



# Longgezwollen bij muizen teweeggebracht door methylcholanthreen

<https://hdl.handle.net/1874/361303>

2. okt. 1942, 1946

LONGGEZWELLEN BIJ MUIZEN

TEWEEGGEBRACHT DOOR

METHYLCHOLANTHREEN

at

2







LONGGEZWELLEN BIJ MUIZEN  
TEWEEGGEBRACHT DOOR  
METHYLCHOLANTHREEN



*Diss. Utrecht 1942*

# LONGGEZWELLEN BIJ MUIZEN

TEWEEGGEBRACHT DOOR  
METHYLCHOLANTHREEN

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN  
DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKS-  
UNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG VAN  
DEN RECTOR-MAGNIFICUS L. VAN VUUREN,  
HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER LETTE-  
REN EN WIJSBEGEERTE, VOLGENS BESLUIT  
VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT TEGEN  
DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER  
GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN OP DINSDAG  
8 DECEMBER 1942, DES NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

**FRIEDRICH WILHELM KLAARENBEEK**

ARTS

GEBOREN TE ROERMOND.





AAN MIJN OUDERS  
AAN MIJN VROUW  
EN ROBERT JAN



Het verschijnen van dit proefschrift biedt mij de gelegenheid U, Hooggeleerden, Oud-Hooggeleerden en Docenten der Medische en Natuur-Philosophische Faculteit van de Utrechtsche Universiteit te danken voor het onderwijs, dat ik van U mocht ontvangen.

Hooggeleerde Nieuwenhuijse, Hooggeachte Promotor, een vreugde is het mij, op deze plaats een woord van hartelijke dank tot U te kunnen richten. Van de jaren, gedurende welke ik als assistent aan Uw Instituut verbonden was, is mij een zeer aangename herinnering gebleven. Gij waart mij een voorbeeld als wetenschappelijk werker en als mensch.

Ook U, Hooggeleerde Kögl ben ik veel dank verschuldigd. Dat ik aan het onder Uw bezielende leiding staande kankeronderzoek heb mogen deelnemen, is een eer welke ik nimmer zal onderschatten.

Hooggeleerde De Langen, door het voor de proeven noodzakelijke Röntgenonderzoek en de micro-jodiumbepalingen in Uw kliniek te doen uitvoeren, hebt U me tot groote dankbaarheid verplicht.

Zeergeleerde Korteweg, hoogst dankbaar ben ik U voor de bereidwilligheid, waarmede U voor het onderzoek een kweek afstond van de muizenstam „O20 Leeuwenhoekhuis“.

Zeergeleerde Mansens, voor het vele dat ik van U heb mogen leeren, dank zij Uw groote kennis en rijke ervaring, en voor de vriendschap die ik heb mogen ondervinden, blijf ik U steeds dankbaar.

Zeergeleerde Schouten, voor Uw belangrijk aandeel in het bepalen van de eigenschappen van de vormsels met behulp van de micromanipulator betuig ik U mijn oprechte dank.

Zeergeleerde Grotepass, voor de vele uren die Gij, ondanks Uw andere drukke werkzaamheden, voor mij hebt besteed aan de micro-jodiumbepalingen, ben ik U ten zeerste dankbaar.

Zeergeleerde De Waard, U ben ik dankbaar voor het maken van de vele Röntgenfoto's van de proefmuizen.

Zeerervaren Van den Broek, de hulp welke ik van U heb mogen ontvangen bij de redactie van dit proefschrift, en de prettige samenwerking tijdens mijn assistententijd zijn voor mij van zeer groote waarde geweest.

De assistenten met wien ik in de loop der jaren mocht

samenwerken, ben ik voor de ondervonden vriendschap zeer dankbaar.

Tenslotte aan de dames De Vries, De Jong, Hooghiemstra en Plessen en de heeren Von Kreyfelt, Van den Akker en Verhey, die mij bij het bewerken van het materiaal behulpzaam zijn geweest, mijn hartelijke dank.

## INHOUD.

	Pag.
INLEIDING . . . . .	1
HOOFDSTUK I.	
A. Spontane longgezwollen bij muizen in het algemeen .	5
B. Spontane longgezwollen bij ingeteelde muizenstammen	11
HOOFDSTUK II.	
Experimenteele longgezwollen . . . . .	15
HOOFDSTUK III.	
Experimenteele longgezwollen bij muizen van de albinostam „O20 Leeuwenhoekhuis” na intratracheale inspuiting met methylcholanthreen . . . . .	20
A. Lipiodol als oplosmiddel voor methylcholanthreen	22
B. Het eigenlijke onderzoek . . . . .	27
C. Micro-jodiumbepaling in longcoupes . . . . .	51
D. Macroscopie van de longgezwollen . . . . .	55
E. Microscopie van de longgezwollen . . . . .	55
F. Eigenaardige vormsels die voorkomen in de longen van de „O20” muizen . . . . .	63
HOOFDSTUK IV.	
Peritracheale injecties met methylcholanthreen bij muizen van de albinostam „O20 Leeuwenhoekhuis” . . . . .	71
HOOFDSTUK V.	
Intrapulmonale injecties met methylcholanthreen bij muizen van de albinostam „O20 Leeuwenhoekhuis” . . . . .	82
SAMENVATTING . . . . .	87
ZUSAMMENFASSUNG . . . . .	90
SUMMARY . . . . .	93
RÉSUMÉ . . . . .	96
LITTERATUUR . . . . .	99



## INLEIDING.

Na 1920 heeft men, zoowel hier te lande als daarbuiten, een vrij plotselinge werkelijke vermeerdering van het aantal gevallen van longkanker bij den mensch waargenomen. Vaandrager<sup>1</sup> heeft uit nagenoeg alle in Nederland tusschen 1906 en 1930 verrichte obducties de gevallen van longkanker verzameld. In het tijdvak 1906—1920 moest de diagnose longkanker bij 0,36 % van de obducties gesteld worden, in het tijdperk 1921—1930 was dit bij 0,83 % van de obducties het geval.

De veronderstelling van Vaandrager, dat waarschijnlijk ook na 1930 het aantal gevallen van longkanker nog zou toenemen, is juist gebleken.

Tusschen 1 Jan. 1931 en 1 Jan. 1942 werden in het Pathologisch Instituut te Utrecht 4519 obducties verricht. Hieronder bevinden zich 73 gevallen van longkanker (1,61 %), terwijl in het tijdvak van 1 Jan. 1920 tot 1 Jan. 1931 bij 3642 obducties, 25 gevallen van longkanker (0,68 %) voorkwamen.

In het Pathologisch Instituut te Amsterdam bevonden zich onder 2100 secties van de laatste jaren, 51 gevallen (2,42 %) van longkanker (Leerboek prof. Deelman 1940)<sup>2</sup>.

D'Aunoy, Pearson en Halpert<sup>3</sup> beschreven 74 gevallen van longkanker, die voorgekomen zijn op de 6623 obducties van menschen ouder dan 1 jaar, die tusschen 1 Jan. 1931 en 1 Juli 1938 in het Charity Hospital te New Orleans werden verricht (1,11 %).

Hoewel deze cijfers allerminst weergeven de veelvuldigheid onder de gemiddelde bevolking, mag men er toch wel uit besluiten, dat de frequentie van de longkanker nog steeds stijgt.

Oorzaken voor deze stijging heeft men niet kunnen aanwijzen. Wel is er een tijd geweest, dat men deze toename meende te moeten toeschrijven aan bepaalde teersoorten of teerproducten. Vooral de uitlaatgassen van benzinemotoren en de teerwegen hadden in dit verband een slechte naam, en juist in de laatste 20 jaren is er een sterke stijging in het gebruik zoowel van deze motoren als van deze wegen. Boyd<sup>4</sup> weerlegt dit echter op grond van het feit dat hij in de prairie zeer veel longkanker waarnam; en daar is de auto een zeldzaamheid en de teerweg volkomen onbekend!



Hoe men hierover ook moge denken, het is gebleken, dat sommige teersoorten en producten daarvan na langdurige inwerking zoowel bij mensch als dier kunnen leiden tot vorming van gezwellen. In dit verband wordt gewezen op waarnemingen van Percival Pott<sup>5</sup> in 1775 en van Volkmann<sup>6</sup> in 1875, die bij enkele van hun patiënten, die gedurende lange tijd blootgesteld waren geweest aan de invloed van roet, respectievelijk teer, kanker van het scrotum waarnamen. Ook in de longen kan zich door langdurige inwerking van teer carcinoom ontwikkelen. In 1935 meende Matras<sup>7</sup> bij een 66 jarigen arbeider, die 52 jaar in een teerfabriek werkzaam was, met een longcarcinoom te doen te hebben. Müllschitzky<sup>8</sup> nam bij een 66 jaar oude teerdestillateur een longcarcinoom met metastasen waar; deze diagnose werd langs histologische weg bevestigd.

In het dierexperiment lukte het in 1915 aan Yamagiwa en Ischikawa<sup>9</sup> met teer kanker van de huid op te wekken. Deze proeven zijn sindsdien met succes door vele onderzoekers herhaald en uitgebreid.

In de laatste jaren is een groote vooruitgang op het gebied van het experimenteele kankeronderzoek gekomen, nadat het in het Royal Cancer Hospital te Londen gelukt was uit gezwelverwekkende teersoorten bepaalde gezwelverwekkende stoffen te isoleeren (Kennaway<sup>10</sup>, Cook, Hieger e.a.) en deze stoffen vervolgens synthetisch te bereiden. Door Cook, Hewett en Hieger<sup>11</sup> werden geïsoleerd het 1,2-benzanthraceen en het 1,2-benzopyreen. De gezwelverwekkende stoffen bleken aromatische koolwaterstoffen te zijn, die bijna alle van het anthraceen kunnen worden afgeleid. Anthraceen komt in groote hoeveelheden in teer voor, maar heeft zelf geen gezwelverwekkende eigenschappen.

Het in 1929 door Clar<sup>12</sup> synthetisch bereide 1,2,5,6-dibenzanthraceen heeft wel gezwelverwekkende eigenschappen, maar tot nu toe is het niet gelukt deze stof in teer aan te toonen.

Dane en Wieland<sup>13</sup> en ook Cook en Haslewood<sup>14</sup> bereidden in 1933 uit galzuren een koolwaterstof, waarvan de gezwelverwekkende eigenschappen nog sterker uitgesproken zijn dan van de reeds genoemde stoffen, het methylcholanthreen.

Het is belangwekkend, dat alle gezwelverwekkende aromatische koolwaterstoffen in chemisch opzicht nauw verwant zijn aan in het organisme voorkomende physiologische stoffen: steroïden, galzuren, geslachtshormonen en vitamine D.<sup>15</sup>

Het vermoeden, dat de genoemde gezwelverwekkende stoffen

ook bij den mensch hun funeste werking zullen kunnen ontvouwen, is niet ongegrond. Met het 1,2-benzopyreen en het methylcholanthreen zijn waarnemingen gedaan, die dit vermoeden steun geven: Klar<sup>16</sup>, die met 1,2-benzopyreen werkte, beschrijft hoe zich bij hem zelf in 1938 een als goedaardig plaveiselcellen-epitheloom met verkalking gediagnostiseerd gezwel van de huid ontwikkelde; Gordonoff en Walthard<sup>17</sup> beschrijven in 1939 een epitheloom van de huid, dat als voorstadium van een plaveiselcellencarcinoom werd beschouwd, en dat bij een laboratoriumbediende was ontstaan ongeveer 100 dagen nadat deze met methylcholanthreen had gewerkt.

De toename van longkanker bij den mensch heeft ertoe geleid, dat tal van onderzoekers zich zijn gaan bezighouden met de studie van longgezwellen bij proefdieren. Deze studie heb ook ik ter hand genomen. Een omvangrijke litteratuur staat ons heden ten dage over dit onderwerp ten dienste. Het was echter niet de bedoeling, dat alles in dit proefschrift te verwerken. Slechts datgene, wat mij verder bracht op het gebied van de longgezwellen bij muizen, is vermeld.

In 1938 ben ik met het experimenteele onderzoek begonnen. Dit had ten doel zonder beschadigingen van het weefsel van longen en luchtwegen longgezwellen te doen ontstaan door methylcholanthreen in de longen te brengen. Als proefdieren werden gebruikt muizen van de stam „O 20-Leeuwenhoekhuis“. Door het uitwerken van een bijzondere techniek gelukte het me, narcose en operatie te vermijden.

Om na te gaan, waar het methylcholanthreen in de longen terecht kwam, werd lipiodol 40 % als oplosmiddel gebruikt. Het lipiodol kon dan langs Röntgenologische weg in de longen worden aangetoond, waarbij ik me zodoende een oordeel kon vormen over de plaats waar zich het lipiodol, en daarmee het methylcholanthreen, in de longen bevond. Ook kon, door het Röntgenonderzoek na een zekere tijd te herhalen, worden nagegaan hoe het stond met de uitscheiding van het lipiodol.

Na de dood van de muizen kon door middel van vetkleuringen de papaverolie, het vettige bestanddeel van het lipiodol, in de longcoupes worden opgespoord. Bovendien werd langs microchemische weg aan paraffinecoupes onderzocht, of in de longen van de behandelde muizen aanmerkelijk meer jodium voorkwam dan in de longen van onbehandelde contrôledieren.

Bij het onderzoek naar de aanwezigheid van methylcholanthreen in de longen van de proefdieren, aan het einde van het

experiment, ben ik gestuit op eigenaardige vormsels, die in samenhang met dit onderzoek worden besproken.

Het resultaat van de proevenreeks bracht me ertoe, het epitheel van longen en trachea nog te beschadigen. De resultaten van deze peritracheale en intrapulmonale injecties met de 1 % oplossing van methylcholanthreen in lipiodol worden in de hoofdstukken IV en V beschreven en besproken.

Aan de beschrijving van de proeven gaat vooraf een beschouwing van de litteratuur over spontane en experimenteele longgezwellen bij muizen, met het doel na te gaan of er verschillen tusschen beide bestaan en of er verschillen zijn tusschen deze beide en de door mij waargenomen longgezwellen.

---

## HOOFDSTUK I.

### A. SPONTANE LONGGEZWELLEN BIJ MUIZEN IN HET ALGEMEEN.

Het primaire longgezwel bij muizen werd het eerst door LIVINGOOD<sup>18</sup> in 1896 beschreven. Het was een solitair, wit, eenigszins broos gezwel, dat zich bevond in de middenkwab van de rechterlong. De doorsnede bedroeg 5 mm. Histologisch bleek het een adenocarcinoom te zijn, dat uitging van de wand van een bronchus en doorgegroeid was in het omgevende longweefsel. Het gezwel was opgebouwd uit onregelmatige, cilindrische en polygonale cellen, met ovale, blazige kernen en een zeer weinig ontwikkeld bindweefselstroma.

In 1905 deelde HAALAND<sup>19</sup> mede, dat bij muizen, die hij onderzocht op gezwellen van de mamma, soms primaire longgezwellen voorkwamen, en wel in een aantal van vijf of zes in iedere muizenlong. Ze waren niet grooter dan een hennepkorrel. Naar het histologische beeld noemde hij ze longadenomen. Ze bestonden uit kleine, min of meer onregelmatige holten, omgeven door een laag volumineuze, kubische cellen. Afmetingen en vorm van deze holten kwamen overeen met die van normale alveolen. Het stroma werd gevormd door bindweefselschotten, waarin capillairen gelegen waren. Dit stroma is volgens Haaland een voortzetting van het normale interalveolaire weefsel. In het centrum van de grootste gezwellen kwam vaak een vet-tige degeneratie voor. Mitosen noch metastasen werden bij deze adenomen gezien.

De gezwellen ontwikkelden zich dicht bij een mononucleaire infiltratie, die zeer vaak de bloedvaten van middelbare grootte volgde. Het epitheel van de alveolen, die aan de gezwellen grensden, had een kubisch aspect en scheen te woekeren. Naast deze waarschijnlijk alveolaire oorsprong van de gezwellen kreeg Haaland in andere gevallen de indruk, dat ze ontstaan waren uit bronchiaalepitheel. In zoo'n geval was dan het gezwel om een kleine bronchus gelegen.

Bij een muis, die tevens een groot Jensen-gezwel had, was een duidelijk verschil in bouw tusschen het perifeere en centrale gedeelte van het longgezwel. In dit geval was het gezwel ook

grooter en had het een doorsnede van 4 mm. Het perifeere gedeelte kwam namelijk in bouw overeen met het longadenoom, alleen ontbrak de ontsteking. Het centrale gedeelte was meer papillomateus. Deze papillen, die al of niet vertakt waren, bestonden uit een fijn bindweefselstroma, dat bekleed was met een of meerdere cellagen van epitheliaal karakter. Tusschen beide gedeelten kwamen overgangen voor. Metastasen werden ook hier niet waargenomen.

Haaland stelde zich voor, dat deze gezwellen ontstaan waren uit het epitheel van een kleine bronchus of een groote alveolus, in het lumen waarvan zich het gezwel verder ontwikkeld had.

Tusschen het voorkomen van deze spontane longgezwellen bij zijn muizen en een gezwel in een ander orgaan, bestaat volgens den onderzoeker een verband.

In 1907 vermeldde Tyzzer<sup>20</sup> bij twaalf muizen het voorkomen van primaire longgezwellen op een leeftijd van ruim 5 tot 14 maanden. Van deze muizen waren er zeven, die bovendien een gezwel in een van de overige organen hadden. Een causaal verband tusschen de aanwezigheid van deze longgezwellen en de gezwellen elders in het lichaam neemt deze onderzoeker niet aan, aangezien de longgezwellen reeds op een leeftijd van 5½ maand werden waargenomen zonder dat in een van de andere organen van een nieuwvorming sprake was.

Bij elf van de twaalf muizen waren deze longgezwellen solitair en hadden een doorsnede, die varieerde van 0,6 tot 4 mm. De muis met de multipele longgezwellen (waarvan de leeftijd niet bekend was) had een groot gezwel (5 bij 10 bij 10 mm) in de bovenkwab van de rechterlong, terwijl kleine longgezwellen verspreid over rechterboven- en middenkwab voorkwamen. Van acht van de solitaire longgezwellen lagen er vijf in de bovenkwab van de linkerlong, twee in de rechterbovenkwab en één in de rechtermiddenkwab.

Uit de macroscopische beschrijving blijkt, dat deze solitaire en multipele longgezwellen zich aan het longoppervlak voordeden als grijs-witte of doorschijnend witte knobbeltjes. Ze waren scherp begrensd en werden door de verdikte pleura bedekt.

Microscopisch waren ze, afgezien van kleine onderlinge verschillen, van hetzelfde type. De epitheelcellen bekleedden onregelmatige bindweefselplooien, waarin, in verhouding tot het normale longweefsel, veel elastisch weefsel voorkwam. In sommige gevallen waren de plooien gescheiden door wijde

ruimten, waardoor men de indruk kreeg van cysteuze nieuwvormingen. In andere gevallen was de bouw van het gezwel hechter, terwijl de epitheelcellen in de mazen van een netwerk van bindweefsel lagen. De bouw in eenzelfde gezwel was wisselend. In sommige gedeelten was het epitheel onregelmatig gerangschikt en meerlagig, dan weer was de bouw adenomateus of papillomateus, met cysteuze ruimten tusschen de papillen.

Tyzzar geeft deze gezwellen de naam papillaire cystadenomen. Mitosen werden slechts in één geval waargenomen; amitosen kwamen echter veelvuldig voor. De afwezigheid van mitosen verklaart volgens de onderzoeker waarschijnlijk het klein blijven van deze longgezwellen. Hiertegen pleit echter, dat één gezwel nagenoeg de geheele rechterbovenkwab in beslag nam, zonder dat kerndeelingsfiguren werden waargenomen.

De groei vond in dit gezwel zoowel expansief (kenbaar aan de atelectase van het omgevende longweefsel) als door uitbreiding van het epitheel over de oppervlakte van de omliggende alveolen plaats.

De multipele longgezwellen waren niet door haematogene of lymfogene metastaseering ontstaan, daar een vasculaire of perivasculaire uitbreiding ontbrak. Wel werden gezwelcellen op eenige afstand van het groote gezwel tegen de alveolenwanden gevonden. Hieruit leidt deze onderzoeker af, dat de multipele longgezwellen kunnen ontstaan door verbreiding langs de luchtweg. Daarnaast laat hij de mogelijkheid open, dat de multipele longgezwellen primair ontstaan zijn.

De grens tusschen gezwel en atelectatisch longweefsel is moeilijk te herkennen. De alveolenwanden zijn verdikt en het bekleedende epitheel is min of meer kubisch.

In de omgeving van de multipele longgezwellen kwamen in de alveolen ophooping van cellen voor, die zeer veel geleken op gezwollen alveolaire epitheelcellen. Deze cellen waren ongelijk van grootte en hadden een kleine bolvormige kern. Zij verschilden van de gezwelcellen doordat zij geneigd waren holten op te vullen, veel kleiner en minder sterk kleurbaar waren, en mitosen vertoonden. Het is volgens Tyzzar mogelijk dat deze celmassa's een diffuse vorm van gezwel voorstellen, maar het lijkt toch meer op een algemeene proliferatieve activiteit van het alveolairepitheel, en dan misschien als reactie op het primaire gezwel, dat in dit geval een groote afmeting had bereikt. De cellen vertoonden een geringe phagocyteerende werking en bevatten soms kristallen. Deze kristallen waren van

verschillende grootte en werden vaak in de muizenlongen naast de longgezwollen waargenomen. Tyzzer acht een aetiologisch verband tusschen beiden waarschijnlijk. Verder wijst deze onderzoeker, evenals Haaland, op het veelvuldig samengaan van chronische ontstekingsprocessen met die primaire longgezwollen.

In alle gezwollen kwamen ook meer of minder gedegeneerde epitheelcellen voor. De sterkst regressieve veranderingen kwamen in het centrum van het gezwel voor, waar dan bindweefsel de plaats van het epitheel innam. Vele epitheelcellen vertoonden, blijkbaar als gevolg van de amitose, meerdere kernen. De kernen kunnen zeer groote afmetingen bereiken, zijn dikwijls onregelmatig en bevatten met eosine kleurbare in-sluitsels.

Twee gevallen waar een doorgroeien in een bronchus te zien was, werden door Tyzzer als kwaadaardig beschouwd, ofschoon metastasen ontbraken.

De onderzoeker laat verder de vraag open of deze gezwollen uit bronchiaal- of alveolairepitheel waren ontstaan. Bij een zeer klein gezwel kon geen bronchogene oorsprong worden aangetoond. Wel scheen er een verband te bestaan tusschen gezwel en pleura; het oudste deel van het gezwel ligt dicht tegen het longoppervlak. Het veelvuldig voorkomen van ontstekingsprocessen in de omgeving van deze gezwollen wordt door den onderzoeker niet in verband gebracht met de ontwikkeling van de gezwollen, daar zij ook vaak werden waargenomen zonder dat gezwollen in de longen voorkwamen.

Jobling<sup>21</sup> beschrijft in 1910 negen longgezwollen bij acht muizen, waarbij zich tevens een gezwel elders in 't lichaam bevond. Bij zeven van de acht muizen waren deze longgezwollen weer solitair. Van de negen longgezwollen kwamen er twee in de bovenkwab en drie in de onderkwab van de linkerlong voor, en vier in de bovenkwab van de rechterlong, zoodat van een voorkeur voor een van beide longen geen sprake was. Het aspect en de bouw van deze gezwollen kwamen overeen met de beschrijvingen van de reeds genoemde onderzoekers. Soms werden vetzuurkristallen waargenomen in het centrale gedegeneerde gedeelte, omgeven door reuzencellen. Mitosen of metastasen werden niet gezien. In één geval meende de onderzoeker in zijn seriecoupes te zien dat het gezwel uitging van het epitheel van een bronchiolus.

Bovengenoemde onderzoekers hebben in geen enkel geval

metastasen buiten de longen waargenomen bij de primaire longgezwellen.

In 1914 echter werden door Slye, Holmes en Wells<sup>22</sup> bij 4 van de 160 muizen met longgezwellen (in totaal werden 6000 muizen van de stam van Miss Slye onderzocht) metastasen waargenomen in de mediastinale lymphklieren, de borstwand, het diaphragma en de nier. Histologisch kwamen de metastasen in groote trekken overeen met het primaire gezwel, dat een papillaire of papillo-tubulaire bouw had. De leeftijd van de 4 muizen wisselde van 12 tot 20 maanden. Bij elk van deze muizen was een groot primair longgezwel aanwezig, dat een doorsnede had van 10 mm tot een geheele longkwab. Daarnaast kwamen vele kleine gezwellen in de longen voor, waarvan de bouw dezelfde was als die van het primair gezwel. Volgens de onderzoekers waren dit metastasen, gezien de peri- of intravasculaire rangschikking van de gezwelcellen. Soms was ook een versleping van de gezwelcellen langs de luchtweg duidelijk. Zij veronderstellen, dat deze verspreiding langs de luchtweg bij multipele longgezwellen de meest gebruikelijke is. De door hen waargenomen 160 muizen met longgezwellen behoorden tot de groep muizen die minstens één jaar oud waren geworden en maakten daarvan 4% uit. Slechts in 15 gevallen bleken de longgezwellen multipel te zijn, en in 23 gevallen waren tevens gezwellen in andere organen aanwezig.

Ofschoon Haaland, Tyzzer, Jobling en Murray<sup>23</sup> bij hun muizen een veelvuldig samengaan vonden van primaire longgezwellen met gezwellen in andere organen, konden Slye, Holmes en Wells dit slechts in 23 van de 160 gevallen waarnemen. Deze laatsten veronderstellen nu, dat de bovengenoemde onderzoekers de longen alleen dan nauwkeurig onderzochten, wanneer gezwellen in andere organen voorkwamen.

Histologisch onderscheidde Slye c.s.:

1. zeer kwaadaardige gezwellen of carcinomen (20 gevallen): er waren een atypische epitheliale groei, een infiltratie in het omgevende longweefsel en vorming van metastasen in of buiten de longen.
2. duidelijk kwaadaardige gezwellen (43 gevallen): er waren atypische epitheliale groei en infiltratie in het omgevende longweefsel.
3. twijfelachtig kwaadaardige gezwellen (41 gevallen): de gezwellen hadden een neiging tot infiltratieve groei en de aard van de celgroei deed denken aan kwaadaardigheid.



4. goedaardige gezwellen (56 gevallen): de bouw was hier zoödanig, dat men wel een goedaardige nieuwvorming moest aannemen, en niet hyperplasie tengevolge van ontsteking. De gevallen, waarin twijfel bestond tusschen deze twee mogelijkheden, werden door hen niet in de statistiek opgenomen.

De algemeene bouw van deze longgezwellen kwam in hoofdzaak overeen met de papillaire cystadenomen van Tyzzer. Alleen ontbraken duidelijke cysteuze holten en bestonden de open ruimten in het gezwel uit smalle spleten. Vandaar dat zij het juist vinden, die gezwellen papillaire adenomen te noemen. Daarnaast namen zij ook tubulaire adenomen waar.

Vaak waren de gezwellen opgebouwd uit bleeke, groote, polyedrische cellen, met blazige, licht gekleurde kernen en rijkelijk cytoplasma, die een alveolaire herkomst schenen te hebben. Bij de snelst groeiende gezwellen werden gewoonlijk cellen aangetroffen, die veel grooter waren dan eenige cel in de normale long of bronchus. Ze hadden groote kernen, die meestal intensief gekleurd waren en langgerekt, bol of blazig van vorm. Het gezwel droeg dan meestal een duidelijk papillair karakter, waarbij dikwijls in de spleetvormige ruimten afgestoten cellen en detritus voorkwamen. Vaak was de bouw in verschillende gedeelten van hetzelfde gezwel wisselend. Mitosen behoorden, ook bij de zeer kwaadaardige gezwellen, met metastasen, tot de zeldzaamheden. Amitosen kwamen echter veelvuldig voor, hetgeen zou kunnen wijzen op een snelle groei. Necrose en andere regressieve veranderingen kwamen soms voor, ook in de goedaardige gezwellen. Soms waren de bloedvaten in de papillaire vormsels zoo sterk uitgezet, dat ze met de begrenzende laag van gezwelcellen deden denken aan een haemangiosarcoma.

De meeste gezwellen schenen subpleuraal te beginnen. De pleura was in de meeste gevallen slechts weinig verdikt. In een enkel geval echter was de pleura sterk verdikt en dan soms geïnfiltréerd met gezwelcellen. Vaak werd in de omgeving van de gezwellen, en wel in het bijzonder in de beginstadia, ontstekingsprocessen en hyperplasie van de epitheelcellen waargenomen.

Slye c.s. veronderstellen, dat aan de ontwikkeling van longgezwellen veelal een hyperplasie tengevolge van ontsteking voorafgaat, die dan aanleiding geeft tot een verdikking en een

kubisch worden van het alveolairepitheel. In aansluiting daaraan groeien papillen in de alveolen uit.

Bij het meerendeel van de longgezwollen nemen zij een alveolaire oorsprong aan. De alveolaire of bronchiale herkomst van het gezwel kan echter niet bepaald worden door de aard van het epitheel. Verschillende celtypen, van groot-kubisch tot cilindrisch, kwamen in één gezwel voor. Een uitzondering hierop vormden de goedaardige gezwollen, die opgebouwd waren uit kleine kubische cellen, die volgens hen waarschijnlijk van alveolaire herkomst waren.

In enkele gevallen was het duidelijk, dat het gezwel uit het bronchiaalepitheel ontstond en doorgroeide in de omringende alveolen. Ook wanneer de bronchus in het midden van het gezwel lag, meenden zij een bronchiale oorsprong te kunnen aannemen. Zelfs bij sommige subpleurale gezwollen achtten zij een bronchiale oorsprong waarschijnlijk.

## B. SPONTANE LONGGEZWOLLEN BIJ INGETEELDE MUIZENSTAMMEN.

Het voorkomen van spontane longgezwollen bij muizen heeft er toe geleid, het optreden van de spontane gezwelgroei bij verschillende ingeteelde muizenstammen te onderzoeken. Dit is onder anderen gebeurd bij de stammen: C<sub>3</sub>H, C, C<sub>57</sub> black, M, A, D, I, Y en „O 20-Leeuwenhoekhuis“.

De stam C<sub>3</sub>H is in 1920 door Strong<sup>24</sup> gekweekt, en kenmerkte zich spoedig door het spontaan optreden van mammacarcinoom bij de meerderheid van de teelende wijfjes, op een leeftijd van 7 tot 10 maanden. Strong beschrijft deze stam als „zeer gevoelig voor het ontstaan van mammacarcinoom, en resistent tegen het ontstaan van gezwollen in andere organen“. Een volgende mededeeling van Strong<sup>25</sup> handelt over het voorkomen van mamacarcinoom bij 70 % van de teelende C<sub>3</sub>H wijfjes op een leeftijd van 13½ maand. Overeenkomstige uitkomsten werden ook door Bittner<sup>26</sup> verkregen. Door Andervont en Eleny<sup>27</sup> werden ook bij niet-teelende wijfjes in een groot percentage spontane mammacarcinomen waargenomen. In 1938 beschrijft Andervont<sup>28</sup>, dat bij enkele C<sub>3</sub>H wijfjes, die de leeftijd van 19 tot 24 maanden bereikten, spontaan long- en levergezwollen optraden. Dit was het geval bij 4 teelende wijfjes van een 13-tal, waarbij geen mammacarcinoom was ontstaan.

De stam C is gedurende meer dan 40 generaties zuiver g-

kweekt. Volgens Snell vertoonden de teelende wijfjes van deze stam in minder dan 5% mamagezwellen, in 20 tot 30% longgezwellen en in ruim 50% gezwellen, die het karakter hebben van het lymphoblastoma.

De stam black C<sub>57</sub> is sedert 1921 ingeteeld (Murray<sup>28</sup>). Bij een zeer klein percentage (< 1%) van de teelende wijfjes treden spontaan mamagezwellen op, terwijl longgezwellen zich bij minder dan 5% van de dieren ontwikkelen.

De stam M is eveneens sedert 1921 ingeteeld. Bij deze stam ontwikkelen zich mamma- en longgezwellen, maar beide bij minder dan 5% van de dieren.

De stam D is in 1909 ingeteeld door Little en staat bekend als „Little dilute browns”. Uit het onderzoek van deze stam door Murray<sup>29</sup> is gebleken, dat nagenoeg alle teelende wijfjes mamagezwellen krijgen. Volgens Andervont<sup>30</sup> komen spontane longgezwellen bij minder dan 5% van de dieren voor.

De stam A is in 1921 door Strong ingeteeld. Het voorkomen van spontane mamma- en longgezwellen bij deze stam is door Bittner<sup>31</sup> onderzocht op verschillende leeftijden bij teelende en maagdelijke wijfjes en bij teelende mannetjes. Daarbij vond hij, dat mamagezwellen optraden bij 85% van 536 teelende wijfjes op een gemiddelde leeftijd van 11,8 maand. Bij 126 maagdelijke wijfjes nam hij in 1,6% van de gevallen op een gemiddelde leeftijd van 10 maanden een mamagezwel waar. Bij de 116 teelende mannetjes ontwikkelden zich geen gezwellen in de borstklieren. Longgezwellen ontwikkelden zich bij 1,7% van de teelende wijfjes op een gemiddelde leeftijd van 17½ maand, terwijl van de muizen in deze groep, die een mamagezwel kregen, 4,3% een longgezwel hadden op een leeftijd van 12½ maand.

Van de maagdelijke wijfjes hadden er 77% longgezwellen op een gemiddelde leeftijd van 16,6 maand. Op een gemiddelde leeftijd van 20 maanden werd bij de helft van de muizen met een mamagezwel een longgezwel waargenomen. Uitsluitend longgezwellen bestonden bij 71.6% van de teelende mannetjes op een gemiddelde leeftijd van 14,8 maand.

Uit deze cijfers blijkt, dat de teelende wijfjes in een zeer groot percentage spontaan mamagezwellen krijgen, en de maagdelijke wijfjes en de teelende mannetjes in een nagenoeg even groot percentage spontaan longgezwellen.

De groote gevoeligheid van deze stam voor de spontane ontwikkeling van longgezwellen maakt deze stam bijzonder

geschikt voor het opwekken van deze gezwellen. Om nu de spontane groei zooveel mogelijk uit te schakelen, moet men dieren gebruiken, die bij het beëindigen van de proeven nog beneden de leeftijd zijn, waarop spontane longgezwellen voorkomen.

Voor mijn eigen proefnemingen, die betreffen het opwekken van longgezwellen bij muizen, kreeg ik van Dr. Korteweg de beschikking over een kweek van de albinostam O 20-Leeuwenhoekhuis, geboren in Maart 1938.

Deze muizenstam is in het laboratorium van het Antoni van Leeuwenhoekhuis door Dr. Korteweg gedurende 20 generaties zuiver gekweekt. Bij het begin van mijn proeven, in Juni 1938, was het niet bekend, of bij deze stam spontane longgezwellen voorkwamen. De eerste mededeeling daarover kwam van Dr. Korteweg in Juni 1939<sup>32</sup>. Aan zijn onderzoek over de veelvuldigheid van longpapillomen bij 272 wijfjes van de „O 20” stam ontleenen wij het volgende:

bij 36 % van de 104 muizen die op een leeftijd van 180 tot 719 dagen gestorven of stervende gedood waren, kwamen longgezwellen voor.

Bij de overige 168 muizen, die gezond gedood werden toen ze 2 jaar oud waren, kwamen in 23 % van de gevallen longgezwellen voor. Van deze 38 muizen met longgezwellen hadden 12 een klein, 26 een groot papilloom<sup>\*)</sup>). Daarnaast werden cysteuze gezwellen en echte carcinomen waargenomen.

De cysteuze gezwellen beschrijft Korteweg als groote emphyseemblazen, waarvan de wand uit een papillomateuze massa bestaat. Deze cysten kunnen een doorsnede van 1 cm bereiken.

Het longcarcinoom, dat in 3 gevallen werd waargenomen, was kenbaar aan de doorbraak door de pleura.

De groote moeilijkheid, de longgezwellen bij de verschillende muizenstammen morphologisch te classificeeren, doet zich ook in dit geval voor. Zoo is het volgens Korteweg niet onmogelijk, dat, gezien de sterke celpolymorphie van de meeste papillomen, deze toch als carcinomen moeten worden beschouwd. De onderzoeker vraagt zich af, of het geen aanbeveling zou verdienen, de zoogenaamde longpapillomen in 2 groepen te splitsen, een goedaardige en een kwaadaardige.

