

# Udział podścieliska łącznotkankowego w kształtowaniu obrazu patomorfologicznego rozrostu nowotworowego

JANUSZ A. MADEJ

Katedra Anatomii Patologicznej, Fizjopatologii i Weterynarii Sądowej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Madej J. A.

## The contribution of connective tissue stroma in the formation of a pathomorphological picture of the neoplastic proliferation

Summary

The mutual modulatory influence of the connective tissue stroma and tumour parenchyma, with ECM (extracellular matrix) and connective tissue gaps has been described. The presence of cellular infiltration in stroma of cancers was also presented. The cellular infiltrations are symptoms of the tissular defence mechanism and/or secondary response on regressive changes such as necrosis and degeneration. They may also be a reaction to the presence of carcinogens.

Taking under consideration stroma behaviour, tumours were divided into two groups: tumours producing stroma, i.e. sarcoma and tumours using local tissue, i.e. cancers. Anaplastic (low differentiated) tumours are accompanied by fibroplasia and rejuvenation of connective tissue, while in highly differentiated tumours stroma is more like mature connective tissue. This determines the tumour cells' penetration into stroma, as the more compact the stroma is, the higher propensity to microfocal and dispersed infiltration one may observe. The structure slackening fosters solid multifocal infiltration.

**Keywords:** stroma, ECM (extracellular matrix), tumour classification.

Podścielisko łącznotkankowe, czyli zrąb (*stroma*) stanowi integralny składnik utkania nowotworów i jest jednocześnie częścią tkanek organizmu, w których guz się rozwija. Podścielisko w dużym stopniu decyduje o biologii tkanki nowotworowej, gdyż zrąb zespala i odżywia guz. Stan zrębu, a zwłaszcza unaczynienie i naciek komórkowy lub jego brak, wpływają na losy komórek mięszzowych nowotworu. Ponadto tkanka łączna w nowotworze stanowi wraz z jego nabłonkiem nierozzerwaną całość i modeluje m.in. wzrost i różnicowanie guza (1). Dlatego też istotne w zrozumieniu roli podścieliska w procesie nowotworowym jest poznanie w jakiej mierze przekształca się ono pod wpływem rosnącego guza, w jakim zaś zachowuje cechy otaczającej go tkanki łącznej.

Podścielisko łącznotkankowe jest, oprócz komórek, drugim składnikiem tkanek i zbudowane jest z istoty międzykomórkowej (*substantia intercellularis*), czyli macierzy zewnątrzkomórkowej – ECM (extracellular matrix), która może być płynem (krew, chłonka), żelem lub/i strukturami uformowanymi, tj. włóknami. W zrębie znajdują się także liczne naczynia krwionośne oraz ulega filtracji i dyfuzji płyn tkankowy między krwią i

tkanką łączną i odwrotnie, a wraz z nim substancje odżywcze i metabolity, co stwarza skomplikowany system transportowy. Istota międzykomórkowa jest również filtrem (tzw. sito molekularne) zatrzymującym substancje toksyczne, m.in. związki kancerogenne (3).

### Fizjologia i fizjopatologia zrębu łącznotkankowego

Istota międzykomórkowa zrębu ma charakter bezpostaciowy i jest żelem złożonym z glikozaminoglikanów (GAG), takich jak: kwas hialuronowy, siarczan dermatanu, siarczan heparanu, siarczan keratanu, dwa typy siarczanów chondroityny i heparyny, które wiążąc się z białkami tworzą proteoglikany (agrekany, beta-glikan, perlekan, syndekan, dekoryna, agryna, serglycyna) oraz z glikoprotein (fibronektyna, laminina, osteopontyna). W ECM są włókna kolagenowe (klejodajne), siateczkowe (argentofilne, retikulinoe), włókna sprężyste oraz rzadko występujące odmiany – włókna oksytalonoowe i elauninoowe. Kolagen syntetyzowany jest w szorstkiej siateczce śródplazmatycznej (RER – Reugt Endoplasmatic Reticulum) fibroblastów, chondroblastów, hepatocytów, miocytów gładkich, lemo-



cytów i komórek nabłonka nerki, zaś włókna sprężyste w RER fibroblastów, chondroblastów i miocytów gładkich.

