

INTRAMANDIBULAIR CARCINOOM BIJ MUIZEN

Een experimenteel onderzoek

with a summary

STELLINGEN.

I.

De betrekking tussen serumafwijkingen en amyloidafzetting bij experimentele amyloidosis is niet duidelijk.

II.

Met het oog op de therapie dient te worden onderzocht of de met de kleurproef van Sabin en Feldman quantitatief te bepalen cytoplasma wijzigende antistof maatgevend is voor de specifieke afweer van de patiënt tegen Toxoplasma.

III.

De aanzettende werking van histamine op de hartspier is geen gevolg van het vrijmaken van catecholaminen, maar is een eigen effect van histamine.

IV.

Voor de aortografie kan de contrasttoediening door aortapunctie in vele gevallen vervangen worden door punctie van de art. femoralis met inbrengen van een catheter (methode vlg. Seldinger).

V.

Het door Bossy beschreven pancreaspreparaat met duodenumdivertikel geeft steun aan Delmas' op reconstructies van de embryonale pancreas gebaseerde opvatting aangaande de positie van ventrale en dorsale pancreasaanleg van het volwassen orgaan.

VI.

De in de recente literatuur tot uiting komende controverse over de resultaten van de bpheniumhydroxynaphthoaat-therapie van de mijnwormziekte is te verklaren door (a) het verschil in de wijze waarop *Necator americanus* resp. *Ancylostoma duodenale* op dit geneesmiddel reageren; (b) het verschil in de methodiek waarmee de resultaten worden beoordeeld.

VII.

Het probleem van de arthritis deformans van het heupgewricht is steeds meer een mechanisch probleem geworden, uitgezonderd het malum coxae senile.

VIII.

Onderricht in de theorie en praktijk der anticonceptie behoort een onderdeel te zijn der geneeskundige opleiding.

IX.

Het is betreurenswaardig dat medische studenten over asepsis en antisepsis slechts worden voorgelicht door verpleegsters op de operatiekamer.

INTRAMANDIBULAIR CARCINOOM BIJ MUIZEN

EEN EXPERIMENTEEL ONDERZOEK

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR IN
DE GENEESKUNDE AAN DE RIJSUNIVERSITEIT TE
LEIDEN, OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS
MR J. V. RIJPPERDA WIERDSMA, HOOGLERAAR IN DE
FACULTEIT DER RECHTSGELEERDHEID, TEGEN DE BE-
DENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE
TE VERDEDIGEN OP WOENSDAG 14 JUNI 1961 TE 16 UUR

DOOR

CAREL FREDERIK HOLLANDER

GEBOREN TE TALANG AKAR (NEDERLANDSCH-INDIË,
THANS INDONESIË) IN 1931

DRUKKERIJ „LUCTOR ET EMERGO”

PROMOTOR: TH. G. VAN RIJSSEL

Dit proefschrift werd bewerkt in het Pathologisch Laboratorium der Rijksuniversiteit te Leiden. De verzorging van de proefdieren was in handen van de heren A. P. Wallaard en A. Wassenaar.

De vaak moeilijke histologische bewerking van het materiaal geschiedde aanvankelijk door mevr. M. J. Callenbach-Huisman, later door mej. M. E. A. Willemsen en mej. J. van Driel. De illustraties voor dit proefschrift werden vervaardigd door mej. J. W. Whittaker (schema's) en mej. M. A. C. Hos en de heren P. A. Bouter en C. G. Boers (foto's).

De statistische berekeningen werden uitgevoerd door de afdeling Statistiek van het Nederlands Instituut voor Praeventieve Geneeskunde te Leiden (hoofd: C. A. G. Nass).

Financiële steun verkregen van het Koningin Wilhelmina Fonds heeft het mij mogelijk gemaakt het onderzoek te voltooien.

INHOUD

HOOFDSTUK	I.	Inleiding en probleemstelling	1
HOOFDSTUK	II.	Anatomie van de muizekaak	8
HOOFDSTUK	III.	Materiaal en methodiek	11
HOOFDSTUK	IV.	Resultaten van het onderzoek	21
	A.	Algemeen	21
	B.	Histologisch aspect	23
	C.	Uitkomsten	29
	D.	Obductiegegevens	38
	E.	Algemene samenvatting	41
HOOFDSTUK	V.	Enkele beschouwingen over haar en cysten ...	43
HOOFDSTUK	VI.	Waarom heeft de nylongroep meer carcinomen?	48
HOOFDSTUK	VII.	Vergelijking met carcinoom in de kaak bij de mens	60
HOOFDSTUK	VIII.	Slotbeschouwing	62
SAMENVATTING			65
SUMMARY			68
LITERATUUR			71
ILLUSTRATIES			75

HOOFDSTUK I

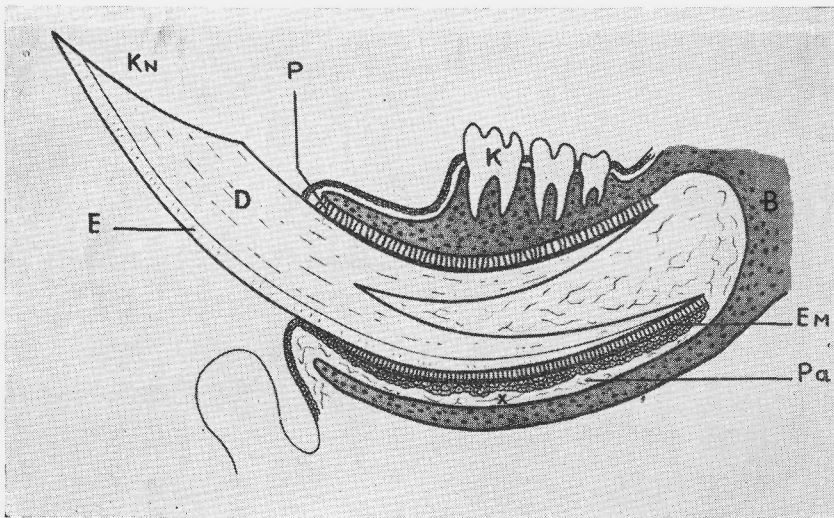
INLEIDING EN PROBLEEMSTELLING

Inleiding

Het onderzoek uit het Antoni van Leeuwenhoekhuis over het spontaan optreden van intramandibulaire tumoren bij muizen vormt het uitgangspunt voor dit proefschrift (van Rijssel 1953, 1956, id. en Mühlobck 1955).

Bij deze onderzoeken werden bij oude muizen (± 20 maanden en ouder) van diverse zuivere stammen zwellingen van de onderkaak aangetroffen (schema 1).

Bij analyse van deze zwellingen werd aangetoond dat een deel hiervan



SCHEMA 1. Onderkaak van een volwassen muis (lengtedoorsnede).

B = bot van de onderkaak; D = dentine; E = email; Em = emailorgaan; K = kies; Kn = knaagtand; P = periodontium; Pa = parodontale bindweefsel; X = localisatie van de cysten en gezwellen (zie ook schema 6).

veroorzaakt was door cysten, gelegen in het losmazige bindweefsel ventraal en iets lateraal van de knaagtand, een ander deel door kwaadaardige gezwellen, gelegen in dit zelfde gebied (aangegeven door x op schema 1). *

De cysten bevatten heldere vloeistof, pus of restanten van bloedingen en waren doorgaans monoloculair. Histologisch onderzoek toonde aan, dat de cystewand werd bekleed met epitheel, dat meestal opgebouwd was uit platte cellen, één- of meerlagig was en leek op afgeplat plaveiselepitheel. In een onderzoek van serie coupes werd een verbinding gevonden met het epitheel van het emailorgaan, doorgaans slechts over een klein oppervlak. De cysten konden in twee groepen onderverdeeld worden: microcysten en macrocysten. De microcysten werden bij het histologisch onderzoek gevonden in ogenschijnlijk normale kaken. De macrocysten waren reeds uitwendig zichtbaar.

In het bindweefsel om de cysten heen konden meestal tekenen van ontsteking worden waargenomen, hetzij in de vorm van een cellig infiltraat, hetzij in de vorm van abcesvorming. Doorbraak van pus uit de cyste, waarvan een deel van het epitheel te gronde was gegaan, kon eveneens leiden tot abcesvorming in het bindweefsel. De meest opmerkelijke vondst was die van *haar*! Zowel in de cyste als in het bindweefsel er omheen werden haren aangetroffen, terwijl in het laatste geval om de haren heen ontstekingsinfiltraat werd waargenomen, dat soms gepaard ging met de vorming van reuscellen. Nooit werden cysten gevonden zonder dat er haar kon worden aangetoond. De cysten, vooral de macrocysten, deden de tandkas sterk uitzetten. Deze kreeg dan een opgeblazen aspect. In een aantal gevallen werd tevens de tand verplaatst, wat resulteerde in een doorgroei. Dit verhinderde het dier voedsel tot zich te nemen en had zo de dood tot gevolg.

De *maligne gezwellen* bleken carcinomen te zijn van het plaveiselepitheeltype. Soms konden in deze tumoren gebieden met verhoorning aangetroffen worden. In andere gevallen toonde de tumor anaplastische gebieden met spoelvormige cellen en talrijke mitosen. Differentiëring van een sarcoom was dan moeilijk. Het was niet moeilijk invasieve groei aan te tonen. Het bot van de mandibula werd aangetast, soms groeide de tumor er dwars doorheen en infiltreerde de weke delen. In enkele gevallen kon men een osteoplastische reactie waarnemen. De kaak was gezwollen en sterk vervormd. Men vond de tand verplaatst en soms gedeformeerd. In de longen van sommige dieren en

*) Dergelijke afwijkingen zijn reeds beschreven door Zegarelli (1944). Hij had deze waargenomen bij muizen uit de kolonie van Maud Slye en beschouwde zowel de cysten als de gezwellen als adamantoblastomen, terwijl hij zich niet uitliet over de aetiologie.

een enkele maal in de cervicale lymfeklieren werden metastasen aangetroffen. Het bleek mogelijk deze tumoren over te enten. Zij toonden histologisch nog de volgende twee kenmerken:

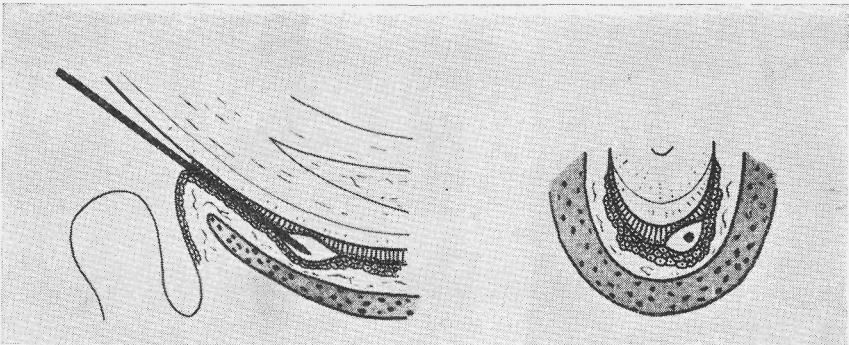
- a. In bijna alle tumoren werd nog een restant van bovenbeschreven cyste aangetroffen. De cyste kon nog geheel intact zijn; de wand vertoonde maligne groei met infiltratie van het onderliggend bindweefsel of men vond op diverse plaatsen in de wand carcinomateus veranderd epitheel. In andere gevallen duidde een spleet in het carcinoomweefsel op de vroegere aanwezigheid van de cyste.
- b. In alle carcinomen werden haren aangetroffen, hetzij weinig, hetzij veel.

Deze waarnemingen suggereerden sterk, dat er een verband bestond tussen cysten en carcinoom enerzijds, en cyste en haar anderzijds.

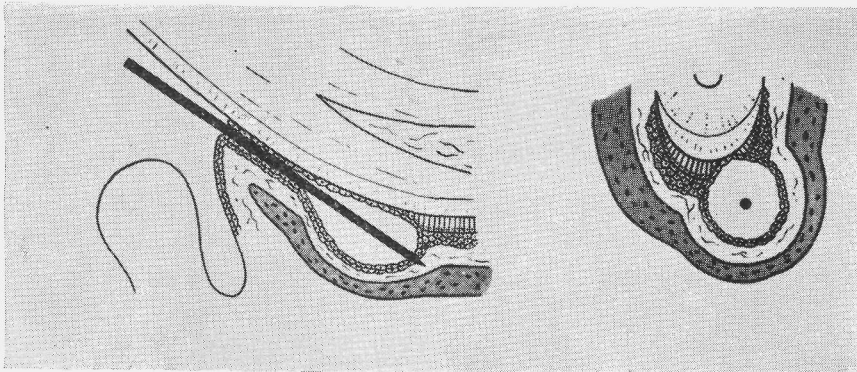
Daarnaast werden bij de muizen met carcinomen in de ogenschijnlijk niet aangetaste contralaterale helft van de mandibula microcysten aangetroffen met ontsteking en haren.

Verdere onderzoeken bij diverse zuivere stammen brachten het volgende aan het licht:

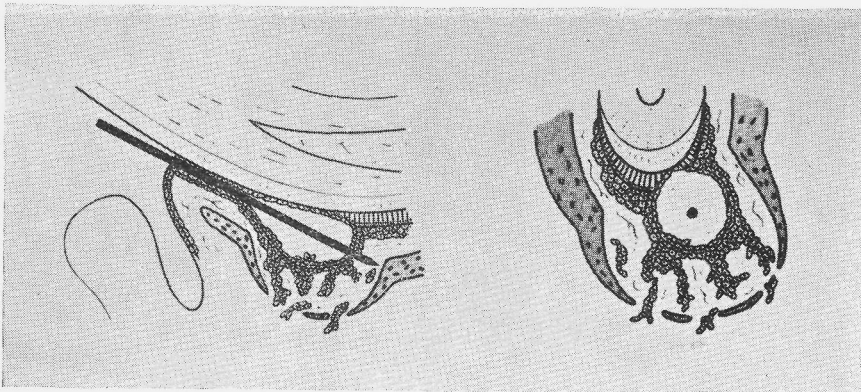
- ogenschijnlijk normale kaken konden bij histologisch onderzoek toch nog in een hoog percentage afwijkingen vertonen in de vorm van binnengedrongen haren en soms ook van microcysten;
- er bleken duidelijke stamverschillen te zijn ten opzichte van het binnengedringen van haren en het ontstaan van microcysten; oude muizen van de stammen O₂₀, DBA en F₁-bastarden van deze stammen en WLL_f hadden in een hoog percentage deze afwijkingen in tegenstelling tot oude dieren van de stammen C₅₇B1 en A;
- de leeftijd is ook een factor bij het ontstaan van deze afwijkingen, daar bij jonge dieren van één à twee maanden vrijwel geen haren werden gevonden in tegenstelling tot bij dieren van tien maanden en ouder;
- bij mannelijke dieren kwamen de afwijkingen meer voor dan bij vrouwelijke dieren;
- de haren bleken voornamelijk afkomstig te zijn van de kooigenoten en niet van het dier zelf en drongen binnen ten gevolge van het „knagen” aan elkaar;
- het soort haar heeft geen invloed;
- bovengenoemde stamverschillen berusten niet op anatomische structuurverschillen in de kaak van de dieren van de verschillende stammen;



SCHEMA 2. Splitsing van het epitheel van het emailorgaan door binnendringend haar: spleetvorming (lengte- en dwarsdoorsnede).



SCHEMA 3. Cystevorming. De wand van de cyste is bekleed met metaplastisch epitheel (lengte- en dwarsdoorsnede).



SCHEMA 4. Carcinoom uitgaande van de cystewand (lengte- en dwarsdoorsnede).

— in de bovenkaak ontbreken bovenbeschreven afwijkingen, op een incidenteel binnendringen van haar na.

Op grond van deze waarnemingen kwam van Rijssel tot de volgende mening over het ontstaan van cysten en carcinomen in de onderkaak van de muis: ten gevolge van het knagen van de dieren aan elkaar dringen afgebroken of losgeraakte haren de tandkas van de knaagtand binnen en splijten voornamelijk vóór in de tandkas de lagen van het epitheel van het emailorgaan (schema 2). Bij deze traumatische spleetvorming in het emailorgaan wordt het epitheel ter plaatse van de spleetvorming tevens metaplastisch en krijgt het het aspect van plaveiselepitheel. Door een ophoping van vocht in de spleten ontstaan op den duur hieruit micro- respectievelijk macrocysten (schema 3). Deze cysten vormen nu het uitgangspunt voor de carcinomen (schema 4). De volgende twee factoren worden van direct belang geacht voor het ontstaan van kanker uit de cystewand:

1. het epitheel is niet meer het normale emailvormende epitheel, maar het is metaplastisch veranderd met kenmerken van plaveiselepitheel,
2. dit epitheel is blootgesteld aan chronische irritatie door enerzijds ontstekingsprocessen, gelocaliseerd zowel in de wand van de cyste als in het bindweefsel er omheen, anderzijds door de aanwezigheid van haren op dezelfde plaatsen.

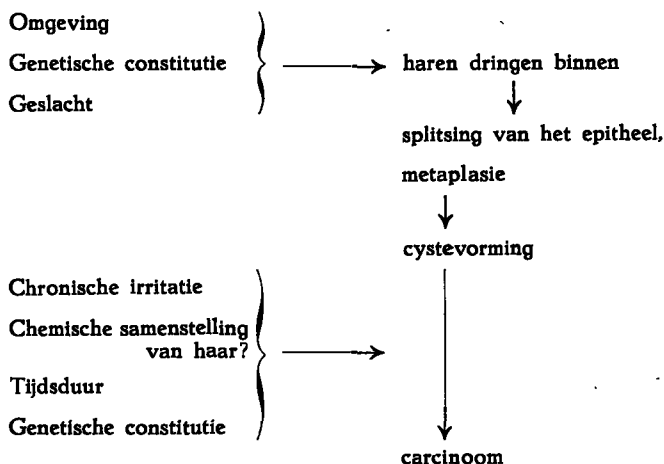
Dat er in gebieden met chronisch geïrriteerd, metaplastisch epitheel een verhoogde kans bestaat op de ontwikkeling van carcinoom, is bekend uit de menselijke pathologie.

Wij hebben hier dus te maken met carcinoom, dat uit een normaal orgaan ontstaat ten gevolge van mechanische beschadiging en chronische irritatie. Het antwoord op de vraag in hoeverre de chemische samenstelling van haar op dit proces van invloed is, moest open gelaten worden. De frequentie van dit intramandibulair carcinoom is niet hoog: bij geen van de onderzochte stammen kwam het vaker voor dan bij 1 % van de dieren.

Schema 5 (blz. 6) geeft de factoren weer, die zouden bijdragen tot het ontstaan van intramandibulaire carcinomen bij muizen.

Probleemstelling

In het algemeen kan men verwachten, dat, als men een carcinogene prikkel op jeugdige leeftijd toedient, er meer carcinomen zullen ontstaan, zolang de frequentie niet tot 100 % nadert. Immers, door die prikkel vroeger te laten inwerken schept men omstandigheden, waardoor de lange latente tijd die nodig



SCHEMA 5. Factoren betrokken bij het ontstaan van intramandibulair carcinoom bij muizen.

is voor het ontstaan van carcinoom, méér binnen de leeftijdsgrens van het dier komt te liggen.

Als de aangehaalde opvatting over de kaaktumoren bij muizen juist is, zou men dus de frequentie van deze gezwellen moeten kunnen vergroten door de mechanische beschadiging van het emailorgaan vroeger te doen plaats vinden. Een experimenteel onderzoek dat uitgaat van bovenstaande gedachtengang, waarbij dus kunstmatig het emailorgaan van jonge muizen mechanisch beschadigd wordt door het inbrengen van vreemd materiaal in de tandkas, leek dan ook gewenst. Indien de resultaten overeenstemmen met de verwachting, zou dit een aanzienlijke steun zijn voor de mening dat chronische mechanische beschadiging van het emailvormend epitheel tot carcinoom kan leiden. Daarbij zou men kunnen nagaan, of inderdaad cysten ontstaan ten gevolge van mechanische beschadiging van het emailorgaan door haar, en of deze zich ontwikkelen uit spleten in dit orgaan veroorzaakt door de mechanische beschadiging.

De vraag is reeds geopperd, of het trauma-verwekkende haar mogelijk op grond van zijn chemische samenstelling nog een specifieke invloed uitoefent op het ontstaan van carcinoom uit de cystewand. Wil men trachten hierop een antwoord te geven, dan kan men het haar vervangen door indifferente stoffen. In de proefopstelling, die nader zal worden toegelicht in hoofdstuk III, is dan ook het haar als beschadiging-gevend agens bij een aantal dieren vervangen door roestvrij V_{2a} -staaldraad of door een niet gevlochten, uit één

stuk gegoten (monofilamenteus) nylondraad, beide stoffen, die in de heekunde algemeen gebruikt worden en waarvan men aanneemt dat zij geen carcinogene eigenschappen bezitten. Of de carcinogenese hier verloopt via metaplasie, met andere woorden of wij hier te maken hebben met tumoren uitgaande van het plaveiselepitheel dat de cystewand bekleedt en waarvan wij weten dat het ontstaan is uit het epitheel van het emailorgaan, zal een histologisch onderzoek moeten leren. De vraag, wat de rol van ontsteking is in dit proces, kan hierbij tegelijkertijd in beschouwing genomen worden. De invloeden die geslacht en gezelschap uitoefenen, kunnen nagegaan worden door respectievelijk in de proefopstelling zowel mannelijke als vrouwelijke dieren te gebruiken en door de dieren gedurende het leven apart en met méér in een kooi te zetten.

Samenvattend kan gezegd worden, dat voor het onderzoek de volgende vraag centraal gesteld is: *kan chronische mechanische beschadiging van het emailvormend epitheel van de knaagtand leiden tot het ontstaan van carcinoom?*

Voor de beantwoording van deze vraag werd experimenteel onderzocht, of dieren, die men vanaf jeugdige leeftijd blootstelt aan de prikkels, die verantwoordelijk lijken te zijn voor het ontstaan van de intramandibulaire carcinomen, meer tumoren krijgen dan onbehandelde dieren.

Bovendien werd getracht uit deze proeven antwoord te krijgen op de volgende vragen:

1. Is bij het ontstaan van deze carcinomen inderdaad de *mechanische* beschadiging van het emailorgaan van de knaagtand de voornaamste factor? Of heeft haar specifieke chemische eigenschappen, die het ontstaan van carcinoom bevorderen?
2. Vindt de maligne verandering plaats via metaplasie en wat is de betekenis van ontsteking hierbij?

Tenslotte leek het wenselijk om via literatuurstudie na te gaan, of er bij de mens processen voorkomen die op enigerlei wijze overeenstemmen met de hier experimenteel bestudeerde.

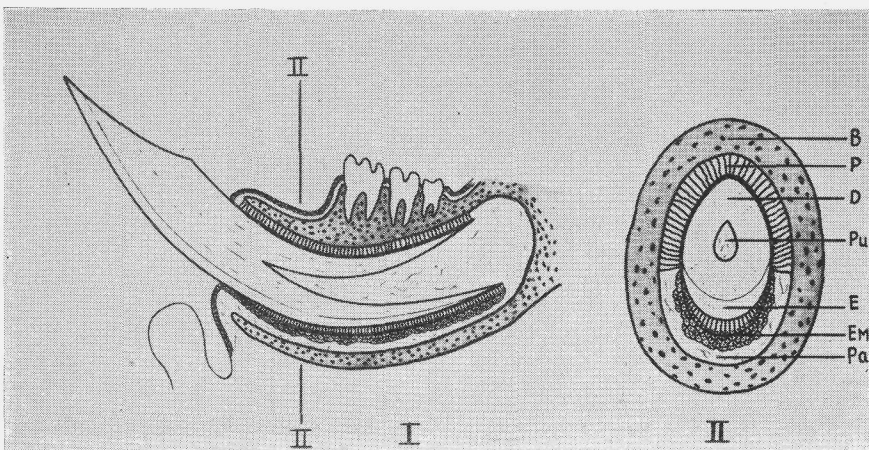
HOOFDSTUK II

ANATOMIE VAN DE MUIZEKAAK

In onderstaand hoofdstuk wordt de anatomie van de muizekaak beschreven voor zover dit nodig is voor het onderwerp van dit proefschrift.

Op grond van een literatuurstudie — Addison en Appleton (1915), von Brunn (1887), Didier en Rode (1944), Roetter (1889), Sachse (1894), Schour en Massler (1942) — en een vergelijkend onderzoek van de onderkaak van de rat werd duidelijk dat wat voor de rat geldt, in principe ook voor de muis geldt.

Beide helften van de mandibula en beide helften van de maxilla van muizen bevatten een enkelvoudige knaagtand, ook wel snijtand genoemd, en drie kiezen (schema 6, foto 5). De tandformule van de muis is dus $I_{\frac{1}{1}}, C_{\frac{0}{0}}, P_{\frac{0}{0}}, M_{\frac{3}{3}}$.



SCHEMA 6. Onderkaak van een volwassen muis (lengte- en dwarsdoorsnede).
B = bot; P = periodontium; D = dentine Pu = pulpa; E = email; Em = emailorgaan;
Pa = parodontale bindweefsel (zie ook schema 1).