Uit het onderzoek van deze 272 wijfjes is aan Dr. Korteweg

---

\*) Groot noemt Korteweg die papillomen, waarvan de doorsnede 3 mm of meer bedraagt.

gebleken, dat bij de „O 20“ muizenstam het longpapilloom, wanneer dit een zekere grootte bereikt heeft, een belangrijke doodsoorzaak vormt. De papillomen blijven volgens Dr. Korteweg slechts korte tijd klein, en bezitten een sterke neiging om grooter te worden.

Microscopisch ziet men, naast de meer of minder scherp begrensde papillomen, groote longgebieden, waar de alveolen volgepropt zijn met losliggend epitheel. Dr. Korteweg drukt het als volgt uit: de muis is als het ware in haar afgestooten papilloom-epitheel verdrongen. Doordat het afgestooten epitheel op vele plaatsen weer vastgroeit, ontstaan er, zooals Tyzzer het reeds 30 jaar geleden beschreven heeft, nieuwe papillomen, als metastasen, langs de luchtweg.

Spontane gezwellen van andere organen kwamen bij 7% van de 272 onderzochte wijfjes voor, en wel 3 mammacarcinomen, 5 lymfomaden, en 10 andere vormen van sarcoom.

Samenvattend komt Dr. Korteweg dus tot de volgende kenmerken van spontane gezwelgroei bij de wijfjes van de stam O 20-Leeuwenhoekhuis:

1. longpapillomen komen zeer frequent voor;
2. deze longpapillomen bezitten een sterke neiging tot ononderbroken, snellen groei;
3. het longpapilloom is voor de dieren van deze stam een belangrijke doodsoorzaak;
4. gezwellen in andere organen komen weinig voor.

## HOOFDSTUK II.

### EXPERIMENTEELE LONGGEZWELLEN BIJ MUIZEN.

Murphy en Sturm<sup>33</sup> hebben, door op bijzondere wijze de huid van muizen met teer te penseelen, kunnen aantoonen dat zich daarbij in een zeer groot percentage longgezwollen ontwikkelden. Hun techniek was als volgt: zij verdeelden de huid van hun proefdieren in twaalf gebieden, die om beurten werden gepenseeld, en wel zoodanig dat ieder van deze gebieden niet meer dan driemaal met de gezwelverwekkende teersoort werd behandeld. De behandelingsduur was 83 dagen. Op deze wijze ontstonden geen verwondingen of gezwollen in de huid.

Voor hun proeven gebruikten zij met opzet muizen, die bij het beëindigen van de proef niet ouder dan dertien maanden waren. De kans op spontane ontwikkeling van longgezwollen was dan bij hun stam gering, zooals bleek uit 38 contrôlemuizen, die op een leeftijd van acht tot veertien maanden geen van allen longgezwollen bleken te hebben.

Bij de 40 proefmuizen, die één tot zes maanden de teerbehandeling overleefden, bestonden in 29 gevallen (72,5 %) longgezwollen.

Uit de beschrijving, die Murphy en Sturm van achttien muizenlongen geven, blijkt dat zich hierin 128 longgezwollen bevinden. Slechts bij één muis was er een solitair gezwel. Van deze 128 longgezwollen kwamen er 78 in de rechter-, 50 in de linkerlong voor, zoodat van een voorkeur voor een van beide longen geen sprake was. Wel was er voorkeur voor een localisatie in de bovenkwabben: 93 van de 128 gezwollen waren daar ontstaan, 47 links en 46 rechts.

De gezwollen hadden een parelmoerachtig, wit aspect en een doorsnede van 1 tot 4 mm. Histologisch kwamen ze overeen met de reeds besproken spontane gezwollen, terwijl er bovendien in vele gevallen mitosen, en bij wijze van uitzondering cellige infiltraten aan de rand van de gezwollen voorkwamen. Naast een scherpe begrenzing waren er ook plaatsen, waar uitloopers van het gezwel het omgevende longweefsel binnendrongen.

Ook Schabad<sup>34</sup> heeft in 1929 bij zijn witte Russische muizen-

stam het ontstaan bestudeerd van primaire longgezwollen na penseelen van de huid met teer. Van de 96 muizen, die minstens 3 maanden penseelen doorstonden, hadden er 22 (22,9 %) primaire longgezwollen. De leeftijd van deze muizen varieerde tusschen 12½ en 24 maanden. De longgezwollen kwamen in een gelijk percentage bij beide geslachten voor en waren in 14 gevallen multipel. Het meerendeel van deze longgezwollen denkt Schabad zich ontstaan door de inwerking van de teer. De spontane longgezwollen traden reeds op een leeftijd van 8 maanden op en kwamen op een leeftijd van 8 tot 29 maanden bij 5 % van de contrôledieren voor.

De experimenteele en spontane longgezwollen waren in het algemeen grauwwitte, half doorschijnende, ronde knobbeltjes; hun doorsnede varieerde van 1 mm tot een geheele longkwab. Het meerendeel had een doorsnede van 3 tot 5 mm en lag subpleuraal. Zeldzaam was een localisatie in het centrum van het longweefsel. Ze lagen dan al of niet rondom bronchiën of bloedvaten. De multipele longgezwollen kwamen in een aantal van 10 tot 12 verspreid over een of meerdere longkwabben voor en werden bijna alle door den onderzoeker als primair beschouwd. Ze waren boven het oppervlak verheven, waarbij gewoonlijk de pleura glad en glanzend gebleven was en niet vergroeid met de borstwand. Er bestond geen voorkeur voor linker- of rechterlong. Wel kwamen ze vaak in de onderkwabben voor; hetgeen de schrijver verklaart uit het feit dat deze kwabben het grootst zijn.

Microscopisch hadden alle gezwollen in principe een adenomateuze bouw. Naar de rangschikking van epitheel en stroma onderscheidt Schabad:

1. de papillaire adenomen, waarbij de gezwelcellen zich gerangschikt hebben in strengen met in het centrum smalle tusschenschotten van bindweefsel. Deze strengen zijn om elkaar gevlochten en kruisen elkaar in verschillende vlakken, terwijl ze in de tusschenliggende spleten groeien. Zijn die spleetvormige ruimten op verschillende plaatsen cysteuzen holten geworden, dan noemt de onderzoeker de gezwollen, evenals Tyzzer, papillaire adenocystomen of papillaire cystadenomen.

Daarnaast, maar veel zeldzamer, komen voor:

2. de tubulaire adenomen en
  3. de gezwollen, waarbij de adenomateuze bouw onduidelijk is.
- De tubulaire adenomen zijn gekenmerkt door buisvormige

rangschikking van de epitheelstrengen. Bij die gezwellen, die geen duidelijke adenomateuze bouw vertoonen, liggen de gezwelcellen in complexen, die soms strengen vormen, die in verschillende richtingen door elkaar gevlochten zijn. Naast deze variaties komen verschillen voor in de grootte der gezwelcellen, zoodat men grootcellige en kleincellige papillaire adenomen kan onderscheiden.

In de gevallen, waar het mogelijk is de verschillende structuren in eenzelfde longgezwel te onderscheiden, wordt de bouw van de periferie naar het midden steeds duidelijker. De perifeere zône bestaat dan meestal uit kleine complexen van gezwelcellen, die overgaan in epitheelstrengen. In het centrum van deze epitheelstrengen ligt een smal bindweefselstroma. Bij het papillaire adenoom, dat veelal het duidelijkst is in het midden-gedeelte van het gezwel, kruisen deze strengen elkaar in verschillende richtingen.

Geen enkel gezwel vertoonde een afkapseling ten opzichte van het omgevende longweefsel. Toch onderscheidt Schabad, naarmate de grens duidelijk is, het gezwel in de omgeving ingroeit of er geleidelijk in overgaat, 3 typen van begrenzing, en daarmede van goed- of kwaadaardigheid.

De meeste gezwellen lagen subpleuraal. De pleura was dan vaak juist bij de kleinste gezwellen verdikt door vermeerdering van het elastische weefsel, soms ook door de aanwezigheid van cellige infiltraten.

Bij de zeer groote gezwellen was de pleura dun over het gezwel uitgespannen. De elastische vezels van de pleura gaan over in het stroma van het er onder liggende gezwel.

Vervetting werd alleen aangetroffen in de gezwelcellen van middelmatige grootte en zeer groote gezwellen. De sterkste mate van vervetting werd gewoonlijk in het centrum van het gezwel gevonden; hier was soms al het protoplasma met vet gevuld. De zeer kwaadaardige gezwellen, adenocarcinomen, vertoonden hoogstens een geringe vervetting.

Aan de hand van elastica-kleuringen van de longgezwellen heeft Schabad de waarneming van Haaland<sup>35</sup> kunnen bevestigen, dat deze vezels in de groote gezwellen een dun vlechtwerk vormen, dat het verloop van de talrijke papillaire strengen weergeeft, dat in het centrum de elastische vezels van een aanzienlijke dikte en grootte zijn, dat er een continuïteit bestaat tusschen de elastische membranen van de pleura en de elastische vezels van het daaronder gelegen gezwelstroma, en



dat de elastische vezels, naarmate de adenomen grooter worden, afnemen in dikte en aantal. Geen samenhang bestaat er met de elastische structuren van het omgevende longweefsel. Uitzondering hierop vormen soms de zeer kleine gezwellen, waarbij het moeilijk kan zijn de grens tusschen elastisch weefsel van long en gezwel waar te nemen. Toch is het mogelijk in de meest gevormde deelen van deze zeer kleine gezwellen, met name onder de pleura en in het centrum, waar te nemen, dat het elastische weefsel van het gezwel zich in dikte en rangschikking onderscheidt van dat van het omgevende longweefsel.

Met de elastica-kleuring zag Schabad, hoe bij de kwaadaardige gezwellen het eigen elastische stroma duidelijk blijft, terwijl dat van het geïnfilteerde en gedestrueerde longweefsel vernietigd wordt.

De nauwe samenhang die er bestaat tusschen het elastische weefsel van de pleura en dat van het gezwel wijst volgens Schabad op de belangrijke rol, die de pleuraverandering speelt in histogenese en ontwikkeling van de meeste uit het alveolair epitheel ontstane gezwellen.

Schabad is de eerste onderzoeker geweest, die in 2 gevallen met zekerheid een overgang van het epitheel van een bronchus in dat van een gezwel (adenocystoom) heeft waargenomen. Daarnaast kwam een reeks gevallen voor, waarbij de bronchiale oorsprong waarschijnlijk was. De gezwellen lagen dan steeds midden in het longweefsel. Bij de bronchogene gezwellen bestaat alleen maar een aanwijzing dat er een eigen elastisch weefsel aanwezig is, dat naar alle waarschijnlijkheid afkomstig is van de elastische membranen van de bronchiaalwand. De meeste gezwellen hebben echter een alveolaire oorsprong.

Slechts in enkele gevallen kon een ontstekingsproces worden waargenomen en dan altijd rondom zeer kleine gezwellen. Een open vraag blijft het nog, of zoo'n ontstekingsproces primair is of als reactie op de ontwikkeling van het gezwel ontstaat. Slye, Lynch en Bonne<sup>80</sup> leggen bovendien de nadruk op de moeilijkheid, een ontstekingsproces en een beginnende gezwelvorming van elkaar te onderscheiden. Schabad beschouwt zijn 2 gevallen niet als gezwellen, daar geen duidelijke adenomateuze bouw aanwezig was. De knobbeltjes bestonden volgens hem uit pneumoniehaardjes, met in het centrum een hyperplasie van het alveolair epitheel.

De meerderheid van de longgezwollen werd gekenmerkt door een subpleurale ligging, een onscherpe begrenzing ten opzichte van het omgevende longweefsel, terwijl toch meestal geen duidelijke infiltrerende of destrueerende groei en slechts een gering aantal mitosen kon worden waargenomen.

Een belangrijk argument voor het feit, dat vele longgezwollen uit het alveolairepitheel ontstaan, kan geput worden uit de biologische functies, die vele onderzoekers aan dat epitheel toekennen:

Aschoff<sup>36</sup> en zijn school schrijven er een phagocytierende werking aan toe; Roger<sup>37</sup> heeft voor het eerst de aandacht gevestigd op de mogelijkheid dat het alveolairepitheel een functie zou vervullen bij de vetstofwisseling van de long. Seemann<sup>38</sup> heeft bij muizen kunnen aantonen, dat de met vet beladen alveolairepitheelcellen voornamelijk subpleuraal liggen. Zijn conclusie is, dat het subpleurale alveolairepitheel een bijzondere biologische activiteit ontplooit. Schabad ziet hierin een sleutel voor de oplossing van het raadsel, waarom de longgezwollen bij muizen overwegend subpleuraal liggen, en tevens een argument voor het ontstaan van de longgezwollen uit het alveolairepitheel. Hij zelf nam bij 2 teermuizen, die een leeftijd van 15 maanden bereikten, geelachtige knobbeltjes waar. Deze kwamen zoowel aan de oppervlakte als in het longweefsel verspreid voor. Microscopisch bestonden deze knobbeltjes uit zeer groote cellen met ronde kernen en rijkelijk protoplasma. In de met alcohol behandelde coupes vertoonden deze groote cellen een duidelijke schuimstructuur. Bij kleuring met Soedan III werd veel vet in deze cellen aangetroffen, evenals in de stofcellen, die in de alveolairsepta en alveolen kunnen voorkomen. De bovengenoemde groote cellen met schuimstructuur vat de onderzoeker op als stofcellen, afkomstig van het alveolair-epitheel.

### HOOFDSTUK III.

#### EXPERIMENTEELE LONGGEZWELLEN BIJ MUIZEN VAN DE ALBINOSTAM „O20 LEEUWENHOEKHUIS” NA INTRATRACHEALE INSPIJTING MET METHYLCHOLANTHREEN.

Dit onderzoek had ten doel, zonder beschadigingen van het weefsel van longen en luchtwegen longgezwollen te doen ontstaan bij muizen door een gezwelverwekkende stof in de longen te brengen. Wanneer namelijk een gezwelverwekkende stof door middel van tracheotomie bij proefdieren in de longen wordt gebracht, ontstaan veelal gezwollen rondom trachea en slokdarm (Oberling, Sannié en Guérin 1936<sup>39</sup> en Valade 1937<sup>40</sup>), doordat de stof als gevolg van de operatieve techniek ook in het omgevende bindweefsel terechtkomt. De dieren sterven dan, voordat zich longgezwollen hebben kunnen ontwikkelen. Een ander bezwaar van deze wijze van handelen is de groote sterfte onder de proefdieren, wanneer herhaalde intratracheale injecties bij hetzelfde proefdier worden verricht. (Valade 66 %).

Om deze bezwaren te vermijden, heb ik een bijzondere techniek uitgewerkt, waarbij narcose en tracheotomie overbodig zijn. Deze techniek maakte het mogelijk, zonder beschadiging van het epitheel der luchtwegen een gezwelverwekkende stof in de longen van muizen te brengen.

Voor de intratracheale inspijtingen is het noodzakelijk, de muis te fixeeren en de bek zoodanig open te sperren, dat de stemspleet, als de tong naar buiten en beneden getrokken wordt, zichtbaar is (zie afb. 1).

#### METHODIEK VAN DE INTRATRACHEALE INJECTIE.

Een belangrijk onderdeel voor het goede verloop van deze injectie is de juiste fixatie van de muis, want de geheele luchtweg, vanaf de aditus laryngis tot aan de bifurcatie van de trachea moet een gefixeerde rechte buis vormen. Ter verwezenlijking hiervan diende ons het volgende eenvoudige apparaatje: op een langwerpige plankje ter grootte van ongeveer 15 bij 30 cm zijn aan het eene uiteinde twee stalen staafjes gemonteerd, loodrecht op het vlak van het plankje. Deze staafjes staan 8,5 cm uit elkaar langs de smalle kant. Hun hoogte bedraagt 10 cm. De staafjes mogen niet te dik zijn, aangezien ze moeten kunnen veeren (3 mm). Tusschen deze staafjes

zijn twee stalen draden uitgespannen, die door middel van mofjes langs de staafjes op en neer bewogen kunnen worden. De dikte van de draden mag niet minder bedragen dan 1 mm. Ze dienen namelijk tot het opensperren van de bek van de muis en mogen niet in het weefsel van boven- en onderkaak insnijden. Op dit toestel werden de muizen als volgt opgespannen:

een strookje leucoplast van  $1\frac{1}{4}$  cm breedte, wordt om het proximale einde van de staart geslagen en vervolgens door middel van een punaise vastgeprikt op de grondplank op een afstand van 10 cm van het midden van de verbindingslijn van de staafjes. De muis steunt dan op de voor- en achterpooten en kijkt in de richting van de staafjes; de plank ligt zoodanig, dat de staafjes zich bij de rechterhand van den onderzoeker bevinden. Met duim en wijsvinger van de linkerhand wordt de muis dan bij nekvel en ooren gepakt en rechtop gezet. De achterpooten spreiden zich dan reflectoir zoodat deze op soortgelijke wijze als de staart aan de plank gefixeerd kunnen worden.

Door de opgerichte houding waarin de muis zich nog steeds bevindt zijn de voorpooten gestrekt, zoodat gemakkelijk met een pincet een strookje leucoplast om de onderarmen geslagen kan worden. Wordt de muis weer in horizontale houding teruggebracht, dan kunnen door trekken aan de voorste leucoplaststrookjes het muizenlichaam gestrekt en de voorpooten iets gespreid worden. Het eind van de voorpooten hoort nu iets voor de horizontale draden uit te steken. Met een stevige pincet in de rechterhand worden nu de draden bij elkaar geknepen en met de linkerduim en wijsvinger wordt de kop van de muis tegen de „dubbele draad” gedrukt. De muis begint dan te bijten waardoor de „dubbele draad” achter de knaagtanden gebracht kan worden. Door geleidelijk loslaten van het pincet veeren de draden langzaam uiteen en sperren daardoor de bek van de muis open. Om ontsnappen uit de draden te voorkomen wordt de kop van de muis nog steeds licht gedrukt met duim en wijsvinger van de linkerhand, welke druk nu door een leucoplaststrookje van 8 cm lengte over de nek van de muis uitgespannen en op de plank met punaisen vastgeprikt, wordt vervangen. Met behulp van een klein formaat neusspalk worden de wangen uit elkaar gehouden. De keelholte wordt nu belicht door middel van een keelspiegel. Met een pincet, waarvan de punten met een weinig leucoplast zijn omwonden, in de linkerhand, wordt de tong gepakt en naar voren en beneden getrokken. Men ziet dan de aditus laryngis en de stemspleet voor zich. Nu neme men in de rechterhand de injectiespuit met canule en brenge binoculair kijkende en nog steeds de keelholte met de spiegel verlichtende de canule tusschen de stembanden, waarna we ze tot even boven de bifurcatie kunnen laten zakken (afb. 1).

Door meten is gebleken dat de gemiddelde lengte van de bovenste knaagtanden tot aan de bifurcatie 3 cm bedraagt, zoodat 3 cm een goede lengte is voor de canule. De dikte van de canule is eveneens aan nauwe grenzen gebonden; Acu-Firm canules No. 20 zijn zeer geschikt, dikkere niet bruikbaar. Bevindt de canule zich eenmaal in de trachea, dan kan de tong losgelaten worden. Men kan nu met hetzelfde pincet de canule aan de hals even boven de bovenste knaagtanden, en daartegen steunende, fixeeren tijdens de injectie. Het verdient aanbeveling om bij gebruik van dikke oliën de injectie-canule door middel van het pincet een weinig op en neer te schuiven langs de bovenste knaagtanden. Men voorkomt hierdoor een afsluiting van de trachea.

Als gezwelverwekkende stof heb ik methylcholanthreen gekozen, omdat het één van de sterkst werkzame gezwelverwekkende koolwaterstoffen is die tot nu toe bekend zijn (Barry, Haslewood, Hewett, Hieger en Kennaway<sup>41</sup> 1935 en Shear<sup>42</sup> 1936). Uit biologisch oogpunt is het een belangrijke stof aangezien het te bereiden is uit galzuren, namelijk desoxy-cholzuur (Wieland en Dane 1933<sup>43</sup> en Cook en Haslewood<sup>44</sup> 1933) en cholzuur (Fieser en Newman<sup>45</sup> 1935). Ook synthetisch is het methylcholanthreen te bereiden (Fieser en Seligman<sup>46</sup>, 1935).

Evenals de andere gezwelverwekkende koolwaterstoffen is methylcholanthreen ( $C_{21}H_{16}$ ) onoplosbaar in water en oplosbaar in oliën, vetten en oplosmiddelen voor vetten.

Methylcholanthreerkristallen zijn fijne gele naaldjes, waarvan het smeltpunt al naar de graad van zuiverheid ligt tusschen  $171^{\circ}$  en  $179^{\circ}$  C. Met geconcentreerd zwavelzuur ontstaat een bloedroode kleur. Onder invloed van ultraviolet licht fluoresceeren de kristallen heldergroen. Het absorptiespectrum heeft zijn maximumabsorptie tusschen 2900 en 3000 Å (Mayneord en Roe<sup>47</sup> 1935).

Om bepaalde redenen, die nader uiteengezet zullen worden, is lipiodol 40 % als oplosmiddel voor het methylcholanthreen gebruikt. De groote viscositeit van het lipiodol heeft het nadeel dat het niet gemakkelijk in de trachea van de muis is in te spuiten. Om nu de viscositeit kleiner te maken is vóór elke injectie de oplossing van methylcholanthreen in lipiodol, met spuit en canule, verwarmd op  $37^{\circ}$  C. Dit vergemakkelijkt het injecteeren en voorkomt dat de dieren stikken. Bovendien moeten de injecties zeer langzaam geschieden. Als deze voorzorgen worden genomen blijkt het, dat hoeveelheden van 0,01 tot 0,03 cm<sup>3</sup> lipiodol goed verdragen worden. Evenals bij het inspuiten met minder visceuze vloeistoffen vertoonen de muizen tijdens de injectie diepe ademhalingsbewegingen. Dit heeft het voordeel dat men dan weet dat de vloeistof in de luchtweg is gekomen en met kracht in de longen wordt gezogen.

#### A. LIPIODOL ALS OPLOSMIDDEL VOOR METHYLCHOLANTHREEN.

Van groot belang voor de uitkomsten van mijn longproeven is de vraag, waar na afloop van iedere intratracheale injectie

het methylcholanthreen in de longen is gekomen. Deze controle is nu mogelijk gebleken doordat wij in lipiodol een oplosmiddel voor methylcholanthreen zagen. Met behulp van Röntgenstralen kon de ingebrachte methylcholanthreen-lipiodoloplossing in het muizenlichaam gelocaliseerd worden. Uit de aard der zaak konden slechts kleine hoeveelheden lipiodol (0,01 tot 0,03 cm<sup>3</sup>) per keer via de stemspleet in de longen worden ingebracht. Het bleek dat voor het verkrijgen van op het Röntgenscherf waarneembare schaduwen de zware, zoogenaamde descendeerende, lipiodol, die 40% jodium bevat, gebruikt moest worden. Dit heeft bovendien het voordeel, dat het ophoesten van de zware lipiodol moeilijker is dan het ophoesten van de lichtere vormen, die 10 of 20% jodium bevatten.

Voor de injectie maakte ik een methylcholanthreenoplossing in lipiodol van 1%. Deze concentratie is voor het opwekken van gezwellen met een tumorverwekkende koolwaterstof betrekkelijk hoog. Maar omdat de in één keer via de luchtwegen toegediende hoeveelheid lipiodol bij muizen niet grooter kan zijn dan 0,03 cm<sup>3</sup>, is de toegediende hoeveelheid methylcholanthreen toch nooit meer dan 0,3 mgr.

Is nu het lipiodol zelf na intratracheale toediening niet schadelijk voor het levende weefsel? Uit de beschrijvingen van Sicard en Forestier<sup>48</sup>, die in 1921 het lipiodol als contrastmiddel in de Röntgendiagnostiek invoerden, blijkt, dat het voor de weefsels van den mensch een indifferente stof is. Het wordt, evenals iedere plantaardige olie, door de weefsels goed verdragen. Voor de uitkomsten van mijn proeven is belangrijk, dat Sicard en Forestier na meer dan vijf duizend injecties met lipiodol bij den mensch geen ontstekingsprocessen of gezwelvorming hebben waargenomen. Deze eigenschappen vinden hun verklaring in de chemische samenstelling van het lipiodol: het bestaat uit een vetlichaam, papaverolie, waaraan 40% jodium is gebonden, zoodanig, dat het niet door chemische reacties op vrij jodium aantoonbaar is. Wordt de oorspronkelijke ambergele kleur minder helder of bruin, dan wijst dat op vrij jodium. Het lipiodol is hierdoor voor inwendig gebruik ongeschikt geworden.

Lipiodol heeft de eigenschap, dat het zeer langzaam en continu door het lichaam wordt uitgescheiden. Het jodium wordt in de urine teruggevonden in de vorm van joodnatrium. Deze langzame uitscheiding voorkomt intoxicatie. Ook nadat, na de mededeeling van Sicard en Forestier, het lipiodol in de Rönt-

gendiagnostiek algemeen verbreid is, is uit geen enkele publicatie iets van schadelijke werking gebleken.

In dit verband wordt erop gewezen dat het contrastmiddel thorotrast in tegenstelling tot het lipiodol wel degelijk gezwelven kan verwekken, hetgeen is aangetoond bij ratten (Oberling en Guérin<sup>49</sup>, Roussy, Oberling, Guérin<sup>50</sup>, Selbie<sup>51</sup>), bij muizen (Selbie) en waarschijnlijk ook bij den mensch (Collins<sup>52</sup>).

Een contra-indicatie voor het gebruik van lipiodol als oplosmiddel bij mijn longproeven met muizen was er dus niet. Toch heb ik, met het oog op mogelijke complicaties door het lipiodol, een viertal muizen alleen deze stof in de longen gespoten. Beschrijving en bespreking van deze vier gevallen mogen thans volgen.

#### INTRATRACHEALE INJECTIES MET LIPIODOL 40 %.

Muis 15 ♀ geb. 9-1-'39.

28-7-'39 Ingebracht 0,02 cm<sup>3</sup>. lipiodol. Op de Röntgenfoto, die in aansluiting aan de injectie gemaakt wordt, bevinden zich in het bovenveld van de linkerlong puntvormige uitsparingen.

11-11-'39 wordt een tweede Röntgenfoto van de longen gemaakt. Hierop wordt geen uitsparing meer teruggevonden.

15-2-'40 De muis wordt door aethernarcose gedood. Bij de sectie worden geen afwijkingen in de longen waargenomen. Ook de overige organen zijn normaal.

Hart en longen worden tezamen in een 10 % formoloplossing gefixeerd. Daarna zijn van de longen, met uitzondering van de rechteronderkwab, sagittale ijscoupen gemaakt ter dikte van 10 tot 25 micron. Op verschillende hoogte zijn van de linker- en rechterlong coupes genomen en gekleurd met haemaluin-eosine. Ook bij dit microscopisch onderzoek werden in de longen geen gezwollen of ontstekingsprocessen waargenomen.

Muis 16 ♀ geb. 8-2-'39.

28-7-'39 Ingebracht 0,02 cm<sup>3</sup>. lipiodol. Op de Röntgenfoto, die in aansluiting aan de injectie gemaakt wordt, bevinden zich in beide longhelften uitsparingen: in de linkerlong een sluiering in boven- en middenveld, met bovendien in de hilusstreek puntvormige uitsparingen in de vorm van een druiventros; in de rechterlong is het bovenveld gesluierd, met bovendien daarin een enkele puntvormige uitsparing.

11-11-'39 wordt een tweede Röntgenfoto gemaakt. In het middenveld van de rechterlong bevinden zich langs de hartschaduwgrens drie diffuse uitsparingen ter grootte van een speldeknoop. Deze uitsparingen zijn naar alle waarschijnlijkheid nog afkomstig van het lipiodol dat plus minus drie en een halve maand tevoren ingebracht werd.

15-2-'40 De muis wordt door intraveneuze injectie met 0,08 cm<sup>3</sup>. van een 10 % formolkeukenzout oplossing gedood. (De concentratie van het keukenzout bedroeg 0,8 %). Bij de sectie worden geen afwijkingen in de

longen waargenomen, evenmin als in de overige organen. Op dezelfde wijze als bij muis 15 zijn vele ijscoupes van de longen gemaakt en microscopisch onderzocht, zonder dat gezwollen of ontstekingsprocessen werden gezien.

Muis 17 ♀ geb. 16-2-'39.

28-7-'39 Ingebracht 0,01 cm<sup>3</sup> lipiodol. Op de Röntgenfoto, die in aansluiting aan de injectie gemaakt wordt, bevinden zich in de linkerlong een sluitring in de top en puntvormige uitsparingen in het middenveld.

22-10-'39 De muis wordt door aethernarcose gedood. Bij de sectie worden geen afwijkingen in de longen waargenomen, evenmin in de andere organen. Van de longen zijn, na fixatie in een 10 % formoloplossing en insluiten in paraffine, seriecoupes gesneden van zeven micron dikte. Van iedere twintig coupes is er één microscopisch onderzocht. Gezwollen of ontstekingsprocessen werden niet waargenomen.

Muis 18 ♀ geb. 14-2-'39.

28-7-'39 Ingebracht 0,01 cm<sup>3</sup> lipiodol. Op de Röntgenfoto, die in aansluiting aan de injectie gemaakt wordt, bevinden zich in het middenveld van de linkerlong enkele puntvormige uitsparingen.

10-11-'39 De muis wordt door aethernarcose gedood. Bij de sectie worden in de longen geen afwijkingen waargenomen. Ook de overige organen zijn normaal. Op dezelfde wijze als bij muis 15 zijn vele ijscoupes van de longen microscopisch onderzocht. Gezwollen of ontstekingsprocessen werden niet gezien.

De leeftijd van deze muizen bij de injectie variëerde tussen vijf en zes en een halve maand.

Bij de muizen 17 en 18 werd 0,01 cm<sup>3</sup> lipiodol in de longen gebracht en bij de muizen 15 en 16 0,02 cm<sup>3</sup>. De muizen 17 en 18 werden ongeveer drie maanden na de injectie gedood, de muizen 15 en 16 ongeveer zes en een halve maand. Bij geen van deze muizen werden macroscopisch of microscopisch in de longen gezwollen of ontstekingsprocessen waargenomen.

Dit kleine aantal proeven laat dus de onschadelijkheid van het lipiodol voor muizenlongen zien, in overeenstemming met hetgeen Sicard en Leroux reeds in 1922 bij den mensch waarnamen.

Ook heb ik mij afgevraagd hoe het met de snelheid van de lipiodoluitscheiding uit de muizenlongen gesteld is. Reeds wees de uitsparing op de tweede Röntgenfoto van muis 16, ongeveer drie en een halve maand na het inbrengen van 0,02 cm<sup>3</sup> lipiodol, nog op de aanwezigheid van het contrastmiddel. Ook van muis 15 is een tweede Röntgenfoto gemaakt, eveneens ongeveer drie en een halve maand na het inbrengen van 0,02 cm<sup>3</sup> lipiodol. Op deze foto was geen uitsparing in de longen meer waar-



neembaar. Dit sluit echter nog niet de aanwezigheid van zeer kleine hoeveelheden lipiodol uit. Deze hoeveelheden kunnen natuurlijk te gering zijn om door de Röntgenstralen te worden aangetoond. Daarom heb ik langs andere wegen nagegaan of de beide bestanddeelen van het lipiodol nog in de coupes van de muizenlongen aanwezig waren.

Nadat mij gebleken was, dat papaverolie door vetkleuring was aan te toonen, werden ijscoupes van beide longhelften van de muizen 15, 16 en 18 volgens Herxheimer<sup>53</sup> met scharlakenrood gekleurd. Deze vetkleuring werd gevolgd door een kernkleuring met zure haematoxyline (P. Mayer).

Bij ieder van de drie muizen werden op deze wijze de roode vetdruppeltjes voornamelijk in de linkerlong gevonden. Deze localisatie in de linkerlong komt overeen met de waargenomen uitsparingen op de drie Röntgenfoto's, die kort na de intratracheale injectie gemaakt zijn.

Zoo werden na de vetkleuring bij muis 15 in het middengedeelte van de coupes van de linkerlong enkele roode druppels waargenomen. Deze hebben blijkbaar geen schaduw meer gegeven op de tweede Röntgenfoto, die ongeveer drie en een halve maand na de injectie gemaakt is. Van de rechterlong werden coupes van boven- en middenkwab onderzocht, zonder dat daarbij vetdruppeltjes werden gezien.

Bij muis 16 waren in het bovengedeelte van de linkerlong en in het middengedeelte van de rechterbovenkwab vele druppels aanwezig. Naar alle waarschijnlijkheid komen deze overeen met de diffuse puntvormige sluierungen op de tweede Röntgenfoto, die plus minus drie en een halve maand na de intratracheale injectie gemaakt is. In de middenkwab van de rechterlong werd slechts een enkel druppeltje gezien.

Bij muis 18 werden in de linkerlong naar verhouding veel druppels gevonden, die in het bovengedeelte van de coupes lagen.

Het onderzoek van de drie kwabben van de rechterlong leverde alleen in de middengedeelten van de coupes van de bovenkwab vele druppeltjes op. Op de Röntgenfoto, die kort na de injectie gemaakt was, werd echter geen schaduw in de rechter thoraxhelft waargenomen. Het is zeer goed mogelijk, dat het lipiodol na de injectie nog van plaats is veranderd. Bij vergelijking van de beide Röntgenfoto's van muis 16 wordt dit nog waarschijnlijker, aangezien op de tweede Röntgenfoto ter hoogte van de rechter hartschaduwgrens drie diffuse puntvor-

mige uitsparingen waarneembaar zijn, waarvan er twee niet op de eerste foto voorkomen.

Het grootste aantal druppeltjes werd gevonden in de coupes van de linkerlong van muis 18. Dit hoeft geen verwondering te wekken, aangezien deze muis drie en een halve maand eerder gedood werd dan de muizen 15 en 16. Wèl was de hoeveelheid geïnjecteerde lipiodol ( $0,01 \text{ cm}^3$ ) bij muis 18 de helft van die bij de muizen 15 en 16.

De positieve vetkleuring in de longcoupes schrijf ik toe aan de aanwezigheid van papaverolie, die het vette bestanddeel vormt van het zware lipiodol. Deze meening steunt op de eigenschap van het lipiodol, een positieve vetkleuring te geven en op de overeenkomst in localisatie van de druppels in de coupes en de uitsparingen op de Röntgenfoto's. In hoeverre deze druppels nog bestaan uit onveranderde papaverolie is niet nagegaan. Met het oog hierop spreek ik dus van vetdruppels, die minstens zes en een halve maand na de injectie met  $0,02 \text{ cm}^3$  lipiodol in de longen van de muizen 15 en 16 voorkomen.

## B. HET EIGENLIJKE ONDERZOEK.

Voor de intratracheale inspuitingen werden acht vrouwelijke en zes mannelijke muizen van de albinostam „O20 Leeuwenhoekhuis” gebruikt, welke 66 tot 226 dagen oud waren. Als injectievloeistof diende een 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol. Hiervan werd ten hoogste  $0,03 \text{ cm}^3$  per keer ingespoten, daar de muis bij grotere hoeveelheid stikte.

Over de veertien proefmuizen werden de injecties als volgt verdeeld:

één muis (genummerd 1) kreeg met intervallen van 45 en 16 dagen drie injecties (in totaal  $0,5 \text{ mgr}$  methylcholanthreen),

zes muizen (genummerd 2 tot en met 7) kregen met een interval van 45 tot 51 dagen ieder twee injecties (in totaal  $0,2$  tot  $0,4 \text{ mgr}$  methylcholanthreen),

zeven muizen (genummerd 8 tot en met 14) kregen ieder één injectie ( $0,1$  tot  $0,3 \text{ mgr}$  methylcholanthreen).

Dadelijk na de injecties werden de muizen doorlicht of werden Röntgenfoto's van de longen gemaakt om te zien waar het lipiodol (met het methylcholanthreen) zich in de longen bevond. Vier tot zes en een halve maand na de laatste injectie werden van de meeste muizen opnieuw Röntgenfoto's gemaakt

om na te gaan of nog uitsparingen in de longvelden aanwezig waren.

De muizen werden 4½ tot 9½ maand na de eerste injectie door aethernarcose gedood. Gedurende het leven hebben deze muizen geen verschillen vertoond met de onbehandelde twintig contrôlemuizen. Bij de sectie werden in de longen van alle 14 proefmuizen één of meer longgezwollen waargenomen.