Do komórek tkanki łącznej włóknistej, często obecnych w zrębie nowotworów, zalicza się:

- fibroblasty, które wytwarzają włókna, proteoglikany istoty międzykomórkowej oraz enzymy – kolagenazę i stromelizynę; komórki te są wimektyno – dodatnie, a częstość ich podziałów rośnie pod wpływem polipetydowego czynnika wzrostu fibroblastów – FGF (fibroblasts growth factor) (9),

- fibrocyty – starsze postacie fibroblastów, mniej sprawne metabolicznie,

- miofibroblasty, podobne do fibroblastów, ale zawierające w cytoplazmie liczne kompleksy aktyny – miozyny (histochemicznie aktyno – dodatnie), co nadaje im zdolność kurczenia się i rozszerzania naczyń krwionośnych; komórki te mogą ulegać metaplastacji w nowotworach gruczołu mlekowego w kierunku tkanki łącznej wiotkiej, chrzęstnej lub kostnej (5, 11),

- histocyty (makrofagi), które dzięki hydrolazom lizosomalnym trawią wewnątrzkomórkowo materiał sfagocytowany lub czynią to na zewnątrz komórki w ECM, składniki której ulegają wówczas hydrolizie. Makrofagi zawierają także liczne interleukiny (IL – 1, 4, 6, 8, 10, 12), biorą udział w reakcjach immunologicznych, w procesach zapalnych i reparacji tkanki, jak również wydzielają TNF alfa (tumor necrosis factor), TGF beta (transforming growth factor) i PDGF (platelet derived growth factor) oraz kolagenazę, rozkładającą kolagen. Uważa się, że pewne cytokiny (TNF alfa, muteina VI – TNF alfa) pobudzają syntezę kolagenu w zrębie nowotworów doświadczalnych, np. w wątrobiaku (*hepatoma*) Morrisa 5123 (12). Towarzyszy temu gromadzenie się złogów włókniaka. Obie bariery, tj. fibroplazja i włóknik tworzą przeszkodę trudną do pokonania nie tylko dla komórek nowotworowych, ale także komórek immunokompetentnych gospodarza (8),

- komórki tuczne (mastocyty) zawierają w cytoplazmie ziarnistości bogate w heparynę, histaminę, TNF alfa, ECF-A (eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis), VIP (vacoactive intestine peptide) oraz enzymy proteolityczne. Z błony komórkowej mastocytów uwalniane są leukotrieny ( $LTC_4$ ,  $LTD_4$ ,  $LTE_4$ ), prostaglandyna  $PGD_2$  oraz interleukiny (IL – 1, 3, 4, 6, 8),

- komórki napływowe, tj. granulocyty obojętne, kwaso- i zasadochłonne oraz limfocyty i komórki plazmatyczne. Między innymi wykazano, że eozynofile obecne w podścielisku wątrobiaka Morrisa 5123 mogą inicjować syntezę włókien kolagenowych oraz posiadają właściwości cytotoksyczne i cytolityczne skierowane na komórki nowotworowe (14).

Tkanka łączna podścieliska pełni wiele funkcji, tj. uczestniczy w transporcie substancji odżywczych poprzez naczynia krwionośne w niej obecne, naprawia uszkodzenia i bierze udział w procesie zapalnym. Dla ścisłości proces ten dotyczy tylko tej tkanki, natomiast

skutki zapalenia widoczne są w komórkach mięszo-wych narządu.

Czynność komórek podścieliska nowotworowego, podobnie jak i komórek prawidłowych, jest głównie regulowana hormonalnie. ACTH przysadki i glikokortykoidy kory nadnerczy hamują wytwarzanie GAG (glikozaminoglikanów) oraz osłabiają intensywność procesów zapalnych. Spadek z kolei stężenia hormonów tarczycy powoduje kumulację GAG w istocie podstawowej tkanki łącznej i powstanie obrzęku śluzakowatego (*myxoedema*). Podobne działanie, ale typu obrzęku prostego, wywołują estrogeny (10).