De knaagtanden zijn spiraalvormig gebogen, de bovenste vertegenwoordigen een groter segment van een kleinere en de onderste een kleiner segment van een grotere spiraal. In de bovenkaak strekt de knaagtand zich uit tot vóór de kiezen, in de onderkaak onder en tot voorbij de kiezen. Gedurende het leven tonen de knaagtanden een continue groei, waarbij nieuwe dentine aan de basis van de wortelloze tand gevormd wordt door de odontoblasten. Deze groei vindt een tegenhang in een afslijting aan de top, een gevolg van het knagen. De tand krijgt zijn specifieke beitelvorm, omdat de hardheid van dentine verschilt van die van email. Aan de convexe zijde wordt het dentine van de tand bedekt door een laagje email, aan de concave, de mediale en de laterale zijden door een dun laagje cement (foto 6). Het email wordt gevormd door het emailorgaan, dat zich bevindt aan de convexe zijde van de tand, zich uitstrekt van de basis van de tand tot de gingiva en uit verschillende epitheelagen is opgebouwd. Bij het volwassen dier kan men aan het emailorgaan van de knaagtand achtereenvolgens de volgende drie lagen onderscheiden: een binnenste, een middelste en een buitenste laag (foto 7).

De binnenste laag bestaat uit prismatische of cilindrische ameloblasten, waarvan de kernen aan de kant van de middelste laag liggen.

In de middelste laag vinden we twee delen: a. het stratum intermedium, opgebouwd uit 1 à 2 rijen kubische cellen, b. de emailpulpa, die nog maar moeilijk als afzonderlijke laag te herkennen is.

De buitenste laag, oorspronkelijk opgebouwd uit een enkele cellaag, vormt nu tesamen met de overblijfselen van de emailpulpa papillen. Deze papillen worden omgeven door losmazig bindweefsel, waarin zich talrijke wijde capillairen bevinden.

Meer naar voren vindt geleidelijk een afplatting van de binnenste laag plaats, terwijl tegelijkertijd de twee andere lagen smaller worden. Buiten de tandkas worden geen cilindrische cellen meer gevonden, het emailorgaan bestaat nu uit een paar lagen platte cellen en gaat over in het plaveiselepitheel van de gingiva. Aan de basis van de tand vertoont het meer kenmerken van de embryologische staat. In het emailorgaan kan men dus van de basis naar voren toe alle ontwikkelingsstadia volgen: proliferatie, emailvorming en regressie.

Het email van de tand bestaat uit twee lagen. De emailprisma's lopen in twee verschillende richtingen; ze kruisen elkaar in de binnenste of plexiforme laag, maar veranderen van richting als zij zich voortzetten in de buitenste laag en gaan dan evenwijdig lopen (foto 7).

Het periodontium verbindt het bot van de tandkas met de concave en het

grootste deel van de laterale en de mediale zijden van de tand en geeft deze zijn stevige bevestiging in de tandkas (foto 6). Er zijn drie vezellagen in te onderscheiden: de vezels ingebed in cement, de vezels ingebed in het bot en de plexus intermedius. Zure mucopolysacchariden konden in het periodontium aangetoond worden (Wislocki en Sognnaes, 1950).

Aan de convexe zijde en zich iets naar de laterale en de mediale zijde uitstrekkend bevindt zich tussen het bot van de tandkas en het emailorgaan bindweefsel. Dit paradentale bindweefsel wordt gekenmerkt door losmazigheid en vaatrijkdom (foto 6).

De embryologische ontwikkeling van de knaagtand loopt in het begin parallel met die van de snijtanden van de mens, met dien verstande dat slechts het convexe deel van het emailorgaan tot functioneren komt en blijft bestaan zoals boven is beschreven. Het concave en het grootste stuk van het laterale en mediale deel van het emailorgaan verliezen hun structuur in de loop van de ontwikkeling ten gevolge van afplatting en ingroei van mesenchym, het latere periodontium, en gaan ten slotte te gronde. Epitheelrestjes, die in wezen vergelijkbaar zijn met de epitheelrestjes van Malassez bij de mens, kunnen soms nog worden teruggevonden als overblijfsel van deze delen van het emailorgaan.

HOOFDSTUK III

MATERIAAL EN METHODIEK

Proefdieren

Aan de hand van de gegevens door van Rijssel verkregen in het Antoni van Leeuwenhoekhuis betreffende de gevoeligheid van de diverse zuivere muizestammen voor de te bestuderen afwijking viel onze keus op de bastaard-combinatie ($\varnothing$ WLL_f x δ O₂₀) F₁, verder kortweg WLL_fO genoemd. Het gebruik van een F₁-bastaard heeft het voordeel dat de dieren genetisch identiek zijn, in het algemeen sterker zijn dan hun ouders en meer weerstand hebben tegen ziekten en veranderingen in het milieu, wat ook blijkt uit hun langere levensduur (Thung, 1958).

De muizen werden, 4 tot 6 weken oud, verkregen uit het Antoni van Leeuwenhoekhuis. De mannelijke en vrouwelijke dieren werden vóór de geslachtsrijpe leeftijd gescheiden en vanaf dat moment apart gezet. Ze werden gehouden in glazen kooien van 17 x 11 x 12 cm., waarvan de bodem bedekt was met een laagje fijn zaagsel. Het deksel was van verzinkt ijzer, voorzien van perforaties en een vierkante opening, waarin een voedselkorf was geplaatst, die vervaardigd was van hetzelfde materiaal. Afhankelijk van de proefopstelling zaten er in een kooi 1 of 4 dieren. Het voedsel bestond uit in korrelvorm geperst voer („Laboratorium Rattenkorrels met soya en D-vitaminen”, van Roest's Pluimvee- en veevoederfabriek te Heemstede), tweemaal in de week aangevuld met tarwe, terwijl drinkwater ad libitum beschikbaar was. De temperatuur van de ruimte waarin de kooien stonden werd constant op 22° C. gehouden. Enkele groepen muizen die voor steekproeven op verschillende leeftijden werden afgemaakt buiten beschouwing gelaten, was het ons doel de dieren zo oud mogelijk te laten worden, ten einde het maximale aantal kaaktumoren te verkrijgen. De stand van de knaagtanden werd regelmatig gecontroleerd, en werd hierin een deviatie gevonden, dan werden de betreffende tanden bijgeknipt. Dit om te verhinderen, dat de tand doorgroei-

de en het dier geen voedsel meer tot zich kon nemen (M u l d e r, 1864).

Proefopstelling

Het totale experiment omvatte 643 muizen. Op grond van de in hoofdstuk I uiteengezette vraagstelling werden de volgende 6 groepen samengesteld, waarvan de behandeling later zal worden beschreven.

1. Een groep van 126 dieren (62 mnl. en 64 vrl.). Deze dieren zaten onbehandeld voor de rest van hun leven elk apart in een kooi. In het vervolg heet deze groep: *controlegroep*.
2. Een groep van 76 vrouwelijke dieren. Deze dieren zaten onbehandeld voor de rest van hun leven met zijn vieren in een kooi. In het vervolg heet deze groep: *controlegroep/4*.
3. Een groep van 121 dieren (70 mnl. en 51 vrl.). Bij deze dieren werden de eigen snorharen ($\varnothing 50 \mu$) in de tandkas gebracht. De dieren zaten voor de rest van hun leven elk apart in een kooi. In het vervolg heet deze groep: *haargroep*.
4. Een groep van 80 vrouwelijke dieren. Bij deze dieren werd eveneens eigen snorhaar ($\varnothing 50 \mu$) in de tandkas gebracht. Hierna werden de dieren telkens met zijn vieren in een kooi gezet voor de rest van hun leven. In het vervolg heet deze groep: *haargroep/4*.
5. Een groep van 120 dieren (60 mnl. en 60 vrl.). Bij deze dieren werd roestvrij V_{2a} -staaldraad ($\varnothing 100 \mu$) in de tandkas gebracht. Deze dieren zaten voor de rest van hun leven elk apart in een kooi. In het vervolg heet deze groep: *V_{2a} -groep*.
6. Een groep van 120 dieren (60 mnl. en 60 vrl.). Bij deze dieren werd uit één stuk gegoten nylondraad ($\varnothing 150 \mu$) in de tandkas gebracht. De dieren zaten voor de rest van hun leven elk apart in een kooi. In het vervolg heet deze groep: *nylongroep*.

De verdeling over de zes groepen geschiedde als volgt:

Na aankomst uit het Antoni van Leeuwenhoekhuis werden de muizen eerst gewogen, waarna telkens groepen van 4 dieren gevormd werden van hetzelfde gewicht, dezelfde leeftijd en sexe. Deze dieren werden blind over de controlegroep, haargroep, V_{2a} -groep en nylongroep verdeeld, waarbij er naar gestreefd werd om in elke groep in principe evenveel mannelijke als vrouwelijke dieren te krijgen. Nadat deze groepen de gestelde sterkte bereikt hadden, werden de controlegroep/4 en haargroep/4 samengesteld op principieel dezelfde wijze, met als enige uitzondering dat deze twee groepen enkel uit vrouwelijke dieren werden

geformeerd. Het laatste was noodzakelijk, omdat bleek dat het niet mogelijk was om mannelijke dieren met meerdere tegelijk in een kooi te houden.

Materiaal

De gebruikte materialen waren de volgende:

1. Snorhaar van het dier zelf. Dit werd verkregen door de haren, aan het begin van de behandeling terwijl het dier in narcose was, zo dicht mogelijk bij de plaats van implantatie af te knippen. Snorharen zijn langer en dikker dan de haren, die de vacht van het dier vormen. De gemiddelde dikte van snorharen bedroeg $\pm 50 \mu$ (bepaling, verricht door het laboratorium van de A.K.U. te Arnhem).
2. Roestvrij V_{2a} -staaldraad met een diameter van 100μ . Een V_{2a} -staaldraad met een diameter kleiner dan 100μ bleek niet in de handel te zijn. Roestvrij V_{2a} -staal is een verzamelnaam voor legeringen van ijzer met chroom en nikkel, dikwijls nog gecombineerd met geringe hoeveelheden van andere zware metalen.
3. Uit één stuk gegoten (monofilamenteus) nyldraad met een diameter van 150μ . Het bleek niet mogelijk een nyldraad te vervaardigen die dezelfde stugheid als haar had en daarnaast een diameter van 50 of 100μ . De in het experiment gebruikte nyldraad was een uit één stuk gegoten Sutron-hechtdraad van de I.C.I. (type 66 nylon; chemisch: polyhexamethylene adipimide).

Uit het bovenstaande blijkt dat, hoewel er naar gestreefd werd om diameter en stugheid van V_{2a} -staaldraad en nyldraad zoveel mogelijk te laten overeenkomen met die van snorhaar, dit niet geheel mogelijk was. Bij de beoordeling van de uitkomsten van dit onderzoek zullen deze factoren dan ook in de beschouwing betrokken dienen te worden.

Zoals reeds in hoofdstuk I uiteengezet is, werden V_{2a} -staaldraad en nyldraad in het onderzoek gebruikt als controlemateriaal op haar. Van het V_{2a} -staaldraad mag met zekerheid worden aangenomen dat het geen carcinogene eigenschappen bezit. Of nylon eveneens niet carcinogeen is, is een omstreden vraag. Proeven met plastics gedaan door Oppenheimer et al. (1948, 1952, 1953a, 1953b, 1955, 1956, 1957, 1958) en door anderen herhaald en uitgebreid — Druckrey et al. (1952, 1954a, 1954b, 1956), Zollinger (1952), Schubert en Uhlmann (1955), Nothdurft (1955a, 1955b, 1956a, 1956b, 1958), Mohr en Nothdurft (1958), Nothdurft en Mohr (1958), Mohr (1959), Alexander en Horning (1959) —

wijzen in de richting van mogelijk carcinogene eigenschappen van plastics. Bovengenoemde onderzoekers konden onder bepaalde omstandigheden met subcutaan geïmplanteerde plastics sarcomen verwekken bij ratten. Dit lukte alleen als men dunne schijfjes van een bepaalde grootte gebruikte. Subcutane implantatie van plastic in poedervorm, als bolletje of draad (mono- of polyfilamenteus) gaf nooit aanleiding tot het ontstaan van sarcoom. Deze sarcomen bleken uit te gaan van een bindweefselkapsel die het stukje plastic omgaf. Nylon is dan ook in deze proefopstelling met tweeërlei doel gebruikt: ten eerste als controle op de eigen invloed van haar, ten tweede om de al of niet carcinogene werking van nylon na te gaan. De eventuele quantitative en kwalitatieve verschillen tussen de met nylon behandelde dieren aan de ene kant en de met haar en V_{2a} -staaldraad behandelde dieren aan de andere kant zullen misschien een antwoord kunnen geven op de vraag of aan plastics carcinogene eigenschappen mogen worden toegeschreven.

Behandeling

Alle dieren werden in ethernarcose van een nummer in het oor voorzien. Voor de beide controlegroepen werden de nummers 1000 t/m 1999 gereserveerd; voor de beide haargroepen de nummers 2000 t/m 2999 en enkele nummers uit de reeks 3000 t/m 3999; voor de V_{2a} -groep de nummers 4000 t/m 4999 en voor de nylongroep de nummers 5000 t/m 5999. Alle mannelijke dieren kregen een oneven nummer, alle vrouwelijke dieren een even nummer.

Voor de controlegroep en controlegroep/4 was hiermee de behandeling afgelopen. De dieren uit de andere 4 groepen werden, aansluitend aan het merken van het oor, onder narcose in rugligging op een kurken ondergrond vastgebonden. De kop werd gefixeerd op de onderlaag door middel van een zijden hechtdraad, die om de bovenste knaagtanden werd bevestigd. Vervolgens werd met behulp van een fijne injectienaald (no. 20) op geleide van de knaagtand het gingivaslijmvlies aan de convexe zijde van de onderste knaagtanden een weinig opgelicht, waarna de vereiste corpora aliena in de tandkas konden worden gebracht. Het gebruikte instrumentarium en materiaal, op de haren na, was huishoudelijk schoon. Er werd niet naar gestreefd de ingreep steriel te doen plaats vinden om het natuurlijk gebeuren zo dicht mogelijk te benaderen, en ook omdat steriel werken in dit operatiegebied bijzonder veel speciale voorzieningen zou hebben geëist. De eerste behandeling geschiedde vóór de derde levensmaand.

Voor de haargroep en haargroep/4 bestond het ingebrachte corpus alienum uit eigen snorharen van het dier. Als eerste behandeling werden beiderzijds

twee snorharen ingebracht. Vóór de zesde levensmaand werd deze behandeling herhaald, waarbij er naar gestreefd werd om beiderzijds nogmaals vijf haren in te brengen. Tien haren is ongeveer het maximale aantal bruikbare snorharen, dat men verkrijgt door beide wangen van alle snorharen te be-roven. Na elke behandeling werden de nog uit de tandkas stekende delen van de snorharen zo dicht mogelijk bij de ingang van de tandkas afgeknipt. Het gelukte bij alle dieren snorharen aan beide kanten in te brengen.

Voor de V_{2a} -groep bestond het ingebrachte corpus alienum uit stukjes, van te voren op de geschatte lengte gebracht, roestvrij V_{2a} -staaldraad. Bij de eerste behandeling werd er naar gestreefd beiderzijds twee stukjes draad in te brengen. Door de grote stugheid van de draad tesamen met zijn grotere diameter ten opzichte van de snorhaar, gelukte het niet bij alle dieren het gestelde aantal stukjes in te brengen. Bij een aantal dieren was het slechts mogelijk om hetzij één draad per tandkas in te brengen, hetzij om aan maar één kant één of twee draden in te brengen. In een tweede behandeling vóór de zesde levensmaand werd nogmaals getracht draad in te brengen. Bij aanwezigheid van draad werd de tandkas verder opgevuld met zoveel draad als erin te brengen was, bij afwezigheid van draad werd getracht dit alsnog in te brengen. Per tandkas kon het aantal ingebrachte stukjes draad dan ook variëren van één tot vier. Na beide behandelingen werden de nog uit de tandkas stekende delen van de draden zo dicht mogelijk bij de ingang van de tandkas afgeknipt. Bij alle dieren op één na gelukte het om beiderzijds V_{2a} -staaldraad in de tandkas te brengen. Bij dit ene dier gelukte het slechts aan één kant draad in te brengen.

Voor de nylongroep bestond het ingebrachte corpus alienum uit stukjes, van te voren op de geschatte lengte gebracht, nylondraad. Bij de eerste behandeling bleek, dat ten gevolge van de grote diameter (± 3 maal die van een snorhaar) de draad niet in te brengen was. Het is met behulp van de volgende techniek gelukt om nylon in te brengen. Eerst werd een stukje van de reeds eerder genoemde V_{2a} -staaldraad ingebracht. Dit mislukte slechts een enkele maal. Deze stukjes werden, na $1\frac{1}{2}$ à 2 maanden er in gezeten te hebben, er weer uitgehaald. Nu bleek het mogelijk nylondraad in te brengen. De tandkas van beide knaagtanden werd nu als het ware getamponneerd met stukjes nylondraad. Dit had tot resultaat, dat het aantal ingebrachte stukjes draad varieerde van één tot zes per tandkas. De vervanging van de V_{2a} -staaldraad door nylondraad geschiedde vóór de zesde levensmaand. Ook hier werden de nog uitstekende delen van de nylondraden weer zo dicht mogelijk bij de ingang van de tandkas afgeknipt. Bij vijf mannelijke dieren mis-

lukte het inbrengen van nylon beiderzijds. Zij zijn dan ook niet opgenomen in de slotbeschouwing. Bij acht andere dieren gelukte het slechts om aan één kant nylon in te brengen.

Steekproeven

Om een inzicht te krijgen in het verloop van de processen in de kaak werd besloten om uit elke groep op bepaalde leeftijden een aantal dieren voor histologisch onderzoek op te offeren. Hierbij werd uitgegaan van de gedachte, dat de natuurlijke sterfte, zeker op oudere leeftijd, verder zou zorgen voor voldoende materiaal om een redelijk inzicht te krijgen in het verloop van de processen in de kaak.

De dieren werden met etherdamp gedood. Hierop volgde een volledige obductie van het dier, waarbij als routine kop, hart, longen, lever, milt en nieren voor histologisch onderzoek werden ingesloten, naast alle andere delen waarin zich macroscopisch waarneembare pathologische afwijkingen bevonden, waar dan ook gelocaliseerd. Dit met het oogmerk om primaire kaaktumoren te kunnen differentiëren van metastasen in de kaak.

Voor de controlegroep, haargroep en V_{2a} -groep hadden deze steekproeven plaats bij uit elke groep 5 mannelijke dieren van 5 maanden oud (no. 1001, 1003, 1005, 1007, 1009, 2001, 2003, 2005, 2007, 2009, 4001, 4003, 4005, 4007, 4009) en bij 2 mannelijke en 1 vrouwelijk dier van 12 maanden oud (resp. no. 1011, 1013, 2011, 2013, 4011, 4015 en no. 1002, 2002, 4002).

Voor de nylongroep hadden deze steekproeven slechts plaats bij 2 mannelijke en 1 vrouwelijk dier van 12 maanden oud (no. 5011, 5013 en no. 5002). Bij dieren van 5 maanden oud kon geen steekproef genomen worden in verband met de gewijzigde techniek, die nodig was om het nylon in de tandkas te brengen. Als controlegroep voor deze techniek fungeerden hier de dieren met een leeftijd van 5 maanden uit de V_{2a} -groep.

Voor de controlegroep/4 hadden de steekproeven plaats bij 2 dieren van 3 maanden oud (no. 1148, 1150) en 4 dieren die respectievelijk 5 maanden (no. 1228, 1230, 1232, 1234), 12 maanden (no. 1246, 1248, 1268, 1270), 18 maanden (no. 1290, 1292, 1294, 1296) en 25 maanden (no. 1162, 1164, 1168, 1190) oud waren. Hierbij werden zowel dieren met een „afgekloven”, d.w.z. kale snuit (foto 2), als dieren met een nog intacte beharing van de snuit gekozen. Bij voorkeur werden de dieren uit één kooi genomen.

Voor de haargroep/4 hadden deze steekproeven slechts plaats bij 2 dieren van 3 maanden (no. 2180, 2182) en 2 dieren van 6 maanden oud (no. 3080, 3090). Ook hier werden dieren genomen met een „afgekloven” en een in-

tacte beharing van de snuit. Hierbij werd uitgegaan van de gedachte, dat een inzicht betreffende de „knaaggewoonten” van bij elkaar in een kooi opgesloten dieren reeds uit controlegroep/4 verkregen werd en het in deze groep van belang was de dieren zo oud mogelijk te laten worden.

Natuurlijke sterfte

Om te voorkomen dat het materiaal, na spontane sterfte van het dier, ten gevolge van de snel optredende autolyse voor het onderzoek niet meer bruikbaar zou zijn, werden de volgende indicaties opgesteld voor het afmaken van dieren. Deze waren, naast algemene verschijnselen van ouderdomszwakte, ziekte en spontaan optredende tumoren die direct het leven van het dier bedreigden. Ook hier weer werden de dieren door middel van etherdamp gedood, waarna volledige obductie volgde als boven beschreven. Bij de dieren, die macroscopisch verdacht waren van een kaakcarcinoom, werden bovendien nog de oppervlakkige cervicale lymfeklieren apart ingesloten. Overenting van tumoren vond, zo nodig, plaats.

Leeftijdsbepaling

De geboortedatum van de dieren was bekend (gegevens verkregen uit het Antoni van Leeuwenhoekhuis). De leeftijd van elk dier op het moment van overlijden werd eerst in dagen berekend. Hierna werd deze omgezet in maanden, alle van 30 dagen. De breuk die verkregen werd, als er uit deze deling niet een geheel aantal maanden kwam, werd als volgt verdisconteerd: 0,5 t/m 0,9 kwam bij het gehele getal dat erboven ligt. Bijv. 6,6 maanden werd geboekt als 7 maanden oud, 6,3 maanden daarentegen als 6 maanden oud. Als er gesproken wordt over een dier, dat 7 maanden oud is, wordt hiermee bedoeld: 6,5 t/m 7,4 maanden oud, tenzij anders vermeld.

Histologische bewerking

Het voor het histologisch onderzoek bestemde materiaal werd gefixeerd in formaline 4 %. Na fixatie van minimaal 4 dagen werden de inwendige organen op de gebruikelijke wijze tot coupes verwerkt, die met haematoxylineosine gekleurd werden. Zo nodig werden extra-kleuringen vervaardigd.

De kop werd na fixatie ontkalkt in 6 % sulfosalicylzuur gedurende 7 dagen. Hierna werd elke kop als routine in 3 even dikke frontale plakken gesneden, te beginnen bij de uittree-plaats van de onderste knaagtand in de mond en eindigend achter het kaakgewricht; zo nodig werden meer plakken vervaardigd. Voor de dieren uit de V_{2a}-groep was het eerst nodig de V_{2a}-staaldraad te verwijderen. Dehydratie geschiedde in de volgende alcoholreeks:

alcohol 50 % - 5 uur, alcohol 70 % - 5 uur, alcohol 96 % - 12 uur, alcohol absoluut - 12 uur. De inbedding geschiedde als volgt: petroleum-ether 2 maal een half uur, waarna de plakken in vloeibare paraffine met een smeltpunt van 58-60° C. gebracht werden. Het geheel werd vervolgens gedurende 45 minuten in een vacuumstoof geplaatst. Van elke plak werden 4 coupes gemaakt op verschillend niveau ter dikte van 6-8 μ . De coupes werden als routine gekleurd met haematoxyline-eosine. De gesneden linten werden bewaard totdat de coupes beoordeeld waren, zodat zo nodig extra-kleuringen konden worden gemaakt. In een aantal gevallen werden tevens blanco-coupes bewaard. Zo nodig werden seriecoupes vervaardigd.

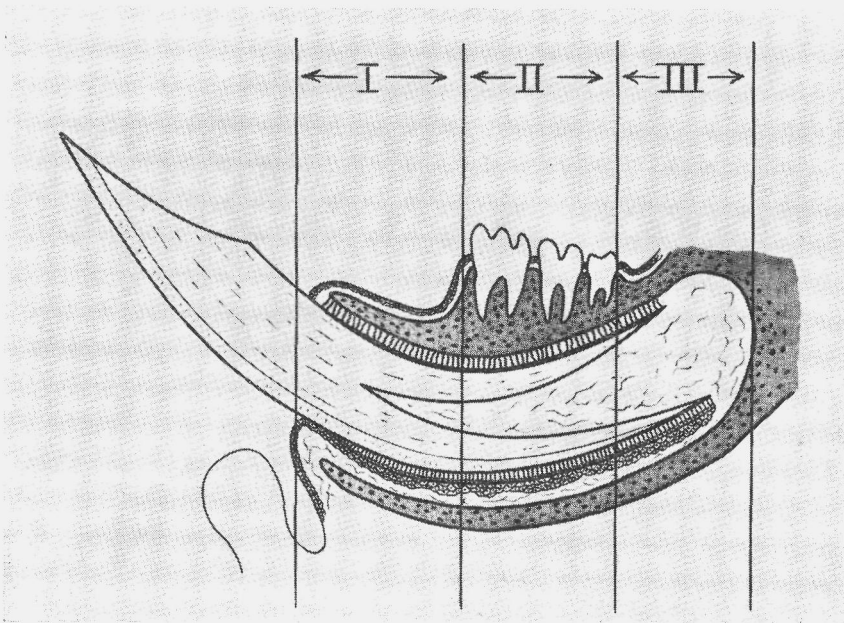
Histologische beoordeling

In het algemeen werd de onderkaak onderzocht op drie plaatsen, die ieder in een van de volgende zones lagen (schema 7):

Zone I : het gebied vóór de eerste molaar.

Zone II : het gebied onder de molaren.

Zone III: het gebied achter de derde molaar.



SCHEMA 7. Verdeling van de onderkaak in zones (lengtedoorsnede).

Genoteerd werd, of het gebied normaal was, of er haren of nylon in voorkwamen, of er V_{2a} -staaldraad in had gezeten, of er cysten aanwezig waren en tenslotte of er gezwollen in voorkwamen. Van de eventueel aanwezige ontstekingsprocessen werd de aard en de localisatie beschreven, evenals de toestand van het paradentale bindweefsel (normaal of vermeerderd) en die van het bot (uitgebocht, verdund, onderbroken, nieuwvorming).