Na fixatie van de longen in een waterige formoloplossing van 10 % werden van de gezwollen, die zich aan het longoppervlak bevonden, het aantal, de localisatie en de grootste afmetingen bepaald.

Voor het microscopisch onderzoek werden de longen ingesloten in paraffine en in seriecoupes gesneden ter dikte van 7  $\mu$ . Ter hoogte van de longgezwollen werden nagenoeg alle coupes onderzocht. Naast de gebruikelijke haematoxyline-eosine-kleuringen werden, om de bouw van het gezwelstroma te bestudeeren, elasticakleuringen gedaan volgens Weigert<sup>54</sup> en collageenkleuringen volgens Heidenhain.<sup>55</sup>

#### BESCHRIJVING VAN DE INTRATRACHEALE INJECTIES MET DE 1 % OPLOSSING VAN METHYLCHOLANTHREEN IN LIPIODOL 40 %.

Muis 1 ♂ geb. 15-6-'38.

3-1-'39 Eerste injectie:

ingebracht 0,025 cm<sup>3</sup>. van een 1 % oplossing van methylcholanthreen in lipiodol. Tijdens de injectie wordt de muis gedurende korte tijd dyspnoisch. Bij het doorlichten geeft het gehele benedenveld van de linkerlong een schaduw.

18-2-'39 Tweede injectie:

ingebracht 0,015 cm<sup>3</sup>. van de oplossing. Tijdens de injectie wordt de muis gedurende korte tijd dyspnoisch.

4-3-'39 Derde injectie:

ingebracht 0,01 cm<sup>3</sup>. van de oplossing. Tijdens de injectie wordt de muis korte tijd dyspnoisch. Bij het doorlichten geven beide longtoppen een scherp begrensde schaduw.

21-10-'39 De muis wordt door aethernarcose gedood.

Bij de sectie worden alleen in de longen afwijkingen gevonden.

Macroscopische beschrijving van de longafwijkingen:

in de *dorsale zijde van de linkerlong* bevindt zich een afwijking in de geheele longtop, die zich langs de boven- en voorrand uitstrekt over een lengte van 3,5 mm. De basis heeft een lengte van 5,9 mm. De grootste breedte van de long bedraagt 5,5 mm en de lengte van de achterrand bedraagt 9,1 mm. De geheele afwijking is licht boven het longoppervlak verheven. Het apicale gedeelte heeft een gladde oppervlakte, het caudale ge-

deelte vertoont twee inzinkingen, waardoor dit in 3 kwabjes is verdeeld. De begrenzing van de afwijking is duidelijk zichtbaar en onregelmatig, de kleur is lichtrood. Er bestaat geen merkbaar verschil in consistentie met het normale longweefsel. Het geheel maakt niet de indruk van een gezwel; het microscopisch onderzoek zal ons over de aard van het proces kunnen inlichten.

*Mediastinale zijde van de linkerlong:*

in het bovengedeelte bevindt zich in de omgeving van de longhilus een afwijking, die duidelijk boven het longoppervlak verheven, ovaal, scherp begrensd, geel-grijs van kleur, glazig, en vast van consistentie is. De grootste afmeting van dit gezwel bedraagt 2,3 mm. (gezwel 1).

*Dorsale zijde van de rechterlong:*

in het bovengedeelte van de bovenkwab schemert ter hoogte van de intreeplaats van de hoofdbronchus een onregelmatig begrensd, grijs-geel gezwel (2) door, dat het longweefsel doet promineeren. De grootste afmeting bedraagt 1,8 mm.

*Mediastinale zijde van de rechterlong:*

in het bovengedeelte van de bovenkwab bevindt zich in de hilusstreek een niet scherp begrensd, grijs-geel, glazig gezwel (3), waarover takken van de A. pulmonalis gaan. Het gezwel promineert slechts weinig en correspondeert wat ligging betreft met het gezwel 2 aan de dorsale zijde. De grootste afmeting bedraagt ongeveer 1 mm.

*Microscopie:*

de afwijking aan de dorsale zijde van de linkerlong blijkt geen gezwel te zijn, maar bloedrijk longweefsel, met gezwollen alveolairwanden en peribronchiale en perivasculaire ophooping van eenkernige infiltraatcellen.

Gezwel 1 ligt op eenige afstand van de pleura mediastinalis en is opgebouwd uit ronde, ovale en onregelmatige holten van verschillende grootte. Deze holten worden bekleed door een meestal eenrijig, cilindrisch of kubisch trilhaarepitheel. Tusschen deze trilhaarepitheelcellen komen slijmbekercellen voor, die op sommige plaatsen in groepjes bijeen liggen (zie afb. 2). In de holten bevinden zich slijmdraden, polyedrische cellen met veelal kleine, ronde, donker gekleurde kernen, regressief veranderde cellen en langwerpige vormsels, omgeven door phagocyteerende cellen. Sommige polyedrische cellen zijn zeer groot en hebben een bleek protoplasma met schuimstructuur en een kleine, donker gekleurde kern. Om deze gewoekerde bronchi komen veel éenkernige infiltraatcellen voor. Het stroma wordt gevormd door elastisch en reticulair bindweefsel.

Bij het serieonderzoek blijkt, dat het primaire gezwel uitgaat van de hoofdbronchus van de linkerlong, en dat de nieuwgevormde bronchiale holten onderling samenhangen.

De alveolen tusschen de pleura mediastinalis en het gezwel zijn emphysemateus en grotendeels opgevuld met soortgelijke polyedrische cellen met schuimstructuur en kleine donkere kern (zie afb. 3). In het protoplasma van deze cellen komen kleine, zwartbruine partikels voor, die zoo'n cel nagenoeg geheel kunnen opvullen. Vandaar dat macroscopisch dit gebied een grijze kleur had. Bovendien komen in vele cellen langwerpige en onregelmatige vormsels voor van wisselende grootte.

Op eenige afstand van het gezwel wordt de binnenwand van de alveolen

over verschillende lengte bekleed met kubisch tot cilindrisch epitheel, dat veelal voorzien is van trilharen (zie afb. 4). Deze epitheliale groei hebben we opgevat als metastase van het bronchogene gezwel. Op sommige plaatsen is het epitheel meerlagig; dan vult het een alveolus geheel of gedeeltelijk op.

Een tweede gezwel (1a), dat macroscopisch niet kon worden waargenomen, grenst aan gezwel 1 en ligt op een afstand van 8 alveolen van de pleura mediastinalis. De doorsnede neemt een derde van de breedte van de linkerlong in beslag. Ofschoon het gezwel geen kapsel heeft, is er wel een duidelijk verschil met het longweefsel. De bouw is overwegend papillomateus, met meer dan één ontwikkelingsstadium in een zelfde doorsnede. Het oudere (mediale) gedeelte heeft een betrekkelijk breed, vertakt stroma, dat hoofdzakelijk bestaat uit reticulair vezels en waarin weinig of geen elastische vezels zijn te vinden. De aanwezige elastische vezels in dit gedeelte van het gezwel zijn dunner en aanzienlijk minder talrijk dan die in het longweefsel. Een vrijwel overal éénlagig, kubisch tot cilindrisch epitheel bekleedt dit stroma, waarvan ook fijne takjes zich tusschen de genoemde cellen voortzetten. Het vrije celoppervlak bekleedt in verschillende richtingen vertakte, betrekkelijk breede, spleetvormige ruimten, waarin polyedrische cellen voorkomen, die soms regressief veranderd zijn. De gezwelcellen hebben een blazige kern, die ongeveer twee maal zoo groot is als die van het overige, uitgesproken jongere gezwelgedeelte. De kernen zijn voor het meerendeel rond of ovaal; haematoxyline kleurt de membraan donkerpaars, het chromatine overwegend lichtpaars. De meeste kernen zijn omgeven door een lichte hof en liggen in een fijn gevacuoliseerd protoplasma. Bij vetkleuring blijkt, dat een groot deel van deze vacuolen oorspronkelijk vetdruppeltjes zijn. In een enkele cel komt een groote vacuole voor.

Geleidelijk gaan deze vertakte papillen over in papillaire strengen, die we als een jonger ontwikkelingsstadium van het gezwel beschouwen. Deze papillaire strengen zijn opgebouwd uit een smal en vertakt stroma, dat beiderzijds bekleed wordt door voor het meerendeel polyedrische cellen, die bijna overal in één enkele laag gerangschikt zijn. Het stroma, waarin capillairen voorkomen, word gevormd door elastische en reticulair vezels. De elastische vezels zijn echter veel talrijker en dikker dan in de genoemde vertakte papillen en onderscheiden zich ook nog op vele plaatsen in aantal en dikte van die van het longweefsel. Hoewel minder uitgesproken, is dit toch ook het geval voor de reticulair vezels. Ook hier gaan fijne takjes van het centrale stroma een eindweegs voort tusschen de bekleedende polyedrische cellen. Deze polyedrische cellen doen denken aan gezwollen alveolairepitheelcellen. Ze hebben een kleine, ronde, donkere kern, omgeven door een lichte hof en een fijn gevacuoliseerd protoplasma. Daarnaast komen overgangen voor van polyedrische cellen tot de genoemde kubische tot cilindrische cellen. De spleetvormige ruimten, die de papillaire strengen ook hier begrenzen, zijn smaller dan de ruimten, die de vertakte papillen begrenzen.

Overal komen in de spleetvormige ruimten polyedrische cellen voor, veelal regressief veranderd en wisselend van grootte, bleeker dan normaal en rijk aan vacuolen. De kernen kunnen eveneens een zeer bleek aspect hebben, of geheel ontbreken. Daarnaast komen te gronde gegane cellen voor.

Naast de overwegend papillomateuze bouw van het gezwel, is een klein lateraal randgebied adenomateus van bouw. Nagenoeg ronde holten, die kleiner zijn dan de longalveolen, worden bekleed door kubische epitheelcellen van verschillende hoogte. Het aspect van deze kubische cellen komt overeen met dat van de cellen, die de vertakte papillen bekleeden. In deze holten komen weer de polyedrische cellen voor.

Kerndeelingsfiguren worden niet gezien, wel ziet men soms meer dan één kern in een gezwelcel.

De groei is gedeeltelijk expansief en gedeeltelijk infiltratief. De infiltratie van het oudere gedeelte vindt plaats door groei langs de alveolairwanden, terwijl van de jongere gedeelten korte strengen van polyedrische cellen de plaats innemen van de alveolairwand. Het blijkt verder, dat het gezwelstroma zonder onderbreking overgaat in het interalveolaire stroma. Op een enkele plaats komt aan de periferie van het gezwel een ophooping van eenkernige infiltraatcellen voor.

Bij het serieonderzoek kan nergens worden waargenomen dat het gezwel uitgaat van een bronchus, of een bronchuswand heeft gedestruëerd. Wel ziet men op verschillende plaatsen een ingroeien in de ductuli alveolares.

*Een derde gezwelletje (1c) ligt in 't midden van de linkerlong en neemt een vierde van de breedte daarvan in beslag. De bouw is gelijkmatig en bestaat uit papillaire strengen, die smalle spleetvormige ruimten begrenzen, die overeenkomen met het jonge gedeelte van gezwel 1b. Er zijn geen aanknoopingspunten om dit gezwel op te vatten als metastase van het voorgaande gezwel.*

Gezwel 2 en 3 blijken op doorsnede één geheel te vormen. Op een lateraal randgebied na komt de bouw overeen met die van gezwel 1c. Dit gebied heeft een papillair-adenocysteuze bouw en gaat geleidelijk over in het overige gedeelte van het gezwel. Het papillair adenocystoom heeft een relatief breed, al of niet vertakt stroma, dat op sommige plaatsen zeer arm is aan elastische vezels. Kubische tot cilindrische cellen bekleeden op enkele uitzonderingen na in één laag dit stroma, waarin capillairen zijn gelegen. De cellen hebben weinig protoplasma, dat bleek en gevacuoliseerd is. De kernen zijn ongeveer twee maal zoo groot als die van de polyedrische gezwelcellen en vele zijn onregelmatig en hoekig van vorm. Haematoxyline kleurt de chromatinesubstantie bij de meesten bleek paars, terwijl de kernmembraan overal donkerpaars gekleurd wordt. Daarnaast komen kernen voor die donker kleurbaar zijn. Het vrije celoppervlak bekleedt holten van verschillende vorm, die grooter zijn dan de longalveolen. In deze holten steken op sommige plaatsen papillen uit. In de holten bevinden zich een door eosine rose gekleurde, gekorrelde massa en sporadisch een polyedrische, regressief veranderde cel. De pleura is in een dunne laag over het gezwel uitgespannen en door gezwelcellen geïnfiltréerd. Bij het serieonderzoek blijkt, dat het papillair-adenocysteuze gedeelte als papilloom uitgaat van de wand van een groote bronchus, en eenerzijds uitpuilt in het lumen, anderzijds door de wand groeit in het omgevende longweefsel. Ook bij dit gedeelte van het bronchogene gezwel gaat het stroma over in het interalveolaire weefsel. Metastasen en kerndeelingsfiguren zijn er niet.

Muis 2 ♀ geb. 15-8-'38.

18-1-'39 Eerste injectie:

ingebracht 0,03 cm<sup>3</sup>. van een 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol. Bij het doorlichten blijkt het bovenveld van de linkerlong een scherp begrensde schaduw te geven.

4-3-'39 Tweede injectie:

ingebracht 0,01 cm<sup>3</sup>. van de oplossing.

18-7-'39 Röntgenfoto: het bovenveld van de linkerlong is gesluierd, terwijl zich in het gesluierde gebied een puntvormige schaduw bevindt.

22-10-'39 De muis wordt door aethernarcose gedood. Bij de sectie worden alleen in de longen afwijkingen gevonden.

*Dorsale zijde van de linkerlong:*

in het bovengedeelte bevindt zich een knobbelig, onregelmatig, glazig complex van 4 gezwelletjes (4 tot en met 7) met een uitbreiding van 3 mm langs de bovenrand en van 2,8 mm langs de achterrand (totale lengte van de achterrand 13 mm en grootste breedte van de long 5,8 mm). De begrenzing is niet overal scherp. Op sommige plaatsen gaat het complex diffuus in het longweefsel over. De grijs-gele gezwelletjes zijn hier en daar wat grafietachtig van kleur, evenals het omgevende longweefsel.

In het middengedeelte bevindt zich 1 mm van de voorrand een rond, glazig gezwelletje (8), met een doorsnede van 1 mm.

*Mediastinale zijde van de linkerlong:*

in het bovengedeelte bevindt zich een lichtgrijze plek, waarin 2 ronde gezwelletjes (9 en 10) liggen, die zeer weinig promineeren en een doorsnede hebben van 0,5 mm.

In de hilusstreek liggen om de intreeplaats van de hoofdbronchus drie onregelmatige, glazige en grafietachtig gekleurde gezwelletjes (11 tot en met 13), waarvan het grootste een doorsnede van 1 mm heeft. Een tak van de A. pulmonalis gaat over het meest craniaal gelegen gezwelletje.

*Mediale onderkwab:*

de algemeene vorm van deze longkwab, is die van een pyramide. Aan de top treden bronchus en arterie in het longweefsel binnen. Op deze plaats ligt in het longweefsel een onregelmatig gezwelletje (15), waarvan de grootste afmeting 0,5 mm bedraagt.

*Dorsale zijde van de rechterlong:*

in de laterale onderkwab ligt, 1 mm van de voorrand en 2,6 mm van de achterrand verwijderd, een grijs, glazig, rond en vlak gezwelletje (14) met een doorsnede van 1 mm.

*Mediastinale zijde van de rechterlong:*

ongeveer in het midden van de bovenkwab ligt een rond, glazig en grijs gezwelletje (16) met een doorsnede van 0,5 mm.

*Microscopie:*

de *gezwellen 4 tot en met 6* aan de dorsale zijde en *9 en 10* aan de mediastinale zijde blijken op doorsnede één geheel te vormen en nemen de geheele breedte van de long in. Dit gezwel heeft een bouw, die veel overeenkomst heeft met die van gezwel 1, en bestaat uit gewoekerde bronchi, die onderling samenhangen en uitgaan van een groote bronchus. Het epitheel heeft veelal trilharen en onderscheidt zich van dat van gezwel 1 doordat het aanmerkelijk lager is en de kernen over het geheel veel onre-

gelmatiger zijn en donkerder paars worden gekleurd door haematoxyline. Slijmbekercellen zijn minder talrijk. Kerndeelingsfiguren of meer dan één kern in één cel worden niet gezien. De inhoud van de bronchiale holten en van de omgevende emphysemateuze alveolen bestaat ook hier uit slijmdraden, polyedrische cellen (al of niet regressief veranderd), groote polyedrische cellen met schuimstructuur en de beschreven vormsels. Vele kleine vormsels komen voor in phagocyteerende polyedrische cellen, die zich in de nieuw gevormde bronchi bevinden.

Het stroma is opgebouwd uit elastische en reticulaire vezels, die talrijker en dikker zijn dan in het normale longweefsel. Verder komen er capillairen en enkele eenkernige infiltraatcellen in voor. De pleura die het gezwel bedekt, is plaatselijk verdikt door elastische en reticulaire vezels en eenkernige infiltraatcellen. Nergens is het gezwel in de pleura doorgroeid. In het omringende longweefsel gaat het stroma over in dat van het interalveolaire weefsel, en uitloopers van het gezwel nemen de plaats in van de alveolairwanden.

De grafietachtige kleur in en rondom het gezwel wordt verklaard door de aanwezigheid van talrijke phagocyteerende, polyedrische cellen, die beladen zijn met zwartbruin pigment.

Een tweede, overeenkomstig gebouwd, bronchogeen gezwel bevindt zich eveneens in de linkerlong, een eindweeg onder de pleura, en blijkt ook uit te gaan van een groote bronchus.

De overige gezwellen in linker- en rechterlong hebben een overwegend papillomateuze of overwegend adenomateuze bouw. Er rondom, en ook in het stroma van een enkel gezwel, komen ophooping van eenkernige infiltraatcellen voor. Bij het serieonderzoek blijkt nergens, dat deze gezwellen uitgaan van een bronchus. Wel komen bij elk gezwel plekken voor waar het gezwel ingroeit in ductuli alveolares. Behalve de gezwellen, die aan de oppervlakte van de linkerlong voorkomen, worden nog enkele gezwellen in het midden van de linkerlong waargenomen.

Muis 3 ♀ geb. 6-8-'38.

18-1-'39 Eerste injectie:

ingebracht 0,025 cm<sup>3</sup>. van een 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol. Bij het doorlichten geeft het bovenveld van de linkerlong een scherp omschreven schaduw.

4-3-'39 Tweede injectie:

ingebracht 0,01 cm<sup>3</sup>. van de oplossing. Bij het doorlichten geeft het bovenveld van de linkerlong meerdere puntvormige schaduwen. In de top van de rechterlong bevindt zich slechts één puntvormige schaduw.

18-7-'39 Röntgenfoto: in de linkerlongtop zijn (ruim 4 maanden na de laatste injectie!) nog duidelijk 3 puntvormige uitsparingen aanwezig, terwijl een 4de dergelijke uitsparing in de hilusstreek is gelegen.

22-10-'39 De muis wordt door aethernarcose gedood.

Bij de sectie worden in de longen gezwellen waargenomen.

#### *Dorsale zijde van de linkerlong:*

in het bovengedeelte bevindt zich een knobbelig, glazig complex van 9 gezwelletjes (17 tot en met 25) met een uitbreiding van 3 mm langs de bovenrand en van 4,5 mm langs de achterrand. De basis loopt in het midden uit in een minder sterk promineerend, glad slipje, waarvan de breedte



1,7 mm en de lengte 2 mm bedraagt. De begrenzing is scherp en de vorm van elk van de gezwelletjes is onregelmatig. De kleur is grijs-geel, maar naar de bovenrand toe is het omgevende longweefsel grafiëchtig gekleurd en heeft zich die kleur ook gedeeltelijk tusschen en in de gezwelletjes uitgebreid.

Zoowel in boven- als onderrand komt een plat, ovaal, grijs, glazig gezwelletje voor, waarvan de grootste afmeting 1,4 mm bedraagt (26 en 27).

*Mediastinale zijde van de linkerlong:*

in het bovengedeelte bevinden zich 3 ovale gezwelletjes (28 tot en met 30) naast elkaar, die zich langs de bovenrand uitbreiden over een lengte van 3,1 mm. In de hilusstreek liggen om de intreeplaats van de hoofdbronchus nog 4 nagenoeg ronde gezwelletjes (31 tot en met 34) met een totale uitbreiding langs de achterrand van 2,6 mm. In de onderrand komt gezwel 27 ook aan de mediastinale zijde te voorschijn.

Men krijgt de indruk, dat de gezwelletjes van de dorsale zijde die in het bovenveld liggen (17 tot en met 26) samenhangen met de gezwelletjes aan de mediastinale zijde, die in top en hilusstreek liggen (28 tot en met 34).

*Mediastinale zijde van de rechterlong:*

in de bovenkwab ligt aan de hilus een rond, glazig, promineerend gezwelletje (35) met een diameter van 0,8 mm.

*Microscopie:*

in het bovengedeelte van de linkerlong bevinden zich vijf bronchogene gezwellen. Twee ervan zijn betrekkelijk groot en nemen de geheele breedte van de long in (gezwel 20 en 25). Beide gezwellen komen als drie knobbeltjes (28, 29 en 31) aan de mediastinale zijde aan de oppervlakte. Een derde gezwel (33) komt alleen aan de mediastinale zijde aan de oppervlakte en neemt één vierde van de breedte van de long in. De overige twee gezwelletjes zijn aanmerkelijk kleiner en liggen verspreid in het longweefsel.

De bouw van deze vijf gezwellen komt het meeste overeen met die van de bronchogene gezwellen van muis 2. In de nieuwgevormde bronchi komen de beschreven vormsels voor, die verschillend van vorm en grootte zijn. De meeste zijn langwerpige van vorm, sommige sikkelformig of scholvormig. Zij worden omgeven door met zwartbruin pigment beladen polyedrische cellen. Enkele van deze cellen zijn zeer groot en bleek. Het protoplasma heeft een schuimstructuur, en erin liggen kleine vormsels.

Bij deze vijf gezwellen zijn er in vier gevallen metastasen langs de luchtweg. Het gemetastaseerde kubische tot cilindrische epitheel is op verschillende plaatsen voorzien van trilharen. In twee gevallen is te zien dat het epitheel van een groote bronchus overgaat in het gezwel.

Alle overige gezwellen, uitgezonderd gezwel 19, hebben een papilloma-teuze bouw met een verschillend stadium van ontwikkeling. Kerndeelingsfiguren komen zeer sporadisch voor. De bedekkende pleura is niet of slechts zeer weinig verdikt. In één geval, en wel bij gezwel 25a, ziet men dat dit kleine papilloom uitgaat van de wand van een groote bronchus, gedeeltelijk in het lumen uitpuilt en infiltratief groeit, door de bronchuswand, in het omgevende longweefsel. Het aspect van dit gezwel onderscheidt zich niet van dat van die gezwellen waarbij geen bronchogene oorsprong gevonden wordt.

Gezwel 19 neemt de geheele breedte van de long in en heeft een overwe-

gend papillomateuze bouw. Het laterale randgebied echter heeft een adenomateuze bouw, met veel éénkernige infiltraatcellen. In dit gezwel valt het meest op de plaatselijke hyperaemie van het stroma en de verdikte mediastinale pleura. Op de meeste plaatsen is het stroma rijker aan elastische en reticulair vezels dan in het normale longweefsel. Ook blijken beide vezelsoorten van de capillairwanden over te gaan in het gezwelstroma. De mediastinale pleura is voornamelijk verdikt door éénkernige infiltraatcellen en capillairen. Elastische en reticulair vezels gaan van de pleura over in het stroma van de papillaire strengen.

Degeneratie komt hier en daar in het gezwel voor. In deze gebieden zijn de celgrenzen vaag, het protoplasma is zeer bleek en rijk aan vacuolen van verschillende grootte. Het aantal kernen is aanzienlijk kleiner dan in 't overige gedeelte van het gezwel. De nog aanwezige kernen zijn groot, blazig en bleek, met een nog meer of minder duidelijke membraan. In dit gedegeneerde gebied bestaat het stroma uit aanzienlijk meer en dikkere reticulair vezels dan in het overige gedeelte. De elastische vezels zijn minder in aantal en ontbreken op sommige plaatsen geheel.

Muis 4 ♀ geb. 6-8-'38.

18-1-'39 Eerste injectie:

ingebracht 0,025 cm<sup>3</sup>. van een 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol. Bij het doorlichten geeft het middenveld van de linkerlong een schaduw.

4-3-'39 Tweede injectie:

ingebracht 0,01 cm<sup>3</sup>. van de oplossing. Bij het doorlichten geeft het gehele bovenveld van de linkerlong een zware schaduw.

18-7-'39 Röntgenfoto: in het bovenveld van de linkerlong is (ook hier ruim 4 maanden na de laatste injectie!) nog een circumscripate uitsparing aanwezig met vijf uitbochtigen, en bevindt zich in de hilusstreek van de rechterlong nog een puntvormige uitsparing.

22-10-'39 De muis wordt door aethernarcose gedood.

Bij de sectie worden alleen in de longen afwijkingen gevonden.

*Dorsale zijde van de linkerlong* (zie afb. 5):

in het bovengedeelte bevindt zich een knobbelig, glazig complex van 6 gezwelletjes (36 tot en met 41) met een uitbreiding van 6,5 mm langs de achterrand en van 4 mm langs de bovenrand. (De totale lengte van de achterrand is 11 mm). De begrenzing is scherp, de vorm van elk van de gezwelletjes is onregelmatig. De kleur is grijs-geel, maar naar de voorrand toe is het omgevende longweefsel grafietachtig verkleurd en daar heeft zich die kleur ook gedeeltelijk tusschen en in de gezwelletjes uitgebreid. Te midden van de grafietachtige verkleuring bevindt zich aan de voorrand een grijs, vlak, glazig gezwelletje (42) ter grootte van een speldeknoop. In het middengedeelte schemert langs de achterrand een gezwel (43) door.

*Mediastinale zijde van de linkerlong* (zie afb. 6):

in het bovengedeelte bevindt zich een complex van 9 gezwelletjes, met dezelfde kenmerken als de gezwelletjes aan de dorsale zijde. Alleen is in sommige gezwelletjes duidelijker een ronde of ovale vorm te herkennen en promineeren ze alle sterker. Het complex heeft zich langs de bovenrand uitgebreid over een lengte van 4 mm en langs de achterrand over een lengte van 5 mm. Vijf van deze gezwelletjes (44 tot en met 48) zijn in de longtop gelegen en vier (49 tot en met 52) rondom de longhilus.

Men krijgt de indruk, dat deze gezwelletjes samenhangen met het gezwelcomplex aan de dorsale zijde.

*Dorsale zijde van de rechterlong:*

in de incisura van de onderkwab ligt een ovaal, grijs-geel, glazig gezwel (53) waarvan de grootste afmeting 1,2 mm bedraagt. Op de overgang van voor- en onderrand bevindt zich een dergelijk gezwelletje, maar nu vlak, waarvan de grootste afmeting 1,5 mm bedraagt (54).

*Mediastinale zijde van de rechterlong:*

in de bovenkwab ligt in de hilusstreek een scherp begrensd, ovaal, glazig gezwelletje (55) waarover twee takken van de A. pulmonalis gaan en dat doorschemert aan de dorsale zijde van de bovenkwab. De grootste afmeting bedraagt 2 mm.

*Microscopie:*

De gezwollen 37, 39, 50 en één gezwel, dat midden in de linkerlong ligt, bestaan uit gewoekerde bronchi. Bij serieonderzoek blijken alle vier de gezwollen uit te gaan van een normale groote bronchus. Het epitheel is veelal voorzien van trilharen en ook slijmbekercellen komen voor. Metastasen worden uitsluitend gezien langs de luchtweg, en wel bij de twee grootste gezwollen, die de helft van de breedte van de long innemen. De bouw van deze gezwollen komt eensdeels overeen met die van gezwel 1, anderdeels met die van de bronchogene gezwollen van muis 2. Opvallend is ook hier weer het groote aantal vormsels en de rijkdom aan polyedrische cellen die in de bronchi en de omgevende alveolen voorkomen. De grootte van de polyedrische cellen variëert van die van gezwollen alveolairepitheelcellen tot de groote, bleeke, polyedrische cellen met schuimstructuur. Vele van deze cellen hebben vormsels gefagocyteerd, andere zijn beladen met zwartbruin pigment. De aanwezigheid van het zwartbruine pigment verklaart de grafietachtige kleur in en rondom deze gezwollen. Vele polyedrische cellen hebben twee kernen, daarnaast komen reuzencellen voor met talrijke kernen.

Alle overige gezwollen hebben een papillomateuze bouw met veelal meer dan één ontwikkelingsstadium in een zelfde doorsnede. In sommige gezwollen komen bovendien gedeelten voor, die een adenomateuze en papillair-adenomateuze bouw vertoonen. De pleura, die de gezwollen bedekt, is niet of slechts weinig verdikt. In het bovengedeelte van de linkerlong, waar de gezwollen in grooten getale voorkomen, zijn de omringende alveolen volgepropt met polyedrische cellen. Vele hiervan zijn beladen met zwartbruin pigment. Vaak worden in de polyedrische cellen twee of meer kernen waargenomen. Kerndeelingsfiguren worden echter niet gezien. Metastasen ontbreken.

Gezwel 54 neemt nagenoeg de geheele breedte van de long in en heeft deels een papillair-adenocysteuze, deels een papillomateuze bouw. De cysteuzen holten, die door kubische tot cilindrische gezwelcellen bekleed worden, zijn gevuld met een door eosine lichtrood gekleurde, gekorrelde massa. Op verschillende doorsneden bevindt zich een gedeelte van het papilloom in een groote bronchus. Men krijgt de indruk, dat het gezwel door de bronchuswand gegroeid is. In opeenvolgende seriecoupes blijkt echter, dat een gedeelte van het papilloom vanuit het longweefsel door ductuli alveolares voortgegroeid is in bronchioli respiratorii en vandaar

uitsteekt in de groote bronchus. In het gedeelte van het papilloom, dat in de groote bronchus ligt, komt necrose voor, op sommige plaatsen beperkt tot het stroma. In enkele gezwelcellen ziet men voorts een aanzienlijke verzetting.

Het gezwel heeft het omringende longweefsel samengedrukt; daarnaast breiden kubische tot cilindrische cellen van de papillen zich langs de alveolairwanden uit, waarbij het gezwelstroma zonder onderbreking overgaat in het interalveolaire bindweefsel.

Muis 5 ♀ geb. 3-9-'38.

20-1-'39 Eerste injectie:

ingebracht 0,02 cm<sup>3</sup>. van een 1% oplossing van methylcholanthreen in lipodol. Bij het doorlichten blijkt zich in het bovenveld van de linkerlong een scherp begrensde schaduw te bevinden.

11-3-'38 Tweede injectie:

ingebracht 0,01 cm<sup>3</sup>. van de oplossing.

21-10-'39 De muis wordt door aethernarcose gedood.

Bij de sectie worden uitsluitend in de longen afwijkingen gevonden.

*Dorsale zijde van de linkerlong:*

in het bovengedeelte bevindt zich een grijs-gele plek, die zich 4,3 mm langs de bovenrand en 2,8 mm langs de achterrand uitstrekt en die een breedte heeft van 1,5 mm. (Totale lengte van de achterrand: 10,9 mm). In deze plek liggen vier vlakke, glazige, nagenoeg ronde gezwellen (56 tot en met 59). Het meest mediaal gelegen gezwel heeft, met het omgevende longweefsel, een grafiëachtige kleur.

In het benedenveld ligt een rond gezwel (60) met een doorsnede van 0,5 mm, 1,5 mm verwijderd van het caudale einde van de achterrand.

*Mediastinale zijde van de linkerlong:*

in het bovengedeelte bevinden zich langs de achterrand twee nagenoeg ronde, vlakke, glazige gezwellen naast elkaar (61 en 62). De grootste afmeting van dit complex bedraagt 1,5 mm.

In de hilusstreek liggen om de intreeplaats van de hoofdbronchus twee ronde, glazige en grafiëachtig gekleurde gezwellen met een doorsnede van 0,5 mm (63 en 64). De A. pulmonalis vertakt zich juist voor het meest cranial gelegen gezwel; één tak loopt eroverheen, een tweede gaat er benedenlangs.

Ongeveer in het centrum van het middengedeelte schemert een grijs-geel gezwel door (65), ter grootte van een speldeknop.

In de benedengrens van het middengedeelte ligt een ovaal, glazig, sterk promineerend gezwel (66), 6,4 mm van het begin van de achterrand verwijderd. De grootste afmeting bedraagt 2,4 mm.

*Dorsale zijde van de rechterlong:*

in het craniale gedeelte van de bovenkwab schemeren twee gezwellen (67 en 68), onder elkaar gelegen, door het longweefsel heen. Het zijn witachtig-gele gezwellen, waarvan het craniale een ronde en het caudale een onregelmatige vorm heeft. De grootste uitbreiding ligt in de achterrand en bedraagt voor beide samen 3,4 mm.

In het caudale gedeelte van de bovenkwab ligt een vlak, grijs, rond gezwel (69) met een doorsnede van 0,8 mm, 1 mm verwijderd van de onderrand. In de onderkwab bevinden zich in de omgeving van de achter-

rand vijf ronde of ovale, sterk promineerende glazige, geel-grijze gezwellen (70 tot en met 74). De grootste afmetingen bedragen achtereenvolgens 1,5, 1,5, 1,8, 0,5 en 1,4 mm. In de onderrand liggen twee vlakke gezwelletjes naast elkaar met een totale grootste afmeting van 1 mm (75 en 76).

*Mediastinale zijde van de rechterlong:*

in de bovenkwab ligt, in de hilusstreek rondom de intreeplaats van de hoofdbronchus, een complex van drie gezwellen (77 tot en met 79), waarvan de grootste afmeting 4,3 mm bedraagt.

*Microscopie:*

gezwel 63 breidt zich uit van de pleura mediastinalis tot aan de hoofdbronchus van de linkerlong en bestaat uit gewoekerde bronchi, die onderling samenhangen. Het gezwel gaat uit van een groote bronchus en heeft eenzelfde bouw als gezwel 1; de groote, bleeke, polyedrische cellen met schuimstructuur ontbreken echter en de slijmbekercellen en de vormsels zijn minder talrijk. In het stroma bevinden zich weer veel eenkernige infiltraatcellen. Ook zijn er metastasen, in de vorm van cilindrisch tot kubisch trilhaarepithel, dat de alveolairwanden over korte afstand bekleedt.

Alle overige gezwellen hebben een overwegend papillomateuze bouw, zooals die reeds meermalen is beschreven. Nergens kan worden waargenomen dat één van deze gezwellen uitgaat van een bronchus.

Muis 6 ♂ geb. 7-10-'39.

19-1-'39 Eerste injectie:

ingebracht 0,015 cm<sup>3</sup>. van een 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol. Bij het doorlichten geeft het bovenveld van de linkerlong een sluiering, met daarin een scherp omschreven schaduw.

4-3-'39 Tweede injectie:

ingebracht 0,01 cm<sup>3</sup>. van de oplossing. Bij het doorlichten geeft het bovenveld van de linkerlong een scherp omschreven schaduw.

4-8-'39 Röntgenfoto: in het bovenveld van de linkerlong zijn nog twee puntvormige uitsparingen aanwezig, die zich projecteeren op de borstkas aan de ventrale zijde ter hoogte van de tweede rib liggen (zie afb. 7).

5-8-'39 De muis wordt door aethernarcose gedood.

Bij de sectie worden uitsluitend in de longen afwijkingen gevonden.

*Dorsale zijde van de linkerlong:*

in het bovengedeelte bevinden zich vlak naast elkaar twee ronde, glazige, grijze gezwellen (80 en 81) op 2 mm afstand van de bovenrand en op 1,5 mm afstand van de achterrand. De gezwellen worden omgeven door een 2 mm breede, grafietachtig gekleurde zône en hebben een gezamenlijke doorsnede van 2 mm. De gezwellen liggen in dat gebied van de long, dat op de Röntgenfoto ter plaatse van de uitsparing werd geprojecteerd. In het middengedeelte schemeren vier grijs-gele gezwellen (82 tot en met 85) door, die onregelmatig van vorm zijn. Hun grootste afmeting wisselt van 1 tot 1,5 mm. Het longweefsel in boven- en middengedeelte is gezwollen en bleekrood van kleur en gaat met een scherpe gegolfde lijn over in het roode normale weefsel van het middengedeelte.