### Współdziałanie mięszu i zrębu nowotworowego

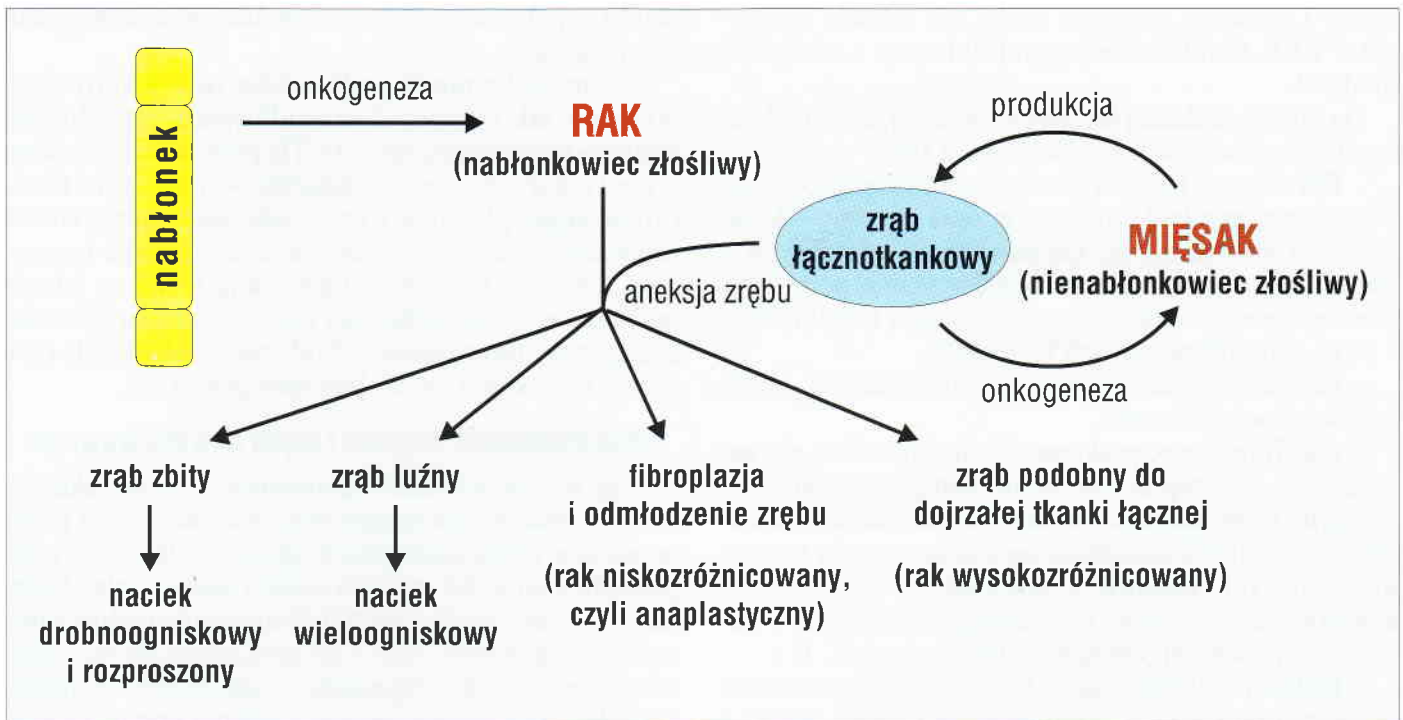
Zrąb w nowotworach nabłonkowych typu raka stanowi tkanka łączna miejscowa, skolonizowana przez nowotwór i funkcjonująca w sposób całkowicie podporządkowany dla potrzeb swego właściciela. Natomiast mięsaki, czyli nowotwory mezenchymalne, same wytwarzają własny zrąb i nie potrzebują do tego celu miejscowej tkanki. Wynikają z tego określone implikacje biologiczne, a mianowicie rakom prawie zawsze towarzyszy naciek zapalny, jako wyraz niezgodności histogenetycznej między tkanką nabłonkową i skolonizowaną miejscową tkanką mezenchymalną, czego nie obserwuje się w przypadku mięsaków. W tych ostatnich jest większa zgodność histogenetyczna między obu typami tkanki łącznej. Biorąc zatem za kryterium podziału zrąb, a nie komórek mięszo-wych, które najczęściej są podstawą ich morfologicznej klasyfikacji, nowotwory należałoby podzielić na dwie grupy (ryc. 1):