Van elke cyste werd vastgelegd, of we te maken hadden met een spleet, een microcyste of een macrocyste. Onder spleet hebben wij verstaan een holtevorming in het emailorgaan, gepaard gaande met afplatting van het epitheel, maar waarbij de contouren van het emailorgaan nog grotendeels bewaard waren (foto 8). Microcysten hebben wij gedefinieerd als holten, gevuld met vocht en bekleed met epitheel, welke niet meer de contouren van het emailorgaan als begrenzing hebben, maar een eigen vorm bezitten (foto's 9 en 10). Deze cysten werden aangetroffen in ogenschijnlijk uitwendig normale kaken. Van macrocysten werd gesproken indien de kaak macroscopisch was gedeformeerd (foto 3).

Van elke cyste werd geregistreerd wat de inhoud ervan was (eiwithomogenaat, bloed, pus, haar), waar de wand uit bestond en of er contact bestond tussen cyste en emailorgaan. Tevens werd, voor zover dit mogelijk was aan de hand van de beschikbare coupes, nagegaan of de cyste uni- of multiloculair was.

Om een indruk te krijgen over de grootte van de cysten werden deze in drie klassen ingedeeld. Cysten met carcinoom zijn hierbij niet betrokken, omdat bij een groot carcinoom niet meer de grootte van de cyste te bepalen is, zoals deze geweest zou zijn, voordat het carcinoom in de kaakhelft ontstond. Als uitgangspunt voor deze indeling is genomen het gebied waarover de cyste zich uitstreckte, gerekend over de lengte van de tandkas. Dat dit slechts een benadering is van de absolute grootte van een cyste, zijn wij ons bewust. Dezelfde verdeling van de tandkas in drie zones werd gebruikt als boven werd beschreven. Klasse 1 omvatte de cysten, die zich uitstrekten over maar één zone, klasse 2 de cysten, die zich uitstrekten over twee zones en klasse 3 de cysten, die werden aangetroffen in alle drie zones. Het is gebleken, dat bijna alle cysten die in klasse 1 vielen, zich in zone I bevonden, slechts een enkele bevond zich in zone II; de cysten, die in klasse 2 vielen, lagen bijna alle in zone I en zone II, een paar maal slechts was zone I niet aangedaan en werd de cyste aangetroffen in zone II en III. Bovendien bleek, dat de dwarse diameter van de cysten vaak het grootst was in de coupes in zone III en het kleinst in zone I. Wij menen dan ook deze indeling te kunnen gebruiken om

de grootte van de cysten onderling te vergelijken.

Bij dieren met een kaakcarcinoom werd bovendien de relatie cyste—carcinoom bestudeerd. Daarnaast werd nog genoteerd hoe de histologische bouw van het gezwel was, of er invasieve groei was, terwijl de oppervlakkige cervicale lymfeklieren en de andere ingesloten organen op metastasen werden onderzocht.

Om een indruk te krijgen over het aantal haren en het tijdstip, waarop deze de tandkas binnendringen, werden tellingen gedaan bij dieren, die respectievelijk 5, 12, 17, 18, 23, 24, 28 en 29 maanden oud waren. Voor elke kaakhelft werden in één coupe van elk der drie zones alle doorsneden van haren geteld bij een vergroting van 500 maal, met behulp van een rasterwerk in het oculair. Er werd naar gestreefd, dat de niveaus waarop de tellingen verricht werden, zoveel mogelijk identiek waren bij de verschillende dieren. Bij de V_{2a} -groep konden geen tellingen verricht worden ten gevolge van beschadiging van het weefsel door het verwijderen van het V_{2a} -staal draad.

Het overige deel van de kop en de bij de obductie verwijderde organen werden onderzocht op de aanwezigheid van tumoren, spontaan ontstaan op andere plaatsen dan in de kaak, en op de aanwezigheid van andere ziekelijke processen. Dit geschiedde met het doel om enerzijds verwisseling van kaaktumoren met metastasen van tumoren elders in het lichaam uit te sluiten, anderzijds om een indruk te krijgen over de frequentie en verdeling, waarin tumoren en andere pathologische afwijkingen bij deze F_1 -bastard voorkomen.

HOOFDSTUK IV

RESULTATEN VAN HET ONDERZOEK

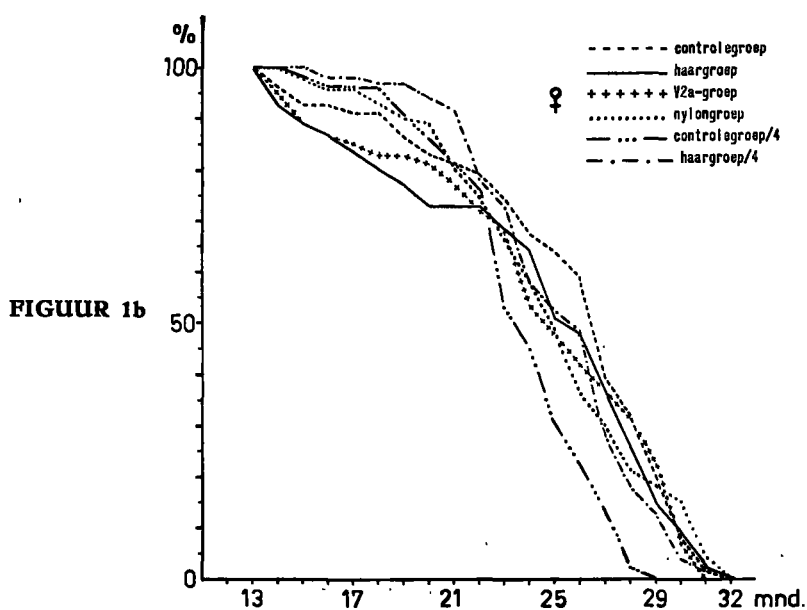
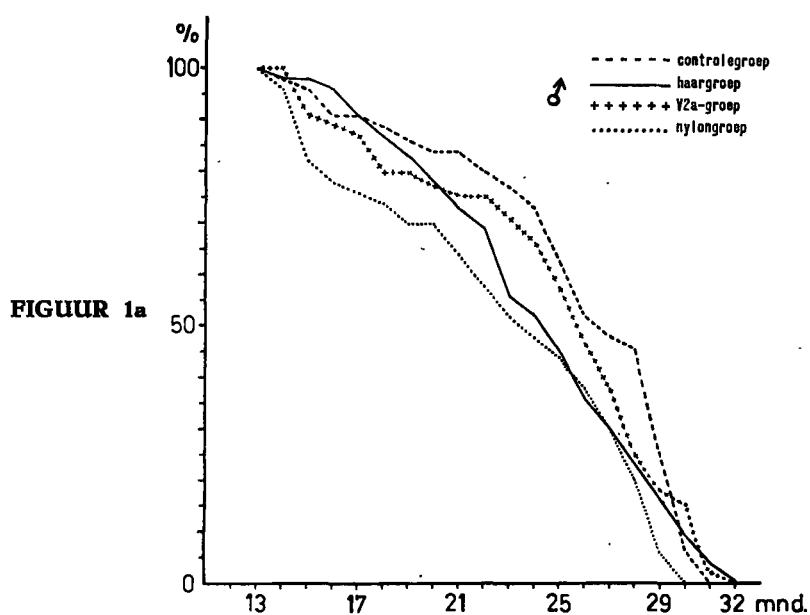
A. Algemeen

In de eerste plaats is onderzocht, of de behandeling van invloed is geweest op de levensduur van de dieren en of er verschillen in deze tussen de groepen bestonden. Hiertoe is voor alle groepen de natuurlijke sterfte berekend in percenten vanaf de 13e levensmaand. De leeftijdsgrens van 13 maanden is hier gekozen, omdat tot en met 12 maanden in de meeste groepen dieren voor controle zijn afgemaakt (zie hoofdstuk III, blz. 16 e.v.) en de natuurlijke sterfte beneden deze leeftijd te verwaarlozen was. Bij die groepen waarbij ook dieren ouder dan 12 maanden voor controledoelinden zijn afgemaakt, zijn deze in de berekening weggelaten. Teneinde tegelijkertijd na te gaan of er geslachtsverschillen bestonden, zijn de mannelijke en de vrouwelijke dieren elk afzonderlijk tegen elkaar afgezet (figuur 1a, 1b).

Het is duidelijk uit de grafische voorstelling van de levensduur van de dieren, dat er tussen de verschillende groepen, bij de mannelijke dieren onderling zowel als bij de vrouwelijke dieren onderling, geen significant verschil bestaat. Vergelijkt men in elk der groepen de mannelijke en de vrouwelijke dieren, dan blijkt ook geen significant verschil tussen de geslachten gevonden te worden. Hieruit volgt, dat de behandeling geen invloed heeft gehad op de levensduur van de dieren, en dat de groepen onderling vergeleken kunnen worden.

De bij de obductie van de dieren gevonden pathologische processen, die niet in de onderkaak gelocaliseerd waren, en vaak mede tot de dood van het dier hadden bijgedragen (zie blz. 38 e.v.), bleken gelijkelijk over de zes groepen verdeeld te zijn.

In alle zes groepen werden cysten in de onderkaak gezien (foto 3). Tevens werden in alle groepen, op de controlegroep/4 na, gezwellen gevonden (foto 4). De tandkas kon, afhankelijk van de grootte van de afwijking, meer of



FIGUUR 1a. Levensduurcurves van onbehandelde en behandelde mannelijke dieren.
 FIGUUR 1b. Levensduurcurves van onbehandelde en behandelde vrouwelijke dieren.

minder sterk uitgezet zijn en de kaak een opgeblazen aspect geven (foto 1). De knaagtand kon verplaatst zijn, was soms zelfs misvormd en correspondeerde in de bek niet meer met de knaagtand uit de bovenkaak, wat resulteerde in een doorgroei van de tanden. In deze gevallen waren de tanden regelmatig door afknippen op de juiste lengte gehouden (zie ook blz. 11).

Dit hoofdstuk bevat achtereenvolgens een beschrijving van het histologisch beeld van de waargenomen afwijkingen, een kritische beschouwing van de uitkomsten, een overzicht van de bij de obductie gevonden afwijkingen, waarna een algemene samenvatting volgt.

B. Histologisch aspect

Het histologisch beeld van de afwijkingen kwam in alle groepen overeen, zodat hier een gemeenschappelijke beschrijving van de waargenomen afwijkingen volgt.

Corpora aliena

De in de tandkas gebrachte corpora aliena (haar, V_{2a} -staaldraad, nylon-draad) werden teruggevonden in het parodontale bindweefsel (foto's 8 en 10). Zowel in de V_{2a} -groep als in de nylon-groep werd één dier gevonden zonder afwijkingen in zijn kaakhelften (resp. no. 4044 en 5030). Men moet hier aannemen, dat het ingebrachte materiaal kort na de behandeling er weer uit gevallen is. Bij dieren met een cyste werden de corpora aliena ook in het lumen van de cyste gevonden (foto's 8 en 12). Bij dieren met intramandibulair carcinoom lagen de corpora aliena in het parodontale bindweefsel, in de cyste of het restant ervan en in het tumorweefsel (foto 4).

Haar en nylon zijn gemakkelijk in de coupe aan te tonen met behulp van gepolariseerd licht. De plaats waar de V_{2a} -staaldraad had gelegen (verwijderd voor het maken van de coupe), werd aangegeven door een lege ronde holte met een doorsnede van $\pm 100 \mu$.

Onderzocht werd van welke aard de beschadiging was direct na het inbrengen van corpora aliena (haar, V_{2a} -staaldraad, nyloodraad). Voor dit doel werden dieren kort na het inbrengen afgemaakt.

Bij de haargroepen bleken de ingebrachte snorharen ($\varnothing \pm 50 \mu$) in het emailorgaan te liggen, of er buiten in het parodontale bindweefsel. In het eerste geval verloor het emailvormend epitheel lokaal zijn samenhang (splijting). Tevens vond er afplatting plaats van de cellen, die direct om het haar lagen. In het geval, dat het haar in het parodontale bindweefsel lag, werden er, op geringe tekenen van samendrukking van het bindweefsel rondom het

haar na, geen afwijkingen gevonden. Overgangsbeelden, waarbij het haar deels in het epitheel van het emailorgaan lag en deels in het parodontale bindweefsel, werden ook gevonden.

Bij de V_{2a} -groep was de beoordeling van de direct aangerichte beschadiging door het inbrengen van V_{2a} -staaldraad ($\varnothing 100 \mu$) moeilijk, aangezien voor het maken van de coupe de draad weer verwijderd moest worden. Dit laatste veroorzaakte een aanzienlijke beschadiging van het weefsel. De beelden, die gevonden werden, vestigden de indruk dat de draad deels in het emailorgaan lag en deels in het parodontale bindweefsel. Dit ging gepaard met verstoring van de continuïteit van de lagen van het emailvormend epitheel en afplatting van dit epitheel ter plaatse. Tevens werd het bindweefsel ter plaatse gecompriëerd.

Beoordeling van de directe beschadiging van de weefsels in de tandkas door het inbrengen van nylondraad ($\varnothing 150 \mu$) was niet goed mogelijk. De moeilijkheden waarmee wij hier te maken hadden, waren van tweeërlei aard. Zij werden veroorzaakt door de beschadiging van het weefsel door het verwijderen van de in de tandkas aanwezige V_{2a} -staaldraden (zie hoofdstuk III) en door de door deze draden gedurende hun verblijf in de tandkas geïnduceerde afwijkingen. Deze afwijkingen bestonden uit toename van bindweefsel en vaak werd ook spleetformatie aangetroffen. Het was dan ook niet mogelijk een gefundeerde indruk te krijgen over de aangerichte directe beschadiging van het weefsel in de tandkas door het inbrengen van nylondraad. Wel leek het of, als er nog geen spleetformatie bestond in het emailorgaan, de beschadiging van het emailorgaan groter was dan bij de andere proefgroepen. In het geval dat er reeds spleetformatie aanwezig was, werd de wand van de spleet vaak beschadigd.

De reactie, die de ingebrachte corpora aliena teweegbrachten in het emailvormend epitheel en in het parodontale bindweefsel, wordt beschreven onder de rubrieken cysten en stroma.

Een opmerkelijke vondst was, dat in alle groepen dieren voorkwamen, bij wie haren in de tandkas gedrongen waren (foto's 11, 12 en 21). De diameter van deze haren was beduidend kleiner dan die van snorhaar en kwam overeen met die van vachthaar (foto's 8 en 9). Bij de alleen gehouden dieren moesten deze haren afkomstig zijn van de vacht van het dier zelf. Het mechanisme, waardoor deze haren in de tandkas geraken, wordt in hoofdstuk V besproken.

Cysten

De cysten werden gevonden in sterk vervormde kaken (macrocyten; foto's

1 en 3), maar ook in onderkaken, die bij de obductie normaal leken (microcysten). Zij bevatten helder of bloedig vocht, of pus.

Bij histologisch onderzoek bleek de wand van de cyste bekleed te zijn met epitheel. Het epitheel bestond uit één of twee lagen sterk afgeplatte langgestrekte cellen (foto 9). Plaatselijk in de cystewand werd altijd een gebied gevonden waar het epitheel duidelijk het aspect van meerlagig plaveiselepitheel had. In deze gebieden kwam het een enkele maal tot hoornvorming. Bij de meeste cysten kon continuïteit van de wand met het emailorgaan aangetoond worden, vaak slechts over een klein oppervlak (foto's 9 en 12).

De inhoud van de cysten was gecoaguleerd tot korrelige of homogene eosinophile massa's met afgestoten epitheelcellen, terwijl soms talrijke erythrocyten gevonden werden of een sterk leucocytair exsudaat (foto's 9, 10, 11 en 12). In enkele gevallen werden voedselresten in het lumen van de cyste gezien.

De cysten waren bijna altijd monoloculair en toonden vaak een sterke lobbing, zodat men bij het bekijken van een enkele coupe de indruk kreeg te maken te hebben met multiloculaire cysten.

De tandkas kon afhankelijk van de grootte van de cyste meer of minder sterk uitgezet zijn en het bot was vaak dunner dan normaal (foto's 3, 10, 11 en 12).

Haar, respectievelijk V_{2a} -staaldraad en nylondraad, werden zowel in het lumen van de cysten als er buiten, in het bindweefsel, aangetroffen. Vaak zag men in de cysten om deze corpora aliena een rozetje van leucocyten, terwijl zij in het bindweefsel ogenschijnlijk geen reactie leken te geven. Hierop komen wij later terug.

Naast ontstekingsverschijnselen in het lumen van de cysten kwam ook vaak cellige infiltratie van de cystewand voor. Soms zelfs was alleen de cystewand ontstoken. Een aantal malen werd waargenomen dat de cystewand onderbroken was; dit kon leiden tot abcesvorming in het bindweefsel.

Behalve micro- en macrocysten zag men herhaaldelijk spleetvorming in het emailorgaan (foto 8). Deze spleetformatie was vrijwel altijd gelocaliseerd vóór in de kaak (zie blz. 19), slechts een enkele maal was zone I vrij van deze afwijking en bevond zich de spleet vooraan in zone II. De inhoud was dezelfde als boven beschreven is voor de cysten, met dien verstande dat leucocyten en haar het meest voorkwamen. De wand werd gevormd door afgeplat epitheel van het emailorgaan. Overgangen tussen deze spleetformatie en microcysten konden herhaaldelijk worden aangetoond. Men zag als het

ware de spleet in de microcyste overgaan. Ook overgangen van micro- naar macrocysten werden gezien.

Opmerkelijk was, dat de cysten in dwarse afmeting toenamen naar achter toe. De macrocysten toonden hun grootste dwarse afmeting dan ook bijna altijd in zone III.

Carcinomen

De meeste carcinomen werden gevonden in onderkaken die sterk opgezet waren (foto's 1 en 4); in enkele gevallen waren bij de obductie macroscopisch geen duidelijke afwijkingen waargenomen.

Bij histologisch onderzoek bleek de bouw van deze gezwellen te variëren van die van planocellulair carcinoom tot die van geheel anaplastische tumoren; het onderscheid ten opzichte van een sarcoom was dan moeilijk te maken. In een aantal gevallen werd in de tumoren een differentiatie aangetroffen met vorming van grote plaveiscellen, die konden verhoornen (foto 16). In andere gevallen was het karakter van de tumor overwegend anaplastisch met vaak spoelvormige cellen en talrijke mitosen (foto 18). In alle gezwellen kon echter een epitheliale herkomst worden aangetoond, terwijl in de tumoren vaak overgangen naar sarcomatoide beelden werden gezien (foto 17). Dit laatste is voor overgeënte carcinomen van verschillende afkomst bij muizen als „sarcomatoide transformatie” beschreven door van Rijssel en medewerkers (1954). De tumoren toonden een duidelijke infiltratieve groei, het bot van de kaak werd aangevreten (foto 19), terwijl ook het periodontium werd geïnfilteerd. In een aantal gevallen groeide de tumor dwars door het bot heen en infiltreerde tot ver in de omliggende weke delen (foto 4). De tandkas was vaak sterk vervormd en opgeblazen, terwijl de tand vaak verplaatst was en misvormd. Reactieve bot-nieuwvorming werd waargenomen. In een aantal tumoren kwamen uitgebreide necrosehaarden voor.

Bij alle tumoren kon een overblijfsel van een cyste aangetoond worden. In een aantal gevallen was de cyste nog intact en toonde de wand op een enkele plaats carcinomateuse groei met infiltratie in het onderliggend bindweefsel (foto's 14 en 15). In andere gevallen bleek in de carcinomen nog een micro- of zelfs een macrocyste aanwezig te zijn (foto 4), terwijl soms nog slechts een spleet wees op de vroegere aanwezigheid van een cyste. In alle gevallen was er contact aan te tonen tussen gezwel en cyste en was de wand van de laatste over een kleiner of groter gebied carcinomateus veranderd. Daarnaast werden in alle carcinomen haren aangetroffen — bij de V_{2a} -groep en nylon-

groep ook V_{2a} -staaldraad of nyloodraad —, soms veel, soms weinig. In de contralaterale kaakhelft van de dieren met een kaaktumor vond men vaak haren, al dan niet in combinatie met V_{2a} -staaldraad of nyloodraad, en cysten.

Tweemaal werd in een carcinoom kraakbeenvorming aangetroffen. In beide gevallen was het niet duidelijk of het kraakbeen gevormd werd door het stroma, of dat de tumor het zelf vormde. Beelden, suggestief voor het laatste, werden gezien.

Metastasen werden aangetroffen in de oppervlakkige cervicale lymfeklieren (13 maal op 39 onderzochte oppervlakkige halslymfeklieren; foto 20).

Vier maal werd een tumor overgeënt, telkens op twee muizen van dezelfde stam. Van deze vier overentingen gaven er twee aanleiding tot gezwelvorming bij de dieren waarop werd overgeënt. Het histologisch aspect van deze gezwellen was identiek aan de oorspronkelijke tumor. Van de twee overentingen, die geen aanleiding gaven tot tumorformatie bij de dieren waarop werd overgeënt, gaf één aanleiding tot het ontstaan van abscessen bij beide dieren. Histologisch onderzoek van de oorspronkelijke tumor bracht aan het licht, dat in dit geval het entmateriaal overwegend uit ontstoken necrotisch weefsel had bestaan. In het andere geval dat niet aansloeg, bleek het entmateriaal overwegend uit stromaweefsel te hebben bestaan. Uit het feit dat er infiltratieve groei en metastasen voorkwamen en dat het mogelijk was deze tumoren over te enten, kan geconcludeerd worden, dat de gezwellen kwaadaardig zijn.

Een aantal malen werden cysten waargenomen waarvan de wand duidelijk verdikt was en bestond uit meerlagig plaveiselepitheel met een beginnende woekering van de basale laag. Dit gaf aanleiding tot papilvorming, zonder dat echter nog infiltratie van het onderliggend bindweefsel kon worden aangetoond. De cystewand was in deze gevallen vaak ontstoken. Wij menen dan ook hier te maken te hebben met een praecarcinomateuse toestand (foto 13).

Driemaal werden andere primaire tumoren in de tandkas aangetroffen: twee odontogene fibromen met vorming van osteodentine en een odontogeen fibroom met cementvorming (Hollander et al., 1960).

Stroma

In de kaakhelften, waar in het paradentale bindweefsel haar, V_{2a} -staaldraad of nylon werd aangetroffen, werden deze stoffen omgeven door een leucocytaire exsudaat, vaak met vorming van reuscellen. Reeds eerder werd opgemerkt, dat alléén nylon of staal slechts zelden werd aangetroffen, daar in de kaakhelften van met deze stoffen behandelde dieren doorgaans ook

haren werden aangetroffen. Het bleek nu, dat het leucocytaire exsudaat geleidelijk aan werd vervangen door bindweefsel. Dit bindweefsel is in het begin celrijk, maar wordt langzamerhand vervangen door een vezelrijk, celarm bindweefsel, dat de ventrale zijde van de tandkas geheel opvult en dat, ook bij afwezigheid van een cyste, het bot doet uitbochten. Haar, staal en nylon worden omgeven door een zeer dunne, vaak nauwelijks als zodanig herkenbare bindweefselkapsel, terwijl in een aantal gevallen histiocyten en reuscellen nog wijzen op een reactief proces. In een aantal gevallen werden naast schijnbaar reactieloos liggende haren, ook haren aangetroffen met nog een duidelijk leucocytaire exsudaat (foto 21). Waarschijnlijk hebben wij hier te maken met recent binnengedrongen haren.

Bovenbeschreven veranderingen van het parodontale bindweefsel werden gevonden zowel in kaakhelften met alleen haar, met haar en V_{2a} -staaldraad of met haar en nylon, als ook in kaakhelften met een cyste. In de enkele gevallen dat alleen V_{2a} -staaldraad of nylon werd aangetroffen, was het beeld hetzelfde.

Het aspect van het stroma in de tumoren bleek gelijk te zijn aan dat van bovenbeschreven afwijkingen, alleen werden hier vaker ontstekingsprocessen gezien ten gevolge van ulceraties van de tumor naar de mondholte, of necrose in de tumor zelf.

Herhaaldelijk werd in het stroma van dieren, waarbij haar in de tandkas gedrongen was, een homogene licht basophile massa met plaatselijk kleine vacuolen waargenomen. Deze massa was onscherp begrensd ten opzichte van het omgevende bindweefsel en werd deels hiervan gescheiden door een laag epitheelcellen, die plaatselijk op ameloblasten leken met daaronder een steunlaag. Dezelfde substantie werd een aantal malen aangetroffen in het emailorgaan. De ameloblasten gingen op deze plaats te gronde of ontbraken, en er bleven alleen groepjes basale cellen over. Met behulp van verschillende kleurmethoden is het gelukt aan te tonen, dat men hier te maken had met onder pathologische omstandigheden gevormd email (foto 13) (Hollander et al., 1960). Wij menen dan ook, dat binnendringende haren het emailorgaan laederen, respectievelijk er delen van afsplijten, die dan op deze plaatsen pathologisch email gaan vormen.

Samenvatting.

De bovenbeschreven experimenteel verwekte afwijkingen komen in histologisch aspect geheel overeen met de spontaan voorkomende afwijkingen beschreven door van Rijssel. Een verschil tussen de zes groepen voor

wat betreft het histologisch beeld van de intramandibulaire afwijkingen werd niet waargenomen (verschillen in frequentie buiten beschouwing gelaten).

In alle groepen werden dieren met haren in de onderkaak gevonden. Wij zullen later zien, hoe men zich moet voorstellen, dat deze hier gekomen zijn.