*Mediastinale zijde van de linkerlong:*

in de hilusstreek liggen om de intreeplaats van de hoofdbronchus drie

ovale, sterk prominereende, glazige gezwellen (86 tot en met 88). De grootste afmeting bedraagt 1 mm.

In het middengedeelte schemeren drie onregelmatig begrensde gezwellen door het longweefsel heen (89, 90 en 91). Zij zijn gerangschikt langs een tak van de A. pulmonalis. De grootste afmeting bedraagt 0,5 mm.

*Dorsale zijde van de rechterlong:*

in het craniale gedeelte van de bovenkwab bevindt zich een rond, glazig gezwel (92) met een doorsnede van 1 mm.

*Microscopie:*

een gezwel 80a, dat niet beschreven werd, bevindt zich ter hoogte van de bifurcatie en gaat uit van de linkerhoofdbronchus. Het gezwel is opgebouwd uit gewoekerde bronchi, die onderling samenhangen en op meer dan één plaats uitgaan van de genoemde hoofdbronchus. De holten worden bekleed door kubisch en cilindrisch epitheel van verschillende hoogte, voorzien van trilharen. In een enkele doorsnede komen daarnaast slijmbekercellen voor. In de holten liggen weer de beschreven vormsels in grooten getale, omgeven door polyedrische cellen. De polyedrische cellen zijn veelal beladen met zwartbruin pigment. De groote, bleke polyedrische cellen met schuimstructuur ontbreken. De bouw van dit gezwel komt eensdeels overeen met die van gezwel 1, anderdeels met die van de bronchogene woekeringen bij muis 2.

Op een afstand van vijf alveolen van de pleura mediastinalis ligt, ter hoogte van gezwel 87, een tweede gezwel (87a), dat evenals bovengenoemd gezwel, bestaat uit gewoekerde bronchi. Ook dit gezwelletje gaat uit van een groote bronchus.

Alle overige gezwellen hebben een overwegend papillomateuze bouw, overeenkomstig voorafgaande beschrijvingen. Nergens kan worden waargenomen, dat deze gezwellen uitgaan van een bronchus. Metastasen ontbreken eveneens. In het bovengedeelte van de linkerlong zijn ter hoogte van gezwel 80 en 81 de bronchi volgepropt met polyedrische cellen, waarvan de meesten beladen zijn met zwartbruin pigment en de beschreven vormsels omgeven. Enkele polyedrische gezwelcellen en sommige polyedrische cellen, die in de spleetvormige ruimten voorkomen, zijn eveneens met zwartbruin pigment beladen.

Muis 7 ♂ geb. 19-9-'38.

19-1-'39 Eerste injectie.

ingebracht 0,01 cm<sup>3</sup>. van een 1% oplossing van methylcholantheen in lipiodol. Bij het doorlichten blijkt zich in het bovenveld van linker- en rechterlong een sluiering te bevinden.

4-3-'39 Tweede injectie:

ingebracht 0,01 cm<sup>3</sup>. van de oplossing. Bij het doorlichten geven de bovenvelden van linker- en rechterlong een lichte schaduw.

21-10-'39 De muis wordt door aethernarcose gedood.

Bij de sectie worden uitsluitend in de longen afwijkingen gevonden.

*Dorsale zijde van de linkerlong:*

in het bovengedeelte bevindt zich een knobbelig, glazig complex van vier vrijwel ronde gezwellen (93 tot en met 96), met een uitbreiding van 2,3 mm langs de boven- en achterrand. (De totale lengte van de achterrand is 11 mm, de grootste breedte van de longkwab 6,4 mm). Een gedeelte van

dit complex ligt in een wigvormig gebied, waar het longweefsel grafietkleurig is. De basis van dit gebied loopt langs de bovenrand en heeft een lengte van 3,5 mm. Naar de voorrand gaat deze grafietkleurige plek diffuus over in een bleekrood gekleurd longweefsel.

In het middengedeelte ligt een sterk promineerend, bijna ovaal, glazig, grijs-geel gezwel (97) op 2,1 mm afstand van de achterrand. De grootste afmeting daarvan bedraagt 2,3 mm.

*Mediastinale zijde van de linkerlong:*

in het bovengedeelte bevindt zich een verzameling van zeven ronde en ovale gezwellen (98 tot en met 104), die sterk promineeren en die zich uitbreiden langs de boven- en achterrand als aan de dorsale zijde. Ook hier ligt een gedeelte van de gezwellen temidden van grafietachtig gekleurd longweefsel. De gemiddelde doorsnede van deze gezwellen bedraagt 1 mm.

Men krijgt de indruk dat deze gezwellen een voortzetting zijn van het gezwelcomplex dat zich in het bovenveld aan de dorsale zijde bevindt.

*Dorsale zijde van de rechterlong:*

in de top van de bovenkwab ligt een rond, glazig, grijs, promineerend gezwel (105), met een doorsnede van 1 mm.

In het middengedeelte ligt een gelobd gezwel (106), op een afstand van 3 mm van de achterrand. Het is scherp begrensd, glazig en grijs-wit en promineert sterk.

In het caudale gedeelte van de bovenkwab schemeren twee gezwellen (107 en 108), die vlak onder elkaar liggen, door het longweefsel heen. Het omringende longweefsel heeft een grafietachtig gekleurde zone. De grootste afmeting van beide gezwellen bedraagt 2 mm; ze zijn grijs-geel van kleur en liggen op 1 mm afstand van achter- en onderrand.

In de middenkwab ligt een rond, grijs-geel gezwel (109), met een doorsnede van 1,5 mm. (Bij de microscopische beschrijving zal blijken dat dit gezwel (95) hetzelfde is als (92), hetgeen bij macroscopische beschouwing reeds werd vermoed).

*Mediastinale zijde van de rechterlong:*

in de bovenkwab schemeren de gezwellen 106 tot en met 108 door.

*Microscopie:*

de gezwellen 95 en 102 zijn opgebouwd uit gewoekerde bronchi, die onderling samenhangen en uitgaan van een groote bronchus. Het aspect komt eensdeels overeen met dat van gezwel 1, anderdeels met dat van de bronchogene gezwellen van muis 2. De nieuwgevormde bronchiale holten zijn op meerdere plaatsen zeer onregelmatig van vorm en grooter dan de holte van de longalveolen. Het bekleedende epitheel is laag kubisch en veelal voorzien van trilharen. De meeste kernen zijn smal, ovaal en kleuren zich donkerpaars met haematoxyline. De holten worden nagenoeg geheel gevuld door met zwartbruin pigment beladen polyedrische cellen, die de beschreven vormsels omgeven of gefagocyteerd hebben (zie afb. 8). Dergelijke polyedrische cellen en ook groote, bleeke polyedrische cellen met schuimstructuur komen bovendien in de bronchi en de omgevende longalveolen in grooten getale voor. Hieraan is de grafietkleur van gezwellen en longweefsel toe te schrijven. Korte uitloopers van het gezwel nemen de plaats in van de aangrenzende alveolairwanden, waarbij het gezwelstroma zonder onderbreking overgaat in het interalveolaire stroma. Metastasen

liggen uitsluitend langs de luchtweg en bestaan uit kubisch tot cilindrisch trilhaarepitheel.

Gezwel 99 heeft een adenomateuze bouw, waarvan in sommige gedeelten de holten zoo groot zijn dat we van een adeno-cysteuze bouw kunnen spreken. In deze holten liggen polyedrische cellen (al of niet regressief veranderd) en een door eosine lichtrood gekleurde gekorrelde substantie. Het stroma, waarin capillairen zijn gelegen, heeft een alveolaire bouw. Aan beide zijden wordt dit bekleed door polyedrische cellen, die meestal in één laag liggen. Op enkele plaatsen steekt een papillaire streng in zoo'n groote holte uit. Het aspect van de gezwelcellen lijkt veel op dat van gezwollen alveolairepitheelcellen.

De cellen en de kernen van de gezwelcellen zijn onderling verschillend van grootte, vorm en kleurbaarheid. Het protoplasma is fijn gevacuoliseerd, met in een enkele cel een groote vacuole. Kerndeelingsfiguren worden niet gezien.

Metastasen liggen uitsluitend langs de luchtweg, in de vorm van polyedrische en kubische cellen, die de alveolairwanden over korte afstanden bekleeden. Vaak wordt gezien, dat dit epitheel in lagen gerangschikt is, waardoor groepjes van cellen zijn ontstaan, die een geheele alveolus opvullen.

De pleura is plaatselijk verdikt door eenkernige infiltraatcellen. De groei van het gezwel vindt zowel expansief als infiltratief plaats. Infiltratie door groei langs de alveolairwanden. Bij het onderzoek van de seriecoupes kan nergens een bronchogene oorsprong van het gezwel worden waargenomen.

In de omgevende alveolen komen polyedrische cellen voor, die beladen zijn met zwartbruin pigment.

Gezwel 100 heeft een overwegend papillomateuze bouw. In de spleetvormige ruimten komen, evenals in de omgevende alveolen, met pigment beladen, polyedrische cellen voor. Dergelijke cellen maken ook deel uit van het gezwel zelf.

Degeneratie komt o.a. voor in het laterale randgebied, waar het gezwel grootendeels een adenomateuze bouw heeft. Opvallend is in dit gebied de intensieve kleurbaarheid en celrijkdom van het stroma (zie afb. 9).

De overige gezwellen hebben een papillomateuze, respectievelijk papillair-adenocysteuze bouw, met op vele plaatsen een sterke vervetting van de gezwelcellen, die deel uitmaken van de nog jonge papillaire strengen. De pleura is niet of licht verdikt door eenkernige infiltraatcellen en door elastische en reticulaire vezels.

Muis 8 ♀ geb. 6-8-'38.

19-1-'39 Eerste injectie:

ingebracht 0,03 cm<sup>3</sup> van een 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol. Bij het doorlichten geeft het bovenveld van de linkerlong een schaduw.

21-10-'39 De muis wordt door aethernarcose gedood.

Bij de sectie worden uitsluitend in de longen afwijkingen gevonden.

*Dorsale zijde van de linkerlong:*

in het bovengedeelte bevindt zich een rond, glazig, grijs-geel gezwel (109), dat 0,5 mm van de bovenrand en 1 mm van de achterrand is verwijderd. De



grootste afmeting van het gezwel bedraagt 1 mm. (De lengte van de achterrand is 8 mm).

Twee gezwellen (110 en 111) liggen naast elkaar op de overgang van boven- en achterrاند. De vorm is onregelmatig, de grootste afmeting bedraagt respectievelijk 1,6 en 1,9 mm. Eén van deze gezwellen is grafietachtig van kleur.

*Mediastinale zijde van de linkerlong:*

in het bovengedeelte bevindt zich een gezwel (112) op de overgang van de bovenrand in de achterrاند. Het gezwel promineert weinig en is onregelmatig van vorm. De grootste afmeting bedraagt 1,3 mm. Macroscopisch krijgt men de indruk dat dit gezwel een voortzetting is van gezwel 109.

In de hilusstreek ligt een ovaal gezwel bij de intreeplaats van de hoofdbronchus. Het is grafietachtig van kleur en glazig. De grootste afmeting bedraagt 1,3 mm.

*Diaphragma zijde van de rechterlong:*

in de onderkwab bevindt zich een vlak, rond, glazig, grijs-geel gezwel (114) met een doorsnede van 1,3 mm.

*Microscopie:*

alle gezwellen hebben een papillomateuze bouw. Bij gezwel 110 valt op, dat de omgevende alveolen gevuld zijn met de beschreven groote, bleeke, polyedrische cellen met schuimstructuur. Vele van deze cellen zijn beladen met zwartbruin pigment en talrijke kleine langwerpige vormsels. In de bronchi, de alveolen en de spleetvormige ruimten van het gezwel komen polyedrische cellen voor van verschillende grootte, die eveneens beladen zijn met pigment.

Muis 9 ♀ geb. 9-2-'39.

7-7-'39 Injectie:

ingebracht 0,02 cm<sup>3</sup>. van een 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol. Op de Röntgenfoto bevindt zich in het middenveld van de linkerlong een druiventrosvormige uitsparing, die zich uitstrekt van de 4de tot de 7de rib.

11-11-'39 Tweede Röntgenfoto: geen uitsparingen meer aanwezig.

20-12-'39 De muis wordt door aethernarcose gedood. Bij de sectie wordt uitsluitend in de linkerlong een afwijking gevonden.

*Mediastinale zijde van de linkerlong:*

in de hilusstreek ligt in het longweefsel een gezwel (115) om de intreeplaats van de hoofdbronchus. Het promineert sterk, is rond, glazig en grijs-geel en heeft een doorsnede van 1,5 mm.

*Microscopie:*

gezwel 115 heeft een papillomateuze bouw. Aan de rand van het gezwel en in de bedekkende pleura komen ophooping van eenkernige infiltraatcellen voor. In het gezwel verspreid liggen celveldjes die gedegeneerd zijn, met daarin op een enkele plaats een klein necrotisch gedeelte. Het stroma in de gedegeneerde celveldjes is zeer rijk aan reticulaire vezels. Deze vezels zijn dikker en grooter in aantal dan in het overige gezwelgedeelte en in het longweefsel. De elastische vezels daarentegen zijn minder in aantal en ontbreken op sommige plaatsen geheel.

Behalve dit gezwel bevinden zich op enkele alveolenbreedten van de

pleura nog drie kleine gezwellen, namelijk één in de linkerlong, één in de bovenkwab en één in de mediale onderkwab van de rechterlong. Ook deze gezwellen hebben een papillomateuze bouw.

Muis 10 ♀ geb. 14-2-'39.

7-7-'39 Injectie:

ingebracht 0,02 cm<sup>3</sup> van een 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol. Op de Röntgenfoto (zie afb. 10) blijkt, dat zich in midden- en benedenveld van de linkerlong een druiventrosvormige uitsparing bevindt. In het thoracale verloop van de trachea en in het verloop van de linkerhoofdbronchus bevinden zich drie streepvormige uitsparingen.

14-8-'39 Tweede Röntgenfoto: in midden- en benedenveld van de linkerlong zijn nog puntvormige uitsparingen aanwezig. In het bovenveld van de rechterlong bevindt zich ter hoogte van de eerste rib een stipvormige uitsparing. In het thoracale verloop van de trachea bevinden zich nog twee streepvormige uitsparingen, terwijl ter hoogte van de linker- en rechterhoofdbronchus enkele stipvormige uitsparingen aanwezig zijn.

11-11-'39 Derde Röntgenfoto: in het bovenveld van de linkerlong bevindt zich nu een scherp omschreven puntvormige uitsparing ter hoogte van de derde rib. In het bovenveld van de rechterlong is de stipvormige uitsparing ter hoogte van de eerste rib toegenomen. In het thoracale verloop van de trachea bevinden zich nog twee streepvormige uitsparingen.

28-11-'39 De muis wordt door aethernarcose gedood. Bij de sectie wordt uitsluitend in de rechterlong een afwijking waargenomen.

*Dorsale zijde van de rechterlong:*

in de bovenkwab ligt op de overgang van boven- in voorrand een vlak, prominierend, rond, grijs, glazig gezwel (116) met een doorsnede van 0,7 mm. Aan de mediastinale zijde komt dit gezwel aan de oppervlakte.

*Microscopie:*

in het bindweefsel van het mediastinum bevindt zich vóór de trachea en ter hoogte van linker- en rechterhoofdbronchus, een weinig uitgebreide kwaadaardige bindweefselwoekering. In eenzelfde doorsnede komen, naast bundelvormig gerangschikte spoelcellen, polymorphe cellen voor. Daarnaast reuscellen en necrose. Dit sarcoom heeft een localisatie, die overeenkomt met de projecties van het lipiodol op de Röntgenfoto. In dit sarcoom komen talrijke ronde tot ovale holten van verschillende grootte voor, waarin de ingespoten oplossing van methylcholanthreen heeft gelegen. Deze holten worden begrensd door mesenchymale cellen, die meestal spoelvormig zijn.

Infiltratie van het gezwel vindt plaats in de lymphklieren ter hoogte van de bifurcatie en in de hartspier van de linkervoorkamer.

Naast gezwel 116 komt in het midden van de linkerlong een tweede gezwel voor. Beiden hebben een papillomateuze bouw, overeenkomstig voorafgaande beschrijvingen.

Muis 11 ♂ geb. 22-11-'38.

28-1-'39 Injectie:

ingebracht 0,02 cm<sup>3</sup> van een 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol. Bij het doorlichten vertoont het bovenveld van de rechterlong een schaduw.

14-8-'39 De muis wordt door aethernarcose gedood.

Röntgenfoto: in het bovenveld van de rechterlong zijn ( $6\frac{1}{2}$  maand na de injectie!) nog duidelijk 4 puntvormige uitsparingen aanwezig, terwijl 3 dergelijke uitsparingen ter hoogte van de bifurcatie zijn gelegen (zie afb. 11). Bij de sectie worden alleen in de rechterlong afwijkingen gevonden.

*Dorsale zijde van de rechterlong:*

in de middenkwab ligt langs de voorrand een prominierend, onregelmatig, scherp begrensd, geel-grijs, glazig gezwel (117). De grootste lengte bedraagt 1,5 mm en de grootste breedte 1 mm.

In de onderkwab bevindt zich ter hoogte van de intreemplaats van de hoofdbronchus een scherp begrensd, ovaal, glazig, wit, prominierend gezwel (118), waarvan de lengte 1,3 mm en de breedte 1 mm bedraagt. Bovendien bevinden zich langs de voorrand nog drie gezwelletjes (119 tot en met 121) met hetzelfde aspect als het gezwel in de middenkwab. De grootste afmeting van elk bedraagt 0,3 mm.

*Microscopie:*

al deze gezwelletjes hebben een papillomateuze bouw. In de longalveolen komen vele langwerpige vormsels voor, die omgeven zijn door phagocyterende cellen.

Muis 12 ♂ geb. 22-11-'38.

28-1-'39 Injectie:

ingebracht 0,017 cm<sup>3</sup> van een 1 % oplossing van methylcholanthreen in lipiodol. Bij het doorlichten geeft het bovenveld van de linkerlong een scherp omschreven schaduw.

14-8-'39 Röntgenfoto: in het bovenveld van de linkerlong is ter hoogte van de derde rib nog een ovale sluiering aanwezig.

17-8-'39 De muis wordt door aethernarcose gedood. Bij de sectie wordt uitsluitend in de linkerlong een afwijking waargenomen.

*Dorsale zijde van de linkerlong:*

in het bovengedeelte ligt, tegen de bovenrand aan, een onregelmatig scherp begrensd gezwel (122), waarvan de lengte 2,6 mm en de breedte 1,6 mm bedraagt. De kleur is gedeeltelijk grijs-geel, gedeeltelijk grafiëchtig.

*Microscopie:*

gezwel 122 heeft een papillomateuze bouw. In 't midden van de linkerlong bevinden zich nog twee gezwelletjes. Het eene heeft dezelfde bouw als gezwel 122, het andere bestaat uit gewoekerde bronchi.

Muis 13 ♀ geb. 18-12-'38.

4-8-'39 Eerste injectie:

ingebracht 0,015 cm<sup>3</sup> van een 1 % oplossing van methylcholanthreen in lipiodol. Op de Röntgenfoto blijkt zich in het middenveld van de linkerlong een sluiering te bevinden, waarin enkele stipvormige uitsparingen. Bovendien bestaat er een uitsparing in de maag.

14-12-'39 Tweede Röntgenfoto: in de longvelden zijn geen uitsparingen meer aanwezig. In het middenveld van de rechterlong bevindt zich een scherp begrensd ronde sluiering, die zich uitstrekt van de derde tot de zevende rib en dus nagenoeg het geheele longveld inneemt.

18-12-'39 De muis wordt door aethernarcose gedood. Bij de sectie worden uitsluitend in de rechterlong afwijkingen waargenomen.

*Dorso-laterale zijde van de rechterlong (zie afb. 13):*

een bloemkoolvormig, glazig, wit gezwel (123) gaat uit van de onderkwab en verheft zich voor het grootste deel daarboven, tusschen middenkwab, bovenkwab en hart. Slechts het bovenste derde deel van de onderkwab wordt er door ingenomen; de afmetingen bedragen 5 mm, 5 mm en 6,75 mm.

*Diaphragmazijde van de rechterlong:*

een knobbelig complex van elf glazige, witte gezwellen ligt op een afstand van 1 mm van de voorrand en 2 mm van de achterrand. De grootste afmeting van het complex bedraagt 2 mm. Over de voorrand gaat het bloemkoolvormige gezwel van de dorso-laterale zijde over in dit complex.

*Opmerking:* ligging en grootte van het gezwel zijn zoodanig, dat daardoor de sluiering op de tweede Röntgenfoto verklaard wordt.

19-12-'39 Van het hartlongen-preparaat wordt na fixatie in formol een Röntgenfoto gemaakt: in de longen worden geen lipiodoluitsparingen aangetroffen.

*Microscopie:*

gezwel 123 is een papilloom, dat omgeven wordt door een pleurakapsel. De pleura is plaatselijk slechts weinig verdikt door elastische vezels en infiltraatcellen. Een breede steel van het papilloom gaat van de mediastinale zijde van de pleura uit en vertakt zich in alle richtingen in fijne papillen, die betrekkelijk breede, spleetvormige ruimten begrenzen.

Kubische tot cilindrische gezwelcellen bekleeden, vrijwel overal in één laag gerangschikt, dit stroma. De kernen verschillen onderling in grootte, vorm en kleurbaarheid. De grootte varieert van één tot twee maal die van de kernen van gezwollen alveolairepitheelcellen. Ze zijn blazig, rond, ovaal of onregelmatig van vorm. Met haematoxyline kleurt de kernmembraan zich bij nagenoeg allen donkerpaars, terwijl de chromatinesubstantie verschillen vertoont van licht- tot donkerpaars. Vele kernen zijn omgeven door een lichte hof en bevinden zich in een fijn gevacuoliseerd protoplasma. Kerndeelingsfiguren worden niet gezien, wel amitotische deelingsfiguren.

In de papilloomsteel liggen, rondom capillairen, groepjes gezwelcellen gerangschikt. Men krijgt de indruk van een perivasculaire verbreiding. Tevens vindt een infiltratie van gezwelcellen plaats in de papilloomsteel (zie afb. 12).

In de betrekkelijk breede spleetvormige ruimten komen polyedrische cellen voor, die op vele plaatsen in complexen bij elkaar liggen. Daarnaast komen regressief veranderde polyedrische cellen voor en protoplasmabrokjes.

In het perifere gedeelte van het gezwel zijn plekken aanwezig, waar een grootdruppelige vervetting in de gezwelcellen is opgetreden, waardoor de kernen in de vorm van sikkels tegen de celwand zijn gedrukt (zie afb. 14).

Necrose komt verspreid in het gezwel voor en is soms alleen beperkt tot het stroma van de papillen.

Het gezwel groeit op vele plaatsen in groote bronchi, via ductuli alveolares. Het bronchiaalepitheel is dan vaak zeer samengedrukt. Nergens is te zien dat het gezwel uitgaat van zoo'n bronchus, of zoo'n bronchuswand heeft gedeutruerd.

Naast de expansieve groei van het gezwel vindt infiltratie plaats in de

vorm van groei over korte afstand langs de alveolairwanden. Metastasen komen uitsluitend langs de luchtweg voor.

In de alveolen rondom het gezwel komen vele polyedrische cellen voor, die op veel plaatsen in complexen liggen en daardoor de alveolen geheel vullen. Het aspect van deze cellen komt overeen met dat van gezwollen alveolairepitheelcellen.

Muis 14 ♂ geb. 7-10-'38.

20-3-'39 Eerste injectie:

ingebracht 0,01 cm<sup>3</sup> van een 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol.

22-10-'39 De muis wordt door aethernarcose gedood.

Bij de sectie worden uitsluitend in de longen afwijkingen gevonden.

*Dorsale zijde van de linkerlong:*

in het bovengedeelte bevindt zich een glazig gezwel (124) met een uitbreiding van 1,5 mm langs de bovenrand en 1,9 mm langs de achterrand. De grootste breedte bedraagt 1,9 mm. Het gezwel is grafietachtig van kleur, is onregelmatig van vorm en scherp begrensd. Caudaal er van is ook het longweefsel grafietachtig van kleur en wel in een gebied dat zich over een afstand van 2,3 mm langs de achterrand uitstrekt en dat een breedte heeft van 1,7 mm. In het centrum van dit gebied promineert het weefsel een weinig en is de grafietachtige kleur nog intensiever (125).

*Mediastinale zijde van de linkerlong:*

in het bovengedeelte bevindt zich een rond, glazig, grafietachtig gekleurd gezwel (126) op een afstand van 4,5 mm van de bovenrand en 3 mm van de voorrand. De doorsnede bedraagt 1 mm. Op 1,5 mm afstand van de boven- en achterrand verwijderd ligt een rond, grafietachtig gekleurd gezwel (127) met een doorsnede van 0,5 mm.

In de hilusstreek, vlak boven de intreeplaats van de hoofdbronchus bevindt zich een rond gezwel (128), dat sterk promineert en een doorsnede heeft van 2,2 mm. Een tak van de A. pulmonalis loopt over het gezwel. Tusschen de genoemde drie gezwellen is ook het longweefsel grafietachtig van kleur.

*Dorsale zijde van de rechterlong:*

in het caudale gedeelte van de bovenkwab schemert een complex van vier grijs-gele gewellen door (129 tot en met 132). Het complex ligt op een afstand van 2,4 mm van de achterrand; lengte en breedte ervan bedragen 3 mm.

*Mediastinale zijde van de rechterlong:*

in het caudale gedeelte van de bovenkwab bevindt zich een rond, wit, glazig, sterk promineerend gezwel (133) met een doorsnede van 2,8 mm. Men krijgt de indruk dat dit gezwel een voortzetting is van het complex dat aan de dorsale zijde van de rechterbovenkwab ligt.

*Microscopie:*

gezwel 128 heeft eensdeels een papillomateuze, anderdeels een adenomateuze bouw. Het stroma bestaat voornamelijk uit reticulaire vezels. De elastische vezels zijn minder in aantal of ontbreken geheel.

In het laterale gedeelte van het gezwel komt degeneratie voor. Hier is het stroma zeer rijk aan dikke reticulaire vezels, terwijl elastische vezels

bijna overal ontbreken. Bij het serieonderzoek blijkt, dat het gezwel doorgegroeid is in een hiluslymphklier. Op bepaalde hoogten heeft het papillair-adenocystoom nagenoeg de geheele lymphklier ingenomen (zie afb. 15). Op een meer perifeere doorsnede van de lymphklier bevinden zich alleen nog in het midden gezwelcellen (zie afb. 16).

De overige gezwellen hebben deels een papillomateuze, deels een adenomateuze bouw, overeenkomstig voorafgaande beschrijvingen. De gezwellen 129 tot en met 133 blijken op doorsnede één geheel te vormen en nemen de geheele breedte van de long in.

De resultaten van de intratracheale inspuitingen bij de 14 O20 Leeuwenhoek-muizen zijn in tabel I samengevat. Uit deze tabel blijkt, dat zich bij alle muizen longgezwollen hebben ontwikkeld. Deze gezwellen zijn 134 tot 288 dagen na de eerste injectie waargenomen, terwijl de leeftijd van de muizen varieerde van 262 tot 486 dagen. Daarentegen werden op een overeenkomstige leeftijd bij twintig contrôlemuizen slechts in drie gevallen longgezwollen waargenomen, die bovendien solitair waren.

Bij alle zes muizen die tweemaal ingespoten zijn (groep 1) komen de longgezwollen multipel voor. Het aantal gezwellen bedraagt 12 tot 24 in één long. Bij de zeven muizen die eenmaal ingespoten zijn (groep 2) komen slechts drie muizen voor met multipele longgezwollen en hier zijn de gezwellen veel minder talrijk, namelijk 4 tot 6 gezwellen in één long. De andere vier muizen van deze groep hebben slechts één enkel gezwel aan het longoppervlak. Deze verschillen tusschen de beide groepen, moeten aan twee factoren worden toegeschreven:

ten eerste hebben de muizen van groep 1 langer geleefd na de inspuitingen dan de muizen van groep 2: het gemiddelde verschil bedraagt  $2\frac{1}{2}$  maand, gerekend vanaf de eerste injectie;

ten tweede is de hoeveelheid ingespoten methylcholathreen bij de muizen van groep 1 (0,2 tot 0,4 mgr) grooter dan bij de muizen van groep 2 (0,1 tot 0,3 mgr).

Dat het aantal dagen, dat de muizen langer leven na het inspuiten, een rol speelt bij het aantal tot ontwikkeling komende longgezwollen blijkt uit vergelijking van de muizen van groep 2, die een solitair longgezwel hebben, met die, welke multipele longgezwollen hebben. Van de vier muizen met een solitair gezwel hebben de muizen 9, 10 en 13 gemiddeld 141 dagen na de injectie geleefd. De muizen 8, 11 en 14, met de multipele longgezwollen, leefden gemiddeld 227 dagen, dat is gemiddeld 86 dagen langer. Het is bij zuivere muizenstammen met een

natuurlijke dispositie voor het ontstaan van spontane longgezwollen een algemeen waargenomen verschijnsel, dat het aantal longgezwollen dat ontstaat na inbrengen van een gezwelverwekkende stof (bijvoorbeeld door middel van onderhuidsche inspuitingen) grooter is naarmate de dieren langer na de inspuitingen hebben geleefd en, binnen bepaalde grenzen, ook naarmate er meer van de gezwelverwekkende stof is ingebracht (Andervont<sup>56-58</sup>, Lorenz<sup>59</sup>, Lettinga<sup>60</sup> en anderen).

Uit tabel I blijkt verder, dat de uitsparingen van het lipiodol op de Röntgenfoto's zich bij nagenoeg alle muizen uitsluitend in de linkerlong bevinden. Deze localisatie in de linkerlong is een gevolg van het feit, dat de canule tijdens de inspuiting naar de linkerhoofdbronchus gericht is, en van het feit dat deze bronchus steiler verloopt dan de rechter (Lauche)<sup>61</sup>, waardoor de lipiodoldruppeltjes gemakkelijker naar links dan naar rechts afvloeien. Opvallend vaak is echter de uitsparing gelocaliseerd in het bovenveld van de linkerlong, ofschoon zwaar lipiodol is ingespoten en we dus de uitsparingen het veelvuldigst in de ondervelden hadden verwacht. Reichle<sup>62</sup> heeft echter een plooivorming aangetoond in de dorsale wand van de trachea en van de bronchi bij mensch en proefdier. Deze plooi verdeelt de dorsale wand van de bronchi in een inwendige groeve en een bredere en diepere uitwendige groeve. De uitwendige groeven vormen één systeem met de beide groeven in de dorsale wand van de trachea en hebben hun uitbreiding in de bovengedeelten van beide longhelften. Door deze anatomische bijzonderheid komt een in de trachea gespoten vloeistof het gemakkelijkst terecht in deze longgedeelten.

Komen nu de uitsparingen van het lipiodol, waarin het methylcholanthreen is opgelost, overeen met de plaatsen, waar zich de longgezwollen hebben ontwikkeld? Uit de tabel blijkt dat de meeste longgezwollen, namelijk 93 van de 131, in de linkerlong voorkomen. Vergelijken we nu de Röntgenfoto's met de praeparaten (zie afb. 5 en 6), dan blijkt dat het grootste aantal longgezwollen zich heeft ontwikkeld in die gedeelten van de linkerlong, waar zich na de inspuiting het lipiodol bevindt. In microscopische praeparaten hebben we kunnen aantonen dat de gezwelontwikkeling begint rondom de ingespoten lipiodol-methylcholanthreen oplossing. Afbeelding 20 geeft zoo'n gezwel weer bij een „O20” muis, die op een leeftijd van 2 maanden intracheaal ingespoten is met 0,02 cm<sup>3</sup> van de

Tabel I: Longgezwellen bij muizen van de stam „O20 Leeuwenhoekhuis” na intratracheale injectie met 1 % oplossing van methylcholanthreen in lipiodol 40 %.

Muisnummer	Leeftijd in dagen bij:		Aantal cm <sup>3</sup> 1 % methylcholanthreen in lipiodol 40 % bij		Schaduw resp. uitparing in		Aantal longgezwellen				Totaal aantal longgezwellen			
	1ste injectie	2e injectie	1ste injectie	2de injectie	L. long	R. long	L. long		R. long		L.	R.		
							boven gedeelte	hilus	boven kwab	hilus				
1 ♀	198	243	486	0.025	0.50	O n.d.	—	—	—	—	1	1	2	
2 ♀	153	199	427	0.03	0.40	B B	—	—	—	—	3	1	10	
3 ♀	162	208	436	0.025	0.35	B B	—	—	—	—	4	1	18	
4 ♀	162	208	436	0.025	0.35	M B	—	—	—	—	12	2	16	
5 ♀	137	188	408	0.02	0.30	B n.d.	—	—	n.d.	—	6	2	11	
6 ♀	102	147	298	0.015	0.30	B B	—	—	—	—	2	4	12	
7 ♀	120	165	392	0.01	0.20	B B	B	B	—	—	11	1	12	
8 ♀	163	435	435	0.03	0.30	B B	—	—	—	—	4	1	5	
9 ♀	148	311	311	0.02	0.20	M	—	—	—	—	1	—	1	
10 ♀	157	284	284	0.02	0.20	O	—	—	—	—	1	—	1	
11 ♀	66	262	262	0.02	0.20	—	B	—	—	—	—	3	0	
12 ♀	66	265	265	0.017	0.17	B	—	—	—	—	1	1	1	
13 ♀	226	360	360	0.015	0.15	M	—	—	—	—	—	—	0	
14 ♀	163	375	375	0.01	0.10	n.d.	n.d.	n.d.	—	—	4	1	5	
													93	38

1) Nog een 3de injectie met 0.01 cm<sup>3</sup> van de oplossing op een leeftijd van 259 dagen.

B = bovenveld.

M = middenveld.

O = onderveld.

n.d. = niet doorlicht.



1 % oplossing. 3 Maanden na de injectie is deze muis dood.

Shimkin<sup>63</sup>, die muizen intratracheaal heeft ingespoten met dibenzanthraceen en methylcholanthreen, geadsorbeerd aan houtskool, heeft geen verband kunnen aantoonen tusschen de localisatie van de hoogste concentratie van de gezwelverwekkende stof en de plaats waar zich de longgezwollen hebben ontwikkeld.

Van de longen van de muizen 2, 3, 4, 6, 9, 10, 11, 12 en 13 zijn ook nog 4 tot 6½ maand na de laatste inspuiting Röntgenfoto's gemaakt. Op al deze foto's, behalve op die van de muizen 9 en 13, zijn nog uitsparingen aanwezig. De afbeeldingen 7 en 11 geven de Röntgenfoto's weer, die van de muizen 6 en 11 respectievelijk 5 en 6½ maand na de laatste inspuiting gemaakt zijn. In het bovenveld van de linker- respectievelijk de rechterlong bevinden zich nog puntvormige uitsparingen. De plaats van deze uitsparingen komt, evenals bij de muizen 2, 3, 4 en 12, overeen met de plaatsen waargenomen dadelijk na de inspuiting. We zien hier het interessante verschijnsel, dat geringe hoeveelheden lipiodol (0,015 tot 0,04 cm<sup>3</sup>) nog minstens 6½ maand in de muizenlongen waarneembaar blijven en daarbij niet merkbaar van plaats veranderen.

Alleen bij muis 10 blijkt, dat het lipiodol in de longen van plaats veranderd is. Op de eerste Röntgenfoto bevindt zich in het midden- en benedenveld van de linkerlong één druiventrosvormige uitsparing (zie afb. 10). Ruim een maand later is deze uitsparing in de linkerlong afgenomen en bevindt zich in het bovenveld van de rechterlong, ter hoogte van de eerste rib, een stipvormige uitsparing. Op de derde Röntgenfoto, die ruim vier maanden na de inspuiting gemaakt is, bevindt zich nu een scherp omschreven puntvormige uitsparing ter hoogte van de derde rib in het bovenveld van de linkerlong, terwijl de stipvormige uitsparing in het bovenveld van de rechterlong toegevoegd is. Een plaatsverandering van het lipiodol is ook waargenomen bij muis 16 (zie pag. 24), waar 0,02 cm<sup>3</sup> lipiodol in de longen is gespoten.