- produkujące zrąb (nienabłonkowce złośliwe), czyli mięsaki oraz

- korzystające ze zrębu tkanki miejscowej (nabłonkowce złośliwe), czyli raki.

Zrąb nowotworu może być zatem zrębem właściwym, czyli indukowanym przez nowotwór lub składać się ze zrębu tkanki, w której nowotwór rośnie, co ma głównie miejsce w guzach rosnących naciekowo. Obecne w zrębie naczynia krwionośne są częściowo już ukształtowanymi strukturami tkanki miejscowej lub też są indukowane do wzrostu przez sam nowotwór, np. przez czynnik angiogenezy nowotworów – TAF (tumor angiogenesis factor). W nowotworze niezłośliwym panuje harmonia między mięszem a podścieliskiem, natomiast w nowotworze złośliwym proces ten może być zaburzony. Ogólnie należy stwierdzić, że obfity zrąb z reguły towarzyszy nabłonkowcom, natomiast w nowotworach mezenchymalnych jest skąpy i często ograniczony tylko do sieci włóknistej.

Czasem tkanka nabłonkowa, czyli mięsz nowotworu, pobudza do rozplemu elementy tkanki łącznej podścieliska. Taki rak nosi miano włóknotwórczego, czyli desmoplastycznego (*carcinoma desmoplasticum scirrhosum s. durum s. scirrhus*). Jednoczesny rozrost zrębu i nabłonka, np. w gruczolaku prowadzi do powstania włókniakogruczolaka (*fibroadenoma*). Niekie-



Ryc. 1. Podział nowotworów wg kryterium zachowania się zrębu łącznotkankowego

dy w zrębie raka tworzy się tkanka kostna (*ca. osteoplasticum*) lub gromadzi się w niej śluz (*ca. gelatinosum*), pochodzący z rozpadłych komórek w następstwie nadmiernego jego wydzielania. Podścielisko może także ulec szkliwieniu, wapnieniu, zwyrodnieniu śluzowemu lub naczynia krwionośne ulegają w nim rozszerzeniu (*tumor teleangiectaticum s. cavernosum*). Czasem przy rozpadzie mięszu tworzą się w zrębie drobne torbiele (*tumor cysticum*), a nawet w tkance łącznej obserwuje się, leżącą pozakomórkowo melanicę. Zrąb może również ulec obrzękowi i wtedy staje się luźny, i zawiera naczyniopodobne szczeliny wysłane komórkami typu endoteliocytów oraz pojedynczymi naczyniami włosowatymi, dzięki czemu całość obrazu przypomina tkankę o charakterze płodowym.

W podścielisku raków szybko rosnących wykazano intensywną metachromazję i wysoką aktywność enzymów, takich jak leucyl i DL – alanyl – B – naftyamidazy, leucyno – aminopeptydazy i esterazy niespecyficznej (5).

Niektóre nowotwory, np. nabłoniak kosmówkowy (*chorioepithelioma*), nie posiadają zrębu.

Utrata właściwości fibroplazji, z jaką mamy często do czynienia w przypadku włókniaka mięsakowatego (*fibrosarcoma*), prowadzi do powstania guza zupełnie, lub prawie zupełnie pozbawionego włókien podścieliska. Z kolei takie nowotwory jak *fibroma*, czy *histiocytyoma*, a więc nowotwory mezenchymalne, nawiązują swą budową do tkanki łącznej włóknistej, czyli w ich przypadku „choruje” na początku sam zrąb, a nie mięsz guza.