In alle gevallen waarbij een cyste was ontstaan, waren corpora aliena (haar, V_{2a}-staaldraad en nylon) in de tandkas gedrongen.

Bij alle carcinomen kon een verband aangetoond worden tussen cystewand en tumor. Er kon dus worden vastgesteld, dat het intramandibulaire carcinoom ontstaat uit het epitheel van deze cyste. In alle tumoren werd haar, respectievelijk haar en V_{2a}-staaldraad of haar en nylongdraad aangetroffen.

C. Uitkomsten*

Carcinoomfrequentie

Om een algemene indruk te geven over de opbrengst aan carcinoom in de zes groepen is in tabel 1 voor elke groep afzonderlijk het aantal dieren met carcinoom gesteld tegenover het aantal dieren waarmee het experiment be-

groepen	totaal aantal dieren	aantal dieren met carcinoom	% dieren met carcinoom
controlegroep	126	1	< 1
controlegroep/4	76	0	—
haargroep	121	11	9,1
haargroep/4	80	9	11,3
V _{2a} -groep	120	8	6,7
nylongroep	115	29	25,2

Tabel 1. Overzicht van het aantal dieren in de onbehandelde en behandelde groepen waarmee de experimenten zijn begonnen, en de in die groepen waargenomen dieren met carcinoom.

*) De statistische berekeningen werden uitgevoerd door de afdeling Statistiek van het Nederlands Instituut voor Praeventieve Geneeskunde te Leiden door de heren C. A. G. Nass (hoofd van de afdeling Statistiek van dit instituut) en P. van Leeuwen.

In dit en hoofdstuk VI werden de volgende toetsen gebruikt:

1. voor het vergelijken van percentages de X^2 toets (percentage carcinomen; percentage ontstoken cysten; percentage cysten met carcinoom).
2. voor het vergelijken van frequentieverdelingen:
 - a. toets van Student (aantal cysten, grootte van de cysten).
 - b. toets van Wilcoxon (aantal haren).

gonnen is, zonder rekening te houden met het geslacht. Bij drie van de dieren met carcinoom werd beiderzijds carcinoom gevonden, zonder dat kon worden aangetoond dat deze carcinomen onderling samenhangen. Men moet dan ook aannemen dat in elke kaakhelft afzonderlijk een tumor is ontstaan. Dit kwam eenmaal in de haargroep voor bij een mannelijk dier van 31 maanden (no. 2023), en tweemaal in de nylongroep bij respectievelijk een mannelijk dier van 27 maanden (no. 5081) en een vrouwelijk dier van 17 maanden (no. 5102).

Het blijkt dat de vier behandelde groepen bruto duidelijk meer tumoren hebben dan de twee controlegroepen (tabel 1). De haargroep, haargroep/4 en V_{2a}-groep verschillen onderling niet veel in carcinoomfrequentie. In de nylongroep komen meer carcinomen voor dan in de drie andere behandelde groepen.

De bovenstaande handelwijze heeft het bezwaar, dat men dieren met carcinoom vergelijkt met dieren, waarvan een deel gestorven is — spontaan of voor controle afgemaakt — voordat een tumor zich kon ontwikkelen. Het is dan ook beter de tumoropbrengst op te geven voor dieren, die oud genoeg zijn geworden om een tumor te krijgen.

	bereikte leeftijd in maanden																gemiddelde bereikte leeftijd	
groepen	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30		31
controlegroep	1																—	
controlegroep/4	geen dieren met carcinoom																—	
haargroep				1		1	1		1		2		1	2	1		1	24
haargroep/4						1		1	1	2			2	1		1		24
V _{2a} -groep							1			1	3	2		1				24
nylongroep	1		2			3	2	4	2	2	5	2	2	2	2	1	1	23,4
totaal aantal dieren	2		3		2	5	3	6	5	7	7	5	6	3	2	1	1	23,5

Tabel 2. Verdeling naar leeftijd van spontaan overlijden van de dieren waarbij een intramandibulair carcinoom werd vastgesteld, in de onbehandelde en behandelde groepen.

De gemiddelde leeftijd waarop de dieren aan een tumor sterven, is voor alle groepen 24 maanden (tabel 2). Het jongste dier met een carcinoom was bij overlijden 15 maanden (no. 1057). Zoals boven uiteengezet is, verschilde het histologisch aspect van de tumoren niet voor de verschillende groepen.

Als leeftijdsgrens werd 19 maanden gekozen, omdat beneden deze leeftijd

het aantal spontaan overleden dieren enigszins varieerde van groep tot groep. Bij de gekozen indeling zijn de groepen ongeveer even groot (tabel 3) en geschikt voor statistische bewerking (voldoende groot). Bovendien had voor een aantal beschouwingen deze indeling het voordeel, dat het hele experiment telkens in leeftijdsgroepen van een half jaar verdeeld kon worden.

In de groep van 19 maanden en ouder vallen alle dieren met een tumor (tabel 2) met uitzondering van vijf (no. 1057, 2026, 5042, 5102, 5110).

Verder zijn in de behandelde groepen alleen die dieren in de vergelijking betrokken waarbij het aan beide kanten gelukt was een corpus alienum in de tandkas te brengen. Dit laatste is gedaan om de vergeleken groepen zo identiek mogelijk te maken. Ten gevolge van deze restrictie vielen voor de beoordeling in de nylongroep 5 dieren af, namelijk 3 mannelijke (no. 5015, 5023, 5069) en 2 vrouwelijke (no. 5030, 5104), waarvan één aan de behandelde zijde een carcinoom had (mannelijk dier, no. 5023).

groepen	totaal aantal dieren	aantal dieren met carcinoom	% dieren met carcinoom
controlegroep	90	0	—
controlegroep/4	52	0	—
haargroep	81	10	12,3
haargroep/4	69	9	13,0
V _{2a} -groep	81	8	9,9
nylongroep	80	25	31,3

Tabel 3. Totaal aantal dieren en dieren met carcinoom in de onbehandelde en behandelde groepen met een levensduur van 19 maanden en langer.

Ook op deze wijze blijkt dat de carcinoomfrequentie bij de behandelde groepen hoger is dan bij de twee controlegroepen, die hier geen tumoren hebben (tabel 3). Dit verschil is significant ($p < 0,001$). De haargroep, haargroep/4 en V_{2a}-groep verschillen onderling niet ($0,80 < p < 0,90$). Deze drie groepen kunnen dan ook ten aanzien van de carcinoomfrequentie als homogeen beschouwd worden. De carcinoomfrequentie in de nylongroep is weer duidelijk hoger en verschilt significant van de drie andere groepen ($p < 0,001$).

De volgende vraag was, of er verschil in carcinoomfrequentie bestond tussen de geslachten in de verschillende groepen.

groepen	totaal aantal dieren		aantal dieren met carcinoom	
	♂	♀	♂	♀
haargroep	46	35	7	3
V _{2a} -groep	36	45	5	3
nylongroep	31	49	12	13

Tabel 4. Verdeling naar geslacht van het totaal aantal dieren en die met carcinoom met een levensduur van 19 maanden en langer, voor de haar-, V_{2a}- en nylongroep.

De carcinoomfrequentie in de haargroep, V_{2a}-groep en nylongroep is voor vrouwen lager dan voor mannen (tabel 4). In geen der drie groepen echter is dit verschil significant. Ook bij combinatie van de gegevens vinden wij ten aanzien van de geslachtsverschillen in carcinoomfrequentie een overschrijdingskans groter dan 30 %.

Conclusie: De carcinoomfrequentie is bij behandelde dieren hoger dan bij onbehandelde dieren. Dit verschil is significant. Er blijkt geen significant geslachtsverschil te bestaan in de frequentie van carcinoom. De nylongroep heeft een significant hogere carcinoomfrequentie dan de haargroep, haargroep/4 en V_{2a}-groep. De mogelijke oorzaken van dit verschil worden in hoofdstuk VI geanalyseerd.

Cystefrequentie

Het leek vervolgens gewenst te onderzoeken, of de behandeling het ontstaan van cysten bevordert, met andere woorden of de cystefrequentie bij de behandelde groepen hoger is dan bij de onbehandelde. Om een antwoord te krijgen op de gestelde vraag is in de tabellen 5 en 6 een overzicht gegeven van de waargenomen afwijkingen bij dieren, die 19 maanden en ouder zijn geworden. Deze leeftijdsgroep is om dezelfde redenen gekozen als bij de bestudering van de carcinoomfrequentie. Ook hier weer zijn van de behandelde groepen alleen die dieren opgenomen waarbij de behandeling bilateraal gelukt is.

	aantal dieren	♂	♀	
CONTROLEGROEP	totaal	90	38	52
	normale kaak	58	11	47
	alleen haar	11	7	4
	cyste	21	20	1
	cyste + carcinoom	0	0	0
HAARGROEP	totaal	81	46	35
	normale kaak	0	0	0
	alleen haar	29	6	23
	cyste	42	33	9
	cyste + carcinoom	10	7	3
V _{2a} -GROEP	totaal	81	36	45
	normale kaak	1*	0	1
	alleen haar en/of V _{2a}	23	0	23
	cyste	49	31	18
	cyste + carcinoom	8	5	3
NYLONGROEP	totaal	80	31	49
	normale kaak	1*	0	1
	alleen haar en/of nylon	8	1	7
	cyste	46	18	28
	cyste + carcinoom	25	12	13

Tabel 5. Verdeling van de waargenomen afwijkingen bij mannelijke en vrouwelijke onbehandelde en behandelde, alleen gehouden dieren van 19 maanden en ouder.

*) In beide groepen (V_{2a}-groep, nylongroep) werd één dier zonder afwijking in zijn kaakhelften gevonden (resp. no. 4044 en 5030). Aangenomen moet hier worden, dat het ingebrachte materiaal kort na de behandeling er weer uitgevallen is.

	aantal dieren(♀)
CONTROLEGROEP/4	totaal
	52
	normale kaak
	13
	alleen haar
HAARGROEP/4	10
	cyste
	29
	cyste + carcinoom
	0
HAARGROEP/4	totaal
	69
	normale kaak
	0
	alleen haar
HAARGROEP/4	11
	cyste
	49
	cyste + carcinoom
	9

Tabel 6. Waargenomen afwijkingen bij de vrouwelijke dieren van 19 maanden en ouder uit de controlegroep/4 en haargroep/4.

Onder cyste wordt in deze twee tabellen verstaan een cyste niet gecompliceerd door carcinoom. Met „cyste + carcinoom” is hier bedoeld een cyste waarvan carcinoom uitgaat. Het totale aantal dieren met cysten in een groep wordt gevonden door beide rubrieken op te tellen. Doet men dit voor elke groep, dan blijkt dat bij apart gehouden dieren het ontstaan van cysten door de behandeling bevorderd is. Vergelijkt men de haargroep/4 met de controlegroep/4 (tabel 6), dan blijkt bij dieren die kooigenoten gehad hebben, hetzelfde het geval te zijn. Bij vergelijking van de controlegroep met de controlegroep/4 en van de haargroep met de haargroep/4, valt op dat alleen al het houden van meerdere dieren in een kooi het aantal cysten doet toenemen.

In de nylongroep en de V_{2a} -groep werden respectievelijk bij 3 en 2 vrouwelijke dieren cysten waargenomen zonder dat er haar in de kaakhelft aanwezig was (respectievelijk no. 5028, 5084, 5090 en 4008, 4082). Men mag hieruit concluderen, dat zowel nyloodraad als V_{2a} -staaldraad op zichzelf cysten kunnen verwekken. Bij deze twee groepen blijkt het binnendringen van haar dus niet noodzakelijk te zijn voor het ontstaan van cysten.

Berekent men voor elk van de groepen, ongeacht het geslacht, de cystefrequentie in percenten, dan worden de volgende percentages gevonden: controlegroep 23,3 %, controlegroep/4 55,8 %, haargroep 64,2 %, haargroep/4

84,1%, V_{2a}-groep 70,4% en nylongroep 88,8%. Het blijkt dus, dat de cystefrequentie in de nylongroep het hoogst is, hierop volgt de haargroep/4 en de laagste frequentie wordt gevonden in de beide controlegroepen.

Vergelijkt men vervolgens in tabel 5 de geslachten, dan blijkt zowel in de controlegroep, als in de haar- en V_{2a}-groep, dat van mannelijke dieren een groter gedeelte cysten krijgt. Dit geldt echter niet voor de nylongroep. Het blijkt in deze groep namelijk, dat er van de vrouwelijke dieren vrijwel even veel cysten krijgen als van de mannelijke. Mogelijk staat de hoge cystefrequentie in de nylongroep hiermee in verband.

Bovenstaande beschouwingswijze van de cystefrequentie en de geslachtsverschillen heeft het nadeel dat men niet weet, of een „dier met cyste” in één of in beide kaakhelften een cyste heeft, met andere woorden of het één of twee cysten bezit. Ten einde een zuiverder beeld te krijgen over de cystefrequentie en de geslachtsverschillen is per geslacht, per groep, het gemiddelde aantal cysten per dier berekend (tabel 7 en 8), onafhankelijk van het gegeven of de cyste gecompliceerd werd door carcinoom.

groepen	totaal aantal ♂	aantal ♂ zonder cysten	aantal ♂ met unilateraal cysten	aantal ♂ met bilateraal cysten	gemiddeld aantal cysten
controlegroep	38	18	12	8	0,74
haargroep	46	6	14	26	1,43
V _{2a} -groep	36	0	8	28	1,78
nylongroep	31	1	6	24	1,74

Tabel 7. Verdeling van de onbehandelde en behandelde mannelijke dieren van 19 maanden en ouder naar cystefrequentie.

groepen	totaal aantal ♀	aantal ♀ zonder cysten	aantal ♀ met unilateraal cysten	aantal ♀ met bilateraal cysten	gemiddeld aantal cysten
controlegroep	52	51	1	0	0,02
controlegroep/4	52	23	6	23	1,00
haargroep	35	23	11	1	0,37
haargroep/4	69	11	25	33	1,32
V _{2a} -groep	45	24	18	3	0,53
nylongroep	49	8	15	26	1,37

Tabel 8. Verdeling van de onbehandelde en behandelde vrouwelijke dieren van 19 maanden en ouder naar cystefrequentie.

De cystefrequentie bij apart gehouden dieren is zowel voor mannelijke als voor vrouwelijke dieren in de behandelde groepen hoger dan in de onbehandelde. Dit verschil is duidelijk significant ($p < 0,001$). Het verschil tussen de haargroep/4 en de controlegroep/4 is nog juist significant ($p = 0,05$). Het blijkt dus, dat het inbrengen van een corpus alienum op jeugdige leeftijd de cystefrequentie duidelijk doet toenemen. In de controlegroep, haargroep, V_{2a} -groep en nylongroep hebben de mannelijke dieren meer cysten dan de vrouwelijke dieren. Dit verschil is voor de eerste drie groepen duidelijk significant ($p < 0,001$). In de nylongroep is dit verschil nog juist significant ($p < 0,05$). Vergelijkt men de groepen onderling, dan valt op, dat de frequentie bij de behandelde mannelijke dieren hoog is. De nylongroep en V_{2a} -groep verschillen onderling niet in deze. De mannelijke dieren in de haargroep hebben iets minder cysten en dit verschil is nog juist significant ($p < 0,05$). De vrouwtjes hebben minder cysten dan de mannetjes. De haargroep en V_{2a} -groep verschillen onderling niet. De vrouwelijke dieren uit de nylongroep hebben duidelijk meer cysten dan die uit de V_{2a} -groep en de haargroep. Dit verschil is duidelijk significant ($p < 0,01$). De vrouwtjes uit de nylongroep en de haargroep/4 verschillen onderling niet significant.

Conclusie: In de behandelde groepen is de cystefrequentie hoger dan in de onbehandelde. Corpora aliena, op jeugdige leeftijd in de tandkas gebracht, doen dus de frequentie van intramandibulaire cysten stijgen. Bij vergelijking van de controlegroep met de controlegroep/4 en de haargroep met de haargroep/4 is gebleken, dat het houden van meerdere dieren in een kooi de cystefrequentie doet toenemen.

In alle groepen hebben de mannelijke dieren een hogere cystefrequentie dan de vrouwelijke dieren. In de controlegroep, haargroep en V_{2a} -groep is dit verschil duidelijk significant. In de nylongroep is nog juist een significant verschil aantoonbaar. De cystefrequentie verschilt bij de op verschillende wijze behandelde groepen mannelijke dieren onderling nauwelijks en is bijna maximaal. Bij de vrouwelijke dieren is de cystefrequentie lager en verschillen de haargroep en de V_{2a} -groep onderling niet, evenmin als de nylongroep en de haargroep/4. De laatste twee hebben een duidelijk hogere cystefrequentie dan de eerste twee.

In hoofdstuk V worden de mogelijke oorzaken van de genoemde verschillen, die boven beschreven zijn, nader besproken.

Kans dat in een cyste carcinoom ontstaat.

In het voorgaande hebben wij gezien dat de kans om carcinoom te krijgen voor mannelijke dieren groter leek dan voor vrouwelijke dieren, doch niet significant verschilde voor beide geslachten binnen een bepaalde groep (zie blz. 32 en tabel 4).

De cystefrequentie was bij mannelijke dieren in alle groepen wel significant hoger dan bij vrouwelijke dieren. Het leek wenselijk te onderzoeken of de kans dat uit een cyste carcinoom ontstond, gelijk was voor beide geslachten en of er verschillen tussen de groepen bestonden. Wij hebben immers gezien, dat elk intramandibulair carcinoom uit de wand van een cyste ontstaat.

Om deze vragen te beantwoorden is in tabel 9 voor elke groep, per geslacht, het totale aantal kaakhelften opgegeven van dieren, die 19 maanden en ouder waren geworden (bij de behandelde groepen alleen bilateraal behandelde dieren), het aantal kaakhelften met een cyste al dan niet gecompliceerd door carcinoom, het aantal cysten met carcinoom en het percentage cysten met carcinoom.

groepen	totaal aantal kaakhelften	aantal kaakhelften met een cyste al dan niet met carcinoom	aantal kaakhelften met een cyste met carcinoom	% cysten met carcinoom
♂				
controlegroep	76	28	0	—
haargroep	92	66	8	12,1
V _{2a} -groep	72	64	5	7,8
nylongroep	62	54	13	24,1
♀				
controlegroep	104	1	0	—
controlegroep/4	104	52	0	—
haargroep	70	13	3	23,1
haargroep/4	138	91	9	9,9
V _{2a} -groep	90	24	3	12,5
nylongroep	98	67	13	19,4

Tabel 9. Percentage cysten met carcinoom, bij onbehandelde en behandelde mannelijke en vrouwelijke dieren van 19 maanden en ouder.

Bij de haargroep, V_{2a}-groep en nylongroep zijn geen significante verschillen tussen de geslachten aan te tonen voor wat betreft de frequentie van het ont-

staan van carcinoom uit het cyste-epitheel (p resp. = 0,38; = 0,68; = 0,68).

Om de volgende vraag te kunnen beantwoorden, namelijk of er tussen de groepen onderling verschillen in kans bestaan, dat uit een cyste carcinoom ontstaat, is het nu geoorloofd de geslachten te combineren (tabel 10).

groepen ♂ + ♀	totaal aantal kaakhelften	aantal kaak- helften met een cyste al dan niet met carcinoom	aantal kaak- helften met een cyste met carcinoom	% cysten met carci- noom
controlegroep	180	29	0	—
controlegroep/4 (♀)	104	52	0	—
haargroep	162	79	11	13,9
haargroep/4 (♀)	138	91	9	9,9
V _{2a} -groep	162	88	8	9,1
nylongroep	160	121	26	21,5

Tabel 10. Percentage cysten met carcinoom bij onbehandelde en behandelde dieren (mnl. en vrl.).

De nylongroep verschilt significant van de V_{2a}-groep ($p = 0,03$) en van de haargroep/4 ($p = 0,04$). Het verschil tussen de nylongroep en de haargroep is niet significant ($p = 0,24$). De haargroep verschilt ook niet significant van de V_{2a}-groep ($p = 0,48$) en ligt dicht bij deze groep dan bij de nylongroep. Tussen de haargroep/4 en de V_{2a}-groep is geen verschil aantoonbaar. Men mag de haargroep, haargroep/4 en V_{2a}-groep als homogeen beschouwen. Wordt het percentage carcinomen in de nylongroep met het totale percentage carcinomen uit de drie andere groepen (haargroep, haargroep/4, V_{2a}-groep) vergeleken, dan is het verschil zeer significant ($p = 0,009$). In de controlegroepen komen bij dieren die 19 maanden en ouder zijn geworden, geen carcinomen voor. Het verschil met de behandelde groepen is dan ook evident.

Conclusie: De kans op de ontwikkeling van carcinoom uit een cyste verschilt per behandelde groep niet significant voor beide geslachten. Cysten van mannelijke en vrouwelijke dieren zijn dan ook binnen een groep onderling vergelijkbaar wat betreft de kans om carcinoom te krijgen. In de nylongroep heeft een cyste de grootste kans op het ontstaan van carcinoom. Dit laatste verschijnsel wordt in hoofdstuk VI nader besproken.

D. Obductiegegevens

Hieronder wordt een overzicht gegeven van de pathologische processen

gevonden bij volledige obductie van de 638 muizen in deze proef. Niet opgenomen hierin zijn de in de onderkaak geïnduceerde afwijkingen, die eerder zijn beschreven. De bedoeling is een indruk te geven van de gevonden afwijkingen zonder in te gaan op leeftijdsverdeling, geslachtsverschillen, enz.

Voor dit onderzoek zijn 19 muizen afgefallen, daar hierbij wegens de sterke autolyse geen histologisch onderzoek van de inwendige organen mogelijk was. Totaal zijn 619 muizen onderzocht. De gevonden afwijkingen zijn in twee groepen ingedeeld: tumoren, benigne zowel als maligne, en andere pathologische processen. Een deel van deze afwijkingen heeft direct bijgedragen tot de dood van het dier, een ander deel werd bij de sectie als toevalsvondst gevonden. De afwijkingen bleken gelijkelijk over de zes groepen verdeeld te zijn.

Gezwellen.

Van de 619 muizen bleken 399 één of meer tumoren te hebben. Bij 220 dieren werden er geen gevonden. Tabel 11 geeft de verdeling van de tumoren weer naar oorsprong.

Weefsel van oorsprong	aantal	bijzonderheden
Long	277	10x metastaserend
Lever	32	Hepatomen; 4x metastaserend
Maag-darm	1	Duodenum papilloom
Mamma	14	Carcinomen; 1x metastaserend
Uterus	9	3x myosarcoom; 2x sarcoom; 1x fibromyoom; 3x poliep
Ovarium	4	2x granulosa-cel-tumor; 1x papillair cyst- adenoom; 1x niet te classificeren
Reticulaire weefsel	92	19x metastaserend naar de kop
Bindweefsel	31	„Neuro” fibrosarcomen
Vaten	9	4x haemangioendotheloom subcutaan; 1x haemangioendotheliose van de lever; 4x haemangioom van de lever
Schildklier	1	Papillair adenoom
Onbekende oorsprong	1	Adenocarcinoom in de buik
Klier van Harder	23	Papillair adenoom
Conjunctiva	3	Papillomatose
„Ductus naso-lacimalis”	1	Carcinoom of sarcoom
Uitwendige gehoorgang	1	Carcinoom
Gehemelte mucosa	1	Carcinoom (t.p.v. 2e molaar links boven)

Tabel 11. Localisatie van de spontaan ontstane tumoren, gevonden bij obductie van de dieren in de onbehandelde en behandelde groepen.

De longtumoren kwamen histologisch geheel overeen met die, welke in de literatuur beschreven worden (Shimkin, 1955). Van de 10 carcinomen die metastasen hadden gegeven, bleken twee gemetastaseerd te zijn naar de kop (tong, kauwspier).

Onder tumoren uitgaande van het reticulair bindweefsel hebben wij verstaan gezwellen, die uitgaan van het lymfatische, myeloïde, histiocytair en reticulair weefsel (Dunn, 1954). Opmerkelijk was, dat van deze tumoren 19 maal metastasen in de kop werden aangetroffen, voornamelijk gelocaliseerd in meningen en in de tandkas van de onderste knaagtaand.

De tumoren uitgaande van het bindweefsel waren voornamelijk subcutaan gelocaliseerd. Bij histologisch onderzoek leek in een aantal gezwellen een neurogene component aanwezig te zijn. Deze waarneming is ook door Snell (1956) gedaan.

Van het gezwel dat uit leek te gaan van de ductus naso-lacimalis was niet uit te maken, of men hier te maken had met een carcinoom of met een sarcoom, terwijl ook het punt van oorsprong niet met zekerheid was aan te wijzen. Aanknopingspunten voor het ontstaan van deze tumor elders werden echter niet gevonden, zodat aangenomen moest worden, dat dit gezwel ontstaan is in nauwe relatie met bovengenoemde ductus.

Eenmaal werd in de buikholte een adenocarcinoom gevonden, dat voortwoerde in het pancreas, de dunne darm en de mesenteriale lymfeklier en waarvan het uitgangspunt niet was terug te vinden.

De overige tumoren kwamen histologisch geheel overeen met die, welke in de literatuur zijn beschreven (Fischer en Kühl, 1958; van Rijssel, 1955; Snell, 1956).

Incidenteel werden tumoren van long, lever, mamma en vaten (haemangioendotheliom) overgeënt binnen dezelfde stam en deze overëntingen sloegen in het algemeen aan.

Andere pathologische processen.

Tabel 12 geeft een overzicht van de ernstige ontstekingsprocessen die werden aangetroffen bij 34 dieren en waarvan men mag aannemen, dat zij hebben bijgedragen tot de dood van de dieren.