Ook aan het einde van de proef, namelijk 127 tot 272 dagen na de laatste inspuiting is nagegaan of bij de veertien proefmuizen nog lipiodol in de longen aanwezig was. Reeds zagen we, dat het eene bestanddeel van het lipiodol, papaverolie, nog minstens 3½ tot 6½ maand na de injectie in de ijscoupen van de longen teruggevonden werd (zie pag. 26). Om nu ook het

jodium in de longen van de proefmuizen aan te toonen hadden we alleen de beschikking over paraffinecoupes. Hierin werd het jodiumgehalte bepaald door Dr. Grotepass, waarvoor ik hem veel dank verschuldigd ben.

### C. MICRO-JODIUMBEPALING IN LONGCOUPES.

Deze bepaling had ten doel na te gaan of de ingespoten muisenlongen aan het einde van de proef nog aantoonbare hoeveelheden jodium bevatten. Tevens was het noodzakelijk contrôlebepalingen uit te voeren met de onbehandelde muizen. Een duidelijk grooter jodiumgehalte in de longen van de behandelde muizen ten opzichte van die van de contrôlemuizen is dan een bewijs dat in de longen van de behandelde muizen nog jodium, afkomstig van lipiodol, aanwezig is.

Door middel van Röntgenfoto's hadden we reeds aangetoond dat minstens 4 tot 6½ maand na de injectie nog lipiodol in de longen aanwezig was. Ook in die gevallen waar 4 tot 6½ maand na de injectie de Röntgenfoto's negatief waren, interesseerde het mij, of nog jodium aan het einde van de proef aanwezig was.

De bepalingen werden voor iedere long uitgevoerd in slechts vier paraffine coupes. Bovendien gaat tijdens de voorbehandeling van het weefsel voor het maken van de coupes jodium uit het weefsel over in de gebruikte alcoholen. Dit zijn redenen waarom aan de gevonden hoeveelheid jodium geen absolute waarde mag worden toegekend, maar men slechts een vergelijkende indruk krijgt bij op gelijke wijze verkregen longcoupes van met lipiodol ingespoten en niet ingespoten muizen. In die gevallen waar in of om het gezwel in de long nog een duidelijke grafietkleur waarneembaar was, werden de vier coupes, opeenvolgend, van die plaats gekozen; in de overige gevallen werden ze eveneens opeenvolgend gekozen van die plaatsen, waar microscopisch naast het gezwel langwerpige vormsels werden waargenomen. Voor de contrôlebepalingen werden vijf muizen gebruikt, waarvan drie met een spontaan longgezwel. De coupes werden gekozen ter plaatse van de grootste doorsnede door dit gezwel.

Voor de jodiumbepaling werd de micromethode van von Fellenberg gevolgd, zooals die door Reith<sup>64</sup> gewijzigd is. Hierbij wordt de grondstof verascht onder toevoeging van kaliumcarbonaat, en de ontstane koolstof geoxydeerd met kaliumni-

traat. De destructie van de organische stof is volledig wanneer het residu wit is. In deze witte zoutmassa is het jodium aanwezig als jodide of jodaat. Bij deze destructie mag men niet hoger verhitten dan 470 graden Celcius, daar in dit geval de jodiden vervluchtigen. Vervolgens worden de jodiden met alcohol van 96 vol. proc. quantitatief geëxtraheerd. Na deze extractie wordt het jodide volgens de „azide-broom-zwavel-zuur-methode” geoxydeerd tot joodzuur. De reactie verloopt hierbij als volgt:  $HJ + 3Br_2 + 3H_2O \rightarrow HJO_3 + 6HBr$ . Natriumazide heeft Reith toegevoegd om de steeds aanwezige nitrieten te elimineeren volgens de vergelijking:  $HNO_2 + HN_3 \rightarrow N_2O + N_2 + H_2O$ . Het bleek namelijk, dat bij het noodzakelijke uitkoken van het overmaat broomwater, door deze nitrieten jodium vervluchtigt. Door toevoegen van joodkalium in zuur milieu aan het joodzuur komt jodium vrij volgens de vergelijking:  $HJO_3 + 5HJ \rightarrow 3H_2O + 3J_2$ . Dit jodium wordt dan getitreerd met natriumthiosulfaatoplossing 0,001 normaal waarbij zetmeel als indicator dient.

Bij elke micro-jodiumbepaling bestaat het gevaar van joodtoevoer met de chemicaliën, omdat de benodigde hoeveelheden reagentia, in verhouding tot de te isoleeren hoeveelheid jodium, steeds groot zijn. Daarom werden met de te gebruiken chemicaliën verschillende blancobepalingen uitgevoerd. Het glaswerk, dat in chroomzuur was geplaatst, werd voor het gebruik met aqua bidestillata gespoeld. Op deze wijze werd het jodiumgehalte van de grondstoffen bekend die voor de bepaling werden toegevoegd. Deze minimale hoeveelheid jodium werd van de uitkomsten van de eigenlijke bepalingen afgetrokken.

#### UITVOERING VAN DE BEPALING.

De vier paraffinecoupes van de te onderzoeken muizenlong worden met een uitgegloeide stamper van agaat in een platina kroes, die eveneens van te voren is uitgegloeid, fijngewreven. Onder afspoelen van de stamper worden 1 cm<sup>3</sup> van een natriumnitraatoplossing, die 400 mgr. van het zout per cm<sup>3</sup> aqua bidestillata bevat, en 2,5 cm<sup>3</sup> van een verzadigde kaliumcarbonaat oplossing in de platina kroes gepipetteerd. Het mengsel wordt nu in de platina kroes op een zandbad ingedampt tot droog. Daarna wordt langzaam verkoold bij 400 graden.

Bij snelle verhitting verliezen de kristallen te vlug hun kristalwater, waardoor spatten en dus verlies aan jodium optreedt. De organische stof wordt dan volledig geoxydeerd door de overmaat natriumnitraat en we houden een witte zoutmassa over. De destructie van de organische stof is onvolledig wanneer nog zwarte deeltjes in de witte zoutmassa zijn achtergebleven. In die gevallen werd de verassing herhaald, totdat een witte

zoutmassa verkregen was. Voor deze herhaling wordt de zoutmassa fijngewreven met de uitgegloeide stamper van agaat en, onder afspoelen van de stamper, een weinig aqua bidestillata aan de zoutmassa toegevoegd. Vervolgens wordt weer op het zandbad tot droog ingedampt en in de vrije vlam verhit zooals boven werd beschreven. De witte zoutmassa wordt nu opgelost in aqua bidestillata en tot beginnende kristallisatie ingedampt. De zoutoplossing wordt nu overgegoten in een gecalibreerde buis met ingeslepen stop. Het platina kroesje wordt tweemaal uitgespoeld met een zoodanige hoeveelheid aqua bidestillata, dat het totale volume in de gecalibreerde buis  $5 \text{ cm}^3$  bedraagt. Men mag slechts weinig aqua bidestillata gebruiken aangezien het noodzakelijk is een geconcentreerde oplossing van het kaliumcarbonaat en natriumnitrat te behouden. Na homogene mengen wordt aangevuld met alcohol van 96 vol. proc. tot  $10 \text{ cm}^3$ . Vervolgens wordt de gecalibreerde buis met inhoud vijf en twintig maal voorzichtig heen en weer bewogen en dan gedurende een halfuur weggezet. De bovenstaande alcoholaag wordt daarna afgepipetteerd en in een jodiumvrije porceleinen schaal gebracht. Een tweede extractie met alcohol wordt op dezelfde wijze uitgevoerd en het extract wordt eveneens in de porceleinen schaal gebracht. De alcoholische vloeistof wordt voorzichtig op een waterbad tot droog ingedampt. Het witte residu wordt opgelost in zoo weinig mogelijk aqua bidestillata ( $1 \text{ cm}^3$ ) en gebracht in een Erlenneyer-kolf van  $20 \text{ cm}^3$ . Nu wordt overmaat natriumazide toegevoegd en aangezuurd met zwavelzuur  $2/3$  normaal. De reactie wordt gecontroleerd door stippelen met een uitgegloeide platinadraad op methylorenje papier. De overmaat stikstofwaterstofzuur is kenbaar aan zijn stekende geur en kan door stippelen op ferrichloride papier aangetoond worden, waarbij dit van nagenoeg kleurloos bruin wordt. De overmaat stikstofwaterstofzuur wordt nu uitgedreven door gedurende twintig minuten de kolf met inhoud op een waterbad te verwarmen. Hierna controleert men nogeens de reactie, en voegt zoonoodig enkele druppels  $2/3$  normaal zwavelzuur toe. Vervolgens worden drie druppels verzadigd broomwater en aqua bidestillata toegevoegd tot een totaal volume van  $2 \text{ cm}^3$ . In het kolfje worden drie jodiumvrije puimsteentjes gebracht en vervolgens wordt het op een sterk verhit zandbad geplaatst. De kolf moet hellend tegen de rand worden opgesteld om uitspatten te voorkomen. Men laat nu gedurende 45 seconden koken en koelt direct daarna af. Nu voegt men twee druppels 5% joodkalium en drie druppels van een 5% zetmeeloplossing toe. Reith nam een blauwe kleur waar bij aanwezigheid van meer dan 0,03 gamma jodium.

Onder het licht van Philips daglichtlampen wordt met behulp van een micropipet van  $0,3 \text{ cm}^3$  getitreerd met  $1/1000$  normaal thiosulfaatoplossing. Van deze oplossing correspondeeren  $0,05 \text{ cm}^3$  met 1,1 gamma jodium.

Achtereenvolgens is het jodiumgehalte bepaald in vier paraffinecoupes van elk van de veertien proefmuizen en van een niet gemerkte muis o. Deze muis is dadelijk na de injectie met  $0,03 \text{ cm}^3$  van de 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol gedood.

Contrôlebepalingen zijn gedaan bij vijf contrôlemuizen, waarvan drie met een spontaan longgezwel. Tevens zijn blanco be-

palingen verricht van de paraffine. Hiervan zijn coupes gemaakt, die dezelfde afmetingen hebben als de coupes van de longen. Het jodiumgehalte in vier dergelijke coupes bedraagt 1,1 gamma. Deze hoeveelheid is van die in de eigenlijke- en contrôlebepalingen afgetrokken. De uitkomsten van de micro-jodiumbepalingen in de vier coupes van elk van de ingespoten muizen zijn samengevat in tabel II. Uit deze tabel blijkt, dat in

Tabel II: Micro-jodiumbepaling in paraffine coupes van de long.

Muis No.	Aantal gamma jodium	Aantal dagen verlopen na de laatste injectie	Totaal aantal cm <sup>3</sup> ingespoten van de 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol 40%.
0	118.4	0	0.03
1	22.	227	0.05
2	10.	228	0.04
3	22.	228	0.035
4	12.4	228	0.035
5	5.7	220	0.03
6	6.2	151	0.025
7	24.	227	0.02
8	9.	272	0.03
9	5.4	163	0.02
10	26.2	127	0.02
11	4.4	196	0.02
12	5.2	199	0.017
13	8.9	134	0.015
14	18.4	212	0.01

de coupes van muis 0 het grootste quantum jodium aanwezig is, namelijk 118,4 gamma. Dit is ook te verwachten, aangezien deze muis dadelijk na de injectie gedood werd.

Bij de andere veertien proefmuizen wisselt het jodiumgehalte in de vier coupes van 4,4 tot 26,2 gamma. Deze muizen hebben nog 127 tot 272 dagen na de injectie geleefd en zijn ingespoten met 0,01 tot 0,05 cm<sup>3</sup> der oplossing.

Bij de vijf contrôlebepalingen bedraagt de grootste hoeveelheid jodium die gevonden werd slechts 2,4 gamma. Hieruit blijkt dus dat deze hoeveelheid aanmerkelijk geringer is dan die bij de ingespoten dieren. Met andere woorden: bij de proef-

muizen komt aan het einde van de proef nog jodium voor dat afkomstig is van het ingebrachte lipiodol.

#### D. MACROSCOPIE VAN DE LONGGEZWELLEN.

Aan het longoppervlak doen de gezwellen zich voor als glazige, meestal scherp begrensde, ovale en onregelmatige knobbeltjes, die meer of minder sterk boven het longoppervlak verheven zijn (zie afb. 5 en 6). De meeste hebben een grijs-gele kleur, sommige zijn glazig-wit. Daarnaast valt op, dat in het bovengedeelte van de linkerlong vele gezwellen gedeeltelijk grafiëtachtig gekleurd zijn. Deze grafiëtkleur bevindt zich in sterkere mate rondom die gezwellen, in het longweefsel (zie afb. 5 en 6). De grafiëtkleur is waarschijnlijk het gevolg van de aanwezigheid van het lipiodol, aangezien het het veelvuldigst in het bovenveld van de linkerlong werd waargenomen. De doorsnede van de gezwellen variëert van 0,3 tot 3 mm. Alleen gezwel 123 is veel grooter en heeft zich voornamelijk boven het oppervlak van de rechteronderkwab ontwikkeld (afb. 13). De afmetingen bedragen 5 mm, 5 mm en 6,7 mm.

#### E. MICROSCOPIE VAN DE LONGGEZWELLEN.

Histologisch onderscheiden we bij de longgezwellen drie vormen, die al of niet in elkaar overgaan:

1. papillomateuze;
2. adenomateuze;
3. papillair-cystadenomateuze gezwellen.

1. De meeste gezwellen hebben een papillomateuze bouw. Deze bestaat uit in alle richtingen vertakte, papillaire strengen of papillen, die spleetvormige ruimten begrenzen. Tusschen de papillaire strengen en de papillen bestaan verschillen wat betreft de bouw van het stroma, de bekleedende epitheliale cellen en de breedte van de spleten.

Het stroma van de papillaire strengen is smal, veelal weinig of niet vertakt en wordt gevormd door elastische en reticulaire vezels. De elastische vezels zijn op vele plaatsen in de papillaire strengen talrijker en dikker dan in de wand van de longalveolen. Hoewel minder uitgesproken is dit ook het geval voor de reticulaire vezels.

De gezwelcellen, die dit stroma bekleeden, zijn voor het meereendeel polyedrisch van vorm en bijna overal in één laag ge-

rangschikt. De polyedrische cellen hebben een kleine, veelal ronde, door haematoxyline donkerpaars gekleurde kern, waarvan de grootte weinig verschilt van die van de epitheelcellen van de longalveolen. De meeste kernen worden omgeven door een lichte hof en liggen in een fijn gevacuoliseerd protoplasma. Deze polyedrische cellen doen denken aan gezwollen alveolair-epitheelcellen. Tusschen de polyedrische cellen bevinden zich over korte afstand fijne takjes van het centrale stroma. De bouw van zoo'n gezwelgedeelte is weergegeven op afbeelding 17.

Het stroma van de papillen daarentegen is breeder, meestal meer vertakt dan dat van de papillaire strengen en bestaat hoofdzakelijk uit reticulaire vezels; er zijn weinig of geen elastische vezels (zie afb. 12 en 14). De aanwezige elastische vezels zijn dunner en aanzienlijk minder talrijk dan in de papillaire strengen en in de wanden van de longalveolen. Ook hier wordt het stroma vrijwel overal bekleed door één enkele laag gezwelcellen, die echter kubisch tot cilindrisch van vorm zijn. Tusschen deze cellen zetten zich fijne takjes van het centrale stroma een eindweegs voort. De kubische tot cilindrische cellen hebben blazige, ronde of ovale kernen van verschillende grootte. In sommige cellen zijn de kernen driemaal zoo groot als die van de polyedrische gezwelcellen. Haematoxyline kleurt de kernmembraan donkerpaars en het chromatine overwegend lichtpaars. De meeste kernen zijn omgeven door een lichte hof en liggen in een fijn gevacuoleerd protoplasma.

De spleetvormige ruimten, die door de papillaire strengen begrensd worden, zijn smaller en minder uitgebreid dan de spleetvormige ruimten die de papillen begrenzen. In deze spleetvormige ruimten komen polyedrische cellen voor, die veelal regressief zijn veranderd: rijke vacuoliseering van het protoplasma, al of niet tezamen met een slechte kleurbaarheid van protoplasma en kern. Soms ontbreekt de kern. Daarnaast komen resten van cellen voor.

In vele gezwollen komen zoowel de papillaire strengen als de vertakte papillen voor, die dan geleidelijk in elkaar overgaan. Op grond van de genoemde verschillen tusschen de papillaire strengen en de vertakte papillen, en hun geleidelijke overgang, meen ik de papillaire strengen als een ouder ontwikkelingsstadium van de papillen te kunnen beschouwen.

2. Naast de gezwollen met de papillomateuze bouw komen ook gezwollen of gedeelten van gezwollen voor, die een adenoma-

teuze bouw hebben (zie afb. 9). De holten zijn rond of ovaal en bekleed met een vrijwel overal éénlagig polyedrisch of min of meer kubisch epitheel van verschillende hoogte. In de holten, die kleiner zijn dan de longalveolen, bevinden zich polyedrische cellen, die hier en daar regressief veranderd zijn. De bekleedende polyedrische en kubische cellen komen in uiterlijk overeen met die van de papillaire strengen of met die van de papillen.

In sommige adenomateuze gezwellen (o.a. gezwel 99) zijn vele holten onregelmatig van vorm en grooter dan de longalveolen. We hebben dan het beeld van het adenocystoom. In gezwel 99 heeft het stroma bovendien een uitgesproken alveolaire bouw. Het wordt rondom bekleed door één enkele laag van polyedrische cellen, waarvan de cellichamen en kernen onderling verschillen in grootte, vorm en kleurbaarheid. Het aspect van deze cellen komt sterk overeen met dat van gezwollen alveolairepitheelcellen.

3. Daarenboven komen gezwellen of gedeelten van gezwellen voor, waar in de cysteuzen ruimten al of niet vertakte papillen uitsteken. Deze gezwellen dragen de naam papillaire cystadenomen. Het stroma van de gezwellen met een papillair cystadenomateuze bouw is betrekkelijk breed en bestaat hoofdzakelijk uit reticulair vezels; er zijn weinig of geen elastische vezels. De bekleedende cellen zijn laag kubisch tot cilindrisch en meestal in één laag rond het stroma gerangschikt (o.a. gezwel 54). Het komt meermalen voor (o.a. bij gezwel 2), dat deze cellen zeer onregelmatige en hoekige kernen van verschillende grootte hebben en weinig protoplasma. De grootte van deze kernen varieert van één tot driemaal de kern van een gezwollen alveolairepitheelcel. Haematoxyline kleurt de kernmembranen van deze blazige kernen donkerpaars en het chromatine bleekpaars. De smalle zoom van protoplasma is rijk aan vacuolen en kleurt zich met eosine bleekrood.

Degeneratie en necrose worden uitsluitend gezien in de oudere gedeelten van de gezwellen (o.a. de gezwellen 19, 125 en 128) en niet in de papillaire strengen. Uitzondering vormt de intracellulaire vervetting, die bij beiden kan voorkomen. (Zie afb. 18). Zoo'n gedegeneerd gebied is opvallend rijk aan dikke, reticulair vezels en onderscheidt zich daardoor van de rest van het gezwel. Elastische vezels zijn geringer in aantal of ontbreken. De celgrenzen zijn veelal vaag en het protoplasma is bleek kleurbaar en rijk aan vacuolen van verschillende



grootte. De kernen zijn kleiner in aantal vergeleken met het niet gedegenereerde gedeelte. De aanwezige kernen zijn groot en blazig; haematoxyline kleurt het chromatine bleekpaars, terwijl in de meeste gevallen de membraan donkerpaars gekleurd wordt. Een minder uitgesproken gedegenereerd gebied komt voor in een randgedeelte van gezwel 100 (zie afb. 9). In dit gedeelte is nog iets van een adenomateuze bouw te herkennen, het meest valt echter op de intensieve kleurbaarheid en celrijkdom van het stroma. Necrose wordt het veelvuldigst waargenomen in de groote gezwellen. In de gezwellen 54 en 123 komen gedeelten voor, waar de necrose alleen beperkt blijft tot het stroma.

Vervetting, in de vorm van kleine en groote druppels komt verspreid zoowel in de jongere als oudere deelen van het gezwel voor. Een voorbeeld van beiden is weergegeven op de afbeeldingen 14 en 18. Bij vetkleuring van de longgezwollen blijkt, dat zeker een gedeelte van de vacuolisering in de gezwelcellen en in de cellen die in de spleetvormige ruimte liggen, overeenkomt met de plaats waar oorspronkelijk vetdruppeltjes hebben gelegen.

Kerndeelingsfiguren komen in de gezwellen zéér sporadisch voor; het veelvuldigst nog in sommige polyedrische cellen, die in de spleetvormige ruimten liggen (zie afb. 19). Het voorkomen van kerndeelingsfiguren in de cellen in de spleetvormige ruimten, bewijst dat deze niet alle als afgestooten cellen zijn te beschouwen, hoewel vele soortgelijke cellen regressieve veranderingen en necrose vertoonen.

Amitosen in de vorm van twee of meer kernen in een cel komen het veelvuldigst voor in de polyedrische cellen, die in de spleetvormige ruimten liggen.

De gezwellen zijn vaak duidelijk ten opzichte van het omgevende longweefsel te begrenzen, ze zijn niet afgekapseld en groeien zoowel expansief als infiltratief. De expansieve groei komt tot uiting in het samengedrukt zijn van de omgevende alveolen. Infiltratie in het omgevende longweefsel vindt plaats doordat de polyedrische, de kubische of de cilindrische gezwelcellen de plaats innemen van de epitheelcellen van de alveolairwanden. Het elastische en reticulair stroma van het gezwel gaat hierbij zonder onderbreking over in dat van de alveolair-septa.

De meeste gezwellen liggen vlak onder de pleura, die veelal weinig of niet verdikt is. De verdikking vindt plaats door een-

kernige infiltraatcellen, reticulaire en elastische vezels en soms door gezwelcellen. Gedeelten van beide vezelsoorten gaan over in het gezwelstroma. Eveneens gaan vezels van het elastische en reticulaire stroma van de bronchi en de bloedvaten, die in het gezwel voorkomen, over in het gezwelstroma. Op afbeelding 18 is weergegeven de overgang van het stroma van een groote bronchus in het stroma van een papillaire streng.

De aanwezige grafietkleur, in en rondom vele gezwellen, blijkt afkomstig te zijn van met zwartbruin pigment beladen cellen, die voor het meerendeel polyedrisch van vorm zijn. Deze cellen bevinden zich vaak in grooten getale in de alveolen en de bronchi, die rondom het gezwel liggen (afb. 3 en 9). Veel minder in aantal komen ze ook voor in de spleetvormige ruimten en in de bronchi, die in het gezwel liggen. Ook komen in enkele gezwelcellen dergelijke pigmentophoopingën voor.

Verspreid in het longweefsel en rondom vele gezwellen bevinden zich langwerpige vormsels van verschillende afmeting, die omgeven worden door de genoemde met pigment beladen cellen. In de gezwellen heb ik deze vormsels uitsluitend in de bronchi aangetroffen. De vormsels zijn in het haematoxyline-eosinepraeparaat rood gekleurd door de eosine. Andere eigenschappen van deze vormsels worden beschreven op pagina 63.

Metastasen langs bloed- of lymphebaan van de gezwellen heb ik nergens gevonden. Wel komen meermalen in de omgeving van de gezwellen gezwelcellen voor, die de binnenwand van de alveolen over eenige afstand bekleeden. In deze gevallen hebben we met metastasen langs de luchtweg te doen, die reeds door Tyzzer zijn beschreven.

Aangezien men slechts sporadisch gezwellen ziet, die men als metastase zou kunnen opvatten, is het zeer waarschijnlijk, dat de meeste longgezwellen primair multipel ontstaan.

Uitsluitend bij gezwel 128 komt het voor dat het papillair adenocystoom doorgegroeid is in een hiluslymphklier (zie afb. 15). Op perifeere doorsneden van de lymphklier met omgeving blijkt, dat zich alleen in 't midden van de lymphklier gezwelcellen bevinden (zie afb. 16). Dit beeld zou zonder verder serieonderzoek als metastase van een longgezwel kunnen worden opgevat.

Slechts in gezwel 123 bestaat een perivasculaire rangschikking van de gezwelcellen, met tevens een infiltratie in de breede papilloomsteel (zie afb. 12). Een dergelijke infiltratie bevindt zich ook in de papilloomsteel van gezwel 54.

Uit het serieonderzoek van alle beschreven longgezwollen blijkt, dat slechts twee gezwellen, gezwel 2 en 25a, uitgaan van het bronchiaalepitheel. Beide zijn papillomen, die eenerzijds uitpuilen in het lumen van de bronchus en anderzijds door de wand heengroeien in het omgevende longweefsel. Het aspect van deze papillomen onderscheidt zich niet van dat van de overige papillomen, waarbij een bronchogene oorsprong niet kon worden gevonden.

In zeer veel gezwellen wordt op seriedoorsneden waargenomen, dat gedeelten van het gezwel in één of meer bronchi liggen. Uit opeenvolgende seriecoupes blijkt dan, dat deze gedeelten van het gezwel zich in het longweefsel hebben ontwikkeld en van daar verder zijn gegroeid in ductuli alveolaires en bronchioli respiratorii en ten slotte gaan uitpuilen in het lumen van de bronchi zonder dat daarbij destructie van de bronchiaalwand is opgetreden. Op deze wijze van ingroeien van de longgezwollen in bronchi heeft Lettinga<sup>60</sup> reeds gewezen.

De spleetvormige ruimten, die in de longgezwollen voorkomen, staan in verbinding met de luchtwegen. Dit heb ik kunnen aantoonen door de longen van een „O20” muis, met een groot gezwel zooals bij muis 13 (zie afb. 13) voorkomt, voorzichtig op te spuiten bij lichaamstemperatuur met een 1% oplossing van zinkwitgelatine. Van deze longen zijn na fixatie in een 10% formoloplossing, ijscoupes van 15 micron dikte gemaakt. In deze coupes bevindt zich de zinkwitgelatine ook in de spleetvormige ruimten.

Welke oorsprong hebben nu de papillomateuze of adenomateuze gezwellen, waarbij niet uit het serieonderzoek blijkt, dat zij uitgaan van een bronchuswand?

Op grond van de overeenkomst tusschen het aspect van de polyedrische cellen in de papillaire strengen en dat van de gezwollen alveolairepitheelcellen, meen ik aan de gezwellen een alveolaire oorsprong te kunnen toekennen. Een dergelijke overeenkomst bestaat ook bij die adenomateuze gezwellen, waarbij het alveolair gebouwde stroma bekleed wordt door polyedrische gezwelcellen.

De papillomateuze of adenomateuze bouw van deze longgezwollen komt overeen met de longgezwollen die o.a. door Haaland, Tyzzer, Schabad, Korteweg, Samssonow<sup>61</sup>, Grady en Stewart<sup>73</sup> zijn beschreven. Kenmerkende verschillen tusschen spontane en experimenteele gezwellen van dit type zijn door mij niet waargenomen. Uit de gegevens van de verschillende

onderzoekers en uit eigen waarneming blijkt dat de experimenteele longgezwollen meestal multipel voorkomen en de spontane longgezwollen solitair.

Naast deze in de litteratuur bekende gezwollen, komt bij onze proefmuizen een serie nog niet eerder beschreven gezwollen voor. Deze gezwollen gaan uit van het bronchiaalepitheel en zijn te onderscheiden in twee typen:

het eene gezweltype is opgebouwd uit gewoekerde bronchi (zie afb. 2). Deze bronchi hangen onderling samen en gaan uit van een bestaande bronchus. Het epitheel van de nieuwgevormde bronchi onderscheidt zich niet van dit van normale bronchi. Het kubische tot cilindrische epitheel is voorzien van trilharen en bekleedt ronde, ovale en onregelmatige holten van verschillende grootte. Tusschen deze trilhaarepitheelcellen komen één of meer slijmbekercellen voor.

In de nieuwgevormde holten bevinden zich slijmdraden, polyedrische cellen met veelal kleine, ronde, donker kleurbare kern, regressief veranderde cellen en talrijke langwerpige vormsels, die omgeven zijn door phagocytterende, polyedrische cellen, beladen met zwartbruin pigment. Enkele polyedrische cellen zijn zeer groot en hebben een bleek, kleurbaar protoplasma, met schuimstructuur. Deze schuimstructuur is het gevolg van de sterke vervetting in deze cellen.

Het stroma, dat zich voornamelijk rondom de bronchi bevindt, bestaat uit talrijke dikke, elastische en reticulaire vezels. In het stroma komen capillairen en soms veel eenkernige infiltraatcellen voor.

Bij enkele gezwollen zijn de omgevende alveolen emphysemateus veranderd en grootendeels gevuld met de grootte, bleek, polyedrische cellen met schuimstructuur (zie afb. 3). In het protoplasma van deze cellen komen zwartbruine pigmentkorrels, en kleine langwerpige en onregelmatige vormsels voor (zie afb. 3). In het haematoxyline-eosine-praeparaat zijn de meeste vormsels door het eosine licht- tot donkerrood gekleurd, andere echter kleurloos.

Bij het andere gezweltype is het epitheel afkomstig van bronchioli en bekleedt de binnenwand van normale en emphysemateuze alveolen (afb. 8). Dit epitheel is uitgesproken laag kubisch en veelal voorzien van trilharen. De kernen zijn over 't algemeen smal ovaal en kleuren zich donkerpaars met haematoxyline. Het gezwelstroma, waarin capillairen en eenkernige infiltraatcellen voorkomen, is een voortzetting van het

interalveolaire stroma. Het onderscheidt zich van het interalveolaire weefsel doordat de elastische en reticulaire vezels dikker en grooter in aantal zijn. In de alveolaire holten, die met het bronchiaalepitheel zijn bekleed, komen weer talrijk de vormsels voor, die door met zwartbruin pigment beladen cellen worden omgeven (zie afb. 8). Vele kleine vormsels komen ook voor in de polyedrische cellen; deze zijn soms zeer groot en bleek en vertoonen een schuimstructuur van het protoplasma. Daarnaast komen nog in de holten slijmraden voor.

Infiltratie in het omgevende longweefsel vindt plaats door groei langs de binnenwand van de alveolen. Het gezwelstroma gaat hier zonder onderbreking over in het interalveolaire stroma.

Metastasen komen bij beide typen van gezwellen veelvuldig voor en wel uitsluitend langs de luchtweg (namelijk in zeven van de achttien gevallen). Het gemetastaseerde epitheel is kubisch tot cilindrisch van vorm, meermalen voorzien van trilharen en bekleedt over eenige afstand de binnenwand van de alveolen. Op sommige plaatsen is het epitheel meerlagig, waardoor kleine alveoli geheel gevuld zijn (zie afb. 4).

Het veelvuldigst komen beide typen tezamen in één gezwel voor. Van de achttien waargenomen gezwellen behoorden de gezwellen 1 en 5 tot het eerste type, de overige zestien tot het gemengde type. In totaal kwamen deze achttien gezwellen bij acht muizen voor, en wel uitsluitend in het bovengedeelte van de linkerlong.

De grafiетkleur in en rondom deze gezwellen wordt ook hier verklaard door de aanwezigheid van de met zwartbruin pigment beladen polyedrische cellen in de bronchiale holten en omringende alveolen.

Zijn de beschreven longgezwellen bij mijn muizen te verdeelen in goedaardige en kwaadaardige gezwellen? Voor de goedaardigheid pleit de veelal waar te nemen duidelijke afgrenzing van de gezwellen ten opzichte van het omgevende longweefsel, de expansieve groei en het ontbreken van metastasen in andere organen. Daarnaast komen in eenzelfde gezwel ook teekenen van kwaadaardigheid voor, namelijk het ontbreken van een afkapseling en het infiltratief groeien in het omgevende longweefsel, doordat uitloopers van de gezwellen over eenige afstand de plaats innemen van de alveolairwand. Slechts bij twee gezwellen (54 en 123) vindt een infiltratie van gezwelcellen plaats, en wel in de papilloomsteel, met boven-

dien bij gezwel 123 een perivasculaire rangschikking van de gezwelcellen in het stroma (zie afb. 12). Alleen bij gezwel 2 is de bedekkende pleura gedeeltelijk geïnfiltréerd met gezwelcellen. Metastasen in andere organen zijn bij geen enkel gezwel voorgekomen; wel een doorgroeien in een hiluslymphklier (gezwel 128, afb. 15 en 16). Metastasen langs de luchtweg komen echter meermalen voor. Voor de goedaardigheid van alle gezwellen pleit, dat ik in alle gevallen heb kunnen waarnemen, dat het gezwelstroma zonder onderbreking overgaat in het stroma van de alveolairsepta.

Schabad<sup>34</sup> neemt daarentegen een destructie waar van het omgevende elastische longweefsel bij de gezwellen die hij daarom kwaadaardig noemt. Metastasen van de longgezwollen in andere organen hebben alleen Slye, Holmes en Wels<sup>22</sup> in vier gevallen, en von dem Borne<sup>65</sup> in één geval waargenomen.

Uit deze beschrijvingen en uit die van de meeste onderzoekers blijkt de groote moeilijkheid van het morphologisch classificéeren van de longgezwollen bij muizen. Ik heb dan ook een verdeeling van de longgezwollen in goedaardige en kwaadaardige papillomen niet kunnen maken.

Nu is het Korteweg<sup>32</sup> gebleken dat bij de muizenstam O20 Leeuwenhoekhuis het longpapilloom, wanneer dit een zekere grootte bereikt heeft, een belangrijke doodsoorzaak vormt. Ook ik heb bij vier muizen een dergelijke doodsoorzaak waar kunnen nemen. Zoo'n groot gezwel heeft dan nagenoeg de geheele longkwab in beslag genomen. Histologisch komt de bouw van zoo'n groot papilloom overeen met die van de longpapillomen bij de proefmuizen, echter met dien verstande, dat laatstgenoemde gezwellen kleiner zijn en vele nog in een jeugdiger ontwikkelingsstadium verkeeren. In principe zijn dus al deze longgezwollen kwaadaardig voor de muis.

#### F. EIGENAARDIGE VORMSELS DIE VOORKOMEN IN DE LONGEN VAN DE „O20" MUIZEN.

In de longen van de veertien proefmuizen, die ingespoten zijn met de 1 0/0-oplossing van methylcholanthreen in lipiodol, komen vele eigenaardige vormsels voor. De meesten zijn scherp begrensd en langwerpig (zie afb. 21), enkele gebogen van vorm. Ze verschillen onderling in lengte, breedte en hoogte. De lengte varieert van 5 tot 100  $\mu$ . De uiteinden zijn recht- of scherphoekig, stomp of onregelmatig. Naast deze langwerpige

vorm komen, veel minder talrijk, nagenoeg ronde, ovale, sikkelvormige en onregelmatige vormen voor.

De langwerpige vormsels zijn omgeven door met zwartbruin pigment beladen polyedrische cellen, die veelal door het pigment geheel zwart gekleurd zijn. Het talrijkst zijn de vormsels in de holten van de gezwellen, die opgebouwd zijn uit bronchi (zie afb. 8) en in de polyedrische cellen met schuimstructuur (zie afb. 3). Daarnaast komen ze ook veel voor in de groote en kleine bronchi, die in de omgeving van de gezwellen zijn gelegen. Slechts in enkele gevallen komen de vormsels verspreid in de longalveolen voor, terwijl ze niet in de holten van die longgezwollen zijn waargenomen, die een papillomateuze of adenomateuze bouw hebben.

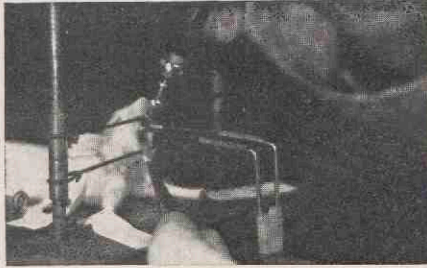
Soortgelijke vormsels zijn in de longen van muizen waargenomen door Haaland, Tyzzer, Slye, Holmes en Wells. Haaland beschrijft ze als sterk kleurbare lichamen zonder bepaalde structuur, die voorkomen in de holten van sommige kleine bronchi, welke in verbinding staan met de longgezwollen. Tyzzer beschouwt ze evenals Slye c.s. als kristallen die af en toe voorkomen in phagocytterende cellen.

Hoe het ook zij, de aard en de herkomst van deze vormsels respectievelijk kristallen is onbekend.