W ogniskach przerzutowych rozwija się zarówno mięsz jak i zrąb, przy czym mięsz powstaje z komórek nowotworowych ogniska pierwotnego, zrąb nato-

miast ze zrębu tego narządu, w którym przerzut się rozwija.

Zaobserwowano, że elementy łącznotkankowe podłoża reagują słabiej na styczność z komórkami nowotworowymi niż z komórkami prawidłowymi. Wynika to z faktu, że komórka nowotworowa w porównaniu z komórką prawidłową ma mniejszą zdolność do indukowania procesów różnicowania w tkankę łączną, co warunkuje zdolność do wytwarzania zrębu. Od takich reakcji zależy więc jakość produkowanego zrębu łącznotkankowo-naczyniowego, która ma zapewnić odżywianie nowotworu.

Im mniejsza zdolność komórek nowotworowych do indukowania prawidłowych fibroblastów i wytwarzania zrębu tym nowotwór jest słabiej zróżnicowany, czyli anaplastyczny. Brak takich właściwości, czyli brak zdolności histioformatywnych powoduje chaos komórkowy i w efekcie rozproszony naciek komórek nowotworowych. Guzom anaplastycznym (niskozróżnicowanym) towarzyszy fibroplazja, a więc odmłodzenie tkanki łącznej, zaś w nowotworach wysokozróżnicowanych podścielisko przejawia większy stopień podobieństwa do dojrzałej tkanki łącznej (ryc. 1). Ma to duży wpływ na penetrację komórek rakowych w podścielisko, a mianowicie im bardziej zbity zrąb, tym większa skłonność do naciekania drobnoogniskowego i rozproszonego, podczas gdy rozluźnienie struktury podścieliska wiedzie do naciekania wieloogniskowego.

Istnieje również pojęcie nowotworu kompozycyjnego, tj. takiego, w którym zarówno zrąb jak i mięsz ulegają równocześnie zezłośliwieniu. Przykładem jest mięsakorak (*carcinosarcoma*).



Należy także dodać, że młody, o dobrym unaczynieniu zrzęb ułatwia penetrację promieniom jonizującym do tkanki nowotworowej. Odwrotnie przedstawia się to w zrzębie szklistym, zwapniałym, posiadającym tkankę kostną lub chrzęstną. Napromieniowanie prowadzi do zmian w zrzębie, tj. do jego zeszkliwienia i bliznowacenia z zanikiem układu naczyniowego (12). Stan taki tłumaczy niepowodzenia w radioterapii w przypadku wznowy nowotworu, po przebytych wcześniej napromieniowaniu.

### Mięszak oraz zrzęb nowotworów w badaniach *in vitro*

Składniki ECM wpływają na zachowanie się komórek hodowanych *in vitro*, powodując zmiany ich kształtu, aktywności ruchowej i różnicowania się. Zaburzenia w oddziaływaniu komórek nowotworowych z ECM są odpowiedzialne za ich inwazyjność i zdolność do tworzenia przerzutów (12).

W fibroblastach hodowanych *in vitro* produkowana przez nie fibronektyna pokrywa ich powierzchnię w miejscu kontaktu z podłożem oraz między przylegającymi do siebie komórkami, a filamenty aktynowe tworzą grube pęczki włókien naprężeniowych (stress fibers). Natomiast fibroblasty transformowane nowotworowo produkują bardzo małą ilość fibronektyny, słabo przylegają do podłoża i brak w nich włókien naprężeniowych. W przypadku podania egzogennej fibronektyny komórki znów przyczepiają się do podłoża (13). W ECM jest także laminina, która prawdopodobnie powoduje przyczepianie się komórek nowotworowych do kolagenu typu IV. Oddziaływanie lamininy z komórkami odbywa się przy udziale specyficznego białka błonowego, identycznego z 5' – nukleotyduzą, izolowanego z prawidłowych miocytów, komórek raka sutka i włókniakomięsaka (15, 16).