Bij slechts 5 muizen werd amyloid gezien, gelocaliseerd in lever, milt en nieren. Dit is weinig, als men in aanmerking neemt, dat een groot deel van de muizen oud is geworden. Geconcludeerd mag dan ook worden dat seniele amyloidosis bij deze F₁-bastard vrijwel niet voorkomt (Thung, 1957a, b).

Localisatie	Aantal	Bijzonderheden
Lóng	10	4x longabces; 3x pleuritis; 3x bronchopneumonie
Lever	5	5x abces
Nier	11	4x pyelonephritis; 4x pyelitis; 1x nierabces 2x perirenaal abces
Tractus genitalis	4	♂: 2x abces vesicula seminalis; ♀: 2x abces in uterus
Peritoneum	1	Peritonitis
Pericard	1	Pericarditis
Bindweefsel	2	2x abces subcutaan

Tabel 12. Localisatie van de grote ontstekingsprocessen, gevonden bij obductie van de dieren in de onbehandelde en behandelde groepen.

Van de 413 geobduceerde vrouwelijke dieren bleken 72 een afwijking van het ovarium te hebben, soms slechts aan één ovarium, in een aantal gevallen waren beide ovaria aangedaan. De bursa ovarii was gevuld met helder vocht, bloed of een thrombus-massa. Het parenchym gaf een vermeerdering van capillairen te zien in deze gevallen, soms ontstonden er bloedmeren, waarin thrombus-vorming kon voorkomen. Het lijkt dan ook waarschijnlijk, dat aan deze afwijking een vasculaire stoornis ten grondslag ligt. Soortgelijke afwijkingen zijn ook beschreven door L o e b (1948) en T h u n g (1958), zonder dat deze onderzoekers zich uitspreken over de pathogenese van dit proces.

Tenslotte bleek, dat van de 60 dieren waarvan het pancreas microscopisch werd onderzocht, 27 een hyperplasie van de eilandjes van Langerhans hadden.

E. Algemene samenvatting

Het is gebleken dat de behandeling van geen invloed is geweest op de levensduur van de dieren. De zes groepen verschilden hierin onderling niet.

Bij behandelde dieren is de carcinoomfrequentie significant hoger dan bij onbehandelde. Hetzelfde geldt voor de cystefrequentie. De cystefrequentie bleek in alle groepen bij mannelijke dieren significant hoger te zijn dan bij vrouwelijke dieren.

Binnen een groep is de kans, dat uit een cyste carcinoom ontstaat, niet significant verschillend voor de beide geslachten. Deze kans is in de haargroep,

de haargroep/4 en de V_{2a} -groep ongeveer gelijk. In de nylongroep is de kans, dat uit een cyste carcinoom ontstaat het grootst. Dit verschijnsel wordt in hoofdstuk VI nader besproken.

Aangetoond kon worden, dat de carcinomen uit het epitheel van de cystewand ontstonden. De cysten zijn ontstaan door mechanische beschadiging van het emailorgaan van buiten af. Het histologisch beeld van de gevonden afwijkingen verschildte in de groepen onderling niet en kwam geheel overeen met de spontaan voorkomende afwijkingen. Een opmerkelijke vondst was, dat bij dieren van alle zes groepen haren in de tandkas werden gevonden. Van een zuivere V_{2a} -groep en een zuivere nylongroep mag dan ook eigenlijk niet gesproken worden. Hoe men zich moet voorstellen, dat deze haren in de tandkas zijn binnengedrongen en wat de consequenties daarvan zijn voor de interpretatie van de resultaten van het onderzoek, zal in de volgende twee hoofdstukken besproken worden.

Tenslotte werd een overzicht gegeven van de pathologische processen gevonden bij de obductie van de dieren, die betrokken waren in dit onderzoek.

HOOFDSTUK V

ENKELE BESCHOUWINGEN OVER HAAR EN CYSTEN

In dit hoofdstuk zullen achtereenvolgens enkele beschouwingen gewijd worden aan het binnendringen van haar in de tandkas en aan de ontstaanswijze van cysten.

Het binnendringen van haar in de tandkas.

In hoofdstuk IV werd reeds opgemerkt, dat in alle zes groepen bij de dieren haren in de tandkas waren gedrongen.

Bij de apart gehouden dieren moeten de haren afkomstig zijn van het dier zelf. De beharing van de snuit was intact, snorharen waren aanwezig en ook de vacht van de dieren toonde geen kale plekken. Bij microscopisch onderzoek bleek, dat de binnengedrongen haren allemaal haren waren, die behoord hadden tot de vacht van het dier. De diameter van deze haren is kleiner dan die van snorharen en differentiatie tussen snorhaar en vachthaar levert dan ook geen moeilijkheden op (foto's 8 en 9). Men moet dan ook aannemen, dat bij de periodieke schoonmaakbeurt, die het dier zichzelf geeft, haren van de vacht afbreken of losraken en in de tandkas binnendringen.

Bij de controlegroep/4 en haargroep/4 kan men zich daarentegen voorstellen, dat de haren afkomstig zijn van kooigenoten en door het „knagen” aan elkaar in de tandkas geraken. Bevestiging van deze mening werd gevonden in het herhaaldelijk vinden van muizen met kale snuit. Dit verschijnsel bij muizen is reeds eerder beschreven door Hauschka (1952). Deze waarneming is in overeenstemming met de in het begin van dit proefschrift (hoofdstuk I) uiteengezette gedachtengang over het binnendringen van haar in de tandkas. Bij microscopisch onderzoek bleken bij deze twee groepen zowel snorharen als vachtharen in de tandkas gevonden te worden. De vachtharen kunnen afkomstig zijn zowel van de snuit als van elders op het lichaam.

De volgende vragen rezen nu: bevordert het inbrengen van een corpus alienum (haar, V_{2a} -staaldraad, nylondraad) het binnendringen van haar in

de tandkas; bevordert het houden van meerdere dieren in een kooi het binnendringen van haar in de tandkas en bestaan er geslachtsverschillen voor het binnendringen van haar in de tandkas?

Vergelijkt men bij oude dieren (dieren van 19 maanden en ouder) de controlegroep met de haargroep, de V_{2a} -groep en de nylongroep (tabel 5), dan blijkt, dat het inbrengen van een corpus alienum het binnendringen van haar sterk bevordert. In de controlegroep hebben 58 van de 90 dieren geen afwijkingen (d.w.z. geen haar, of haar en cyste) in de kaak. Deze getallen zijn voor de haargroep, de V_{2a} -groep en de nylongroep duidelijk lager. Bij alle 81 dieren uit de haargroep werden, behalve de ingebrachte snorharen, spontaan binnengedrongen vachtharen in de tandkas gevonden. In de V_{2a} -groep was dit het geval bij 78 van de 81 dieren (één dier had geen afwijkingen in de tandkas, twee hadden cysten in de onderkaak zonder dat er haar werd gevonden). In de nylongroep was bij 76 van de 80 dieren vachthaar in de tandkas binnengedrongen (één dier had geen afwijkingen in de tandkas, drie hadden cysten in de onderkaak zonder dat er haar werd gevonden).

Bij vergelijking van oude dieren uit de controlegroep met oude dieren uit de controlegroep/4 (tabel 5 en 6) blijkt, dat het houden van meerdere dieren in een kooi het binnendringen van haar duidelijk bevordert.

Bij alle dieren uit de haargroep/4 werden spontaan binnengedrongen vachtharen in de tandkas gevonden. Vergelijkt men deze groep met de controlegroep/4 (tabel 6), dan blijkt dat behandeling, gecombineerd met gezelschap, het binnendringen van haar extra vergemakkelijkt.

Aangetoond is dat behandeling het binnendringen van haar vergemakkelijkt. Of behandeling tevens veroorzaakt dat er meer haren per dier binnendringen, is moeilijker uit te maken, gezien de grote spreiding van de gevonden waarden bij de tellingen. Een trend in deze richting lijkt aanwezig te zijn.

De vraag of er, evenals voor het krijgen van cysten, geslachtsverschillen bestaan voor het binnendringen van haar, is alleen te beantwoorden door de controlegroep te bestuderen. Het inbrengen van een corpus alienum immers zou mogelijk bestaande geslachtsverschillen kunnen camoufleren of accentueren. In de controlegroep hebben bij oude dieren (19 maanden en ouder) 27 van de 38 mannelijke dieren haar in de tandkas, in tegenstelling tot 5 van de 52 vrouwelijke dieren (tabel 5). Dit verschil is significant. Onderzocht is of er in de onderkaak anatomische verschillen bestonden tussen de geslachten. Hiervoor is bij een aantal jonge, onbehandelde, mannelijke en vrouwelijke dieren in zone I, II en III, in zo identiek mogelijke coupes, de afstand gemeten tussen het dentine van de knaagtand en het bot van de onderkaak. Dit

is gedaan, omdat door de histologische bewerking van het materiaal schrompeling van de weke delen optrad en het meten van de ruimte tussen het bot en de lege holte waar het email had gelegen, daardoor minder betrouwbare uitkomsten gaf. Er kon op deze wijze geen geslachtsverschil aangetoond worden. De gemiddelde afstand tussen dentine en bot in zone I en II bedroeg bij beide geslachten 210 μ . In zone III waren de uitkomsten van de metingen niet goed te beoordelen, omdat de beschikbare coupes niet geheel indientiek waren en de tand en de tandkas hier scheef aangesneden waren. Om tevens een indruk te krijgen over de dikte van het emailorgaan en de ruimte tussen emailorgaan en bot (paradentale bindweefsel) werden deze ook een aantal malen gemeten. De gemiddelde waarden hiervoor waren respectievelijk 65 μ en 70 μ . Dit komt overeen met de waarneming, dat snorhaar ($\varnothing \pm 50 \mu$) zowel intraepitheliaal in het emailorgaan, als in het paradentale bindweefsel kan liggen. Waarop het verschil tussen de geslachten berust, is dus niet zonder meer aan te wijzen. Het meest voor de hand liggend is, dat het gedrag van de verschillende geslachten hiervoor het meest verantwoordelijk is. Men kan zich voorstellen, dat mannelijke dieren agressiever zijn en dat dit ook tot uiting komt in de wijze waarop ze zich schoonmaken.

Vervolgens werd een poging ondernomen om na te gaan, of het aantal binnendringende haren per geslacht verschilde. Hiertoe zijn, bij de 7 oude mannelijke en de 4 oude vrouwelijke dieren met alleen haar in de tandkas uit de controlegroep (tabel 5), de haren in zone I, de zone met de meeste haren, geteld. De gevonden waarden zijn afgezet in tabel 13.

controlegroep	aantal getelde haren per kaakhelft	mediaan
♂ (14 kaakhelften)	0 0 0 0 0 1 1 3 3 3 4 6 11 20	2
♀ (8 kaakhelften)	0 0 0 1 7 11 12 41	4

Tabel 13. Mediaan en spreidingsbreedte van het aantal in de kaak gedrongen haren in zone I bij 7 mannelijke en 4 vrouwelijke dieren van 19 maanden en ouder uit de controlegroep zonder cyste of carcinoom.

Men krijgt de indruk, dat als er eenmaal haar de tandkas binnendringt, het aantal haren niet verschilt voor beide geslachten. Het aantal waarnemingen is echter te klein om hierover een definitieve uitspraak te doen.

Conclusie: Vastgesteld kon worden, dat bij de door ons gebruikte bastaard-

combinatie ($\varnothing$ WLL_f x δ O₂₀) F₁ niet zelden haren in de tandkas dringen. Deze haren zijn afkomstig zowel van het dier zelf als van kooigenoten. Het binnendringen van haar wordt bevorderd door het inbrengen van een corpus alienum (haar, V_{2a}-staaldraad, nylandraad) in de tandkas en door de aanwezigheid van kooigenoten. Er bestaat een geslachtsverschil ten opzichte van het binnendringen van haar. Dit verschil berust waarschijnlijk op een verschil in gedragspatroon.

Cysten.

In hoofdstuk IV (cystefrequentie) werd aangetoond, dat het in de tandkas brengen van corpora aliena bij jonge muizen de frequentie van intramandibulaire cysten significant doet stijgen (tabel 7 en 8). Gebleken is dat mannelijke dieren (tabel 7) op het inbrengen van corpora aliena reageren met een hogere cystefrequentie dan vrouwelijke dieren (tabel 8).

De mening dat cysten ontstonden door beschadiging van het emailorgaan van buitenaf, kon dus bevestigd worden. De ingebrachte corpora aliena (haar, V_{2a}-staaldraad, nylandraad) laederen het emailorgaan vóór in de tandkas. Ten gevolge van deze beschadiging ontstaat een spleet in het emailorgaan (foto 8). Men moet zich voorstellen, dat de spleet ontstaat door uiteenwijken en te gronde gaan van cellen van het emailorgaan. Het epitheel van het emailorgaan, dat de wand vormt van deze spleten, wordt plat en krijgt het aspect van plaveiselepitheel. In de spleten hoopt zich vocht op en op den duur ontstaan uit deze spleten cysten (foto's 9, 10, 11 en 12).

In het vorige hoofdstuk is geconstateerd, dat het houden van meerdere dieren in een kooi (gezelschap) het ontstaan van cysten sterk bevordert (tabel 5, 6 en 8). Er is gebleken, dat bij het houden van meerdere dieren in een kooi, de dieren actief aan elkaar „knagen”, waardoor bij meer dieren haar in de tandkas geraakt dan bij apart gehouden dieren, die alleen maar zichzelf kunnen „beknagen” bij het schoonmaken. Dat de cystefrequentie hierdoor kan stijgen, is begrijpelijk. Het verschil in opbrengst aan cysten tussen de controle-groep/4 en de haargroep/4 (tabel 8) moet verklaard worden uit de behandeling, die de dieren in de laatstgenoemde groep op jeugdige leeftijd hebben ondergaan.

Reeds eerder is vermeld dat de beschadiging van het emailorgaan ernstiger was, naarmate de diameter van het gebruikte corpus alienum toenam. Wat de invloed hiervan is geweest op de ontwikkeling van cysten, zal besproken worden in het volgende hoofdstuk.

Vergelijkt men de stugheid van de gebruikte corpora aliena, dan is de stug-

heid van haar het geringst, die van V_{2a} -staaldraad het grootst, terwijl de stugheid van nyldraad tussen deze twee in ligt. Toch bleek de frequentie van cysten in de nyldgroep groter dan in de V_{2a} -groep. Het is dan ook onwaarschijnlijk, dat de stugheid van de ingebrachte corpora aliena een invloed heeft op het ontstaan en de groei van cysten.

Conclusie: Het ontstaan van cysten blijkt dus afhankelijk te zijn van beschadiging van het emailorgaan. Tevens is invloed vastgesteld van het geslacht en het milieu (het apart of in gezelschap houden van de dieren).

Het in dit proefschrift beschreven onderzoek was er niet op berekend om de ontwikkeling van cysten volledig te analyseren.

HOOFDSTUK VI

WAAROM HEEFT DE NYLONGROEP MEER CARCINOMEN?

In hoofdstuk IV werd aangetoond dat de carcinoomfrequentie in de nylon-groep significant hoger was dan in de andere behandelde groepen. Het histologisch beeld van de tumoren was hetzelfde in de verschillende groepen. De levensduur van de dieren verschilde niet in de behandelde groepen (fig. 1 a, 1 b). Wel werd gevonden dat de cystefrequentie in de nylongroep hoger was dan in de andere proefgroepen (zie ook blz. 34 e.v.), maar desondanks bleek dat in de nylongroep de kans, dat uit een cyste zich carcinoom ontwikkelde, ongeveer tweemaal zo groot was als in de andere groepen (tabel 9 en 10). Een nadere analyse van het materiaal leek gewenst om na te gaan, waarom deze kans in de nylongroep zo hoog was.

De volgende factoren, die mogelijk een invloed kunnen uitoefenen op het ontstaan van carcinoom in dit onderzoek, zijn nader bestudeerd:

- zijn de cysten in de nylongroep vaker ontstoken dan de cysten in de andere groepen?
- zijn de cysten in de nylongroep groter dan de cysten in de andere groepen?
- bestaan de cysten langer in de nylongroep en zijn zij eerder groot?
- dringen er meer haren binnen in de tandkas van dieren behandeld met nylon?
- oefent de chemische samenstelling van nylon een invloed uit?
- is van betekenis geweest dat nylondraad de grootste diameter heeft van de gebruikte corpora aliena?

Om de vergelijking tussen de groepen onderling zo zuiver mogelijk te maken, zijn in de behandelde groepen alleen dieren vergeleken waarbij de behandeling bilateraal gelukt was. Een deel van de vragen is bestudeerd door dieren van 19 maanden en ouder in de verschillende groepen onderling te vergelijken. Voor de beantwoording van een aantal vragen is met kaakhelften in plaats van met dieren gerekend en deze zijn, onafhankelijk van het geslacht,

binnen de groepen opgeteld. Deze methode is gerechtvaardigd, omdat in hoofdstuk IV is gebleken, dat de kans van een cyste om carcinomateus te worden, binnen een groep voor de geslachten niet significant verschilt, en in dit hoofdstuk alleen de vraag bestudeerd wordt, waarom een cyste in de nylon-groep meer kans geeft op carcinoom.

Ontsteking. Om een indruk te krijgen over het percentage ontstoken cysten, is per groep het aantal ontstoken cysten bepaald, zonder te letten op het geslacht en het al of niet gecompliceerd worden van de cyste door carcinoom. Onder een ontstoken cyste hebben wij een cyste verstaan, waarbij in het lumen pus of een groot leucocytaire exsudaat werd gevonden, al of niet gepaard gaande met een ontstoken wand. Ook cysten, waarvan alleen de wand sterk ontstoken was, werden gerekend onder ontstoken cysten.

Voor dit doel zijn alleen dieren vergeleken die 19 maanden en ouder zijn geworden en in de behandelde groepen alleen bilateraal behandelde dieren. Tabel 14 geeft het percentage ontstoken cysten weer in de verschillende groepen.

groepen ♂ + ♀	totaal aantal kaakhelften	aantal kaak- helften met een cyste	aantal ontsto- ken cysten	% ontstoken cysten
controlegroep	180	29	24	82,8
controlegroep/4 (♀)	104	52	50	96,2
haargroep	162	79	40	50,6
haargroep/4 (♀)	138	91	79	86,8
V _{2a} -groep	162	88	48	54,5
nylongroep	160	121	90	74,4

Tabel 14. Percentage ontstoken cysten bij onbehandelde en behandelde dieren van 19 maanden en ouder.

Het blijkt dat in alle groepen 50 % of meer van de cysten ontstoken is. Het hoogste percentage ontstoken cysten hebben de beide controlegroepen, deze verschillen onderling niet. Het laagste percentage ontstoken cysten hebben de haargroep en de V_{2a}-groep, tussen de beide groepen is geen verschil aantoonbaar. De nylongroep en de haargroep/4 verschillen onderling niet en staan tussen de beide eerder genoemde groepen in. Het verschil met de haargroep en de V_{2a}-groep is duidelijk significant ($p < 0,001$). Het verschil met de beide controlegroepen is nog juist significant ($p = 0,03$).

Er is dus geen relatie tussen de mate van ontsteking in de cyste aan het eind van het leven en de frequentie van carcinoom. Dit resultaat lijkt dus in zekere zin in strijd met de hypothese, dat chronische irritatie en ontsteking belangrijke factoren zijn bij het ontstaan van intramandibulair carcinoom. Dat deze tegenstelling slechts schijnbaar is, zal aan het eind van dit hoofdstuk uiteengezet worden.

Cystegrootte. Om na te gaan of de cysten in de nylongroep groter waren dan in de andere groepen, is voor alle groepen bij dieren, die 19 maanden en ouder zijn geworden, een index voor de gemiddelde grootte berekend van de cysten, die niet door carcinoom gecompliceerd werden (tabel 15). Cysten met carcinoom zijn weggelaten, omdat bij een groot carcinoom niet meer de grootte van de cyste te bepalen is, zoals deze geweest zou zijn voordat het carcinoom in de kaakhelft ontstond. De grootte van de cysten is bepaald op de wijze, zoals is aangegeven in hoofdstuk III.

groepen ♂ + ♀	totaal aantal kaakhelften	aantal kaakhelften met een cyste zonder carcinoom	verdeling naar grootte van de cysten			gemiddelde cystegrootte
			kl. I	kl. II	kl. III	
controlegroep	180	29	15	8	6	1,69
controlegroep/4	104	52	34	8	10	1,54
haargroep	162	68	25	22	21	1,94
haargroep/4	138	82	29	24	29	2,00
V _{2a} -groep	162	80	26	23	31	2,06
nylongroep	160	95	19	16	60	2,43

Tabel 15. Verdeling naar cystegrootte van cysten niet gecompliceerd door carcinoom en de gemiddelde grootte per groep bij onbehandelde en behandelde dieren van 19 maanden en ouder.

De gemiddelde cystegrootte verschilt voor beide controlegroepen niet ($p = 0,42$). De haargroep, haargroep/4 en V_{2a}-groep verschillen onderling niet ten opzichte van de gemiddelde cystegrootte en mogen als homogeen beschouwd worden. Deze drie groepen verschillen significant van de beide controlegroepen ($p < 0,001$). De gemiddelde cystegrootte bereikt in de nylongroep de hoogste waarde, hier hebben de meeste kaakhelften een cyste klasse III. De nylongroep verschilt significant zowel van de haargroep, haargroep/4 en V_{2a}-groep ($p < 0,001$), als van de beide controlegroepen ($p < 0,001$). Ge-

zien het bovenstaande lijkt het waarschijnlijk, dat er een correlatie bestaat tussen cystegrootte en carcinoom. Het is duidelijk, dat, als de epitheelcellen van een cyste een bepaalde kans hebben carcinoomcellen te worden, de kans dat in een cyste carcinoom ontstaat, afhankelijk is van het aantal epitheelcellen en dus van de grootte van een cyste.

Tijdstip van ontstaan van cysten en groei. Het leek vervolgens gewenst te onderzoeken, of de frequentie en de afmetingen van de cysten in de nylon-groep op jeugdige leeftijd al groter waren. Om dit na te gaan is voor alle groepen in vijf leeftijdspannen het totale aantal onderzochte kaakhelften afgezet, het aantal kaakhelften met een cyste met carcinoom, het aantal kaakhelften met een cyste zonder carcinoom en voor de laatste groep de verdeling van de cysten naar grootte. De volgende leeftijdspannen werden gevormd: 5 t/m 6 maanden, 11 t/m 12 maanden, 13 t/m 18 maanden, 19 t/m 24 maanden en 25 maanden en ouder (tabel 16). De groepen 5 t/m 6 maanden en 11 t/m 12 maanden bevatten dieren die respectievelijk aan het einde van de 6e maand of aan het einde van de 12e maand voor controle waren afgemaakt of op deze leeftijd spontaan gestorven waren.

De andere perioden bevatten uitsluitend dieren die spontaan overleden waren.

Uit tabel 16 blijkt dat de controlegroep in alle perioden duidelijk minder cysten heeft. Hetzelfde geldt voor de controlegroep/4 tot de 19e maand, daarna is het verschil met de overige groepen minder duidelijk. Het is niet mogelijk een mening te vormen over de haargroep/4 gezien het geringe aantal waarnemingen beneden de 19e maand. De haargroep en V_{2a} -groep lijken in alle perioden niet duidelijk te verschillen. Het lijkt alsof de nylongroep in alle perioden de meeste cysten heeft.

Ten einde een objectieve indruk te krijgen of het laatste inderdaad het geval is, werd de nylongroep vergeleken met de combinatie haargroep + V_{2a} -groep, in het vervolg gecombineerde groep geheten. Combinatie van deze twee groepen was geoorloofd, omdat in hoofdstuk IV is gebleken, dat in deze groepen bij dieren van 19 maanden en ouder ten opzichte van de carcinoom-frequentie en de cystefrequentie geen duidelijke verschillen bestonden. Bovendien is gebleken dat in deze leeftijdspanne de cystegrootte voor beide groepen gelijk was. De perioden 5 t/m 6 maanden en 11 t/m 12 maanden werden wegens de kleine aantallen gecombineerd. Tabel 17 geeft het percentage kaakhelften met een cyste weer in de nylongroep en de gecombineerde groep in de vier leeftijdspannen.

groepen ♂ + ♀	totaal aantal kaakhelften	aantal kaak- helften met een cyste met carcinoom	aantal kaak- helften met een cyste zonder carcinoom	verdeling van de cysten naar grootte		
				kl. I	kl. II	kl. III
5 t/m 6 maanden						
controlegroep	14	0	0	—	—	—
controlegroep/4	8	0	0	—	—	—
haargroep	12	0	9	9	0	0
haargroep/4	6	0	3	3	0	0
V _{2a} -groep	11	0	2	1	1	0
nylongroep	4	0	4	2	2	0
11 t/m 12 maanden						
controlegroep	16	0	4	3	1	0
controlegroep/4	12	0	1	1	0	0
haargroep	14	0	7	2	4	1
haargroep/4	0	—	—	—	—	—
V _{2a} -groep	10	0	6	2	4	0
nylongroep	14	0	11	4	5	2
13 t/m 18 maanden						
controlegroep	26	1	4	4	0	0
controlegroep/4	18	0	5	5	0	0
haargroep	38	1	25	10	14	1
haargroep/4	4	0	1	1	0	0
V _{2a} -groep	36	0	21	7	9	5
nylongroep	36	4	26	7	13	6
19 t/m 24 maanden						
controlegroep	46	0	11	7	3	1
controlegroep/4	64	0	30	19	4	7
haargroep	66	5	37	15	10	12
haargroep/4	64	5	40	15	15	10
V _{2a} -groep	58	5	31	16	8	7
nylongroep	71	13	42	9	8	25
25 maanden en ouder						
controlegroep	134	0	18	8	5	5
controlegroep/4	40	0	22	15	4	3
haargroep	96	6	31	10	12	9
haargroep/4	74	4	42	14	9	19
V _{2a} -groep	104	3	49	10	15	24
nylongroep	89	13	53	10	8	35

Tabel 16. Overzicht van het aantal kaakhelften met een cyste met carcinoom en het aantal kaakhelften met een cyste zonder carcinoom verdeeld naar cystegrootte bij onbehandelde en behandelde dieren, in vijf verschillende levensperioden.

overleden	percentage kaakhelften met een cyste	
	nylongroep	haar + V _{2a} -groep
vóór 13e maand	15:18 = 83,3 ⁰ / ₀	24: 47 = 51,1 ⁰ / ₀
13e t/m 18e maand	30:36 = 83,3 ⁰ / ₀	47: 74 = 63,5 ⁰ / ₀
19e t/m 24e maand	55:71 = 77,5 ⁰ / ₀	78:124 = 62,9 ⁰ / ₀
na 24e maand	66:89 = 74,2 ⁰ / ₀	89:200 = 45,5 ⁰ / ₀

Tabel 17. Vergelijking van het percentage kaakhelften met een cyste uit de nylongroep met het percentage uit de gecombineerde haar- en V_{2a}-groep, in vier verschillende levensperioden.