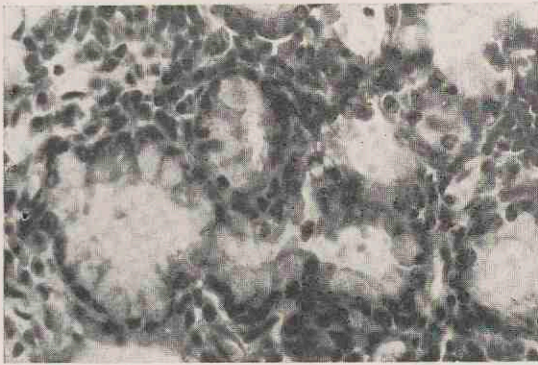
Straub<sup>67</sup> heeft er op gewezen dat bij de „O20" stam van het Leeuwenhoekhuis zeer vaak haarfragmenten werden gevonden in de longen. Volgens deze onderzoeker zijn die haarfragmenten identiek met hetgeen door de bovengenoemde onderzoekers als kristallen is beschreven.

Uit een mededeeling<sup>68</sup> op de Nederlandsche Patholoog-Anatomenvergadering blijkt, dat ik dergelijke langwerpige vormsels, die voorkomen bij de veertien proefmuizen als kristallen heb beschouwd en op grond van de overeenkomst van deze kristallen in vorm en heldergroene fluorescentie in ultraviolet licht met het methylcholanthreen ze identiek geacht heb met methylcholanthreenkristallen.

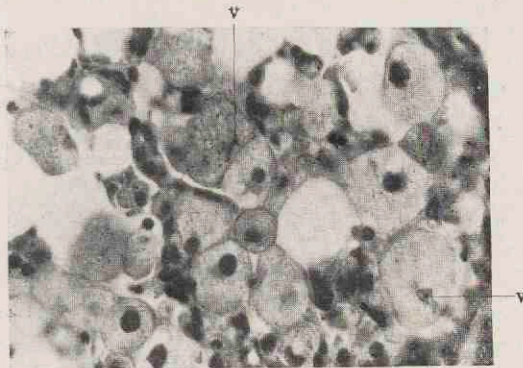
Dat een gezwelverwekkende koolwaterstof, dibenzanthraceen, die in depôtvorm bij het proefdier wordt ingebracht, nog minstens zes tot acht maanden na de inspuiting in betrekkelijk groote hoeveelheid in het tot ontwikkeling gekomen gezwel aanwezig is hebben o.a. Lorenz en Shear<sup>69</sup> en Lettinga<sup>70</sup> door middel van het absorptie spectrum aangetoond. Shear<sup>71</sup> vond acht maanden na de subcutane injectie van kristallen van 4' methyl-3:4 benzopyreen vele van deze kristallen nog terug op



Afb. 1.  
De opstelling van de muis tijdens een intratracheale injectie.

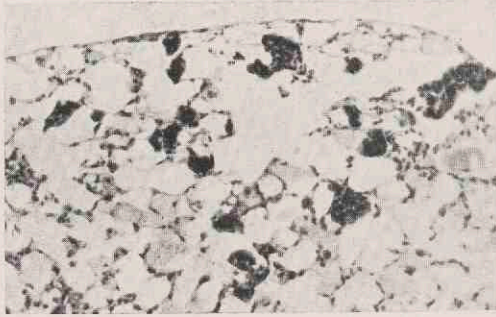


Afb. 2.  
Bronchogeen gezwel (gezwel 1), opgebouwd uit gewoekerde bronchi van verschillende vorm en grootte. De bronchi blijken bij serieonderzoek met elkaar samen te hangen en uit te gaan van een hoofdbronchus. Duidelijk is het eenrijige, cilindrische trilhaarepitheel en de daartusschen gelegen slijmbekercellen. Rondom de bronchi veel eenkernige infiltraatcellen.



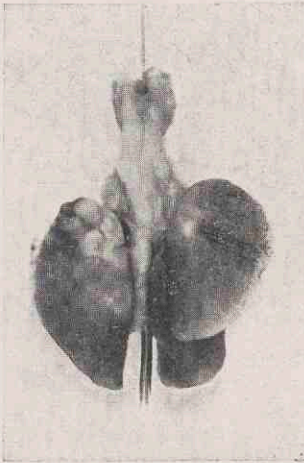
Afb. 3.  
Grote, bleke polyedrische cellen met schuimstructuur en kleine, donker gekleurde kern, in de alveolen rondom het gezwel 1.  
In het protoplasma van deze cellen komen kleine, zwartbruine partikels en langwerpige vormsels (v) voor.





Afb. 4.

Metastase van kubisch tot cilindrisch trilhaarepitheel van gezwel 1 langs de binnenwand van de alveolen. De aard van het epitheel is bij deze kleine vergrooting niet te herkennen. De emphysemateuse alveolen zijn op vele plaatsen met dit epitheel opgevuld.



Afb. 5.

Dorsale zijde van de longen van muis 4.

In het bovengedeelte van de linkerlong bevindt zich een knobbelig, glazig complex van zes gezwelletjes (36 tot en met 41), die tendeele grafietachtig verkleurd zijn evenals het omgevende longweefsel. In het middengedeelte van de linkerlong schemert langs de achterrand nog een gezwelletje (43) door.

In de rechterlong bevindt zich in de onderkwab een vlak gezwelletje en in de bovenkwab schemert er een door.



Afb. 6.

Mediastinale zijde van de linkerlong van muis 4.

In het bovengedeelte bevindt zich een glazig complex van negen ronde of ovale gezwelletjes (44 tot en met 52), die duidelijk boven het longoppervlak promineeren.

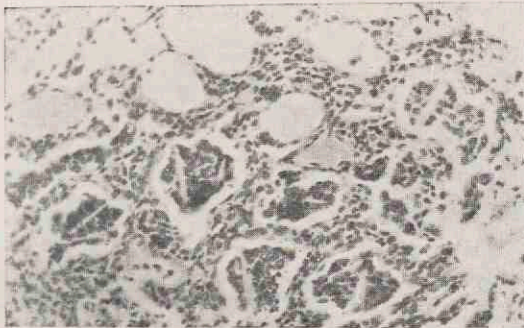
In en rondom enkele gezwelletjes is het weefsel grafietachtig van kleur.



Afb. 7.

Röntgenfoto van muis 6, die 150 dagen na de intratracheale injectie met  $0,01 \text{ cm}^3$  van de 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol gemaakt is.

In het bovenveld van de linkerlong zijn nog twee puntvormige schaduwen aanwezig. De schaduwen projecteeren zich aan de ventrale zijde van de borstkas, ter hoogte van de tweede rib.

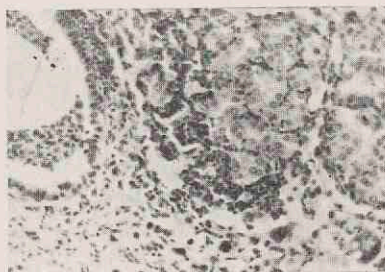


Afb. 8.

Bronchogeen gezwel (102), opgebouwd uit gewoekerde bronchi. De bronchiale holten zijn onregelmatig van vorm, en grooter dan een long-alveolus. Het bekleedende epitheel is laag kubisch. Bij sterker vergrooting zouden trilharen zijn te onderscheiden. De meeste kernen zijn smal, ovaal en donker.

In de holten veel zwartbruin pigment en veel langwerpige vormsels. Het zwartbruin pigment blijkt zich te bevinden in polyedrische cellen, die de vormsels omgeven.

Linksboven nog een klein gedeelte van het normale longweefsel. Op de overgang van dit weefsel naar het gezwel nemen korte uitlopers van het gezwel de plaats in van de aangrenzende alveolairwanden.



Afb. 9.

Randgebied van gezwel 100, waarin nog iets van adenomateuze bouw is te herkennen. De kernen zijn blazig en rond of ovaal. Met haematoxyline kleurt de kernmembraan zich donkerpaars, de chromatinesubstantie zeer lichtpaars.

De celgrenzen zijn niet duidelijk; het protoplasma wordt door eosine licht-rood gekleurd.

Het stroma is gekenmerkt door celrijkdom en sterke affiniteit ten opzichte van haematoxyline.

In de groote bronchus (linksboven) en de omgevende alveolen (onder) bevinden zich vele polyedrische cellen, die beladen zijn met zwartbruin pigment.



Afb. 10.

Röntgenfoto van muis 10, dadelijk na de intratracheale injectie met  $0,02 \text{ cm}^3$  van de 1% oplossing van methylcholanthreen in lipidol gemaakt.

In het midden- en benedenveld van de linkerlong strekt zich een druiventrosvormige schaduw uit. In het thoracale verloop van de trachea en in het verloop van de linkerhoofdbronchus bevinden zich drie streepvormige schaduwen.



Afb. 11.

Röntgenfoto van muis 11, 196 dagen na de intratracheale injectie met  $0,02 \text{ cm}^3$  van de 1% oplossing van methylcholanthreen in lipidol gemaakt.

In het bovenveld van de rechterlong zijn nog vier puntvormige schaduwen aanwezig, terwijl drie dergelijke schaduwen ter hoogte van de bifurcatie zijn gelegen.



Afb. 12.

Papillomateuze bouw van gezwel 123 (muis 13).

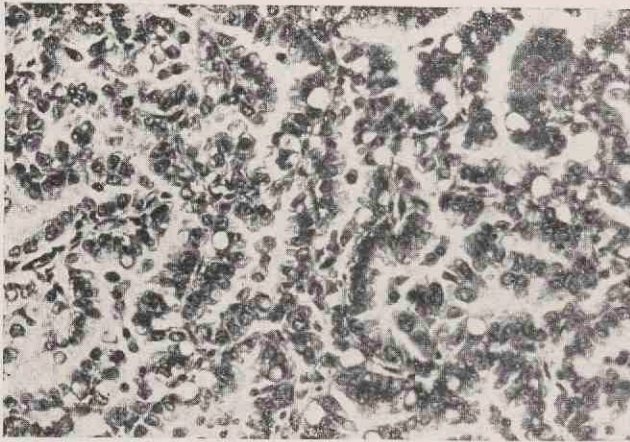
Een breede papilloomsteel vertakt zich in alle richtingen in fijne papillen, die betrekkelijk breede, spleetvormige ruimten begrenzen. In de papilloomsteel liggen, rondom capillairen, groepjes van gezwelcellen gerangschikt. Tevens vindt een infiltratie van gezwelcellen plaats in de steel van het papilloom.



Afb. 13.

Dorso-laterale zijde van de rechterlong van muis 13.

Van de onderkwab gaat een bloemkoolvormig, glazig, wit gezwel (123) uit; de afmetingen bedragen 5 mm, 5 mm en 6,75 mm.



Afb. 14.

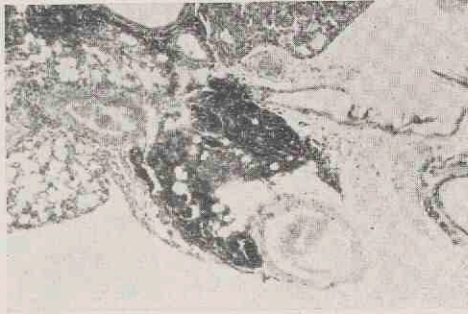
Een perifeer gedeelte van het papilloom van muis 13, met grootdruppelige vervetting in de cilindrische cellen. De holten geven de plaatsen aan waar de vetdruppels hebben gelegen. De kernen zijn daardoor veelal sikkelvormig tegen de celwand gedrukt. De overige kernen zijn blazig, rond, ovaal of onregelmatig van vorm en kleuren zich licht- tot donkerpaars met haematoxyline. De cilindrische cellen bekleeden eenzijdig het vertakte stroma, anderzijds de spleetvormige ruimten. In deze ruimten komen polyedrische cellen voor, die al of niet regressief veranderd zijn.

Het stroma, waarin capillairen voorkomen, blijkt bij de azankleuring volgens Heidenhain uit reticulair vezels te bestaan. Bij de elastica kleuring volgens Weigert blijken er weinig of geen elastische vezels in voor te komen.



Afb. 15.

Doorgroeien van het papillair adenocystoom (gezwel 128) in de hiluslymfklier. Rechtsonder is nog een gedeelte van de A. pulmonalis zichtbaar.



Afb. 16.

Perifeere doorsnede door de linkerlonghilus (in het midden) de A. pulmonalis, de linkerlong (linksboven) en de linkerhoofdbronchus (rechts).

In het midden van de hiluslymphklier bevinden zich gezwelcellen die afkomstig zijn van gezwel 128. Bij het serieonderzoek blijkt, dat dit gezwel in de lymphklier is doorgegroeid. De gezwelcellen zijn dus niet als metastase op te vatten van gezwel 128.



Afb. 17.

Gedeelte van een longgezwel, opgebouwd uit papillaire strengen, die spleetvormige ruimten begrenzen. Azankleuring volgens Heidenhain.

De pleura is verdikt door eenkernige infiltraatcellen en reticulair vezels. Deze vezels gaan gedeeltelijk over in het reticulair stroma van de papillaire strengen, die in palissadestand gerangschikt zijn. Tusschen de enkele laag van polyedrische cellen, die dit stroma bekleeden, bevinden zich fijne takjes van het centrale stroma.

In de spleetvormige ruimten liggen drie polyedrische cellen en een kernloze cel met schuimstructuur.

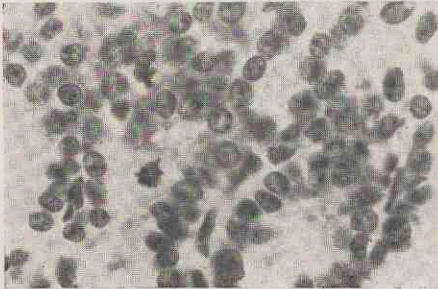


Afb. 18.

Gezwel opgebouwd uit papillaire strengen.

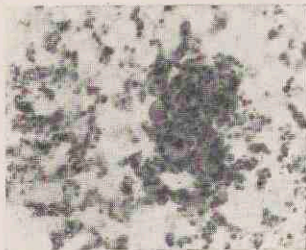
In vele gezwelcellen komen vacuolen voor, die overeenkomen met de plaatsen waar oorspronkelijk vetdruppeltjes hebben gelegen.

Rechtsboven is nog een gedeelte van het cilinderepithel van een groote bronchus zichtbaar. Het stroma rondom de bronchus zet zich gedeeltelijk in de papillaire strengen voort.



Afb. 19.

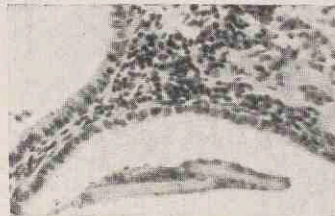
Kerndeelingsfiguur in een polyedrische cel, die in een spleetvormige ruimte ligt. Het gezwel zelf is opgebouwd uit papillaire strengen.



Afb. 20.

Begin van gezwelontwikkeling rondom de ingespoten lipiodol-methylcholanthreenoplossing. Deze oplossing vinden we terug als druppeltjes in de alveolen.

Het gezwel heeft zich drie maanden na de intratracheale injectie met  $0,02 \text{ cm}^3$  der oplossing ontwikkeld; de muis was toen vijf maanden oud.



Afb. 21.

Twée scherp begrensde langwerpige vormsels, omgeven door met zwartbruin pigment beladen cellen. De vormsels liggen in de holte van een bronchus.

de injectieplaats in het gezwel. Ook heb ik me er zelf van kunnen overtuigen, dat bij ratten na onderhuidsche inspuiting met een oplossing van 10 mgr methylcholanthreen in een  $\frac{1}{2}$  cm<sup>3</sup> olijfolie, nog minstens zeven maanden na de injectie groote hoeveelheden methylcholanthreen in de vorm van kristallen in de ijscoupes van het zich ontwikkelende gezwel aanwezig zijn. Dit is aanleiding geweest om ook in de longcoupes van de proefmuizen naar methylcholanthreenkristallen te zoeken. Het is dus niet gezocht dat ik de gevonden langwerpige vormsels op grond van de genoemde overeenkomsten voor methylcholanthreenkristallen heb gehouden.

Bij het verdere onderzoek is echter gebleken dat de vormsels geen methylcholanthreenkristallen en zelfs heelemaal geen kristallen zijn.

I. Het aantonen dat de vormsels geen methylcholanthreenkristallen zijn:

aangezien de vormsels voorkomen in de paraffinecoupes van de longen, is nagegaan of methylcholanthreenkristallen oplossen in de reeks vloeistoffen, die gebruikt worden om van gefixeerd weefsel, via insluiten in paraffine, microscopische praeparaten te maken. Om dit na te gaan zijn ijscoupes van sarcomen van ratten gebruikt, waarin methylcholanthreenkristallen nog in groote hoeveelheden voorkomen.

Worden nu deze coupes gebracht in toluol, xylol, carbolxylol of canadabalsem, dan lossen de methylcholanthreenkristallen daarin gemakkelijk op, daarentegen moeilijk in absolute alcohol.

Men zou kunnen veronderstellen, dat de methylcholanthreenkristallen in het longweefsel omhuld zijn door een colloïdale laag, die het oplossen in de genoemde vloeistoffen tegengaat. Zoo'n colloïdale laag is nagebootst door de methylcholanthreenkristallen te suspendeeren in eiwit en daarna te coaguleeren door verwarming of fixatie in formol. Ook dan blijken de kristallen, hoewel iets minder snel, op te lossen in de bovengenoemde vloeistoffen.

Een afdoend bewijs echter dat de vormsels geen methylcholanthreenkristallen zijn levert de bepaling van de smeltpunten onder het microscoop. Het gebruikte methylcholanthreen smelt bij 170° C. Het gedrag van de vormsels werd in de paraffinecoupes van de longen nagegaan, na eerst de paraffine door toluol en absolute alcohol te hebben verwijderd. De eerste



zichtbare verandering treedt op bij 250° C. Het longweefsel en de vormsels krijgen een lichtbruine kleur; de coupe ziet er geschroeid uit. Bij hooger verhitten wordt de kleur van beiden steeds donkerder bruin; bij 320° C hebben het longweefsel en de vormsels een bruinzwarte kleur aangenomen en bij 330° C is alles zwart geworden. Ook boven de 330° C is nog verhit en wel tot 360° C echter zonder dat de vormsels gingen smelten.

Uit het gedrag van de vormsels bij verhitting mogen we besluiten dat het geen methylcholanthreenkristallen zijn en uit de verkoling die optreedt bij de verhitting dat ze geheel of gedeeltelijk organisch zijn. Met groote zekerheid blijkt, dat het hierbij niet om kristallen van een betrekkelijk eenvoudige chemische verbinding gaat, daar deze zeker bij 360° C reeds gesmolten zouden zijn.

## II. Het aantonen dat de vormsels geen kristallen zijn:

Dr. Schouten was zoo vriendelijk om voor mij de eigenschappen van de vormsels met behulp van zijn micromanipulator<sup>72</sup> na te gaan. Voor dit onderzoek zijn de paraffinecoupes van de longen na verwijdering van de paraffine zeer geschikt. In deze ongekleurde coupes zijn de vormsels niet geheel en al doorzichtig. Er is een eenigszins draderige structuur in te herkennen. De eigenschappen van de vormsels zijn nu zoowel in gekleurde als ongekleurde coupes bestudeerd.

Allereerst wordt met de naald van de micromanipulator een doorgang gebaad van de periferie van het longweefsel naar de vormsels, door het omliggende longweefsel weg te trekken. Hierbij valt op de groote elasticiteit van de wand van de alveolen. Vervolgens wordt het vormsel met de omgevende phagocyteerende cellen, die zich in de meeste gevallen in de holte van een bronchus bevinden met de punt van de naald door de wand van de bronchus getrokken. Met behulp van een of twee naalden worden de phagocyteerende cellen op kleine fragmenten na, van het vormsel afgebrokkeld. Het aldus geïsoleerde vormsel blijkt de volgende eigenschappen te bezitten:

1. het is in alle richtingen gemakkelijk buigbaar en komt bij kleine excursies gedeeltelijk in zijn oorspronkelijke stand terug. Met de naald kan men het vormsel indrukken en na opheffen van de druk verdwijnt de deuk. Ook zijn er stukjes uit te trekken.

2. door fixeeren van het vormsel aan het eene uiteinde en

trekken aan het andere uiteinde kan het tot meer dan tweemaal zijn oorspronkelijke lengte worden uitgerekt. Het vormsel wordt dan uitgerekt tot een draad, die tenslotte breekt en retraheert. Is de elasticiteitsgrens van het vormsel niet overschreden, dan neemt het na opheffen van de rekking zijn oorspronkelijke vorm weer aan. De buigzaamheid en elasticiteit van het vormsel met zijn eenigszins draderige structuur wijst op een slijmige consistentie en sluit een kristal uit. De slijmige consistentie is vooral duidelijk wanneer het vormsel uit elkaar getrokken wordt. De eigenschappen van het longweefsel verschillen sterk van die van de vormsels. De wanden van de alveolen zijn veel minder elastisch, het bronchiaalepitheel brokkelt af bij trekken en de polyedrische cellen met een schuimstructuur brokkelen af in fragmenten wanneer er aan getrokken wordt.

III. Het aantonen dat de vormsels geen haren of haarfragmenten zijn:

van uitgetrokken en fijngeknipte haren van de „O20” muizen zijn paraffinecoupes gemaakt en op overeenkomstige wijze onderzocht met de micromanipulator.

Het blijkt dan dat de haren zoo enorm stug zijn, dat de naalden er op afbreken en van uitrekken is geen sprake. Wel lukt het van de haarschors de schubjes af te halen. Ook wanneer men met Straub meent, dat de vormsels bij de „O20” muizen geaspireerde haren of haarfragmenten zijn, die in de longen veranderingen hebben ondergaan, dan pleit de slijmige consistentie en vooral ook de elasticiteit van de vormsels daar sterk tegen.

IV. Andere eigenschappen van de vormsels:

1. Het gedrag van de vormsels ten opzichte van sterk zwavelzuur bij verwarming.

Voor de gelijkmatige verwarming dient het verwarmingstoestel<sup>1)</sup>, dat gebruikt wordt om het smeltpunt van kristallen microscopisch te bepalen. Van de paraffinecoupes die daarvoor in aanmerking komen, is de paraffine verwijderd en na drogen zijn de coupes ingesloten in een druppel sterk zwavelzuur. Bij het bekijken van zoo'n coupe onder het microscoop bij

---

1) Micro-smeltpuntmicroscoop volgens Kofler.

kamertemperatuur, blijken zoowel het longweefsel als de vormsels in gelijke mate doorzichtiger geworden te zijn. Bij stijgen de temperatuur worden de vormsels en het longweefsel steeds meer doorzichtig, totdat bij omstreeks  $95^{\circ}$  C beiden oplossen. Het blijkt dus dat de vormsels zich bij de behandeling met sterk zwavelzuur op dezelfde wijze gedragen als het longweefsel.

2. Het gedrag van de vormsels ten opzichte van natronloog 33 % bij verwarming.

Wanneer de coupes ingesloten worden in loog van 33 %, kristalliseert bij de langzame verwarming een gedeelte van het NaOH uit. Daarom is uitgegaan van een natronloogoplossing van 15 % in de veronderstelling dat bij het bereiken van een temperatuur van omstreeks  $90^{\circ}$  C zooveel van het water verdampst is dat de concentratie van de oplossing dan ongeveer 33 % bedraagt. Het blijkt nu dat bij kamertemperatuur en ook bij stijgen van de temperatuur tot ongeveer  $85^{\circ}$  C het longweefsel en de vormsels minder doorzichtig blijven, dan wanneer ze ingesloten zijn in sterk zwavelzuur. Bij omstreeks  $85^{\circ}$  C beginnen de vormsels en het longweefsel op te lossen en bij  $87^{\circ}$  C zijn ze beide opgelost. Met andere woorden is ook bij verwarming met een sterke natronloogoplossing geen verschil in gedrag te zien tusschen longweefsel en vormsels.

Op dezelfde wijze als voor de vormsels is beschreven, is het gedrag van muizenharen van de „O20” stam nagegaan bij droge verhitting en verhitting met sterk zwavelzuur respectievelijk natronloog 33 %. Bij droge verhitting bestaat geen duidelijk verschil in gedrag met de vormsels. Met sterk zwavelzuur zijn bij  $95^{\circ}$  C de haren nog aanwezig terwijl ze pas oplossen bij omstreeks  $120^{\circ}$  C. Met de natronloog lost bij  $85^{\circ}$  C de schors op terwijl het merg van de haren nog aanwezig blijkt, bij verhitten tot  $100^{\circ}$  C. Dus ook bij verwarming met zwavelzuur en natronloog gedragen de haren zich geheel anders dan de vormsels.

3. Gedrag in gepolariseerd licht en fluorescentiebeeld van de vormsels, de methylcholanthreenkristallen en de haren.

Bij inwerking van gepolariseerd licht vertoonen de meeste vormsels geen dubbelbreking, daarentegen de methylcholanthreenkristallen en de haren wel. Bovendien is de dubbelbreking, die enkele vormsels of gedeelten ervan vertoonen, gering.

Onder de fluorescentiemicroscoop fluoresceeren de meeste vormsels helder blauwgroen, sommigen echter helderblauw, de methylcholanthreenkristallen intensief heldergroen. De

haren van de „O20” muizen fluoresceeren blauw, waarbij de mergcellen helderder van kleur zijn dan de schors. Sommige haren vertoonen een meer matgroene fluorescentie.

4. De affiniteit van de vormsels ten opzichte van bepaalde kleurstoffen, vergeleken met methylcholanthreenkristallen en haren.

Met eosine of azophloxine kleuren de vormsels zich licht- tot donkerrood, uitgezonderd enkele die ongekleurd blijven. De fraaiste kleur, namelijk karmijnrood nemen de vormsels aan met azokarmijn. Ze kleuren zich hiermede veel intensiever dan de kernen in het longweefsel. Kleuringen die er op zouden kunnen wijzen, dat we met slijm (mucikarmijn), elastisch weefsel (orceine, recorcine-fuchsine), collageenweefsel (azankleuring), of amyloid (congorood, jodiumreactie, methylviolet of gentiaanviolet) te maken zouden hebben vielen negatief uit. Wel worden de omtrekken van de vormsels met orceine en recorcinofuchsine iets bruin-rood respectievelijk iets zwart gekleurd. Door methyl- en gentiaanviolet kleuren de vormsels zich blauw. Met van Gieson geel en volgens Gram worden ze door het fuchsine rood gekleurd. Geen kleuring treedt op met scharlakenrood. Het resultaat van al deze kleuringen voor het vergelijken van de kleuraffiniteit van de vormsels met die van de methylcholanthreenkristallen en de haren, is dat azokarmijn daarvoor het meest in aanmerking komt; dan volgt azophloxine- of eosinekleuring.

Het blijkt vervolgens, dat methylcholanthreenkristallen zich niet met een van de laatstgenoemde kleurstoffen laten kleuren.

Rest nog na te gaan waar deze vormsels vandaan komen. Aangezien de vormsels zich fraai laten kleuren met azokarmijn, is deze kleurstof gebruikt om ze in de coupes te bestudeeren. Uit dit onderzoek blijkt, dat soortgelijke intensief roodgekleurde gedeelten één geheel uitmaken met meerdere bronchiaal-epitheelcellen. Waarschijnlijk zijn dus de vormsels een secretieproduct van het bronchiaal-epitheel. Hiervoor pleit ook:

1ste dat de vormsels het talrijkst zijn in de holten van gewoekerde bronchi;

2de de slijmige consistentie;

3de het overeenkomstig gedrag van de vormsels en het longweefsel met sterk zwavelzuur en natronloog bij verwarming. Slechts enkele vormsels komen voor bij de contrôlemuizen,

en dan nog uitsluitend in die longen, waar zich een spontaanlonggezwel heeft ontwikkeld. Met andere woorden, er bestaat een verband tusschen de aanwezigheid van de vormsels en de longgezwellen. Ik stel mij voor dat het bronchiaalepitheel tot secretie van deze vormsels geprikkeld wordt. Deze prikkeling kan tot stand komen door directe prikkeling van het bronchiaalepitheel door het aanwezige longgezwel of door de meer of mindere dyspnoe die de muizen met longgezwellen vertoonen. Mogelijk speelt in 't laatstgenoemd geval zich iets dergelijks af als bij asthma bronchiale van den mensch. Ook hier vinden we een dyspnoe en een slijmproductie in de bronchi.

---

## HOOFDSTUK IV.

### PERITRACHEALE INJECTIES MET METHYLCHOLANTHREEN BIJ MUIZEN VAN DE ALBINOSTAM „O20 LEEUWENHOEKHUIS”.

Bij de intratracheale injectietechniek is de kans op beschadiging van het epitheel der luchtwegen gering. Dit blijkt uit het resultaat van de intratracheale injecties bij de veertien proefmuizen. Hierbij worden aan het einde van de proef uitsluitend longgezwollen waargenomen, die ontstaan zijn uit alveolair- of bronchiaalepitheel. Gezwollen uitgaande van het epitheel van de trachea kwamen niet voor, ofschoon juist dit epitheel kans liep verwond te worden door de ingebrachte canule.

De onderstaande proevenreeks is er op gericht, het epitheel en het bindweefsel van de trachea te beschadigen en in aanraking te brengen met de 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol.

De beschadiging geschiedt als volgt: de canule wordt op de besproken wijze in de trachea gebracht en dan over een korte afstand door de bifurcatie gestoken.

Als injectievloeistof dient de 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol 40%, zoodat dadelijk na de inspuiting en gedurende het leven van de muis het lipiodol met het methylcholanthreen door middel van Röntgenfoto's kan worden gelocaliseerd.

Aan het einde van de proef zijn de organen van de borstholte in samenhang uitgenomen en gefixeerd in een formoloplossing van 10%. Na insluiten in paraffine zijn serie-coupees gemaakt ter dikte van 7  $\mu$ .

### BESCHRIJVING VAN DE PERITRACHEALE INJECTIES MET DE 1% OPLOSSING VAN METHYLCHOLANTHREEN IN IN LIPIODOL 40%.

Muis 19 ♂ geb. 22-11-'38.

28-1-'39. Ingespoten 0,03 cm<sup>3</sup> van een 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol. Tijdens de injectie wordt de muis gedurende korte tijd dyspnoisch.

Bij het doorlichten geeft het bovenveld van de linkerlong een scherp

begrensde schaduw. Een dergelijke schaduw bevindt zich ook rechts van de wervelkolom, vlak boven de hartschaduw.

15-5-'39 De muis vertoont verschijnselen van ademnood:

een diepe ademhaling, waarbij de bek geopend is en een cyanose van snuit, pooten en staart. De rechter borstkashelft is uitgezet ten opzichte van de linker. De muis is vermagerd, eet niet en zit stil in de kooi.

19-5-'39 De muis sterft onder het beeld van sterke ademnood.

Bij de sectie worden uitsluitend in de organen van de borstholte afwijkingen gevonden.

De *pleuraholten* zijn ledig. De linkerlong is geheel samengevallen en heeft een donkerroode kleur; er bevinden zich talrijke kleine gezwollen aan het oppervlak. De rechterlong valt niet samen en heeft een bleekroode kleur.

#### *Mediastinum:*

in het mediastinum bevindt zich hoofdzakelijk aan de ventrale zijde van de trachea een knobbelig, glazig, wit gezwel (1). Het gezwel heeft vlak boven de hartbasis en rechts van de mediaanlijn zijn grootste uitbreiding. Van de thymus is niets meer terug te vinden.

#### *Macroscopische beschrijving van de longgezwollen.*

##### *Dorsale zijde van de linkerlong:*

in het bovenveld schemeren drie onregelmatige, glazige, grijs-gele gezwollen door (134 tot en met 136). Hun grootste afmeting bedraagt 0,5 mm. Bovendien bevinden zich daar nog twee andere scherp begrensde gezwollen (137 en 138), waarvan het eene rond, het andere onregelmatig van vorm is. Het ronde gezwel heeft een doorsnede van 0,5 mm, het onregelmatige een grootste lengte van 3,8 mm, een grootste breedte van 1,8 mm. Beiden liggen in een zeer bleekrood longweefsel.

In het middenveld schemeren drie onregelmatige, glazige, grijs-gele gezwollen door (139 tot en met 141). Hun grootste afmeting bedraagt 0,5 mm.

In het benedenveld schemeren vijf onregelmatige, glazige, grijs-gele gezwollen door (142 tot en met 146). Hun grootste afmeting bedraagt 0,5 mm. Een zesde gezwel (147) is scherp begrensd en rond. De doorsnede hiervan bedraagt eveneens 0,5 mm.

##### *Mediastinale zijde van de linkerlong:*

in het bovenveld bevinden zich rondom de intreeplaats van de hoofdbronchus drie ronde, scherp begrensde, glazige, grijs-witte, vlakke gezwollen (148 tot en met 150). Hun doorsnede bedraagt achtereenvolgens 0,7 mm, 1 mm en 1,7 mm. Een overeenkomstig gezwel ligt in de voorrand (151). Hiervan bedraagt de doorsnede 1,7 mm.

In het middenveld bevinden zich twee scherp begrensde, ronde, glazige, witte gezwollen (152 en 153) op een afstand van 2 mm van de voorrand vlak onder elkaar. Hun gezamenlijke doorsnede bedraagt 2 mm.

In de voorrand liggen twee ovale, glazige, witte gezwollen (154 en 155). De grootste afmetingen daarvan bedragen 1,5 mm en 1 mm.

#### *Microscopie:*

*Gezwel 1* is opgebouwd uit een kwaadaardige woekering van plaveisel-epitheel- en bindweefselcellen. Het plaveisel-epitheel ligt als eilandjes, met grillig verlopende uitloopers, te midden van een losmazig sarcoomweefsel (zie afb. 22).

In vele epitheelilandjes en uitloopers komen holten van verschillende omvang voor. Deze holten zijn geheel of gedeeltelijk opgevuld met verhoorde plaveiselepitheelcellen.

Het sarcoomweefsel vormt als het ware het stroma van het plaveiscelencarcinoom, en bestaat voornamelijk uit spoelvormige cellen, die bundelvormig gerangschikt zijn. De spoelvormige cellen eindigen in fijne collageene fibrillen, die een fijn netwerk tusschen deze cellen vormen.

De cellen zijn verschillend van grootte, vorm en kleurbaarheid; het cytoplasma is tamelijk sterk acidofiel. De kernen zijn eveneens verschillend van grootte, vorm en kleurbaarheid. Vele zijn blazig en hebben een fijne, duidelijke membraan, die zich met haematoxyline donkerpaars kleurt, terwijl de chromatinesubstantie zeer lichtpaars gekleurd wordt. Bij andere kernen kleuren zich zoowel de membraan als de chromatinesubstantie donkerpaars.

In het sarcoomweefsel bevinden zich verder: bloedvaatjes met teere wanden, necrose, enkele reuscellen en holten van verschillende omvang. Deze holten beantwoorden aan de plaats waar oorspronkelijk de lipiodolmethylcholanthreenoplossing heeft gelegen.

Onregelmatige kerndeelingsfiguren komen in de plaveiselepitheelcellen en in de sarcoomcellen veelvuldig voor.

Histologisch is het gezwel een carcino-sarcoom, dat infiltratief groeit in thymus, spieren en vetweefsel. Metastasen worden waargenomen in de lymphklieren rondom de trachea en rondom enkele bloedvaatjes in het mediastinum.

Bij het serieonderzoek blijkt, dat het carcino-sarcoom uitgaat van het epitheel van trachea, dat ter hoogte van de bifurcatie is gelegen.

De longgezwellen hebben alle een papillomateuze bouw.

Muis 20 ♂ geb. 22-11-'38.

28-1-'39 Ingespoten 0,02 cm<sup>3</sup> van een 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol.

Bij het doorlichten blijkt het mediastinum een schaduw te geven, die zich vooral rechts van de wervelkolom ter hoogte van de eerste tot de derde rib uitstrekt. De caudale begrenzing wordt gevormd door de schaduw van de hartbasis. Bovendien geeft het bovenveld van de linkerlong een schaduw.

20-6-'39 De muis vertoont verschijnselen van ademnood: een diepe ademhaling waarbij de bek geopend is, cyanose van oogen, snuit, pooten en staart. De muis is vermagerd, eet niet en zit stil in de kooi.

27-6-'39. Dyspnoe en cyanose zijn minder geworden en de eetlust is verbeterd. De muis is wat levendiger, maar is zeer vermagerd.

Röntgenfoto: de geheele linkerthoraxhelft is gesluierd, lateraal het meest. Dit laterale gebied heeft de vorm van een driehoek, waarvan de top in de axillairlijn ligt, ter hoogte van de derde rib, waarvan de basis wordt gevormd door het diaphragma, ter hoogte van de tiende rib (laagstand) en waarvan de schuine zijde wordt gevormd door een naar lateraal iets convexe lijn. De hartschaduw is naar rechts verplaatst. Dit alles wijst op vocht in de linker pleuraholte.

