabiani A., Monticone G., Gabella G.: Histochemical study of acid phosphatase activity in cerebral tumors. *Acta neuropath.* 1965, 5, 16-25.
137. Schiffer D., Fornatto L., Croveri G., Fabiani A.: Histoenzymology of human and experimental brain tumors: remarks on the interpretation of hydrolytic enzymes reactions. *Neuropat. Pol.* 1972, 10, 229-233.
138. Schubert P., Kreutzberg G.: Enzymhistochemie menschlicher Hirntumoren und ihrer Gewebekultur. II. Oxydoreduktasen in Ependymomen mit quantitativen Befunden. *Histochemie* 1967, 9, 367-375.
139. Seligman A., Shear M.: Studies in carcinogenesis. VIII Experimental production of brain tumors in mice with methylcholantrene. *Am.J.Cancer.* 1939, 37, 364-395.
140. Slye M., Holmes H., Wells H.: Intracranial neoplasms in lower animals. *Am.J.Cancer* 1931, 15, 1387, cyt. wg. Cohrs P., Jaffe R., Messen H.: *Pathologie der Laboratoriumstiere.* Springer Verl., Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1958, II, 561.
141. Stavrou D.: Beitrag zur Morphologie und Enzymhistochemie experimenteller Tumoren des Zentralnervensystems der Ratte. II Enzymhistochemische Befunde. *Acta neuropath.* 1970, 15, 231-239.
142. Stavrou D., Dahme E.: Beitrag zur Histochemie experimentell induzierter Hirntumoren beim Kaninchen. *Verhandl. Dsch. Gesellsch. Path. Mainz,* Fischer Verl. Stuttgart, 1969.
143. Stewart M., Corrance M.: The methylation of transfer RNA in vitro by extracts of normal and malignant tissue. *Cancer Res.* 1969, 29, 1642-1646.

144. Szumańska G., Kroh H.: Mucopolysaccharides and glycogen in chemically induced CNS gliomas. Proc. VII Int.Congr.Neuropath. Ed.: Környey St., Tariska St., Gosztanyi G. Exc. Med. Amsterdam 1975, 1, 495-500.
145. Tansley K., Wilson C.: Irradiation of experimental cerebral tumors. Radiology 1947, 49, 62-71.
146. Temin H., Mizutani S.: RNA-dependent DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus. Nature 1970, 226, 1211-1213.
147. Tsutsui E., Srinivasan P., Borek E.: T-RNA methylases in tumors of animal and human origin. Proc.Nat.Acad.Sci. U.S. 1966, 56, 1003-1009.
148. Turkington R., Riddle M.: Transfer RNA methylating enzymes in mammary carcinoma cells. Cancer Res. 1970, 30, 650-657.
149. Ushio Y., Hayakawa T., Mogami H.: Uptake of tritiated methotrexate by mouse brain tumors after intrathecal administration. J.Neurosurg. 1974, 40, 706-716.
150. Viale G.: Transfer RNA and transfer RNA methylase in human brain tumors. Cancer Res. 1971, 31, 605-608.
151. Viale G., Fondelli Restelli A., Viale E.: Basi metilati nei t-RNA dei tumori cerebrali. Tumori 1967, 53, 533-539.
152. Viale G., Kroh H., Grosso G., Genta V.: Metilazione aspecifica dei t-RNA in tumori cerebrali. Acta Neurol. /Bari/ 1970, 25, 182-183.
153. Waalkes T., Adamson R., O'Gara R., Gallo R.: Transfer RNA methylase activity in normal monkey liver and in carcinogen-induced hepatoma. Cancer Res. 1971, 31, 1069-1073.
154. Wahal K., Ansari I.: Experimental brain tumors in albino mice. Indian.J.Med.Res. 1968, 56, 826-834.
155. Watson M.L.: Further observations on the nuclear envelope of the animal cells. J.biophys.biochem.Cytol. 1959, 6, 147-155.

156. Wechsler W.: Elektronenmikroskopische Untersuchung einer experimentell erzeugten intrakraniellen Sarcoms der Albinomaus. Acta neuropath. 1963, 3, 119-136.
157. Wechsler W.: Old and new concepts of oncogenesis in the nervous system of man and animals. Progr.exp.Tumor Res. Ed.: Karger, Basel, 1972, 17, 219-278.
158. Wislocki G.B., Dempsey E.W.: The chemical cytology of the choroid plexus and blood-brain-barrier of the rhesus monkey. J.comp.Neurol. 1948, 88, 319-326.
159. Wisławski J.: Guzy o budowie glejaka wielopostaciowego i mięsaka występujące w jednym obszarze nowotworowym. Neuropat. Pol. 1970, 8, 23-28.
160. Wisławski J.: Cerebral oligodendrogliomas. Clinical manifestations, surgical treatment and histological findings in seventy cases. Pol.Med.J. 1970, 9, 163-172.
161. Zimmerman H.: The nature of gliomas as revealed by animal experimentation. Am.J.Path. 1955, 31, 1-29.
162. Zimmerman H.: The contribution of experimental brain tumors to an understanding of human gliomas. Proc. II Int.Cong. Neuropath. Exc.Med.Foundation, Amsterdam 1956, 1, 261-264.
163. Zimmerman H.: The natural history of the intracranial neoplasms with special reference to the gliomas. Am.J.Surg. 1957, 93, 913-923.
164. Zimmerman H.: The histopathology of experimental "medulloblastoma". Acta neuropath. 1967, 8, 69-75.
165. Zimmerman H., Arnold H.: Experimentally induced primary intracranial neoplasms. Trans.Am.Neurol.Assoc. 1940, 66, 191-193.
166. Zimmerman H., Arnold H.: Experimental brain tumors. I. Tumors produced with methylcholantrene. Cancer Res. 1941 a, 1, 919-938.

167. Zimmerman H., Arnold H.: Gliomas produced with carcinogens. Trans.Am.Neurol.Assoc. 1941 b, 67, 161-164.
168. Zimmerman H., Arnold H.: Chemical carcinogens and animal species as factors in experimental brain tumors. J.Neuropath. exp.Neurol. 1943, 2, 416-417.
169. Zimmerman H., Arnold H.: Experimental brain tumors. IV. The incidence in different strains of mice. Cancer Res. 1944, 4, 98-101.
170. Zülch K., Christensen E.: Handbuch der Neurochirurgie. Pathologische Anatomie der raumbeengenden intrakraniellen Prozesse. Springer Verl., Berlin, 1956.
171. Zülch K., Mennel H.: Die Morphologie der durch alkylierende Substanzen erzeugten Tumoren des Nervensystem. Zbl.Neurochir. 1971, 32, 225-243.