Vergelijkt men beide groepen in ieder van de vier perioden, dan blijkt het percentage kaakhelften met een cyste in de nylongroep steeds hoger te liggen. In de eerste en vierde periode is dit verschil duidelijk significant (p resp. = 0,04 en $< 0,001$). In de derde periode is het verschil nog net significant ($p = 0,05$); in de tweede periode is het verschil net niet meer significant ($p = 0,06$).

Vergelijkt men in elk der groepen de perioden onderling, dan blijkt in de nylongroep het percentage kaakhelften met een cyste van elk der perioden niet significant te verschillen. In de gecombineerde groep zijn er in de eerste drie perioden geen onderlinge verschillen; de vierde periode heeft minder kaakhelften met een cyste, dit verschil is duidelijk significant ($p = 0,002$). Dit verschijnsel wijst erop, dat de levenskansen bij afwezigheid van een cyste groter zijn.

Er zijn dus geen aanwijzingen gevonden, dat de cysten in de nylongroep op jeugdiger leeftijd ontstaan dan in de andere proefgroepen. De grotere kans op carcinoomontwikkeling van de cysten in de nylongroep kan hier dus niet uit worden verklaard.

Aan de hand van tabel 16 was niet uit te maken of in de nylongroep de cysten eerder groot waren dan in de andere groepen. Om hierover een indruk te krijgen, is de index voor de gemiddelde cystegrootte in de nylongroep vergeleken met die van de gecombineerde groep (tabel 18). Voor deze vergelijking werden dezelfde vier leeftijdsperioden genomen als voor de vergelijking van de cystefrequentie.

In de nylongroep is de index voor de gemiddelde cystegrootte in alle overeenkomstige perioden groter dan in de gecombineerde groep. Dit verschil is alleen in de derde en vierde periode significant (p resp. = 0,001 en = 0,03). In de derde periode is het verschil verreweg het grootst.

overleden nylongroep	aantal kaakhelf- ten met een cyste zonder carcinoom	verdeling van de cysten naar grootte			gemiddelde cystegrootte
		kl. I	kl. II	kl. III	
vóór 13e maand	15	6	7	2	1,73
13e t/m 18e maand	26	7	13	6	1,96
19e t/m 24e maand	42	9	8	25	2,38
na 24e maand	53	10	8	35	2,47
haar + V_{2a}-groep					
vóór 13e maand	24	14	9	1	1,46
13e t/m 18e maand	46	17	23	6	1,76
19e t/m 24e maand	68	31	18	19	1,82
na 24e maand	80	20	27	33	2,16

Tabel 18. Vergelijking van de cystegrootte van cysten niet gecompliceerd door carcinoom uit de nylongroep met die uit de gecombineerde haar- en V_{2a}-groep, in vier verschillende levensperiodes.

Vergelijkt men de index binnen elk der twee groepen in de vier periodes, dan blijkt dat de gemiddelde cystegrootte steeds toeneemt. In de nylongroep is het verschil tussen de eerste en tweede periode niet significant ($p = 0,32$), het verschil van de tweede naar de derde periode is het grootst en dit is duidelijk significant ($p = 0,04$), het verschil tussen de derde en vierde periode is niet significant ($p = 0,59$). In de gecombineerde groep is het verschil tussen de eerste en de tweede periode en tussen de tweede en de derde periode niet significant (p resp. $= 0,17$ en $= 0,69$), het verschil tussen de derde en de vierde periode is het grootst en dit is duidelijk significant ($p = 0,015$).

Vat men deze uitkomsten samen, dan is gebleken dat in de nylongroep de gemiddelde cystegrootte in alle periodes groter is dan in de gecombineerde groep. Dit verschil is in de twee laatste periodes duidelijk significant. Binnen de groepen ligt de sterkste groei bij de nylongroep omstreeks de 18e maand, bij de gecombineerde groep omstreeks de 24e maand. Het lijkt waarschijnlijk dat de cysten groeien volgens een S-curve, waarvan het steilste gedeelte voor de nylongroep ongeveer 6 maanden eerder optreedt dan voor de gecombineerde groep en ligt omstreeks de 18e maand. Of de hellingshoek voor beide curven gelijk is of verschilt, is niet onderzocht, daar het materiaal niet geschikt is om de groeiwijze van de cysten nauwkeurig te bestuderen.

Aantal binnengedrongen haren. Ten einde na te gaan of het aantal haren,

dat de tandkas binnendringt, bij de nylongroep groter is dan in de andere groepen, zijn in de verschillende groepen een aantal tellingen verricht. Bij de V_{2a}-groep konden geen tellingen verricht worden door de beschadiging van het weefsel in de tandkas ten gevolge van het uithalen van de draad voor de histologische bewerking. De gebruikte methode en de leeftijden waarop geteld is, zijn aangegeven in hoofdstuk III. Het is gebleken dat de uitkomsten van de tellingen verricht bij dieren jonger dan 23 maanden, ten gevolge van de kleine aantallen en de grote spreiding, voor vergelijking niet bruikbaar waren. Evenmin waren de uitkomsten van de tellingen verricht in kaakhelften zonder cysten en in kaakhelften met cyste en carcinoom bruikbaar. In het eerste geval was het aantal waarnemingen per groep te klein, in het tweede geval konden, ten gevolge van de grote veranderingen in de anatomische verhoudingen, geen betrouwbare uitkomsten verkregen worden. De uitkomsten van tellingen verricht in kaakhelften met een cyste zonder carcinoom, bij dieren die 23, 24, 28 en 29 maanden oud waren geworden, bleken voor het doel geschikt te zijn. Aangezien er geen verschil gevonden werd binnen de groepen op deze leeftijden, konden deze uitkomsten gecombineerd worden. In de tabellen 19 en 20 zijn voor elke groep afgezet het aantal getelde kaakhelften met een cyste zonder carcinoom en voor elk der drie zones de mediaanwaarde en de spreidingsbreedte (range) van het aantal in de kaak gedrongen haren. In tabel 19 zijn de uitkomsten afgezet van de drie getelde groepen waar de dieren geïsoleerd hebben geleefd, in tabel 20 de uitkomsten van de beide groepen waar de dieren met zijn vieren in een kooi waren gehouden.

groepen ♂ + ♀	aantal kaak- helften	zone I mediaan-sprei- dingsbreedte	zone II mediaan-sprei- dingsbreedte	zone III mediaan-sprei- dingsbreedte
controlegroep	20	32 (5—102)	25 (0—157)	0 (0—70)
haargroep	22	18 (1—177)	49 (0—264)	5 (0—73)
nylongroep	24	16 (0—221)	72 (0—361)	6 (0—78)

Tabel 19. Mediaan en spreidingsbreedte van het aantal in de kaak gedrongen haren, verdeeld over drie zones, bij alleen gehouden dieren van 23, 24, 28 en 29 maanden oud, met een cyste niet gecompliceerd door carcinoom.

Bij de dieren, die geïsoleerd geleefd hebben, is in zone I het aantal haren in de controlegroep het grootst, in de nylongroep het kleinst. De haargroep neemt een middenpositie in. Het verschil tussen nylongroep en controlegroep

groepen ♀	aantal kaak- helften	zone I mediaan-sprei- dingsbreedte	zone II mediaan-sprei- dingsbreedte	zone III mediaan-sprei- dingsbreedte
controlegroep/4	20	62 (5—332)	65 (0—317)	0 (0—73)
haargroep/4	21	50 (2—250)	178 (4—553)	7 (1—192)

Tabel 20. Mediaan en spreidingsbreedte van het aantal in de kaak gedrongen haren, verdeeld over drie zones, bij dieren van 23, 24, 28 en 29 maanden oud, met een cyste niet gecompliceerd door carcinoom, van de controlegroep/4 en haargroep/4.

is net significant ($p = 0,05$). De haargroep verschilt noch van de controlegroep ($p = 0,35$), noch van de nylongroep ($p = 0,40$).

In zone II is het aantal haren in de nylongroep het grootst, in de controlegroep het kleinst. De haargroep neemt ook hier weer een middenpositie in. Het verschil tussen de nylongroep en de controlegroep is significant ($p = 0,02$). De haargroep verschilt niet van de controlegroep ($p = 0,09$), ook niet van de nylongroep ($p = 0,32$) en ligt dicht bij deze laatste.

In zone III worden dezelfde uitkomsten als in zone II gevonden. De aantallen gevonden haren zijn hier duidelijk kleiner dan in beide voorgaande zones. Voor vergelijking is deze zone dan ook het minst geschikt.

Van de dieren, die met hun vieren in een kooi hebben gezeten, is in zone I het aantal binnengedrongen haren in de controlegroep/4 groter dan in de haargroep/4. Dit verschil is echter niet significant ($p = 0,35$).

In zone II heeft de haargroep/4 meer haar. Het verschil tussen de beide groepen is groter dan in zone I en duidelijk significant ($p = 0,04$).

In zone III liggen de gevonden waarden veel lager en is er geen verschil tussen de beide groepen aantoonbaar ($p = 0,70$).

Worden bij de nylongroep en haargroep/4 zone II vergeleken, de zone in beide groepen met de meeste haardoorsneden, dan lijkt het of de haargroep/4 meer haar heeft. Dit verschil is echter niet significant ($p = 0,14$). Dat dit verschil niet significant is, vindt zijn oorzaak in de grote spreiding in beide groepen.

Het blijkt, dat bij oude dieren het aantal binnengedrongen haren in de nylongroep niet groter is dan in de haargroep en haargroep/4. De nylongroep ligt tussen deze beide groepen in en verschilt van geen van beiden significant. Beschouwt men de gevonden waarden van de getelde haardoorsneden als index voor de totaal aanwezige hoeveelheid van de substantie „haar”, dan is er dus geen correlatie tussen de kans op het ontstaan van carcinoom en de

aanwezige hoeveelheid haar. Dit maakt het zeer onwaarschijnlijk, dat het ontstaan van de carcinomen veroorzaakt zou worden door de chemische bestanddelen uit de haren. De hogere carcinoomfrequentie in de nylongroep kan dan ook niet verklaard worden uit de hoeveelheid binnendringend haar. Bovendien werden bij verschillende dieren met carcinoom in de nylongroep slechts enkele haren in de tumor gevonden.

Bij vergelijking van jeugdige dieren in de haargroep en de nylongroep bleek, dat bij beide groepen reeds vele dieren met spontaan binnengedrongen haren werden gevonden. Een verschil tussen beide groepen kon niet worden aangetoond.

Chemische samenstelling van nylon. In hoofdstuk III is uiteengezet dat het een omstreden vraag is, of nylon op grond van zijn chemische samenstelling carcinogeen zou zijn. In herinnering mag worden gebracht dat, toen men plastic schijfjes, die na implantatie een hoog percentage sarcomen verwekten bij ratten, een andere vorm gaf (geperforeerde schijfjes of draad), of verving door poeder van deze stoffen, dit resulteerde in vrijwel negatieve uitkomsten (Nothdurft, 1955a, b; Oppenheimer et al., 1955, 1958; Schubert et al., 1955). Vervanging van plastic schijfjes door schijfjes van ongeveer dezelfde vorm en grootte van ander materiaal had echter wel een ongeveer even hoge opbrengst aan tumoren tot resultaat (Mohr, 1959; Nothdurft, 1955 a, b, 1958). Voor een volledig overzicht over deze materie wordt de lezer verwezen naar de overzichtsartikelen van Emmelot (1958), Alexander en Horning (1959), Nothdurft (1960) en naar de publicatie van Danishefsky en medewerkers (1959). Het lijkt zeer onwaarschijnlijk, dat plastics op grond van hun chemische samenstelling carcinogeen zouden zijn. Uit bovenstaande onderzoeken volgt veeleer, dat het al of niet optreden van sarcomen sterk afhankelijk is van de vorm van het ingebrachte materiaal en de geïnduceerde bindweefselkapsel.

In ons experiment was de reactie op ingebracht nylon niet sterker dan op haar of V_{2a}-staaldraad. Wij zagen geen enkele maal een sarcoom in de tandkas ontstaan. De carcinomen in de nylongroep waren histologisch gelijk aan de carcinomen in de andere groepen. Het biologisch gedrag van de tumoren verschilde niet van de andere groepen. Wij menen dan ook dat, waar in ons experiment slechts nyloodraad gebruikt werd, er geen redenen zijn om aan de stof nylon carcinogene eigenschappen toe te kennen.

Invloed diameter. Men kan verwachten dat het gebruik van een dikker

corpus alienum aanleiding zal geven tot grotere beschadiging van het emailorgaan.

De diameter van de gebruikte nylondraad was het grootst (150μ), die van snorhaar het kleinst ($\pm 50 \mu$), terwijl de diameter van het gebruikte V_{2a} -staaldraad hier tussen lag (100μ). Nylondraad vult bijna de gehele ruimte op tussen tand en bot aan de ventrale zijde van de tand. In een vorig hoofdstuk is reeds vermeld dat men inderdaad de indruk krijgt, dat bij gebruik van nylondraad de beschadiging ernstiger was. Dat ernstiger beschadiging van het emailorgaan meer, en eventueel grotere cysten ten gevolge zal hebben, lijkt alleszins aannemelijk. In dit hoofdstuk is reeds vermeld, dat de cystefrequentie op alle leeftijden in de nylongroep hoger was dan in de andere groepen en dat de cysten gemiddeld groter waren (tabel 17 en 18). Het is dus waarschijnlijk, dat er een correlatie bestaat tussen de ontwikkeling van de cysten en de dikte van het gebruikte corpus alienum.

Dat nylon chemisch een invloed zou uitoefenen op de groeisnelheid van cysten, bijvoorbeeld door irriterend te werken en exsudatie te bevorderen, is weinig aannemelijk, aangezien uit de experimentele heilkunde bekend is dat de weefselreactie op ingebrachte monofilamenteuse nylonraden zeer gering is en kortdurend (Dettinger et al., 1957).

Samenvatting. De hoge carcinoomfrequentie in de nylongroep berust op het ontstaan van meer en grotere cysten in deze groep, die bovendien eerder hun maximale grootte bereiken dan de cysten in de andere groepen. Het bleek dat nylondraad ($\varnothing 150 \mu$) bijna de gehele ruimte van de tandkas opvulde tussen tand en bot aan de ventrale zijde van de tand. Bovendien kregen wij de indruk dat bij het gebruik van nylondraad de beschadiging van het emailorgaan het ernstigst was. Een verband tussen deze ernstige beschadiging van het emailorgaan en het ontstaan van meer en grotere cysten is zeer aannemelijk.

Bij oudere dieren werd gevonden, dat de cysten in de controlegroepen vaker ontstoken waren dan in de behandelde groepen. De factor ontsteking — althans op hoge leeftijd — vormt dan ook geen verklaring voor het ontstaan van de grotere hoeveelheid carcinomen in de nylongroep. Bovendien werd gevonden dat de cysten in de controlegroepen belangrijk kleiner waren dan die in de behandelde groepen en korter bestonden (tabel 16). Hieruit volgt dat de ontstekingsreactie blijkbaar het heftigst is aan het begin van de ontwikkeling der cysten en na enige tijd tot rust komt. Mogelijk is de groei van de cysten een gevolg van deze ontsteking. Het is waarschijnlijk, dat bij de

HOOFDSTUK VII

VERGELIJKING MET CARCINOOM IN DE KAAK BIJ DE MENS

In 1957 beschreven Falkmer en medewerkers een geval van anaplastisch plaveiselcel-carcinoom uitgaande van een ectodermale odontogene cyste in de onderkaak bij een man van 51 jaar. Tegelijkertijd gaven ze een overzicht van de wereldliteratuur, waaruit bleek dat na een critische beschouwing van de 48 vermelde gevallen slechts 8 overbleven. Totaal zijn dus tot op heden 9 carcinomen bekend die uitgingen van een cyste in de kaak bij de mens. Het histologisch beeld van deze 9 carcinomen is overwegend dat van een planocellulair carcinoom (5 van de 9 gevallen) met daarnaast carcinomen die minder gedifferentieerd zijn (een „spinobasocellulair” carcinoom, een „transitionalcel” carcinoom en twee anaplastische plaveiselcel-carcinomen), maar toch nog een planocellulaire afkomst verraden. Bij deze 9 gevallen viel op dat er 7 ontstaan waren in een ontstoken cyste. In 1939 reeds wees Schiller op de mogelijke invloed van de chronische ontsteking voor het ontstaan van carcinoom in deze cysten.

Het leek dan ook gewenst na te gaan, of er punten van overeenkomst waren tussen de hierboven beschreven carcinomen uitgaande van het epitheel van ectodermale odontogene cysten in de kaak van de mens en de door ons bestudeerde gezwellen in de kaak van de muis.

Bij de mens heeft men te maken met cysten uitgaande van het emailorgaan of resten van dit orgaan (S on e s s o n, 1950; T h o m a, 1954), die naar gelang van hun ontstaanswijze onderverdeeld worden in folliculaire en periodontale (radiculaire) cysten (indeling volgens Thoma-Robinson-Bernier). Deze cysten zijn bekleed met epitheel afkomstig van het emailorgaan, dat metaplastisch is veranderd in een niet verhoornend plaveiselepitheel.

Bij de muis hebben wij, zoals in voorgaande hoofdstukken beschreven is, te doen met traumatische epitheelcysten uitgaande van het emailorgaan en bekleed met een doorgaans plat, niet verhoornend plaveiselepitheel.

Het lijkt dan ook gerechtvaardigd om, afgezien van de aetiologische ver-

schillen, deze cysten onderling te vergelijken, daar beide bekleed zijn met epitheel afkomstig van het emailorgaan, dat in beide gevallen een planocellulair aspect heeft. Zowel bij de mens als bij de muis bleken de carcinomen uitgaande van deze cysten overwegend planocellulaire carcinomen te zijn, terwijl bij beide ontsteking het ontstaan van maligne groei lijkt te bevorderen. Omdat de gegevens betreffende de grootte van de cysten en de tijd dat deze bestaan zouden hebben bij de mens zeer onvolledig zijn, is het niet mogelijk deze gegevens in onze beschouwing te betrekken.

Inderdaad lijkt er dus een analogie te bestaan tussen carcinomen uitgaande van ectodermale odontogene cysten bij de mens en de door ons bestudeerde gezwellen uitgaande van traumatische epitheelcysten in de kaak van de muis.

HOOFDSTUK VIII

SLOTBESCHOUWING

Experimentele beschadiging van het emailorgaan van de knaagtand in de onderkaak bij *jonge* ($\varnothing$ WLL_f x δ O₂₀) F₁-muizen (3—6 maanden oud) doet de frequentie van intramandibulair carcinoom significant stijgen. De mening dat mechanische beschadiging van het emailorgaan aanleiding geeft tot het ontstaan van cysten en dat de in de onderkaak waargenomen carcinomen van de cystewand uitgaan, kon bevestigd worden.

Door bij jonge muizen het emailorgaan kunstmatig te beschadigen, is bereikt dat reeds bij dieren van een jaar oud een hoog percentage cysten voorkwam. De lange latente tijd die nodig blijkt te zijn voor het ontstaan van carcinoom uit de cystewand, is door het vroege ontstaan van cysten binnen de levensperiode van het dier gebracht. Het fraaist is dit te demonstreren aan de hand van de controlegroep/4, waar bij oude dieren (19 maanden en ouder) een hoog percentage cysten gevonden werd, maar géén carcinoom. Het bleek dat in deze groep bij dieren, jonger dan 19 maanden, vrijwel geen cysten voorkwamen (tabel 16). Hieruit volgt dat, ten gevolge van de beperkte levensduur van de muis, de cysten in deze groep niet lang genoeg bestaan hebben om carcinoom te krijgen. Hadden in deze groep de muizen onbeperkt kunnen leven, dan was ook in deze groep carcinoom ontstaan.

Wij stellen ons voor dat het mechanisme van de carcinogenese het volgende is: ten gevolge van mechanische beschadiging van het emailorgaan ontstaan cysten waarvan de wand bekleed is met plat plaveiselepitheel, afkomstig van het emailorgaan. Dit metaplastisch epitheel wordt chronisch geïrriteerd door de binnendringende, respectievelijk in de tandkas liggende, haren, de in de tandkas gebrachte corpora aliena (haar, V_{2a}-staaldraad, nylondraad) en door ontsteking. De chronische irritatie geeft aanleiding tot voortdurende celbeschadiging, gevolgd door regeneratie. Wij moeten aannemen dat op de lange duur, om ons nog onbekende redenen, de regeneratie ontspoot en maligne cellen ontstaan. Dat de chemische samenstelling van de corpora

aliena op de carcinogenese invloed uitoefent, hebben wij kunnen uitsluiten. Wij menen dan ook, dat de uitkomsten van onze proeven een experimenteel bewijs zijn voor de reeds lang bestaande mening, dat chronische irritatie van epitheel aanleiding kan geven tot het ontstaan van carcinoom.

Bij de mens zijn ook carcinomen bekend die ontstaan na langdurige prikkeling van epitheel ten gevolge van chronische ontsteking — als voorbeeld moge hier aangehaald worden het carcinoom dat ontstaat in chronisch ontstoken fistels (bijvoorbeeld bij osteomyelitis, pilonidal sinus), in een ulcus cruris en het carcinoom in de mondholte op bodem van leucoplakie — en waarbij men er niet in geslaagd is specifieke carcinogene invloeden aan te tonen. Bekend is van deze carcinomen, dat de latente tijd lang is. Wij menen dat aan het ontstaan van deze vormen van carcinoom hetzelfde mechanisme van voortdurende celbeschadiging en regeneratie, als bovenbeschreven, ten grondslag ligt.

Men kan zich voorstellen, dat de carcinogenese bij chronische prikkeling langs verschillende wegen kan verlopen.

Eén van de wegen zou kunnen zijn, dat er bij celverval afbraakproducten ontstaan, die geringe carcinogene eigenschappen hebben. Onder normale omstandigheden zouden dit kleine hoeveelheden zijn, die door het organisme gemakkelijk geëlimineerd worden, voordat ze hun schadelijke werking kunnen ontplooien. Bij chronische irritatie kan men zich voorstellen, dat er voortdurend „carcinogene” afbraakproducten vrijkomen. Neemt men tevens aan, dat de eliminatie van deze stoffen ten gevolge van fibrosering (litteken-formatie) van het weefsel bemoeilijkt is, dan leiden deze twee processen tot een ophoping van de „carcinogene” afbraakproducten in het weefsel ter plaatse van het celverval. Dit is tevens de plaats waar steeds weer regeneratie plaats vindt. Onder deze omstandigheden zou een concentratie bereikt kunnen worden, die schadelijk is voor het weefsel en aanleiding geeft tot het ontstaan van maligne cellen. Welke de aard is van de eventuele „carcinogene” afbraakproducten van de cel, is onbekend. Met de mogelijkheid dat deze verwant zijn met cholesterol moet rekening gehouden worden.

Een andere weg waarlangs de carcinogenese zou kunnen verlopen, is de volgende: ten gevolge van de chronische irritatie van het metaplastisch epitheel van de cystewand door corpora aliena en ontsteking, bevindt dit zich in een voortdurende toestand van regeneratie. In deze toestand is de frequentie van celdelingen in dit epitheel voortdurend verhoogd en hierdoor zou de kans op „deraileren” van celdelingen (ontstaan van carcinoomcellen) vergroot zijn.

Evengoed zou virus door de verandering in het milieu van de cellen de

kans kunnen krijgen om maligne potenties in de cel te induceren.

Hoe het proces van de carcinogenese ook verlopen mag, zeker is, dat er cellen ontstaan met maligne eigenschappen, die deze bij deling op hun dochtercellen overdragen.

Met een kleine variatie op het gezegde „alle wegen leiden naar Rome”, kunnen we zeggen: „vele wegen leiden naar het ontstaan van de maligne cel”. Van een aantal van deze wegen is ons het beginpunt bekend, van alle het eindpunt: de maligne cel. Helaas is ons, in dit stadium van het kankeronderzoek, de route nog onbekend.

SAMENVATTING

In dit proefschrift worden de resultaten van een experimenteel onderzoek beschreven, dat ingesteld werd om de oorzaken te onderzoeken, waardoor intramandibulair carcinoom bij muizen ontstaat.