Bovendien bevinden zich voor en rechts naast de wervelkolom, ter hoogte van de eerste tot de derde rib, puntvormige uitsparingen.

3-7-'39 De muis vertoont weer sterke dyspnoe, cyanose en zit stil in de kooi.



4-7-'39 De muis sterft onder het beeld van sterke ademnood.

Bij de sectie worden uitsluitend in de organen van de borstholte afwijkingen gevonden.

*Mediastinum:*

in dit deel van de thorax ligt een groot, onregelmatig, knobbelig, wit en glazig gezwel (2), dat vergroeid is met de hartbasis. De grootste uitbreiding ligt aan de ventrale zijde van de trachea en overschrijdt links de hartgrens. De bovengrens wordt gevormd door de apertura thoracis superior. De grootste lengte en breedte bedragen 10 mm en 5 mm, de voorachterwaartsche afmeting bedraagt 5 mm. Thymus, linker- en rechterhartoor en de vaten, die van en naar het hart gaan, zijn, evenals de aorta ascendens, in het gezwel opgenomen. De longen, de slokdarm en de achterzijde van de trachea liggen vrij.

Het hartzakje is verdikt en aan de basale zijde met het gezwel vergroeid; door het hartzakje schemert aan de caudale zijde een glazige, witte knobbel door.

*Pleuraholten:*

de linker en rechterpleuraholten bevatten helder bruin-geel vocht, links meer dan rechts. Het diaphragma staat laag.

*Longen:*

linker en rechterlong zijn wat samengedrukt en aan het oppervlak bevinden zich enkele gezwellen.

*Dorsale zijde van de linkerlong:*

in het bovenveld bevindt zich, vlak onder de bovenrand, een scherp begrensd rond, prominierend, glazig, grijs-geel gezwel (156). De doorsnede daarvan bedraagt 1 mm.

*Dorsale zijde van de rechterlong:*

in de middenkwab bevinden zich naast elkaar op de overgang van beneden- in voorrand twee dergelijke gezwellen (157 en 158). De gezamenlijke afmeting bedraagt 1 mm. In de onderkwab bevindt zich op de overgang van achter-in onderrand eveneens een rond gezwel (159). De doorsnede bedraagt 0,6 mm.

*Microscopie:*

gezwel 2 is een spoelcellensarcoom, waarvan de bouw in groote trekken overeenkomt met die van gezwel 3. Het gezwel groeit infiltratief in hartzakje, hartspier, vaten, thymus, lymphklieren en mediastinaal bindweefsel. Metastasen ontbreken.

De longgezwellen hebben alle een papillomateuze bouw.

Muis 21 ♂ geb. 22-11-'38.

28-1-'39 Ingespoten 0,015 cm<sup>3</sup> van een 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol. Bij het doorlichten geeft het mediastinum een schaduw.

6-5-'39 De muis vertoont verschijnselen van ademnood: een diepe ademhaling, waarbij de bek geopend is, cyanose van oogen, snuit, pooten en staart. De muis is vermagerd, eet niet en zit stil in de kooi. Door vochtonthouding nemen de verschijnselen van ademnood aanvaankelijk af.

22-5-'39 De muis sterft onder het beeld van sterke ademnood. Bij de sectie worden uitsluitend in de organen van de borstholte afwijkingen gevonden:

*Mediastinum.*

in het mediastinum bevindt zich een groot, onregelmatig, knobbelig, wit en glazig gezwel (3), dat zich uitstrekt van de apertura thoracis superior tot de hartbasis. Deze afstand bedraagt 5 mm. Het gezwel is vergroeid met de linkervorkamer en heeft zich tot in het bovengedeelte van de linkerpleuraholte uitgebreid. De breedte van het gezwel bedraagt op die hoogte 10 mm. De thymus en de vaten, die van en naar het hart gaan, zijn, evenals de trachea, de slokdarm en de aorta descendens in het gezwel opgenomen. Aan de achterzijde van trachea en slokdarm reikt het gezwel tot halverwege de achterwand van de longen. De lengte bedraagt hier 15 mm en de breedte 10 mm. De longen zijn niet met het gezwel vergroeid.

*Pleuraholten:*

de linker- en rechterpleuraholte bevatten helder bruin-geel vocht. Het diafragma staat laag. De longen liggen geheel vrij.

*Longen:*

Linker- en rechterlong zijn wat samengedrukt. Aan het oppervlak worden geen gezwellen waargenomen.

*Microscopie:*

gezwel 3 is een sarcoom, bestaande uit een dichte aaneenschakeling van spoelvormige cellen, die bundelvormig gerangschikt zijn. De cellen zijn verschillend van grootte, vorm en kleurbaarheid; het cytoplasma is tamelijk sterk gelijkmatig acidophiel. De kernen vertoonen eveneens verschillen in grootte, vorm en kleurbaarheid. Vele zijn blazig en langgerekt ovaal van vorm. De kernmembraan is duidelijk en kleurt zich donkerpaars met haematoxyline, terwijl de chromatinesubstantie lichtpaars is. Bij andere kernen kleuren zich zoowel de membraan als de chromatinesubstantie donkerpaars.

Onregelmatige kerndeelingsfiguren, reuscellen en necrose met bloedingen komen verspreid in het gezwel voor. Ook zijn er bloedvaatjes en holten van verschillende afmetingen. De bloedvaatjes hebben soms een duidelijke wand. De holten zijn bekleed met ineengedrongen sarcoomcellen en beantwoorden aan de plaats waar oorspronkelijk de lipiodolmethylcholanthreenoplossing heeft gelegen.

Het gezwel groeit infiltratief in thymus, lymphklieren, hart, bloedvaten, spieren en vetweefsel. De infiltratieve groei in de wand van de linkervorkamer breidt zich zoover uit, dat het lumen van de voorkamer gedeeltelijk opgevuld is met sarcoomweefsel.

Metastasen zijn er niet.

Muis 22 ♂ geb. 9-1-'39.

7-7-'39. Ingespoten 0,015 cm<sup>3</sup> van een 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol. Korte tijd na de injectie ontwikkelt zich een onderhuids emphyseem aan de rugzijde van de rechterborstkasheft en nek, tot aan het rechteroor.

Röntgenfoto: rechts in het mediastinum bevindt zich een complex van

streepvormige uitsparingen, dat zich uitstrekt van de aanhechtingsplaats van de eerste rib aan het sternum tot aan de hartschaduw. Naast het reeds waargenomen onderhuidse emphyseem blijkt op de Röntgenfoto, dat dit zich ook uitbreidt over de linkerborstkasheft en het linker gedeelte van de nek.

30-7-'39 Het onderhuidse emphyseem, dat de eerste dagen na de injectie nog toegenomen is, is geleidelijk aan verdwenen.

14-8-'39 Tweede Röntgenfoto: in het rechter gedeelte van het mediastinum bevindt zich nog een complex van streepvormige uitsparingen, waarvan de uitbreiding dezelfde is als op de eerste Röntgenfoto.

11-11-'39 Derde Röntgenfoto: het mediastinum is gesluierd. In dit gesluierde gebied bevinden zich tien puntvormige uitsparingen.

4-12-'39 De muis wordt dood in de kooi gevonden. Bij de sectie worden uitsluitend in de organen van de borstholte afwijkingen gevonden:

#### *Mediastinum.*

in het mediastinum bevindt zich een groot, glad, grijs-wit gezwel (4), dat zich uitstrekt van de apertura thoracis superior tot de hartbasis. Deze afmeting bedraagt 6,8 mm en de breedte van het gezwel bedraagt 9 mm. Het gezwel heeft zich voornamelijk aan de voorzijde van de trachea ontwikkeld en is vergroeid met het linkerhartoor; slechts over een afstand van 2 mm worden trachea en slokdarm aan de achterzijde door een laag gezwelweefsel bedekt. De voor-achterwaartsche afmeting bedraagt 6 mm. De thymus en de vaten, die van en naar het hart gaan, zijn, evenals de trachea en de slokdarm, aan de voorzijde in het gezwel opgenomen (zie afb. 23). De longen zijn niet met het gezwel vergroeid.

#### *Pleuraholten:*

de linker- en rechterpleuraholte bevatten helder bloederig vocht.

#### *Longen:*

de linker- en rechterlong zijn wat samengedrukt. Aan het oppervlak worden geen gezwellen waargenomen.

19-12-'39 Van het hartlongen-praeparaat met het gezwel is na fixatie in waterige formaline een Röntgenfoto gemaakt: in de sluiering van het gezwel bevinden zich nog vijftien puntvormige uitsparingen.

Opmerking: de sluiering van het mediastinum op de derde Röntgenfoto is afkomstig van het gezwel, dat bij de sectie gevonden werd.

#### *Microscopie:*

gezwel 4 is opgebouwd uit een kwaadaardige woekering van plaveisel-epitheel en bindweefsel. Het plaveiselepitheel ligt als eilandjes te midden van sarcoomweefsel (zie afb. 24). Het centrum van deze eilandjes is verhoord.

Het omgevende sarcoomweefsel behoort tot het spoelcellentype. De spoelvormige cellen zijn bundelvormig gerangschikt en eindigen in fijne collageene fibrillen. De kernen verschillen onderling in grootte, vorm en kleurbaarheid; het cytoplasma is in de meeste cellen sterk acidofiel. Kerndeelingsfiguren komen zowel in de plaveiselepitheelcellen als in de sarcoomcellen voor. Daarnaast worden in het sarcoomweefsel aangetroffen: talrijke reuscellen met één groote of meerdere kleine kernen, bloedvaten,

necrose en bloedingen. De bloedvaten zijn soms zeer grillig van vorm en komen plaatselijk in grooten getale voor, echter zonder waarneembare wand. Het gewzel lijkt op die plaatsen op een angiosarcoom.

Infiltratie van het gewzel vindt plaats in thymus, lymphklieren, hart, bloedvaten, spieren en vetweefsel. De holten van sommige bloedvaten zijn daardoor nagenoeg geheel afgesloten door het sarcoomweefsel. Nergens wordt het epitheel van trachea of oesophagus geïnfiltréerd. Metastasen ontbreken.

De ovale en ronde holten, die in het gewzel voorkomen, zijn afkomstig van de lipiodolmethylcholanthreenoplossing.

Bij het uitgebreide serieonderzoek kan nergens de oorsprong worden vastgesteld van het gewoekerde plaveiselepitheel. Ik meen echter, gezien de groote waarschijnlijkheid dat een gedeelte van de lipiodolmethylcholanthreenoplossing in of nabij de thymus is terecht gekomen, dat het plaveiselcellencarcinoom uitgegaan is van de lichaampjes van Hassall.

Muis 23 ♂ geb. 9-2-'39.

7-7-'39. Ingespoten 0,01 cm<sup>3</sup> van een 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol. Röntgenfoto (zie afb. 25): op de aanhechtingsplaatsen van de eerste tot en met de zesde rib aan de wervelkolom rechts, bevindt zich voor de wervelkolom een breede streepvormige uitsparing, met enkele puntvormige uitsparingen daarin. Naar beneden breidt de uitsparing zich naar links uit tot de aanhechting aan de wervelkolom van de achtste rib. Het midden- en benedenlongveld en het mediale gedeelte van de sinus diaphragmaticus rechts zijn volkomen helder. Men krijgt de indruk dat er hier een gedeeltelijke pneumothorax bestaat.

Opmerking: de pneumothorax moet worden verklaard door perforatie van de luchtwegen met de injectiecanule.

11-11-'39. Tweede Röntgenfoto: ter hoogte van de aanhechtingsplaats van de derde rib aan de wervelkolom bevinden zich twee puntvormige uitsparingen links naast de wervelkolom. De longteekening is beiderzijds normaal.

28-11-'39. De muis wordt door aethernarcose gedood. Bij de sectie worden uitsluitend in de organen van de borstholte afwijkingen gevonden.

#### *Dorsale zijde van de slokdarm:*

In nagenoeg het geheele thoracale verloop is de slokdarm vergroeid met de borstwervelkolom door een langwerpige, onregelmatig, knobbelig, wit en glazig gewzel (5). De grootste breedte ligt ter hoogte van de eerste rib en bedraagt 5 mm. De lengte bedraagt 10 mm en de voor-achterwaartsche afmeting 4,9 mm. Het gewzel heeft zich voornamelijk aan de dorsale zijde van de slokdarm ontwikkeld. De aorta descendens verloopt aan de oppervlakte van het gewzel.

#### *Ventrale zijde van de slokdarm:*

vlak beneden de vertakking van de A. pulmonalis vertoont de slokdarm een ovale, gladde, witte, glazige knobbel. Dit gewzel vormt één geheel met dat aan de dorsale zijde van de slokdarm. De lengte bedraagt 4 mm, de breedte 3 mm. De longen, de trachea en het hart zijn nergens met het gewzel vergroeid.

*Longen:*

uitsluitend aan de dorsale zijde van de onderkwab van de rechterlong worden gezwollen waargenomen:

*dorsale zijde van de rechteronderkwab:*

in de achterrand bevinden zich daar, waar het gezwel van de slokdarm tegen de onderkwab komt, twee ovale, grijs-gele, scherp begrensde, glazige, prominereende gezwollen (160 en 161). Het grootste gezwel heeft een lengte van 2 mm en een breedte van 1 mm, het kleinste een grootste doorsnede van 0,5 mm. In het midden van de onderkwab ligt een dergelijk gezwel (162).

*Microscopie:*

gezwel 5 komt histologisch overeen met het carcino-sarcoom, zooals dat beschreven is bij muis 19. Ook hier bestaat de kwaadaardige woekering uit plaveiselepitheelcellen en bindweefselcellen. Het sarcoom behoort tot het spoelcellentype. Metastasen zijn er niet.

Het gezwel heeft zich nagenoeg geheel aan de dorsale zijde van de slokdarm ontwikkeld en groeit infiltratief in de spieren en het vetweefsel.

Uit het serieonderzoek blijkt dat het plaveiselcellencarcinoom uitgaat van de slokdarm. Ook in dit gezwel komen de beschreven holten voor, die beantwoorden aan de plaats, waar oorspronkelijk de lipiodolmethylcholanthreenoplossing heeft gelegen.

*De longgezwollen hebben alle een papillomateuse bouw.*

De peritracheale injecties werden verricht bij vijf mannelijke muizen van de „O20” stam, op een leeftijd van 66 tot 148 dagen. De muizen zijn éénmaal ingespoten met 0,1 tot 0,3 mgr methylcholanthreen opgelost in lipiodol 40 %.

Van alle muizen zijn dadelijk na de injectie Röntgenfoto's gemaakt. Hierop bevinden zich in het mediastinum de uitsparingen van de lipiodolmethylcholanthreenoplossing (zie afb. 25). Een tweede serie Röntgenfoto's is gemaakt van de muizen 20, 22 en 23, en wel 124 tot 149 dagen na de injectie. Ook op deze foto's zijn nog uitsparingen van het lipiodol aanwezig.

Kort voor de dood, namelijk 4 tot 16 dagen, hebben de muizen 19, 20 en 21 verschijnselen van ademnood vertoond. Deze verschijnselen bestaan uit een diepe ademhaling, waarbij de bek geopend is, en cyanose van oogen, snuit, pooten en staart. Tevens zijn alle muizen tijdens het leven sterk vermaerd en weinig beweeglijk geworden.

De eerste muis (nummer 19) sterft 111 dagen na de injectie met 0,3 mgr methylcholanthreen. Bij de sectie wordt in het mediastinum, voornamelijk aan de ventrale zijde van de trachea, een knobbelig, glazig en wit gezwel (1) aangetroffen. Het gezwel heeft de thymus in zich opgenomen en is vergroeid met de laterale zijden van de slokdarm.

Muis 20 heeft het langst van alle muizen geleefd, 166 dagen, na injectie met 0,2 mgr methylcholanthreen. Ook bij deze muis heeft zich, evenals bij de overige vier, een groot gezwel in het mediastinum ontwikkeld daar, waar op de Röntgenfoto's de uitsparingen zijn waargenomen. De afmetingen bedragen 5, 10 en 10 mm. Deze gezwellen hebben allen een glazig, min of meer doorschijnend aspect, een gladde of knobbelige oppervlakte, een witte of grijs-witte kleur, een vaste consistentie en een vezelige doorsnede.

Alle gezwellen, uitgezonderd gezwel 5, hebben zich voornamelijk aan de voorzijde van de trachea ontwikkeld. Daarbij zijn de thymus, de lymphklieren, de vaten die van en naar het hart gaan en gedeeltelijk de trachea en de slokdarm in de gezwelgroei opgenomen (zie afb. 23). Gezwel 5 heeft zich echter voornamelijk aan de dorsale zijde van de slokdarm ontwikkeld.

Bij de gezwellen komen vergroeiingen voor met de borstkas, de wervelkolom en het hart (zie afb. 23). De aanwezigheid van een gezwel in het mediastinum heeft bij de muizen 20, 21 en 22 aanleiding gegeven tot vochtophooping in de pleuraholten. Hierdoor is gedeeltelijk de ademnood te verklaren die deze muizen hebben vertoond tijdens het leven.

De hoeveelheden van 0,1 tot 0,3 mgr methylcholanthreen, die peritracheaal zijn ingespoten, zijn niet geheel en al in het mediastinum terecht gekomen. Dit blijkt uit de Röntgenfoto's van de muizen 19 en 20, die dadelijk na de injectie gemaakt zijn. Op deze foto's bevinden zich ook in het bovenveld van de linkerlong uitsparingen, die afkomstig zijn van de lipiodolmethylcholanthreenoplossing. De gezwellen in het mediastinum zijn dus ontstaan na het inbrengen van hoeveelheden methylcholanthreen, die kleiner zijn dan 0,1 tot 0,3 mgr.

Een soortgelijk gezwel, een peritracheaal sarcoom, is door Shimkin<sup>63</sup> waargenomen bij een muis, 2½ maand na intratracheale injectie met 0,1 mgr 1, 2, 5, 6 dibenzanthraceen.

#### MICROSCOPIE VAN DE GEZWELLEN IN HET MEDIASTINUM.

Histologisch blijken de gezwellen 2 en 3 sarcomen te zijn van het spoelcellentype. Ze bestaan uit een dichte aaneenschakeling van spoelvormige cellen, die bundelvormig gerangschikt zijn. De cellen vertoonen, evenals de kernen, onderling

verschillen in grootte, vorm en kleurbaarheid. Het cytoplasma is tamelijk sterk gelijkmatig acidofiel. Vele kernen zijn blazig en langgerekt ovaal van vorm. Deze kernen hebben een duidelijke membraan, die zich donkerpaars kleurt met haematoxyline, en een chromatinesubstantie, die zich lichtpaars kleurt. Andere kernen zijn egaal donkerpaars gekleurd.

Onregelmatige kerndeelingsfiguren, reuscellen, bloedvaten en necrose met bloedingen komen verspreid in de gezwellen voor. De meeste bloedvaten hebben geen waarneembare eigen wand en doen zich voor als spleten in het gezwelweefsel.

De kwaadaardigheid van deze gezwellen blijkt vooral uit de infiltrerende groei in de overige organen en weefsels in het mediastinum. Zoo groeit gezwel 3 door de wand van de linker-voorkamer en bekleedt de binnenwand daarvan met een dikke laag van sarcomateus weefsel. Bovendien groeien de gezwellen infiltratief in de thymus, de lymphklieren, de bloedvaten, de spieren en het vetweefsel van de borstholte. In de longen is het gezwel nergens doorgroeid. Metastasen ontbreken overal.

De bouw van deze experimenteele sarcomen komt overeen met die van de gezwellen, welke bij proefdieren ontstaan na onderhuidse inspuitingen met gezwelverwekkende koolwaterstoffen (Keyser <sup>74</sup>; Haagensen en Krehbiel <sup>75</sup>; Morton, Branch en Clapp <sup>76</sup>; en Lewis <sup>77</sup>).

De overige drie gezwellen in het mediastinum, namelijk 1, 4 en 5 vertoonen een histologische bouw, die nog niet eerder in de litteratuur over de experimenteele gezwellen is beschreven. Deze gezwellen zijn opgebouwd uit een kwaadaardige woekering van epitheel en bindweefsel. De epitheliale woekering bestaat uit plaveiselcellen, die als eilandjes liggen te midden van sarcoomweefsel. Bij gezwel 1 en 5 (zie afb. 22) hebben deze eilandjes grillig verloopende uitloopers.

In de eilandjes met hun uitloopers komen holten en spleetvormige ruimten voor van verschillende omvang. In deze holten en spleeten bevinden zich verhoorde plaveiselepitheelcellen. De eilandjes van plaveiselepitheel bij gezwel 4 vertoonen een centrale verhoorning. (Zie afb. 24).

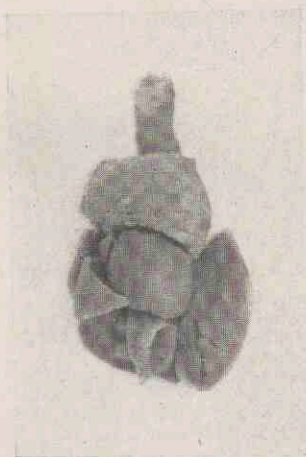
Het omgevende sarcoomweefsel is ook bij deze soort van gezwellen van het spoelcellentype. De spoelvormige cellen zijn bundelvormig gerangschikt en eindigen in fijne collagene fibrillen. Deze fibrillen zijn vooral duidelijk bij gezwel 1 (zie afb. 22), tengevolge van de losmazige bouw van het sarcoom.



Afb. 22.

Een geval van een carcino-sarcoom (gezwel 1), uitgaande van het epitheel van de trachea en het omgevende bindweefsel.

Eilandjes met grillig verloopende uitloopers van plaveiselcellen liggen te midden van het sarcoomweefsel. In de eilandjes en uitloopers komen holten voor, die geheel of gedeeltelijk gevuld zijn met verhoorde plaveiselcellen. Het sarcoomweefsel is losmazig van structuur en opgebouwd uit bundelvormig gerangschikte spoelvormige cellen.

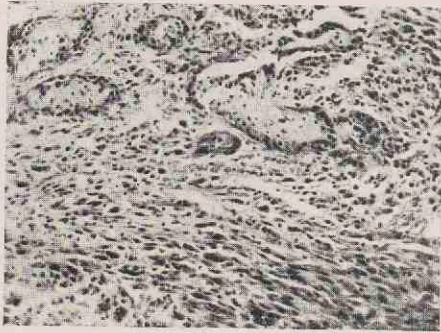


Afb. 23.

Ventrale zijde van het mediastinale gezwel 4.

Het gezwel neemt het geheele mediastinum in beslag en heeft zich voornamelijk aan de ventrale zijde van de trachea ontwikkeld. De afmetingen bedragen 6, 8 en 9 mm. De thymus, de linkervoorkamer, de groote vaten en tendeele de trachea en de slokdarm zijn in het gezwel opgenomen.





Afb. 24.

Een geval van een carcino-sarcoom (gezwel 4) uitgaande van het epitheel van de lichaampjes van Hassall en van het bindweefsel van het mediastinum.

Aan de bovenzijde van de afbeelding bevinden zich eilandjes van pleaveiscellen te midden van het sarcoomweefsel. Het centrale gedeelte van de eilandjes bestaat uit verhoorde pleaveiscellen. Het sarcoomweefsel is opgebouwd uit spoelvormige cellen; aan de onderzijde van de afbeelding is de bundelvormige rangschikking te zien. Er ligt ook een reuscel.



Afb. 25.

Röntgenfoto van muis 23, vervaardigd dadelijk na de peritracheale injectie met  $0,01 \text{ cm}^3$  van de 1 % oplossing van methylcholanthreen in lipiodol.

In het mediastinum bevindt zich een breede streepvormige schaduw, die zich uitstrekt van de aanhechting van de eerste tot de zesde rib aan de wervelkolom, rechts. Naar beneden breidt de schaduw zich naar links uit tot de aanhechting aan de wervelkolom van de achtste rib.

Ze vormen een fijn netwerk, waaraan de gezwelcellen als het ware zijn opgehangen.

In het sarcoomweefsel komen verder verspreid voor: necrose met bloedingen, reuscellen en bloedvaatjes met teere wanden. In gezwel 4 zijn plekken aanwezig, waar de bloedvaatjes zoo talrijk zijn, zonder waarneembare wand, dat men van een angiosarcoom zou kunnen spreken.

Onregelmatige kerndeelingsfiguren komen in vele plaveiselepitheelcellen en sarcoomcellen voor. De kwaadaardigheid van deze gezwellen blijkt verder ook hier uit het doorgroeien in thymus, lymphklieren, hart, bloedvaten, spieren en vetweefsel.

Metastasen worden uitsluitend waargenomen bij gezwel 1 en wel in de lymphklieren rondom de trachea en rondom enkele capillairen. Histologisch behooren de gezwellen van deze groep tot de carcino-sarcomen.

Waar komt het epitheel van deze carcino-sarcomen vandaan? Uit het serie-onderzoek blijkt, dat het plaveiselepitheel van gezwel 1 uitgaat van het epitheel van de trachea, dat ter hoogte van de bifurcatie is gelegen. Hierbij moeten we ons voorstellen dat het oorspronkelijke cilindrische epitheel van de trachea door prikkeling overgegaan is in plaveiselepitheel.

Bij gezwel 5, dat zich voornamelijk aan de dorsale zijde van de slokdarm bevindt, blijkt dat het epitheel afkomstig is van de slokdarm.

Bij het serie-onderzoek van gezwel 4 kan echter nergens de oorsprong van het gewoekerde plaveiselepitheel worden vastgesteld. Ik meen echter, mede op grond van het feit, dat het zeer waarschijnlijk is, dat een gedeelte van de lipiodolmethylcholanthreenoplossing in of nabij de thymus is terechtgekomen, dat het plaveiselcellencarcinoom uitgegaan is van de lichaampjes van Hassall. Deze komen ook in de thymus van de muis voor.

In alle gezwellen komen holten voor van verschillende afmetingen. Deze holten zijn bekleed door sarcomateuze cellen en komen overeen met die, welke door Chahovitch bij zijn experimenteele sarcomen zijn beschreven. In ijscoupes blijken deze holten, na vetkleuring, opgevuld te zijn met vetdruppels. Deze druppels zijn afkomstig van de ingespoten lipiodolmethylcholantreenoplossing.

## HOOFDSTUK V.

## INTRAPULMONALE INJECTIES MET METHYLCHOLANTHREEN BIJ MUIZEN VAN DE ALBINOSTAM „O20 LEEUWENHOEKHUIS”.

Deze proef had ten doel het longweefsel bij muizen te beschadigen en dan in aanraking te brengen met de methylcholanthreenoplossing. Deze beschadiging wordt bewerkstelligd door middel van intrapulmonale injecties. Deze injecties moeten zonder narcose worden verricht, aangezien anders de muizen deze ingreep niet of slecht doorstaan. Voor het uitvoeren van de injecties wordt de muis, op de buikzijde, op een plankje opgespannen met om pooten en staart gewikkelde leucoplaststrookjes. Dan wordt de huid van de linkerborstkashelft aan de rugzijde onthaard. De injectiecanule (N<sup>o</sup> 20) wordt nu door de derde intercostaalruimte links, in de scapulairlijn, in de borstkas gestoken.

Als injectievloeistof dient een 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol 10%. Bij gebruik van het zware lipiodol, dat 40% jodium bevat, blijkt dat de muizen vroegtijdig sterven tengevolge van een steriel ontstekingsproces, gepaard gaande met vochtophooping in de pleuraholte. Vandaar dat ik aangewezen was op het lipiodol 10%, waaraan deze nadeelen niet zijn verbonden, maar dat in de gebruikte hoeveelheden (0,03 of 0,04 cm<sup>3</sup>) op het Röntgenscherf geen schaduwen werpt.

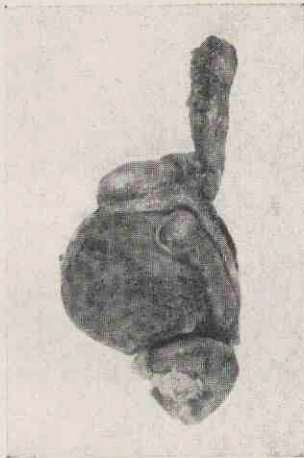
De intrapulmonale injecties zijn bij 10 muizen verricht en wel op een leeftijd, die varieerde van 44 tot 401 dagen. De gebruikte hoeveelheid lipiodolmethylcholanthreenoplossing (in éénmaal ingespoten) bedraagt 0,03 en 0,04 cm<sup>3</sup>. Tijdens de proef sterven vier muizen, en wel onder verschijnselen van sterke ademnood.

De eerste muis (24) sterft 74 dagen na injectie van 0,04 mgr. methylcholanthreen. Bij de sectie worden uitsluitend in de organen van de borstholte afwijkingen gevonden. Het linkerpleurabladd is sterk verdikt en vergroeid met de borstwand. De vergroeiingen zijn gemakkelijk stomp op te heffen en dan blijkt dat slechts op een enkele plaats het roodbruine longweefsel door de verdikte pleura heenschemert. De pleura



Afb. 26.

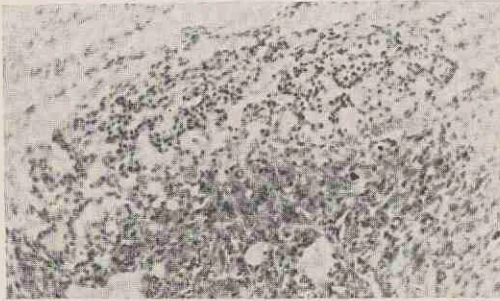
De linkerpleurabladen van muis 24 zijn verdikt door een losmazig bindweefsel, waarin zich eenkernige infiltraatcellen bevinden. Rechtsonder is nog een gedeelte van een longadenocystoom zichtbaar.



Afb. 27.

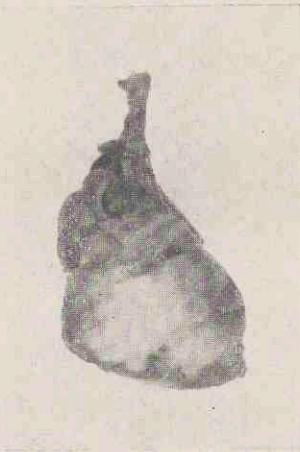
Laterale zijde van de linkerlong van muis 25.

De linkerlong is, op een smal randje na, geheel samengedrukt door twee groote gezwellen, die zich in de linkerpleuraholte bevinden. In de top van de linkerlong bevindt zich een scherp begrensde, promineerende, ovale knobbel, die nagenoeg de geheele breedte van de long inneemt. De afmetingen bedragen 3,2 en 2,8 mm. Het hart is horizontaal verplaatst en ligt boven op het grootste gezwel. De afmetingen hiervan bedragen 6, 9 en 10 mm.



Afb. 28.

Perifeere doorsnede door het gezwel in de linkerlongtop van muis 25. Het sarcoom van de pleura groeit infiltratief in een longgezwel met adenomateuze bouw. Linksboven normaal longweefsel.



Afb. 29.

Laterale zijde van de linkerlong van muis 26.

De linkerlong is nagenoeg geheel ingenomen door een groot, glazig, wit gezwel, dat vergroeid is met het diaphragma. Slechts een smal randje roodbruin longweefsel schemert aan de achterrand door de gezwelmasse heen. Microscopisch is dit gezwel een pleurasarcoom.

heeft een geel-witte kleur, een dof en onregelmatig oppervlak en een matig vaste consistentie.

Microscopisch blijkt de pleura te bestaan uit granulatieweefsel, bindweefsel en sarcoomweefsel. Het granulatieweefsel bestaat onder anderen uit fijne capillairen met fraaie endotheelwand, fibroblasten, en één- en meerkernige infiltraatcellen. Het bindweefsel is over het algemeen losmazig van structuur en bevat veel eenkernige infiltraatcellen. (Zie afb. 26). Op vele plaatsen is het bindweefsel hyaline veranderd. Het sarcoom is opgebouwd uit polymorphe cellen en spoelcellen. Een geleidelijke overgang bestaat er van het granulatieweefsel naar het bindweefsel en het sarcoomweefsel. Metastasen van het sarcoom komen niet voor.

In de pleura komen holten voor die bekleed zijn met mesenchymale cellen. Deze holten beantwoorden aan de plaats waar de ingespoten lipiodolmethylcholanthreenoplossing heeft gelegen.

In de longen worden uitsluitend gezwellen waargenomen van het adenomateuze of papillomateuze type.

Een tweede muis (25) sterft 123 dagen na injectie van 0,4 mgr. methylcholanthreen. De leeftijd bedraagt 524 dagen. Bij de sectie worden in de linkerpleuraholte twee gezwellen aangetroffen van verschillende grootte, die beiden vergroeid zijn met het diaphragma. Het grootste gezwel vult nagenoeg de geheele linkerborstkashelft op en heeft zich naar de mediaanlijn tusschen hart en diaphragma uitgebreid (zie afb. 27). Het tweede gezwel ligt gedeeltelijk in de linker sinus diaphragmaticus. De linkerlong is, op een smal randje na, geheel samengedrukt en met de nieuwvorming vergroeid. In de top bevindt zich een scherp begrensde, promineerende, ovale, grijs-gele knobbel, die nagenoeg de geheele breedte van de long inneemt (zie afb. 27). De grootste afmeting bedraagt 3 mm.

Microscopisch blijkt het gezwel in de long een sarcoom te zijn, uitgaande van de pleura. Het sarcoom is van het spoelceltype en neemt de geheele longtop in beslag. Op de overgang van gezwel naar longweefsel is op sommige plaatsen nog een alveolaire bouw in het sarcoom te herkennen. Op die plaatsen is het bindweefselstroma van de alveolairseptia sarcomateus geworden.

Op andere plaatsen bevinden zich in de linkerlongtop naast elkaar het sarcoomweefsel en een longgezwel met adenomateuze bouw (zie afb. 28). Uit het serieonderzoek blijkt, dat het

sarcoom uitgegaan is van de pleura en in de long is verder gegroeid.

Naast dit primaire sarcoom, dat zich ter hoogte van de injectieplaats in de pleura heeft ontwikkeld, komen groote sarcoommetastasen voor in de pleura van linker- en rechterlong, die voortgroeien in het longweefsel.

De twee gezwellen, die zich in de linkerpleuraholte bevinden, zijn eveneens sarcomen van het spoelcellentype. Ze groeien infiltratief in de lymphklieren, de spieren en het vetweefsel. Het grootste gezwel groeit bovendien door in het hart, de linker- en rechterlong. Metastasen komen voor in de pleura en in de lymphklieren.

De gezwellen die verder in de longen voorkomen hebben een adenomateuze of papillomateuze bouw.

Een derde muis (26) sterft 134 dagen na de injectie van 0,4 mgr methylcholanthreen. De leeftijd bedraagt 311 dagen. Bij de sectie blijkt dat de linkerlong nagenoeg geheel is ingenomen door een groot, glazig, wit gezwel, dat vergroeid is met het diaphragma (zie afb. 29). Slechts een smal randje roodbruin longweefsel schemert aan de achterrand door de gezwelmasa heen.

Microscopisch blijkt dit gezwel een sarcoom te zijn, dat de linkerlong als een mantel omgeeft en uitgaat van de pleura. De cellen zijn spoelvormig en eindigen in collagene fibrillen, waartusschen zich eenkernige infiltraatcellen bevinden. Het gezwel groeit infiltratief in het mediastinale bindweefsel en laat de longen vrij. Aan de periferie van het gezwel komen gedeelten voor, die bestaan uit bindweefsel, dat al of niet hyaline is veranderd. In het bindweefsel bevinden zich veel eenkernige infiltraatcellen. Metastasen van het gezwel zijn er niet.

In de longen worden uitsluitend gezwellen van het adenomateuze of papillomateuze type waargenomen.

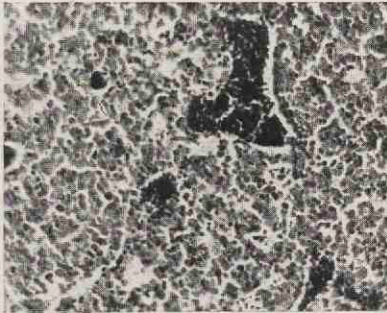
Een vierde muis (27) sterft 141 dagen na injectie van 0,3 mgr methylcholanthreen. De leeftijd bedraagt 193 dagen. Bij de sectie wordt in het mediastinum ter hoogte van de thymus een groot, scherp begrensd, knobbelig, wit en glazig gezwel aangetroffen (zie afb. 30). De thymus en de vaten die van en naar het hart gaan zijn in het gezwel opgenomen. De longen, het hart, de dorsale zijde van de slokdarm en de aorta descendens zijn er niet mee vergroeid. Daar, waar de onderzijde van het gezwel raakt aan de linkervoorkamer en linkerkamer is de hartspier zeer bleek. De pleuraholten bevatten heldergeel vocht.