Het ontstaan van intramandibulair carcinoom bij muizen is door van Rijssel toegeschreven aan de mechanische beschadiging van het emailvormend epitheel ten gevolge van het binnendringen van haren in de tandkas. De binnendringende haren zouden de lagen van het epitheel van het emailorgaan splijten (schema 2) en zo aanleiding geven tot het ontstaan van cysten (schema 3). De wand van deze cysten wordt gevormd door metaplastisch veranderd epitheel van het emailorgaan, dat het aspect van plaveiselepitheel heeft. De carcinomen zouden uitgaan van het epitheel van de cystewand (schema 4). Chronische irritatie van het metaplastisch epitheel van de cystewand door haar en ontsteking leek de voornaamste carcinogene factor te zijn bij het ontstaan van intramandibulair carcinoom. In hoeverre de chemische samenstelling van haar voor de carcinogenese van belang was, kon niet vastgesteld worden. De frequentie van dit spontaan bij diverse zuivere muizestammen voorkomend carcinoom was laag. Het werd niet meer dan bij 1% van de dieren gezien en kwam dan nog alleen maar voor bij oudere dieren.

Uitgangspunt voor het onderzoek was de volgende vraag: *is experimenteel te bewijzen dat chronische mechanische beschadiging van het emailvormend epitheel van de knaagtand kan leiden tot het ontstaan van carcinoom?*

Voor de beantwoording van deze vraag werd onderzocht of dieren, die men vanaf jeugdige leeftijd blootstelt aan de prikkels die verantwoordelijk lijken te zijn voor het ontstaan van de intramandibulaire carcinomen, meer tumoren krijgen dan onbehandelde dieren.

Bovendien werd getracht uit deze proeven antwoord te krijgen op de volgende vragen:

1. Is bij het ontstaan van deze carcinomen inderdaad de *mechanische* beschadiging van het emailorgaan van de knaagtand de voornaamste factor? Of heeft haar specifieke chemische eigenschappen, die het ontstaan van carcinoom bevorderen?

2. Vindt de maligne verandering plaats via metaplasie en wat is de betekenis van ontsteking hierbij?

De voor dit onderzoek gebruikte muizen, op jonge leeftijd verkregen uit het Antoni van Leeuwenhoekhuis, waren van de bastaard-combinatie ($\varnothing$ WLL_f x σ O₂₀) F₁. De materialen die in de tandkas van de knaagtand van de onderkaak gebracht zijn, waren: snorhaar van de dieren zelf, V_{2a}-staaldraad en monofilamenteus nylondraad. V_{2a}-staaldraad en nylondraad (I.C.I.; type 66 nylon; chemisch: polyhexamethylene adipimide) zijn gebruikt als controle-materiaal op haar. Van V_{2a}-staaldraad mag met zekerheid worden aangenomen, dat het geen carcinogene eigenschappen bezit. Of nylon eveneens niet carcinogeen is, is een omstreden vraag (Oppenheimer et al., 1948, 1958; Northdurf, 1960). De vereiste corpora aliena werden alle vóór de zesde levensmaand in de tandkas gebracht. Het totale experiment omvatte 643 muizen, die blind verdeeld waren over de volgende zes groepen:

1. Een groep van 126 dieren (62 mnl. en 64 vrl.). De muizen werden onbehandeld elk apart in een kooi gehouden (*controlegroep*).
2. Een groep van 76 vrouwelijke dieren, onbehandeld, die met hun viertjes in een kooi werden verzorgd (*controlegroep/4*).
3. Een groep van 121 dieren (70 mnl. en 51 vrl.), waarbij eigen snorhaar ($\varnothing \pm 50 \mu$) in de tandkas werd gebracht. Elk dier zat apart in een kooi (*haargroep*).
4. Een groep van 80 vrouwelijke dieren, eigen snorhaar ($\varnothing \pm 50 \mu$) werd in de tandkas gebracht, met hun viertjes in een kooi (*haargroep/4*).
5. Een groep van 120 dieren (60 mnl. en 60 vrl.), waarbij roestvrij V_{2a}-staaldraad ($\varnothing 100 \mu$) in de tandkas werd gebracht. Elk dier werd apart in een kooi gehouden (*V_{2a}-groep*).
6. Een groep van 120 dieren (60 mnl. en 60 vrl.), waarbij nylondraad ($\varnothing 150 \mu$) in de tandkas gebracht werd. Elk dier zat apart in een kooi (*nylongroep*).

De dieren werden zorgvuldig gehuisvest en verzorgd om hen zo oud mogelijk te laten worden, ten einde een zo groot mogelijke opbrengst aan intramandibulaire carcinomen te krijgen. Volledige obductie van de muizen vond altijd plaats. Dit geschiedde met het oogmerk om kaaktumoren te kunnen onderscheiden van metastasen van gezwellen elders in het lichaam. Tevens werden alle gevonden afwijkingen (tumoren en andere pathologische processen) genoteerd.

Het resultaat van dit onderzoek is, dat de mening dat intramandibulair carcinoom bij muizen ontstaat ten gevolge van het binnendringen van haar in de tandkas van de knaagtand in de onderkaak, bevestigd kon worden. Kunstmatige beschadiging van het emailorgaan van de knaagtand bij jonge ($\varnothing$ WLL_f x δ O₂₀) F₁-muizen (3-6 maanden oud) doet de frequentie van intramandibulair carcinoom significant stijgen (tabel 1 en 3).

Hetzelfde geldt voor de cystefrequentie (tabel 7 en 8). Het histologisch beeld van de gevonden afwijkingen verschilde in de groepen onderling niet en komt geheel overeen met de spontaan voorkomende afwijkingen. In alle gevallen waarbij een cyste was ontstaan, waren corpora aliena (haar, V_{2a}-staaldraad, nylondraad) in de tandkas aanwezig. Aangetoond kon worden dat de carcinomen uit het epitheel van de cystewand ontstonden. Tevens kon aange-toond worden, dat de chemische samenstelling van de corpora aliena geen invloed heeft op de carcinogenese.

Het gebruik van nylondraad gaf aanleiding tot een grovere beschadiging van het emailorgaan, wat resulteert in het ontstaan van meer cysten (tabel 7 en 8) en grotere cysten (tabel 15). Bovendien blijken de cysten in de nylon-groep eerder groot te zijn (tabel 18). Dat meer cysten en grotere cysten een grotere kans op het krijgen van carcinoom geven, is zeer aannemelijk. De hoge carcinoomfrequentie in de nylongroep kan dan ook hieruit verklaard worden en uiteindelijk worden toegeschreven aan de grotere diameter van de ge-bruikte draad.

Wij stellen ons voor, dat het mechanisme dat aanleiding geeft tot het ont-staan van carcinoom uit het emailorgaan, het volgende is: ten gevolge van mechanische beschadiging van het emailorgaan ontstaan cysten, waarvan de wand bekleed is met plat epitheel, afkomstig van het emailorgaan. Dit meta-plastisch epitheel wordt chronisch geïrriteerd door de in de tandkas liggende corpora aliena (haar, V_{2a}-staaldraad, nylondraad) en door ontsteking. De chro-nische irritatie geeft aanleiding tot voortdurende celbeschadiging, gevolgd door regeneratie. Aangenomen moet worden dat op de lange duur, om ons nog onbekende redenen, de regeneratie ontspooit en maligne cellen ontstaan. De langdurige chronische irritatie van het metaplastisch epitheel van de cyste-wand is dan ook de voornaamste carcinogene factor bij het ontstaan van intra-mandibulair carcinoom bij de muis.

Wij menen dan ook dat de uitkomsten van onze proeven een experimen-teel bewijs zijn voor de reeds lang bestaande mening, dat chronische irritatie van epitheel aanleiding kan geven tot het ontstaan van carcinoom.

SUMMARY.

In this thesis a description is given of the results of an experimental study, undertaken to elucidate the causes of intramandibular carcinoma in mice.

The development of intramandibular carcinoma of mice has been attributed to mechanical trauma to the enamel-forming epithelium due to penetration of hairs into the sockets of the teeth (van Rijssel, 1953, 1956, van Rijssel and Mühlbock, 1955). The penetrating hairs were thought to cleave the layers of the enamel-forming epithelium (scheme 2) and thus give rise to cysts (scheme 3). The wall of these cysts is constituted by metaplastic epithelium from the enamel-forming organ, which resembles pavement-cell epithelium. The carcinomas were thought to originate from the epithelium of the wall of the cyst (scheme 4). Chronic irritation of the metaplastic epithelium of the cysts wall by the hair and inflammation seemed to be the principal carcinogenic factor in the development of intramandibular carcinoma. It could not be assessed how far the chemical composition of the hair was of importance for the carcinogenesis. The frequency of this spontaneous carcinoma of various pure strains of mice was low. It was not observed in more than 1 % of animals and then only in older animals.

The starting-point of this study was the following question: *can it be proved experimentally that chronic mechanical trauma to the enamel-forming epithelium of the incisor can lead to the development of carcinoma?*

To answer this question a study was made to decide whether animals exposed to irritations that seem to be responsible for the development of intramandibular carcinomas from youth onwards are more frequently affected with tumours than non-exposed animals.

Moreover an answer was sought to the following questions:

- (1) Is the *mechanical* trauma to the enamel-forming organ of the incisor indeed the principal factor for the development of these carcinomas? Or do the hairs have specific chemical properties that favour the development of carcinoma?
- (2) Does the malignant degeneration arise via a phase of metaplasia and what is the importance of inflammation in its aetiology?

The mice used for these experiments were obtained while young from the Antoni van Leeuwenhoekhuis and were of the hybrid combination ($\varnothing$ WLL_r x δ O₂₀) F₁. The materials introduced into the teeth-sockets of the incisor of the mandible were: whisker of the animal itself, V_{2a}-steel wire and monofilamentous nylon fibres. The V_{2a}-steel wire and the nylon fibre (I.C.I., type 66 nylon, chemical composition: polyhexamethylene adipimide) were used as control materials instead of hair. For V_{2a}-steel wire it may be assumed with certainty that it does not have carcinogenic properties. The question whether nylon is carcinogenic is still a matter of dispute (Oppenheimer et al., 1948, 1958; Nordhurf, 1960). The foreign matter was always introduced into the teeth-sockets prior to the 6th. month of life. The experiments were carried out on 643 mice, which had been randomly distributed over the following six groups:

- (1) A group of 126 animals (62 males and 64 females). The mice were not treated and remained isolated in separate cages (control group).
- (2) A group of 76 female animals, which were not treated and were kept in cages, every cage containing 4 animals (control group /4).
- (3) A group of 121 animals (70 males, 51 females). A whisker from the animal itself was introduced into the socket. The diameter of the hair was approximately 50 μ . The animals were isolated in separate cages (hair group).
- (4) A group of 80 females; a whisker from the animal itself was introduced into the socket (diameter of the hair $\pm$ 50 μ). The animals were kept in cages containing 4 animals (hair group /4).
- (5) A group of 120 animals (60 males, 60 females). Stainless V_{2a} steel wire (diameter 100 μ) was introduced into the teeth-sockets. Each animal was isolated in a cage (V_{2a}-group).
- (6) A group of 120 animals (60 males, 60 females). Nylon fibre (diameter 150 μ) was introduced into the teeth-sockets. Each animal was isolated in a cage (nylon group).

The animals were given good cages and food to keep them alive for as long as possible so as to obtain the maximum quantity of intramandibular carcinomas. A complete autopsy was always made to differentiate mandibular tumours from metastases of tumours in other parts of the body. All changes were noted (tumours and other pathological processes).

The results of this study confirmed the theory that intramandibular carcinoma of mice is caused by penetration of hair into the socket of the incisors

of the lower jaw. Artificial trauma to the enamel-forming organ of the incisor of *young* (3—6 months old) mice of the strain (♀ WLL_f x ♂ O₂₀) F₁ produces a significant increase in the frequency of intramandibular carcinoma (tables 1 and 3).

This is also the case for the frequency of cysts (tables 7 and 8). The histological picture of the changes did not differ among the various groups and is completely identical with the spontaneous changes. In all cases of cysts foreign bodies (hair, V_{2a} steel wire, nylon fibre) were present in the sockets of the teeth (photographs 8, 9, 10, 11, 12). It was demonstrated that the carcinomas originated from the epithelium of the wall of the cyst (photographs 14 and 15) and that the chemical composition of the foreign bodies has no influence on the carcinogenesis.

If nylon fibre was used the lesions of the enamel-forming organ were coarser, which leads to formation of more (tables 7 and 8) and larger (table 15) cysts. Also the cysts in the nylon group developed more rapidly (table 18). It is very likely that development of more and larger cysts increases the chances of carcinomatous degeneration. This explains the high frequency of carcinomas in the nylon group, which in the end may thus be attributed to the larger diameter of the nylon fibre.

We think the mechanism of carcinogenesis in the enamel-forming organ to be the following: mechanical trauma to the enamel-forming organ induces a cyst, the wall of which is lined with flat epithelium from the enamel-forming organ (photographs 8 and 9). This metaplastic epithelium is exposed to chronic irritation by the foreign bodies introduced into the socket of the teeth (hair, V_{2a} steel wire, nylon fibre) and by inflammation. The chronic irritation leads to continuous damage to the cells, followed by regeneration. It must be assumed that in the long run, for reasons still unknown, the regeneration goes astray and malignant cells develop. The chronic irritation of the metaplastic epithelium of the wall of the cyst is therefore the principal carcinogenic factor in the aetiology of intramandibular carcinoma of mice.

We think therefore that the results of our studies form an experimental proof for the fact that chronic irritation of epithelium may lead to development of carcinomas, which has been suspected for many years.

LITERATUUR

- ADDISON, W. H. F., J. L. APPLETON jr., The structure and growth of the incisor teeth of the albino rat. *J. Morph.* 26: 43; 1915.
- ALEXANDER, P., E. S. HORNING, Observations on the Oppenheimer method of inducing tumours by subcutaneous implantation of plastic films. In: Ciba Foundation Symposium on Carcinogenesis. Mechanisms of Action. Edited by G. E. W. Wolstenholme, Maevé O'Corner, J. and A. Churchill Ltd., London, 1959, p. 12.
- BRUNN, A. von, Ueber die Ausdehnung des Schmelzorganes und seine Bedeutung für die Zahnbildung. *Arch. f. Mikr. Anat.* 29: 367; 1887.
- DANISHEFSKY, I., E. T. OPPENHEIMER, M. WILLHITE, A. P. STOUT, M. M. FISHMAN, Biochemical changes during carcinogenesis by plastic films. *Cancer Res.* 19: 1234; 1959.
- DETTINGER, G. B., W. F. BOWERS, Tissue response to orlon and dacron sutures, a comparison with nylon, cotton and silk. *Surgery, St. Louis* 42: 325; 1957.
- DIDIER, R., P. RODE, In: Mammifères de France 2, Rats, souris, mulots. Edition P. Lechevalier. 1944, p. 19.
- DRUCKREY, H., D. SCHMAHL, Cancerogene Wirkung von Kunststoff-Folien. *Zschr. Naturforsch.* 7b: 353; 1952.
- DRUCKREY, H., D. SCHMAHL, Cancerogene Wirkung von anorganischen und organischen polymeren Substanzen bei Ratten. *Acta Un. int. Cancr.* 10: 119; 1954a.
- DRUCKREY, H., D. SCHMAHL, Cancerogene Wirkung von Polyäthylen-Folien an Ratten. *Zschr. Naturforsch.* 9b: 529; 1954b.
- DRUCKREY, H., D. SCHMAHL, R. MECKE jr., Cancerogene Wirkung von Gummi nach Implantation an Ratten. *Zschr. Krebsforsch.* 61: 55; 1956.
- DUNN, Th. B., Normal and pathologic anatomy of the reticular tissue in laboratory mice. With a classification and discussion of neoplasms. *J. Nat. Canc. Inst.* 14: 1281; 1954.
- EMMELOT, P., Zijn plastics carcinogeen? *Jaarb. Kankeronderz. en Bestrijding Nederl.* 8: 35; 1958.
- FALKMER, S., G. HERBERTS, S. OLVÉN, Carcinoma arising in odontogenic cysts of the jaw. Survey and case report. *Odontologisk Tidskrift* 65: 220; 1957.
- FISCHER, W., I. KÜHL, Geschwülste der Laboratoriumsnagetiere. *Beiträge zur Krebsforschung* Bd. 6: 1; 1958.

- HAUSCHKA, Th. S., Whisker-eating mice. *J. Hered.* 43: 77; 1952.
- HOLLANDER, C. F., R. O. van der HEUL, Th. G. van RIJSSEL, Pathologisch email, dentine en cement bij muizen. *N. T. v. G.* 104: 451; 1960.
- LOEB, L., Aging processes in the ovaries of mice belonging to strains differing in the incidence of mammary carcinoma. *Arch. Path.* 46: 401; 1948.
- MOHR, H.-J., Tumorentwicklung um Fremdkörper im Tierversuch. *Verh. Deutsch. Gesellsch. f. Path.* 42: 461; 1959.
- MOHR, H.-J., H. NOTHDURFT, Bindegewebskapseln um subcutan eingeheilte Fremdkörper und ihre Entartung zu Sarkomen. *Klin. Wschr.* 36: 493; 1958.
- MULDER, Cl., Over het buitengewoon uitgroeiën van de snijtanden bij verschillende knaagdieren. *Versl. en Meded. der Kon. Akad. v. Wetenschappen, afd. Natuurkunde, XVI*, p. 206. Amsterdam, 1864.
- NOTHDURFT, H., Die experimentelle Erzeugung von Sarkomen bei Ratten und Mäusen durch Implantation von Rundscheiben aus Gold, Silber, Platin oder Elfenbein. *Naturwissenschaften* 42: 75; 1955a.
- NOTHDURFT, H., Über die Sarkomauslösung durch Fremdkörperimplantationen bei Ratten in Abhängigkeit von der Form der Implantate. *Naturwissenschaften* 42: 106; 1955b.
- NOTHDURFT, H., Experimentelle Sarkome durch reizlos einheilende Fremdkörper. *Sonderbände zur Strahlentherap.* 34: 14; 1956a.
- NOTHDURFT, H., Experimentelle Sarkomauslösung durch eingeheilte Fremdkörper. *Strahlentherap.* 100: 192; 1956b.
- NOTHDURFT, H., Über die Nichtexistenz von „Metallkrebs“ im Falle der Edelmetalle. *Naturwissenschaften* 45: 549; 1958.
- NOTHDURFT, H., Tumorerzeugung durch Fremdkörperimplantation. *Berliner Symposion über Fragen der Carcinogenese. Abhandlungen der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin. Klasse f. Medizin. Jahrgang 1960, no 3, p. 80. Akademie-Verlag. Berlin, 1960.*
- NOTHDURFT, H., H.-J. MOHR, Sarkomerzeugung mit Fensterglas. *Naturwissenschaften* 45: 549; 1958.
- OPPENHEIMER, B. S., E. T. OPPENHEIMER, A. P. STOUT, Sarcomas induced in rats by implanting cellophane. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 67: 33; 1948.
- OPPENHEIMER, B. S., E. T. OPPENHEIMER, A. P. STOUT, Sarcomas induced in rodents by imbedding various plastic films. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 79: 366; 1952.
- OPPENHEIMER, B. S., E. T. OPPENHEIMER, A. P. STOUT, I. DANISHEFSKY, F. R. EIRICH, Malignant tumors resulting from imbedding plastics in rodents. *Science* 118: 305; 1953a.
- OPPENHEIMER, B. S., E. T. OPPENHEIMER, A. P. STOUT, I. DANISHEFSKY, F. R. EIRICH, Reference to A. F. Fitzhugh, Malignant tumors and high polymers (*Science* 118: 783; 1953). *Science* 118: 783; 1953b.

- OPPENHEIMER, B. S., E. T. OPPENHEIMER, I. DANISHEFSKY, A. P. STOUT, F. R. EIRICH, Further studies of polymers as carcinogenic agents in animals. *Cancer Res.* 15: 333; 1955.
- OPPENHEIMER, B. S., E. T. OPPENHEIMER, I. DANISHEFSKY, A. P. STOUT, Carcinogenic effect of metals in rodents. *Cancer Res.* 16: 439; 1956.
- OPPENHEIMER, B. S., A. P. STOUT, E. T. OPPENHEIMER, M. WILLHITE, Study of the precancerous stage of fibrosarcomas induced by plastic film (Abstract.). *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.* 2: 237; 1957.
- OPPENHEIMER, B. S., E. T. OPPENHEIMER, A. P. STOUT, M. WILLHITE, I. DANISHEFSKY, The latent period in carcinogenesis by plastics in rats and its relation to the presarcomatous stage. *Cancer* 11: 204; 1958.
- ROETTER, F., Über Entwicklung und Wachstum der Schneidezähne bei *Mus musculus*. *Morphol. Jahrbuch* 15: 457; 1889.
- RIJSSEL, Th. G. van, Kaakgezwollen bij muizen. *Jaarb. Kankeronderz. en Bestrijding Nederl.* 3: 25; 1953.
- RIJSSEL, Th. G. van, Gezwollen in de oogkas bij muizen. *Jaarb. Kankeronderz. en Bestrijding Nederl.* 5: 146; 1955.
- RIJSSEL, Th. G. van, The development of malignancy from precancerous lesions. *Acta Un. int. Cancr.* 12: 718; 1956.
- RIJSSEL, Th. G. van, R. van NIE, O. MÜHLBOCK, W. M. de BRUYN, Sarcomatoïde transformatie van overgeënte carcinomen. *Jaarb. Kankeronderz. en Bestrijding Nederl.* 4: 17; 1954.
- RIJSSEL, Th. G. van, O. MÜHLBOCK, Intramandibular tumors in mice. *J. Nat. Canc. Inst.* 16: 659 ; 1955.
- SACHSE, B., Entwicklung der Scheidezähne bei *Mus musculus*. *Dissertatie Leipzig*, 1894.
- SCHILLER, F., Das Entstehen eines Karzinoms in einer Zyste. *Zahnärztl. Rundschau* 48: 1483; 1513; 1939.
- SCHOUR, L., M. MASSLER, In: *The rat in laboratory investigation*. Edited by J. Q. Griffith and E. J. Farris, J. B. Lippincot Co., 1942. p. 102.
- SCHUBERT, G., G. UHLMANN, Zur krebserzeugenden Wirkung von Kunststoffen (Polyamide). *Dtsch. med. Wschr.* 80: 1530; 1955.
- SHIMKIN, M. B., Pulmonary tumors in experimental animals. In: *Advances in Cancer Research III*. Edited by J. P. Greenstein, A. Haddow. Academic Press Inc., Publishers New York, N. Y., 1955, p. 223.
- SNELL, G. D., In: *Biology of the Laboratory Mouse*. Editor G. D. Snell. Dover Publications, Inc., New York, 1956.
- SONESSON, A., Odontogenic cysts and cystic tumours of the jaws. A roentgen-diagnostic and patho-anatomic study. *Acta Radiol. suppl.* 81: 1; 1950.
- THOMA, K. H., Oral Pathology. A histological, roentgenological, and clinical study of diseases of the teeth, jaws and mouth. 4th ed., St. Louis: C. V. Mosby Co., 1954.

THUNG, P. J., The relation between amyloid and ageing in comparative pathology. *Gerontologia* 1: 234; 1957a.

THUNG, P. J., Senile amyloidosis in mice. *Gerontologia* 1: 259; 1957b.

THUNG, P. J., Ovaria van oude muizen. Een vergelijkend gerontologisch onderzoek. Dissertatie Leiden, 1958.

WISLOCKI, G. B., R. F. SOGNAES, Histochemical reactions of normal teeth. *Am. J. Anat.* 87: 239; 1950.

ZEGARELLI, E. V., Adamantoblastomas in the Slye stock of mice. *Am. J. Path.* 20: 23; 1944.

ZOLLINGER, H. U., Experimentelle Erzeugung maligner Nierenkapseltumoren bei der Ratte durch Druckreiz. *Schweiz. Zschr. allg. Path. u. Bakter.* 15: 666; 1952.

ILLUSTRATIES



FOTO 1. WLL_rO-muis met een gezwollen onderkaak rechts (haargroep, no. 2019, 22 mnd. oud).



FOTO 2. WLL_rO-muis met kale wangen uit controlegroep/4 (van voren en van opzij gezien; no. 1266, 21 mnd. oud).

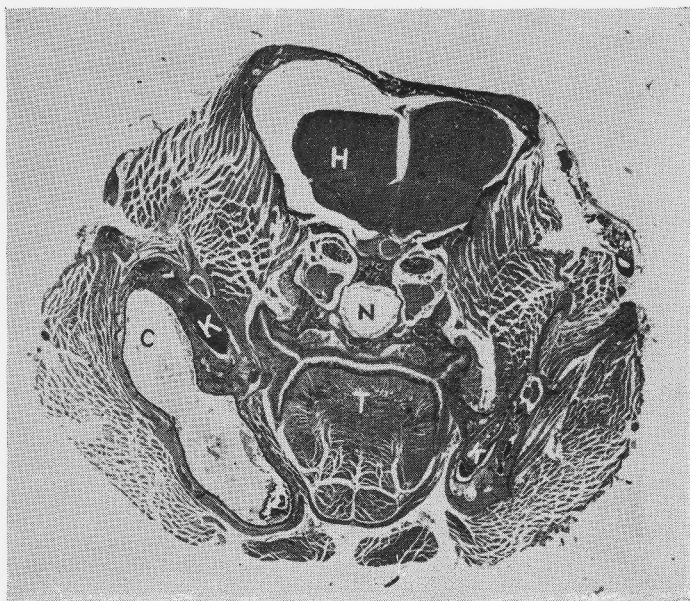


FOTO 3. Frontale doorsnede door de kop van een WLL_O-muis met een cyste in de onderkaak (6x; haargroep/4, no. 2190, 28 mnd. oud).