Afb. 30.

Gezwel van de thymus (muis 27) ontstaan 141 dagen na de injectie met  $0,03 \text{ cm}^3$  van een 1% oplossing van methylcholanthreen in lipiodol 10%.

Het gezwel is knobbelig, wit en glazig en neemt het geheele mediastinum in beslag. De afmetingen bedragen 8,5, 8,6 en 10 mm. De trachea en de vaten die van en naar het hart gaan zijn in het gezwel opgenomen.



Afb. 31.

Thymus carcinoom.

Het gezwel heeft een alveolaire bouw. De donkere groepjes van cellen zijn lymphocyten. Deze liggen te midden van alveolaire gerangschikte, lichtere, epitheliale cellen. Het spaarzaam aanwezige stroma, met de daarin gelegen capillairen, komt op de foto niet uit.





Afb. 32.

Infiltratieve groei van het thymuscarcinoom in en tusschen de spuibundels van de linkervoorkamer. Onder het endotheel van de trabekels bevinden zich een of meer lagen van gezwelcellen.



Afb. 33.

Perivasculaire uitbreiding van de thymuscarcinoomcellen langs de bloedvaten in de longen. Deze gezwelcellen liggen als mantels rondom de bloedvaten.

Microscopisch blijkt het gezwel een carcinoom van de thymus te zijn met een alveolaire bouw. Het parenchym bestaat uit twee soorten cellen, kleine en grootere. De kleine cellen liggen in groepjes te midden van de alveolair gerangschikte grootere cellen. Beide celsoorten zijn arm aan protoplasma, waardoor het de indruk maakt alsof de cellen alleen bestaan uit kernen. De kleine cellen hebben een ronde kern, die zich gelijkmatig donkerpaars kleurt met haematoxyline. Het zijn typische lymphocyten. De grootere cellen hebben een epitheliaal karakter, met een blazige en ronde, ovale of onregelmatige kern (zie afb. 31). Deze kernen kleuren zich lichtpaars met haematoxyline. Onregelmatige kerndeelingsfiguren komen in deze cellen veelvuldig voor.

Degeneratie en necrose worden op meer dan één plaats in het gezwel aangetroffen. Het stroma is uiterst spaarzaam aanwezig en bevindt zich in de vorm van fijne vezels tusschen de alveolair gerangschikte groepjes van cellen. In het stroma komen capillairen voor.

Het gezwel groeit door in het hart, de vaten, die van en naar het hart gaan, de longen, de lymphklieren, de spieren en het vetweefsel. De infiltratieve groei in de linkervoorkamer is op afbeelding 32 weergegeven. De gezwelcellen bevinden zich in grooten getale tusschen de spierbundels van het hart en in een of meer lagen vlak onder het endotheel van de trabekels.

Metastasen komen voor, en wel voornamelijk lymphogene. Ze bevinden zich in de pleura, het hartzakje, de lymphklieren en de longen. In de longen verlopen ze als breede mantels rondom de vaten (zie afb. 33). De meeste gezwellen, die macroscopisch in de longen zijn waargenomen, blijken metastasen te zijn van het thymuscarcinoom. Slechts enkele zijn primair in de longen ontstaan en behooren tot het adenomateuze of papillomateuze type.

De zes overlevende muizen zijn 140 dagen na de injectie met 0,4 mgr methylcholanthreen gedood. Hierbij werden uitsluitend multipiele longgezwellen waargenomen, die een adenomateuze of papillomateuze bouw hadden.

Bij de tien muizen van deze proef heeft zich dus bij de drie muizen 24, 25 en 26 een sarcoom van de pleura ontwikkeld en bij de muis 27 een carcinoom van de thymus.

Primaire longsarcomen zijn dus niet waargenomen. Aan gezien het stroma van de pleura zich echter voortzet in dat van het longweefsel is in principe wel door deze proef aan-

getoond, dat het stroma van de long door het methylcholan-  
threen tot kwaadaardige gezwelligheid is te brengen.

Anderfont<sup>57</sup>, die zijden draden, geïmpregneerd met 1, 2, 5, 6-  
dibenzanthraceen, door de longen trok, zag, naast adenocar-  
cinomen en plaveiselcellencarcinomen, ook bindweefselver-  
anderingen in de longen, die sterk deden denken aan sarcoom.

## SAMENVATTING.

Het experimenteele gedeelte van het onderzoek omvat een methodiek, waarbij het mogelijk is gezwelwekkende koolwaterstoffen in de longen van muizen te brengen, zonder eenige beschadiging van het epitheel van longen en luchtwegen te veroorzaken.

Als injectievloeistof diende de gezwelverwekkende stof methylcholanthreen, opgelost in lipiodol 40 %.

Voor de proef werden veertien muizen gebruikt van de „O20” stam van het Leeuwenhoekhuis, welke 66 tot 226 dagen oud waren. Bij zeven muizen werden de intratracheale injecties tweemaal, bij zeven muizen eenmaal verricht. In totaal werd 0,01 tot 0,05 cm<sup>3</sup> der oplossing ingespoten. Het lipiodol 40 % als oplosmiddel maakte het mogelijk door middel van Röntgenfoto's het methylcholanthreen in de longen te localiseeren. Dadelijk na de injectie en vier tot zes en een halve maand later bevonden zich op de Röntgenfoto's van nagenoeg alle muizen de lipiodoluitsparingen uitsluitend in de linkerlong, en in de meeste gevallen in het bovenveld. Deze localisatie wordt eensdeels verklaard doordat de canule tijdens de inspuiting naar de linkerhoofdbronchus gericht was; anderdeels door de plooiën in de dorsale wand van de trachea en bronchi van de bovenkwabben.

De veertien proefmuizen werden 134 tot 288 dagen na de eerste injectie gedood. Bij alle muizen vond ik longgezwollen, die in tien gevallen multipel waren. Spontane longgezwollen kwamen op overeenkomstige leeftijden in 20 % voor; deze waren altijd solitair. Gewezen wordt op het verband tusschen het aantal longgezwollen, dat zich ontwikkeld heeft, en de hoeveelheid ingespoten methylcholanthreen en het aantal dagen dat na de injecties verlopen is.

De plaats van de experimenteele gezwollen komt overeen met die van de lipiodoluitsparingen op de Röntgenfoto's.

Macroscopisch onderscheiden de experimenteele en spontane longgezwollen zich niet van die, welke door Livingood, Haaland, Tyzzer, Slye c.s., Samssonow, Grady en Stewart en anderen bij muizen zijn beschreven.

Histologisch kwamen echter bij acht muizen achttien long-

gezwellen voor, die nog niet eerder in de litteratuur zijn beschreven. Deze gezwellen gaan uit van het bronchiaalepitheel en zijn te onderscheiden in twee typen:

het eene is opgebouwd uit gewoekerde bronchi. Het epitheel is cilindrisch tot kubisch en voorzien van trilharen. Tusschen deze trilhaarepitheelcellen komen één of meer slijmbekercellen voor.

Het andere gaat uit van het epitheel van bronchioli, is opgebouwd uit laag kubisch epitheel met trilharen en bekleedt de binnenwand van normale en emphysemateuze alveolen.

Metastasen kwamen bij beide typen uitsluitend langs de luchtweg voor en wel in zeven gevallen.

De andere longgezwollen hebben een papillomateuze, adenomateuze of papillaircystadenomateuze bouw, overeenkomende met het door bovengenoemde onderzoekers beschrevene.

Bij de papillomateuze gezwellen worden de vertakte papillaire strengen beschouwd als een jonger ontwikkelingsstadium van de vertakte papillen.

Metastasen worden bij deze drie vormen van gezwellen niet gezien. Wel in één geval een doorgroeien in een hiluslymfklier en in twee gevallen een infiltratie in de steel van een papilloom.

Uit het serieonderzoek van deze longgezwollen blijkt, dat slechts twee gezwellen uitgaan van het bronchiaalepitheel. De overige gezwellen zijn afkomstig van het alveolairepitheel.

Histologisch zijn de longgezwollen bij mijn muizen niet te verdeelen in goedaardige en kwaadaardige vormen. Ik meen dat in principe alle longgezwollen voor de muis kwaadaardig zijn.

Uit contrôleproeven met lipiodol blijkt, dat lipiodol onschadelijk is voor de longen van de muis. Door Röntgenfoto's, vetkleuringen in ijscoupen en micro-jodiumbepalingen in paraffinecoupen van de longen van de ingespoten muizen is gebleken, dat het lipiodol nog minstens 272 dagen na injectie van  $0,03 \text{ cm}^3$  aantoonbaar is.

In de omgeving van de longgezwollen komen, voornamelijk in bronchi en in mindere mate in alveoli, eigenaardige vormsels voor. Deze vormsels zijn microscopisch klein en komen overeen met die, welke door Haaland, Tyzzer, Slye, c.s. en Straub zijn beschreven. Het is gebleken, dat deze vormsels geen kristallen of haren zijn, zooals bovengenoemde onderzoekers meenen. Het is een slijmige substantie, die hoogst-

waarschijnlijk onder pathologische omstandigheden door het bronchiaalepitheel gevormd wordt.

In hoofdstuk IV worden de resultaten medegedeeld van de peritracheale injecties bij vijf muizen met 0,01 tot 0,03 cm<sup>3</sup> der 1 % lipiodolmethylcholanthreenoplossing. Bij twee muizen heeft zich een sarcoom in het mediastinum ontwikkeld en bij drie muizen een carcino-sarcoom. Het carcino-sarcoom blijkt respectievelijk uit te gaan van de thymus, de trachea en de slokdarm.

In hoofdstuk V is beschreven, hoe bij tien muizen getracht is het longweefsel te beschadigen door middel van intrapulmonale injecties. Dit geschiedde met het doel na te gaan, of zich gezwellen van het bindweefselstroma van de long ontwikkelen wanneer dit in aanraking wordt gebracht met het methylcholanthreen. Slechts bij vier muizen van deze serie zijn gezwellen waargenomen, en wel in één geval een thymuscarcinoom en in de andere drie gevallen een sarcoom van de pleura. Matastasen in lymfklieren en longen komen bij beiden voor.

## ZUSAMMENFASSUNG.

Der experimentelle Teil der Untersuchung umfasst eine Methodik, bei der es möglich ist geschwulsthervorrufende Kohlenwasserstoffe in die Lungen von Mäusen zu bringen, ohne irgendwelche Beschädigung des Epithels der Lungen und Luftwege zu verursachen.

Als injektionsflüssigkeit diente der geschwulsthervorrufende Stoff Methylcholanthren, gelöst in Lipiodol 40 %.

Zum Experiment wurden vierzehn Mäuse vom „O20“ Stamm des Leeuwenhoekhauses gebraucht, die 66 bis 226 Tage alt waren. Bei sechs Mäusen wurden die intratrachealen Einspritzungen zweimal, bei sieben Mäusen einmal verrichtet. Insgesamt wurden 0.01 bis 0.05 cm<sup>3</sup> der Lösung eingespritzt. Das Lipiodol 40 % als Lösungsmittel ermöglichte es mittels Röntgenaufnahmen das Methylcholanthren in den Lungen zu lokalisieren. Sofort nach der Einspritzung und vier bis sechs ein halb Monate später befanden sich auf den Röntgenaufnahmen von nahezu allen Mäusen die Lipiodolaussparungen ausschließlich in der linken Lunge, und in den meisten Fällen im oberen Feld. Diese Lokalisierung wurde einesteils dadurch erklärt, dass die Kanüle während der Einspritzung nach der linken Hauptbronchus gerichtet war; anderteils durch die Falten in der dorsalen Wand der Trachea und Bronchien der oberen Lappen.

Die vierzehn Versuchsmäuse wurden 134 bis 288 Tage nach der ersten Einspritzung getötet. Bei allen Mäusen fand ich Lungengeschwülste, welche in zehn Fällen multipel waren. Spontane Lungengeschwülste kamen in entsprechenden Altern in 20 % vor; diese waren immer solitär. Es wird hingewiesen auf den Zusammenhang zwischen der Anzahl Lungengeschwülste, die sich entwickelt hat, der Menge eingespritzten Methylcholanthrens und der Anzahl Tage, die nach den Einspritzungen verlaufen ist.

Die Lokalisation der experimentellen Geschwülste stimmt überein mit der Lipiodolaussparungen auf den Röntgenaufnahmen.

Makroskopisch unterscheiden sich die experimentellen und spontanen Lungengeschwülste nicht von denen, die von Livin-good, Haaland, Tyzzer, Slye c.s., Samssonow, Grady und Stewart und Anderen bei Mäusen beschrieben worden sind.

Histologisch kamen aber bei acht Mäusen achtzehn Lungengeschwülste vor, die vordem nicht in der Literatur beschrieben worden sind. Diese Geschwülste gehen aus von dem Bronchialepithel und sind in zwei Typen zu unterscheiden:

Der eine ist aufgebaut aus gewucherten Bronchien. Das Epithel ist zylindrisch bis kubisch und mit Flimmern versehen. Zwischen diesen Flimmerepithelzellen kommen eine oder mehrere Schleimbecherzellen vor.

Der andere geht aus vom Epithel der Bronchioli, ist aufgebaut aus niedrigem kubischem Epithel mit Flimmern und bekleidet die Innenwand der normalen und emphysematösen Alveolen.

Metastasen kamen bei beiden Typen ausschliesslich am Luftweg entlang vor und zwar in sieben Fällen.

Die anderen Lungengeschwülste haben einen papillomatösen, adenomatösen oder papillär-cystadenomatösen Bau, übereinstimmend mit dem von obengenannten Forschern Beschriebenen.

Bei den papillomatösen Geschwülsten werden die verästelten papillären Strähnen als einen jüngeren Entwicklungsabschnitt der verästelten Papillen betrachtet.

Metastasen werden bei diesen drei Geschwulstformen nicht beobachtet. Wohl in einem Fall ein Hindurchwachsen in eine Hiluslymphdrüse und in zwei Fällen eine Infiltrierung in dem Stiel eines Papilloms.

Aus der Serienuntersuchung dieser Lungengeschwülste geht hervor, dass nur zwei Geschwülste von dem Bronchialepithel ausgehen. Die übrigen Geschwülste stammen aus dem Alveolärepithel.

Histologisch sind die Lungengeschwülste bei meinen Mäusen nicht in gutartigen und bösartigen Formen zu unterscheiden. Ich meine, dass grundsätzlich alle Lungengeschwülste für Mäuse bösartig sind.

Aus Kontrolleversuchen mit Lipiodol geht hervor, dass Lipiodol unschädlich ist für die Lungen der Maus. Durch Röntgenaufnahmen, Fettfärbungen in Eisschnitten und Mikro-Jodbestimmungen in Paraffinschnitten der Lungen der eingespritzten Mäuse hat sich herausgestellt, dass das Lipiodol noch wenigstens 272 Tage nach Einspritzung von  $0.03 \text{ cm}^3$  nachweisbar ist.

In der Umgebung der Lungengeschwülste kommen, hauptsächlich in Bronchien und weniger in Alveoli, eigentümliche Bildungen vor. Diese Bildungen sind mikroskopisch klein und stimmen überein mit denen, welche von Haaland, Tyzzer, Slye



c.s. und Straub beschreiben worden sind. Es hat sich gezeigt, dass diese Bildungen keine Kristalle oder Haare sind, wie oben genannte Forscher meinen. Es ist eine schleimige Substanz, die höchstwahrscheinlich unter pathologischen Umständen durch das Bronchialepithel gebildet wird.

In Kapitel IV werden die Ergebnisse der perithrachealen Einspritzungen bei fünf Mäusen mit 0.01 bis 0.03 cm<sup>3</sup> der 1 % Lipiodolmethylcholanthrenlösung mitgeteilt. Bei zwei Mäusen hat sich ein Sarkom im Mediastinum entwickelt und bei drei Mäusen ein Carcino-Sarkom.

Das Carcino-Sarkom geht offenbar vom Thymus, beziehungsweise der Trachea und der Speiseröhre aus.

In Kapitel V ist beschrieben wie bei zehn Mäusen versucht worden ist das Lungengewebe zu beschädigen mittels intrapulmonalen Einspritzungen. Dies geschah um nachzugehen, ob sich Geschwülste des Bindegewebstromas der Lunge entwickeln wenn dieses in Berührung gebracht wird mit dem Methylcholanthren. Nur bei vier Mäusen dieser Serie sind Geschwülste wahrgenommen und zwar in einem Fall ein Thymuscarcinom und in den anderen drei Fällen ein Sarkom der Pleura. Metastasen in Lymphdrüsen kommen bei beiden vor.

## SUMMARY.

The experimental part of the research includes a method, by means of which it is possible to bring carcinogenic hydrocarbons into the lungs of mice, without causing any damage to the epithelium of the lungs and the bronchial tubes.

As a cancer-provoking compound methylcholanthrene, solved in lipiodol 40 % was used.

For this experiment fourteen mice were used of the „O20“ strain of Leeuwenhoekhuis, which were 66 tot 226 days old. In six mice intratracheal injections were performed twice, in seven mice once. Totally 0.01 to 0.05 cm<sup>3</sup> of the solution has been injected. The lipiodol 40 % as a solvent made it possible to localize the methylcholanthrene in the lungs by means of X-rays. On the röntgenograms of nearly alle mice, made immediately after the injection and four and six and a half months later the lipiodol was found exclusively in the left lung, and in most of the cases in the upper part of it. This localization is accounted for partly by the fact that during the injection the needle was directed towards the left main bronchus; partly by the folds in the dorsal wall of the trachea and the bronchi of the upper lobes.

The fourteen mice were killed 134 to 288 days after the first injection. In all mice I found pulmonary tumors, which in ten cases were multiple. Spontaneous pulmonary tumors occurred at corresponding ages in 20 %; these were always solitary. Attention is drawn to the relation between the number of pulmonary tumors which developed, the quantity of injected methylcholanthrene and the number of days, elapsed after the injections.

The place of the experimental tumors corresponds with that of the lipiodol on the röntgenograms.

Macroscopically the experimental and spontaneous tumors do not differ from those, described in mice by Livingood, Haaland, Tyzzer, Slye c.s., Samssonow, Grady and Stewart and others.

Histologically, however, pulmonary tumors never before described in literature, occurred in eight mice. These tumors

originate from the bronchial epithelium and two types can be distinguished.

One is built up of proliferating bronchi; the epithelium varies between cylindrical and cubic and is ciliated. Between these ciliated epithelium cells one or more goblet cells occur.

The other originates from the epithelium of bronchioli, is built up of low cubic ciliated epithelium and lines the inner wall of normal and emphysematous alveoli.

Metastases occurred in both types exclusively along the bronchial tubes, viz. in seven cases.

The other pulmonary tumors have a papillomatous, adenomatous or papillarcystadenomatous structure, corresponding with what was described by above-mentioned research-workers.

In the papillomatous tumors the branched papillary strands are considered to be a younger state of development of the branched papillae.

Metastases were not observed in these three forms of tumors. Yet in one case a lymph node at the hilus has been infiltrated and in two cases an infiltration into the stem of a papilloma has been seen.

From the serial-analysis of these pulmonary tumors it appears that only two tumors originate from the bronchial epithelium. The remaining tumors arise from the alveolar epithelium.

Histologically the pulmonary tumors in my mice can not be divided into benign and malignant forms. I think that principally all pulmonary tumors are malignant for the mouse.

From control tests with lipiodol it appears that lipiodol is harmless to the lungs of the mouse. By means of röntgenograms, fat colorations in ice-cuts and micro-iodine determinations in paraffinecuts of the lungs of injected mice it appeared that the lipiodol was still present at least 272 days after injection of  $0.03 \text{ cm}^3$ .

In the surroundings of the pulmonary tumors, chiefly in bronchi and in a lesser degree in alveoli, peculiar formations occur. These formations are microscopically small and correspond with those described by Haaland, Tyzzer, Slye c.s. and Straub. These formations proved to be neither crystals nor hair, as the above-mentioned research-workers presumed. It is a mucous substance, very probably formed under pathological circumstances by the bronchial epithelium.

In chapter IV results have been mentioned of the peritracheal

injections in five mice with 0.01 to 0.03 cm<sup>3</sup> of the 1% lipiodol-methylcholanthrene solution. In two mice a sarcoma developed in the mediastinum and in three mice a carcino-sarcoma. The carcino-sarcoma appears to spring from the thymus, resp. from the trachea or the esophagus.

In chapter V one finds the description of how in ten mice it was tried to damage the pulmonary tissue by means of intrapulmonary injections. This was done to examine, whether tumors are arising from the stroma of the connective tissue of the lung, when brought into connection with methylcholanthrene. Tumors were observed in only four mice of this series viz. in one case a thymuscarcinoma and in the other three cases a sarcoma of the pleura. Metastases in lymphatic glands and lungs occur in both.

## RÉSUMÉ.

La partie expérimentale des recherches comprend une méthodologie par laquelle la possibilité existe d'occasionner des tumeurs cancéreuses par l'introduction d'hydrocarbures cancérogènes dans les poumons de souris sans endommager aucunement l'épithélium des poumons ou des voies respiratoires.

Comme matière injectrice cancérogène on emploie le méthylcholanthrène dissous dans 40 % de lipiodol.

A l'épreuve on a utilisé 14 souris de la race „O20" du Leeuwenhoekhuis, lesquelles étaient âgées de 66 à 226 jours. A six souris deux injections intratrachéales étaient pratiquées, à sept souris une seule injection. En total il a été injecté 0,01 à 0,05 cc de la solution. Le lipiodol 40 % comme dissolvant rend possible de localiser le méthylcholanthrène dans les poumons par moyen de photos rayons X. Immédiatement après l'injection et quatre à six mois et demi plus tard les photos rayons X faisaient remarquer que les ménagements par le lipiodol se trouvaient exclusivement dans le poumon gauche de presque toutes les souris, et dans la plupart des cas dans le champ supérieur. Cette localisation est expliquée d'une part par la direction de la canule vers la bronche principale gauche pendant l'injection, et d'autre part par les plis de la paroi dorsale de la trachée et des bronches des lobes supérieures.

Les 14 souris passées à l'épreuve furent tuées 134 à 288 jours après la première injection. Chez toutes les souris j'ai trouvé des tumeurs de poumons parmi lesquelles une dizaine étaient multiples. A des âges correspondants, des tumeurs de poumons spontanées se produisirent dans 20 % des cas, et celles-ci étaient toujours solitaires. On doit remarquer la relation entre le nombre des tumeurs de poumons qui se sont développées, et la quantité injectée de méthylcholanthrène, et le nombre des jours après les injections.

La place des tumeurs expérimentales est conforme avec les taches claires sur les photos rayons X causées par le lipiodol.

Macroscopiquement les tumeurs de poumons expérimentales et spontanées ne diffèrent pas de celles décrites chez des souris par Livingood, Haaland, Tyzzer, Slye c.s., Samssonow, Grady et Stewart et d'autres.

Au contraire les recherches histologiques montraient chez huit souris dix-huit tumeurs de poumons non encore décrites dans la littérature. Ces tumeurs tirent leur origine de l'épithélium bronchial et peuvent être discernées en deux types:

L'une est produite par des bronches proliférées. L'épithélium est de cylindrique à cubique et est cilié. Parfois parmi ces cellules épithéliales ciliées il y a présence d'une ou plusieurs cellules muqueuses cupulaires.

L'autre est produite par l'épithélium des bronchioles, consiste en épithélium cubique bas, parfois cilié, et recouvre la paroi intérieure d'alvéoles normaux et emphysémateux.

Chez tous les deux types des métastases se trouvaient exclusivement le long de la voie respiratoire et bien dans sept cas.

Les autres tumeurs de poumons ont une structure papillomateuse, adénomateuse ou cysto-adénomateuse papillaire, correspondante avec celle décrite par les expérimentateurs déjà mentionnés.

Dans les tumeurs papillomateuses les nattes papillaires ramifiées sont regardées comme étant dans une phase d'évolution plus récente que les papilles ramifiées.

On n'a pas observé de métastases dans ces trois formes de tumeurs; bien dans un seul cas on a remarqué une pénétration dans une glande lymphatique de l'hile du poumon et en deux cas une infiltration dans l'hile d'un papillome.

Les recherches en série de ces tumeurs de poumons montrent que deux tumeurs seulement proviennent de l'épithélium bronchial. Les autres tumeurs proviennent de l'épithélium alvéolaire.

Histologiquement les tumeurs de mes souris ne peuvent pas être divisées en formes bénines et malines. Je crois que toutes les tumeurs de poumons sont en principe malines pour la souris.

Par les expérimentations de contrôle avec du lipiodol il apparaît que le lipiodol est anodin pour les poumons de souris. Par des photos rayons X, par des colorations de graisse dans des coupes gelées et par des micro-déterminations d'iode dans des coupes paraffinées des poumons des souris injectées, on montre que le lipiodol est encore démontrable au moins 272 jours après l'injection de 0,03 cc.

Dans les environs des tumeurs de poumons, spécialement dans les bronches et dans un moindre degré dans les alvéoles, se trouvent des formations remarquables. Ces formations sont microscopiquement petites et correspondent avec celles décri-

tes par Haaland, Tyzzer, Slye c.s. et Straub. Ces formations ne se manifestent pas comme des cristaux ou des poils comme le croient les expérimentateurs susmentionnés. C'est une substance muqueuse très vraisemblablement produite par l'épithélium bronchial dans des conditions pathologiques.

Dans le chapitre IV sont mentionnés les résultats des injections péri-tachéales chez cinq souris avec 0,01 à 0,03 cc de la 1 % dissolution de méthylcholanthrène en lipiodol. Chez deux souris un sarcome s'est développé dans le médiastin et chez trois souris un carcino-sarcome. Le carcino-sarcome tire son origine respectivement du ris, de la trachée et de l'oesophage.

Dans le chapitre V il est décrit comment on a tâché de dédommager le tissu pulmonaire chez dix souris par moyen d'injections intrapulmonaires. Ceci a été effectué afin de constater si des tumeurs du tissu conjonctif du poumon se développent quand ce dernier est mis en contact avec le méthylcholanthrène. Chez quatre souris seulement de cette série on a constaté des tumeurs, et bien dans un cas un cancer du ris et dans les autres trois cas un sarcome de la plèvre. Des métastases dans les glandes lymphatiques et dans les poumons se trouvent chez tous les deux.

## LITTERATUUR.

1. Vaandrager, F. G. Het primair boosaardig longgezwel in Nederland. 1932.
2. Deelman, H. T. Leerboek der path. Anat. 1940, pag. 748.
3. Aunoy, R.d', B. Pearson, en B. Halpert. Am. J. of Path. 1939, bnd. 15, pag. 567.
4. Boyd, W. Text-Book of Path. 1938, pag. 493.
5. Pott, P. Chir. Observ. 1775.
6. Volkmann, R. Beitr. z. Chir. 1875, pag. 370.
7. Matras, A. Zeitbl. f. Hautkrankheiten. 1935, bnd. 50, pag. 648.
8. Müllschitzky, A. Derm. Wschr. 1939, bnd. 2, pag. 973.
9. Yamagiwa, K., en K. Ichikawa. Mitteil. d. Med. Fakultät z. Tokyo. 1916, bnd. 15, pag. 295.
10. Kennaway, E. L. J. of Path. and Bact. 1924, bnd. 27, pag. 233.
11. Cook, J. W., C. Hewett, en I. Hieger. Nature 1932, bnd. 130, pag. 926. J. of the Chem. Soc. 1933, bnd. 1, pag. 395.
12. Clar, E. Ber. d. Deuts. Chem. Gesellsch. 1929, bnd. 62, pag. 350.
13. Dane, E. en H. Wieland. Zeitschr. f. Phys. Chem. 1933, bnd. 219, pag. 240.
14. Cook, J. W., en G. A. D. Haslewood. J. of the Soc. of Chem. Industry. 1933, bnd. 52, pag. 758.
15. Cook, J. W., I. Hieger, E. L. Kennaway, en W. V. Mayneord. Proc. of the Roy. Soc. Ser. B. 1932, bnd. 111, pag. 455.
16. Klar, E. Klin. Wschr. 1938, bnd. 17, pag. 1279.
17. Gordonoff, T., en B. Walthard. Schweiz. Med. Wschr. 1939, bnd. 69, pag. 381.
18. Livingood, L. E. Johns Hopkins Hosp. Bull. 1896, bnd. 7, pag. 177.
19. Haaland, M. Annales de l'Institut. Pasteur. 1905, bnd. 19, pag. 165.
20. Tyzzer, E. E. The J. of Med. Research. 1907, bnd. 17, pag. 156.
21. Jobling, J. W. Monographs of the Rockefeller Institut. 1910, bnd. 1, pag. 81.
22. Slye, M., H. F. Holmes, en H. G. Wells. The J. of Med. Research. 1914, bnd. 30, pag. 417.
23. Murray, J. A. Third Scient. Rep. of the Imp. Cancer Research Fund. 1908, pag. 73.
24. Strong, L. C. Genetics. 1935, bnd. 20, pag. 586.
25. — The Am. J. of Cancer. 1935, bnd. 25, pag. 599.
26. Bittner, J. J. The Am. J. of Cancer. 1935, bnd. 25, pag. 614.
27. Andervont, H. B., en J. W. Eleny. Pub. Health Rep. 1937, bnd. 52, pag. 772.
28. Andervont, H. B. Pub. Health Rep. 1938, bnd. 53, pag. 1660.
29. Murray, W. S. The Am. J. of Cancer. 1934, bnd. 20, pag. 573.
30. Andervont, H. B. Pub. Health Rep. 1938, bnd. 53, pag. 1658.
31. Bittner, J. J. The Am. J. of Cancer. 1936, bnd. 27, pag. 519.
32. Korteweg, R. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1939, bnd. 51, pag. 5989.
33. Murphy, J. B., en E. Sturm. The J. of Exp. Med. 1925 bnd. 42, pag. 693.
34. Schabad, L. M. Zeitschr. f. Krebsf. 1930, bnd. 30, pag. 24.
35. Haaland, M. Fourth Scient. Rep. of the Imp. Cancer Research Fund. 1911.



36. Aschoff, L. Zeitschr. f. Exp. Med. 1926, bnd. 50, pag. 52.
37. Roger, G. H. Presse Médic. 1923, bnd. 29.
38. Seemann, G. Beitr. der path. Anat. 1925, bnd. 74, pag. 345.
39. Oberling, C., C. Sannié en M. en P. Guérin. Bull. Assoc. franç. pour l'Et. du Cancer. 1936, bnd. 25, pag. 169.
40. Valade, P. Bull. Assoc. franç. pour l'Et. du Cancer. 1937, bnd. 24, pag. 456.
41. Barry, G., J. W. Cook, G. A. D. Haslewood, C. L. Hewett, I. Hieger, en E. L. Kennaway. Proc. of the Roy. Soc. Ser. B. 1935, bnd. 117, pag. 318.
42. Shear, M. J. The Am. J. of Cancer. 19, bnd. 26, pag. 322.
43. Wieland, H., en E. Dane. Zeitschr. f. Phys. Chem. 1933, bnd. 219, pag. 240.
44. Cook, J. W., en G. A. D. Haslewood. J. of the Soc. of Chem. Industry. 1933, bnd. 52, pag. 758.
45. Fieser, L. F., en M. S. Newman. J. of the Am. Chem. Soc. 1935, bnd. 57, pag. 961.
46. Fieser, L. F., en A. M. Seligman. J. of the Am. Chem. Soc. 1935, bnd. 57, pag. 942.
47. Mayneord, W. V., en E. M. Roe. Proc. of the Roy. Soc. Ser. A. 1935, bnd. 152, pag. 299.
48. Sicard, J. A., en J. Forestier. The Brit. J. of Radiology. 1926, bnd. 31.
49. Oberling, C., en M. Guérin. Bull. Assoc. franç. pour l'Et. du Cancer. 1933, bnd. 22, pag. 469.
50. Roussy, G., C. Oberling, en M. Guérin. Bull. Acad. Méd. 1934, bnd. 112, pag. 809.
51. Selbie, F. R. The Brit. J. of Exp. Path. 1938, bnd. 19, pag. 100.
52. Collins, D. C. Canad. Med. Assoc. J. 1939, bnd. 40, pag. 440.
53. Herxheimer, G. gecit. door B. Romeis. Taschenbuch der Mikrosk. Technik. 1932, pag. 300.
54. Weigert, C. gecit. door B. Romeis. Taschenbuch der Mikrosk. Technik. 1932, pag. 435.
55. Heidenhain, R. gecit. door B. Romeis. Taschenbuch der Mikrosk. Technik. 1932, pag. 411.
56. Andervont, H. B. Pub. Health Rep. 1937, bnd. 52, pag. 217.
57. — Pub. Health Rep. 1937, bnd. 52, pag. 1584.
58. — Pub. Health Rep. 1937, bnd. 52, pag. 1932.
59. Andervont, H. B., en E. Lorenz. Pub. Health Rep. 1937, bnd. 52, pag. 637.
60. Lettinga, Tj. W., De carcinogene werking van kleine doses 1:2:5:6-dibenzanthraceen. 1937.
61. Lauche, A. Anatomie und Pathologie der Spontanerkrankungen der kleinen Laboratoriumstiere. Rudolf Jaffé. 1931, pag. 29.
62. Reichle, H. S. Arch. of Path. 1938, bnd. 25, pag. 811.
63. Shimkin, M. B. The Am. J. of Cancer. 1939, bnd. 35, pag. 538.
64. Reith, J. F. De micro-jodiumbepaling in natuurlijke grondstoffen. 1929.
65. Borne, G. A. Kreuzwendedich von dem Acta. brev. Neerl. 1938, bnd. 8, pag. 198.
66. Samssonow, M. Zeitschr. f. Krebsf. 1939, bnd. 49, pag. 525.
67. Straub, M. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1941, bnd. 47, pag. 4442.
68. Klaarenbeek, F. W. Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1941, IV, pag. 4442.
69. Lorenz, E. en M. J. Shear. The Am. J. of Cancer. 1936, bnd. 26, pag. 333.
70. Lettinga, Tj. W. De carcinogene werking van kleine doses 1:2:5:6-dibenzanthraceen. 1937, pag. 73.

71. Shear, M. J. *The Am. J. of Cancer.* 1939, bnd. 36, pag. 211.
  72. Schouten, S. L. *Der Mikromanipulator. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. und f. mikrosk. Technik.* 1934, bnd. 51, pag. 421.
  73. Grady, H. G., en H. L. Stewart. *The Am. J. of Path.* 1940, bnd. 16, pag. 417.
  74. Keyser, S. *Tumorvorming door 1:2:5:6-dibenzanthraceen.* 1934.
  75. Haagensen, C. D., en O. F. Krehbiel. *The Am. J. of Cancer.* 1936, bnd. 26, pag. 368.
  76. Morton, A. A., C. F. Branch, en D. B. Clapp. *The Am. J. of Cancer.* 1936, bnd. 26, pag. 754.
  77. Lewis, W. H. *The Am. J. of Cancer.* 1939, bnd. 27, pag. 521.
  78. Chakovitch, X. *Acta Caner. Jugoslav.* 1940, bnd. 2, pag. 157.
  79. Schabad, L. M. *Zeitschr. f. Krebsf.* 1935, bnd. 42, pag. 295.
  80. Bonne, C. *Zeitschr. f. Krebsf.* 1927, bnd. 25, pag. 12.
-







## STELLINGEN.

### I.

Soms wordt ten onrechte „angina pectoris“ als een hartziekte beschouwd.

### II.

Intramusculaire injectie in de *Musculus glutaeus* levert herhaaldelijk gevaar op.

### III.

Het verdient aanbeveling bij de behandeling der eclampsie inspuitingen met doryl te beproeven, als middel om verdere stuipen te voorkomen en de diuresis te bevorderen.

### IV.

Bij dubbelzijdige niertuberculose is regelmatige cystoscopische controle noodzakelijk.

### V.

De bloedvormende organen alleen zijn niet verantwoordelijk voor de vorming van de koolzuur-anhydrase.

### VI.

Bij peritonsillair absces verrichte men tonsillectomie à chaud.

## VII.

De gangbare opvatting de cellen van Sertoli als enkelvoudige cellen aan te merken is aanvechtbaar.

## VIII.

De seniele exsudatieve maculadegeneratie is onafhankelijk van bloeddrukverhooging.









D  
Ut

1