Bovenin ziet men de hersenen (H). Hieronder ligt de neusholte (N). In het midden onder ligt de tong (T). De spleet boven de tong is de mondholte. Rechts naast de tong ziet men een normale mandibula met knaagtand (K). Het spleetje onder de knaagtand is de ruimte, waarin het email heeft gelegen, dat opgelost is tijdens de ontkalking. Links is de onderkaak opgeblazen door een macrocyste (C) lateraal van de knaagtand (K), die enigszins vervormd is. De dunne epitheel laag, die de cyste bekleedt, is als een donker lijntje om de cyste te zien. Daarbuiten ligt bindweefsel, daarbuiten het bot van de mandibula. In de cyste ligt vocht en detritus.

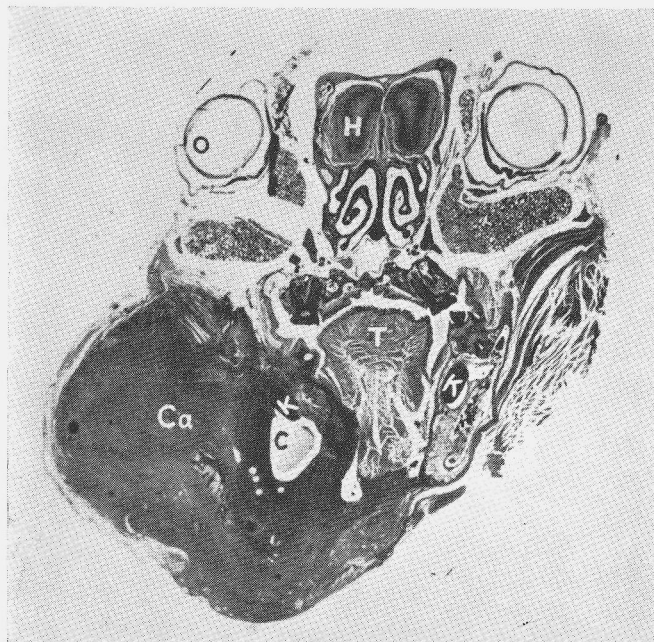


FOTO 4. Frontale doorsnede door de kop van een WLL₄O-muis met carcinoom in de onderkaak (6x; nylongroep, no. 5089, 20 mnd. oud).

Deze doorsnede ligt iets verder naar voren dan in foto 3. In deze coupe zijn de beide oogbollen (O) getroffen met daaronder de klier van Harder. Tussen de beide oogbollen ziet men de hersenen (H), daaronder ligt de neusholte. Hier weer onder liggen de mondholte en de tong (T).

De rechter onderkaak bevat een *microcyste* lateraal onder de knaagtand (K), boven de knaagtand een kies. Onder de knaagtand is weer een spleet op de plaats waar het email zich heeft bevonden. Links bevindt zich carcinoom (Ca), dat de tandkas heeft opgeblazen en lateraal in de spieren is doorgedrongen. Men ziet mediaal boven in de tumor nog een tand (K) met daaronder een cyste (C) met detritus gevuld. De vier kleine ronde gaten onder en iets lateraal van de cyste zijn de plekken waar nylondraad ligt.

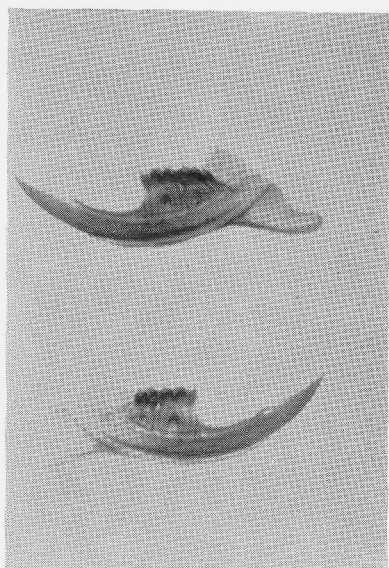


FOTO 5. Rö-opname van de rechter- en linkerhelft van de onderkaak van een normale WLL₄O-muis ($\pm 3x$; mediale opname).

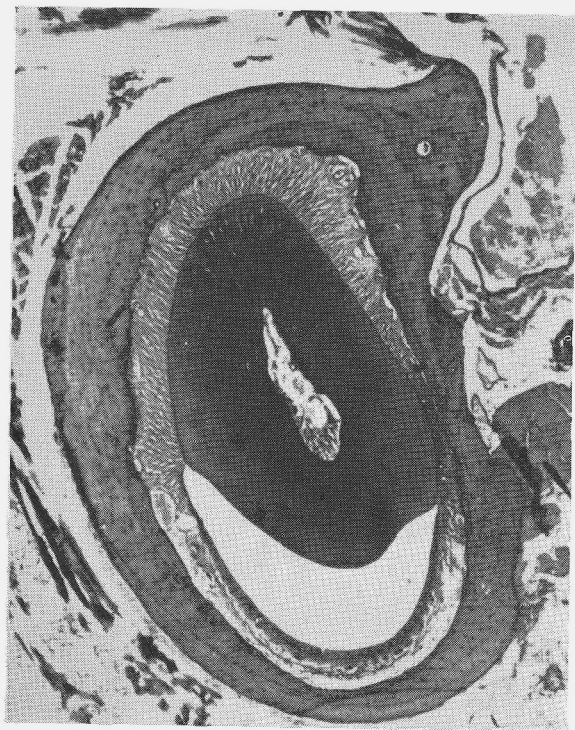


FOTO 6. Frontale doorsnede door een normale onderkaak van een WLL_rO-muis (54x; controlegroep, no. 1009, 5 mnd. oud).

Knaagtand met daaronder holte waar email heeft gelegen, begrensd door epitheel van het emailorgaan. Onder het emailorgaan het paradentale bindweefsel. Duidelijk is het bot van de onderkaak te zien en de straffe bindweefselverbinding tussen het bot en de tand opzij en boven (periodontium). Zie ook schema 6 II.

FOTO 7. Frontale doorsnede door weinig ontkalkte normale knaagtand van een WLL_rO-muis (300x).

Van boven naar beneden resp. dentine, email en emailorgaan. Duidelijk is hier de prismatische structuur van het email te zien en de hoog-cylindrische ameloblasten er direct onder.

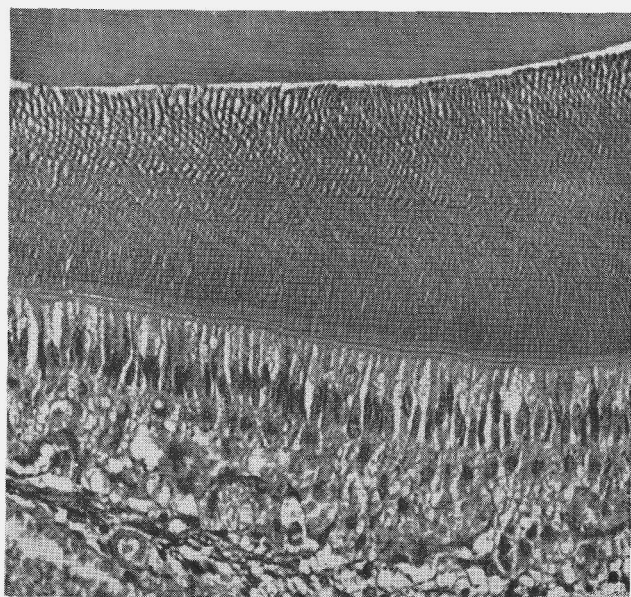




FOTO 8. Spleet in het emailorgaan in de onderkaak van een WLL_rO-muis (120x; haargroep, no. 2030, 13 mnd. oud).

In de spleet liggen snorharen (a) en vachtharen (b) en leucocyten. In het bindweefsel links liggen resp. een snorhaar (a, boven) en een vachthaar (b). Duidelijk is de metaplasie van het email-epitheel hier te zien.



FOTO 9. Microcyste in de onderkaak van een WLL_rO-muis (120x; haargroep, no. 2037, 18 mnd. oud).

Duidelijk is de relatie email-epitheel—cystewand hier te zien. Het epitheel dat de cystewand bekleedt, is plat plaveiselepitheel en hier 1 à 2 lagen dik. In het lumen van de cyste liggen haren, erythrocyten en celdetritus. Ook in het bindweefsel liggen enkele haren (a = snorhaar; b = vachthaar).

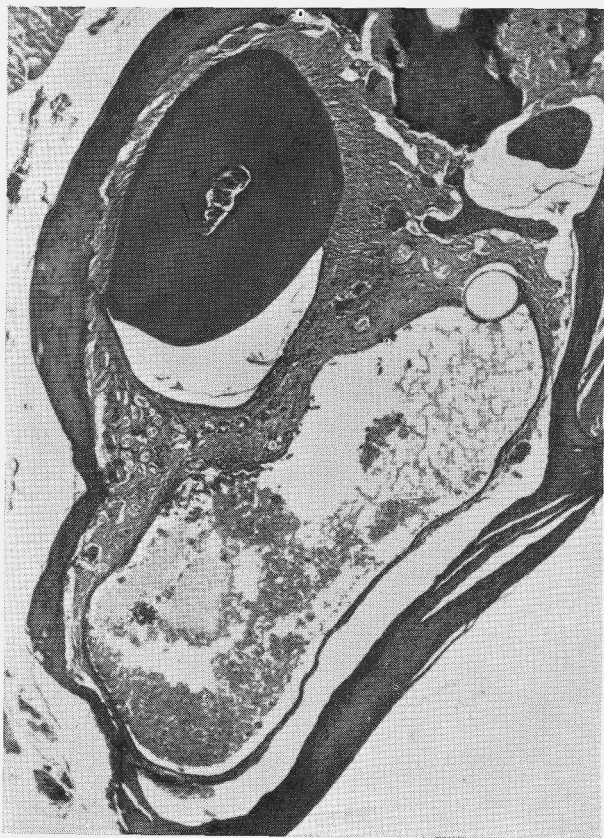


FOTO 10. Microcyste in de onderkaak van een WLL_fO-muis (30x; haargroep, no. 2013, 12 mnd. oud).

Frontale doorsnede onderkaak. Duidelijk is te zien dat de microcyste het bot van de onderkaak doet uitbochten. In deze coupe is geen contact tussen cystewand en emailorgaan. In het lumen van de cyste bevindt zich korrelig eosinofiel materiaal. Tussen cyste en emailorgaan liggen de 7 ingebrachte snorharen.

FOTO 11. Microcyste in de onderkaak van een WLL_fO-muis (30x; nylongroep, no. 5013, 12 mnd. oud).

Frontale doorsnede onderkaak. Ook hier weer wordt de onderkaak vervormd door de microcyste. In deze coupe is geen contact tussen cystewand en emailorgaan. In het lumen van de cyste bevindt zich korrelig eosinofiel materiaal en erythrocyten. Aan de bovenpool van de cyste ligt in het bindweefsel een stuk ingebracht nylon. Links op de foto liggen in het bindweefsel tussen cyste en emailorgaan talrijke spontaan binnengedrongen haren.



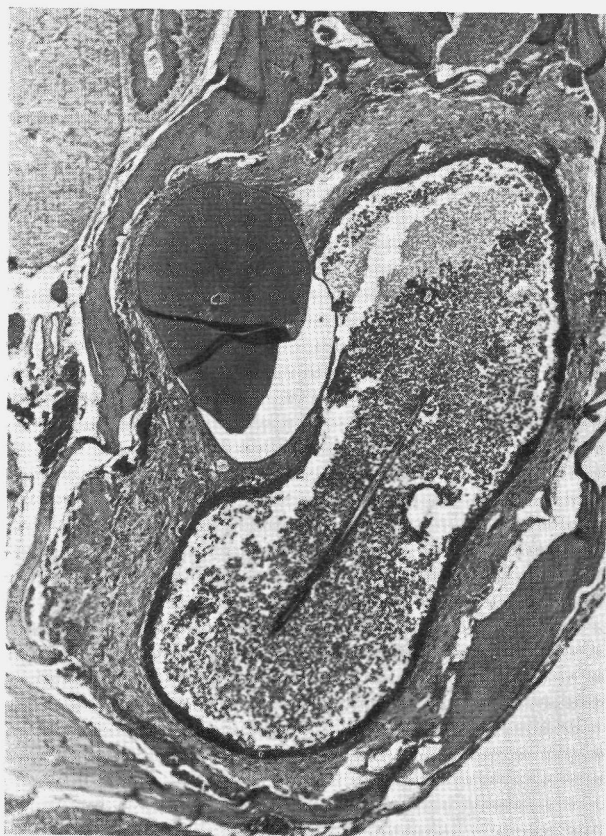
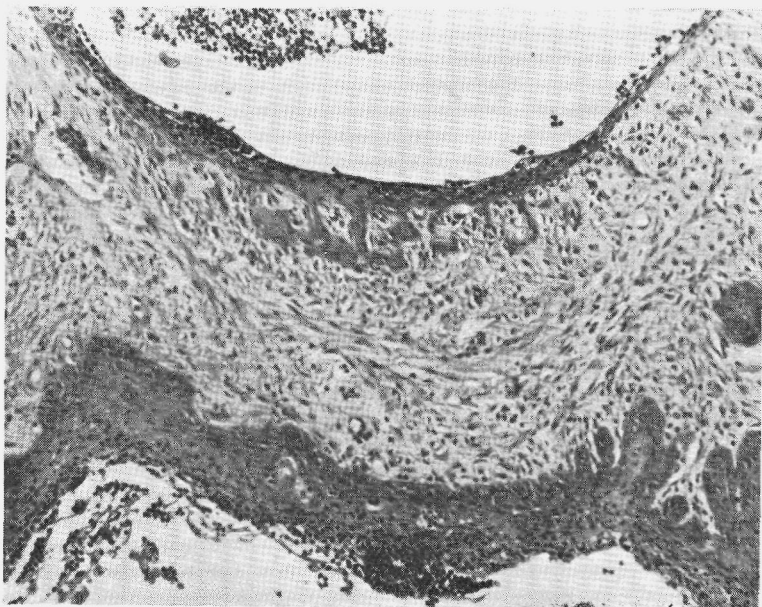


FOTO 12. Microcyste in de onderkaak van een WLL_rO-muis (30x; nylongroep, no. 5117, 28 mnd. oud).

Frontale doorsnede onderkaak. Ook hier weer wordt de onderkaak vervormd door de microcyste. In deze coupe is er duidelijk contact tussen cystewand en emailorgaan. In het lumen van de cyste wordt een leucocytair exsudaat aangetroffen met daarin een binnengedrongen haar, dat in de lengte getroffen is. Rechts van het haar is nog een uitsparing te zien waar nyloodraad heeft gelegen. De cystewand is dikker dan in beide vorige gevallen (foto's 11 en 12) en is lokaal ontstoken. Tussen cystewand en emailorgaan liggen in het bindweefsel enkele binnengedrongen haren. Links van de cyste t.p.v. de uitbocht van het bot ligt pathologisch email.

FOTO 13. Reactieve atypische epitheelproliferatie van de cystewand (120x; nylongroep, no. 5084, 26 mnd. oud).

Monoloculaire cyste, tweemaal aangesneden. In het lumen van de cyste bevindt zich leucocytair exsudaat. De cystewand is plaatselijk ontstoken, heeft lokaal het karakter van meerslagig plaveiselepitheel met een duidelijke basale laag en toont atypische epitheelproliferaties: praecarcinomateus stadium?



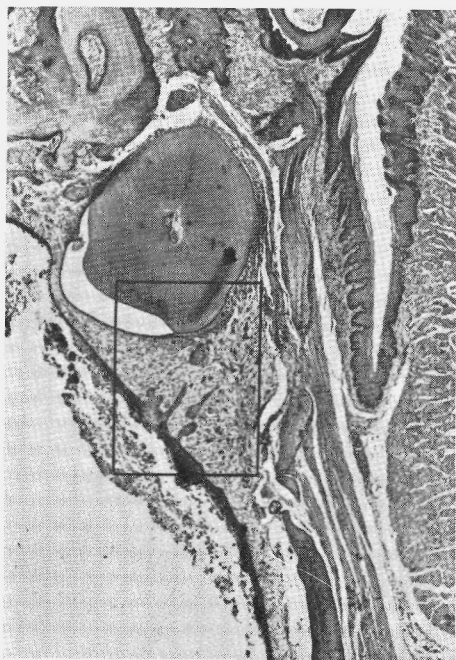


FOTO 14. Carcinoom uitgaande van een cystewand: vroeg stadium (30x; haargroep/4, no. 3042, 27 mnd. oud).

Linksonder een deel van een cyste. De epitheelwand wordt aangegeven door een zwarte lijn, die onder de knaagtand onregelmatig wordt en uitlopers in het bindweefsel stuurt in de richting van de knaagtand. Rechts nog een deel van de tong en mondholte. De omlijsting geeft de plaats van foto 15 aan.

FOTO 15. Detail van foto 14 (120x). Ontstoken cystewand waarvan een planocellulair carcinoom uitgaat. Duidelijk infiltratieve groei in het bindweefsel. In het lumen van de cyste bevindt zich celdetritus met leucocyten.



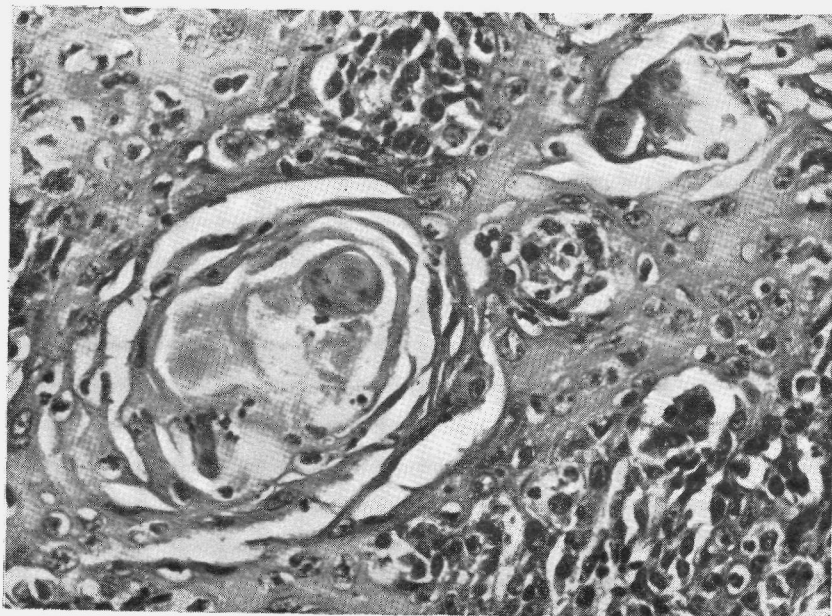


FOTO 16. Cornificerend planocellulair carcinoom met anaplastische delen uit de onderkaak van een WLL_fO-muis (300x; haargroep, no. 2062, 17 mnd. oud).

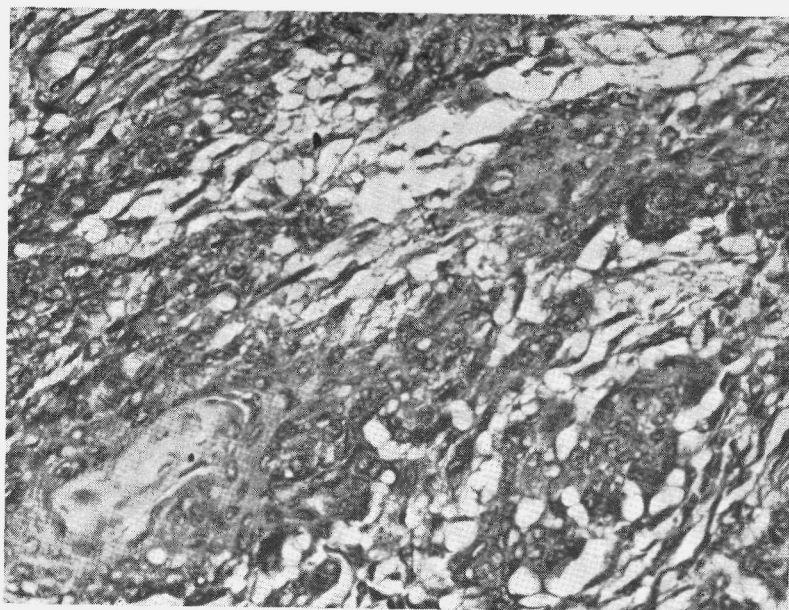


FOTO 17. Anaplastisch tot sarcomatoid carcinoom met op één plaats linksonder een cornificerend planocellulair gedeelte uit de onderkaak van een WLL_fO-muis (300x; nylogroep, no. 5100, 24 mnd. oud).

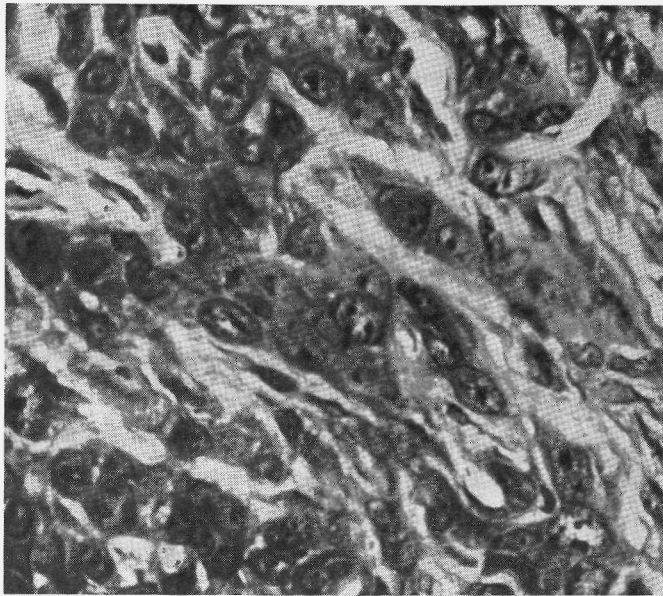


FOTO 18. Anaplastisch carcinoom uit de onderkaak van een WLL_rO -muis (480x; nylon-groep, no. 5032, 23 mnd. oud).

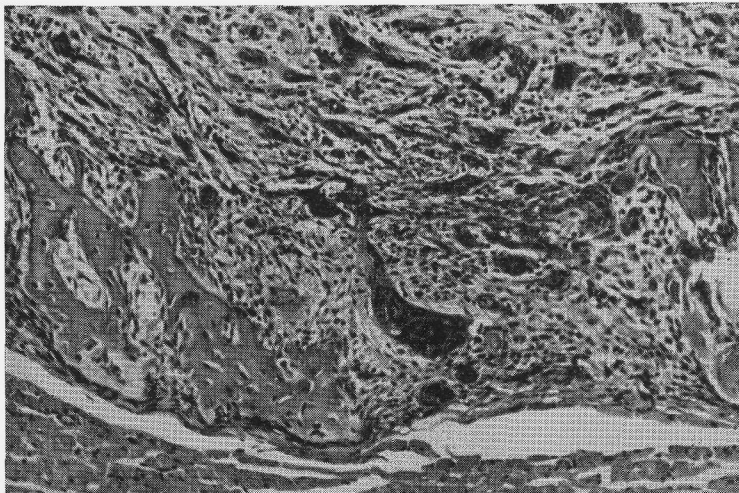


FOTO 19. Voorbeeld van infiltratieve groei van een planocellulair carcinoom uit de onderkaak van een WLL_rO-muis (120x; V_{2a}-groep, 24 mnd. oud).
Het bot van de onderkaak is onderbroken en de tumor reikt tot aan de spierlaag.

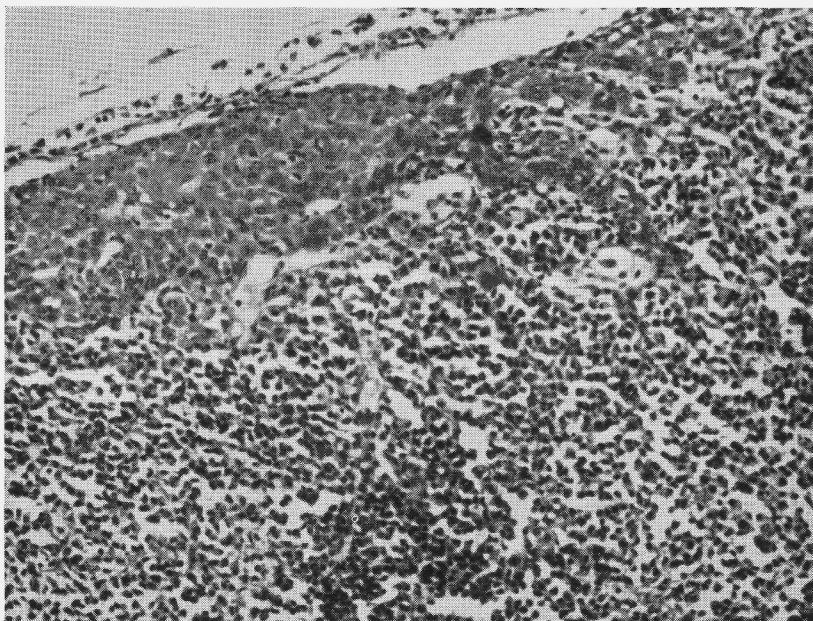


FOTO 20. Metastase van een planocellulair carcinoom uit de onderkaak van een WLL_rO-muis in de randsinus van een oppervlakkige cervicale lymfeklier (200x; nylongroep, no. 5086, 21 mnd. oud).



FOTO 21. Spontaan binnengedrongen haren naast ingebrachte snorharen in de onderkaak van een WLL_rO-muis (120x; haargroep/4, no. 2168, 25 mnd. oud). Duidelijke verdichting van het paradentale bindweefsel. Het overgrote deel van de haren lijkt reactieloos in het bindweefsel te liggen. Rechts op de foto echter zijn de haren omgeven door infiltraat.