Komórki nowotworowe przesuując się po komórkach prawidłowych zmieniają swą morfologię, zwalniają lub przyspieszają migrację i ulegają polaryzacji, która uzależniona jest od rodzaju zdrowych komórek. W oddziaływaniu między komórkami, oprócz białek adhezji międzykomórkowej CAM (cell adhesion molecules) oraz kadheryn, uczestniczą także białka tworzące złącza szczelinowe (gap junctions). Białka tych złączy tworzą kanały w jednej błonie na wprost kanałów w błonie komórki sąsiadującej. Między takimi błonami może powstać szczelina, zwana koneksyną, wystająca ponad dwuwarstwę lipidową. Międzykomórkowe złącza szczelinowe umożliwiają wymianę jonową i wymianę substancji o masie do 1 kD (15). Ciekawe, że takich połączeń nie obserwuje się między komórkami nowotworowymi, jak również między komórkami prawidłowymi i nowotworowymi. ECM, wytwarzana przez komórki, może także zwrotnie oddziaływać na składniki powierzchni ich błony. Np. integryny błony wiążą białka ECM z białkami cytoszkieletu po stronie cytoplazmatycznej błony. Takim białkiem wiążącym cytoszkielet aktywowany z błoną komórkową jest talina. Np. w fibroblastach kurzych

transformowanych nowotworowo wirusem mięsaka Rousa, następuje fosforylacja łańcucha beta integryny, co powoduje zmniejszenie jej powinowactwa do taliny, a przez to osłabia wiązania cytoszkieletu z białkami błony (2, 5). Tym sposobem komórki kontaktują się z białkami ECM. Do integryny, przyłączającej się w cytoplazmie do fibronektyny po stronie zewnętrznej komórki, dołączają się talina, winkulina, białka kapturowe, kalmomodulina i alfa-aktynina. Niekontrolowana fosforylacja na tyrozynie winkuliny, przez kinazy produkowane przez onkogeny, np. „src”, powoduje, że w komórkach transformowanych białka cytoszkieletu aktynowego nie wiążą się z białkami błony. Następstwem tego jest zakłócenie w organizacji połączeń między ECM, a komórką (4).

Istotną cechą komórek nowotworowych tworzących przerzuty, jest także zdolność do swoistego zatrzymywania się w swej wędrówce. Jest to efekt specyficznego oddziaływania między integralnymi białkami (głównie glikoproteinami) błon komórkowych lub oddziaływań białka błon z białkami ECM. Blokada takich białek przez swoiste przeciwciała hamuje zjawisko zatrzymywania się komórek nowotworowych i stwarza nadzieję na ograniczenie tworzenia złośliwych guzów przerzutowych.

### Rola komórek zrzębu w nowotworach

W podścielisku nowotworów obserwuje się procesy odczynowe typu rozplemu fibroblastów, szkliwienia włókien kolagenu oraz gromadzenia się nacieków limfoidalnych i komórek plazmatycznych. Obecność nacieków komórkowych w zrzębie, zwłaszcza w rakach, jest wyrazem tendencji obronnych ze strony gospodarza. Odczyny tkanki łącznej wynikają też z wzajemnego nieprzystosowania się między nowotworem a jego otoczeniem. Odczyny te są rzadziej spotykane w rakach o wysokim stopniu dojrzałości, gdzie jest większa harmonia między elementami nabłonka guza a tkanką łączną okołonowotworową. Np. w raku wysoko zróżnicowanym sutka u ludzi podścielisko jest często zbite i ubogokomórkowe, zaś w raku niskozróżnicowanym przeważa podścielisko wiotkie z obfitym naciekiem komórek. W takim wypadku, oprócz barwienia tkanki łącznej metodą H + E, stosuje się metodę van Giesona, srebrzenia wg Gomoriego, metodą PAS, metodę orceinową wg Weigerta – dla wykrycia włókien sprężystych oraz barwienie błękitem toluidyny, celem oceny dojrzałości zrzębu. To ostatnie barwienie pozwala na wykrycie GAG (glikozaminoglikanów) z grupą karboksylową, zaś błękitem Astra uwidacznia się GAG siarkowe i GAG obojętne.

W rakach, zwłaszcza gruczolu mlekowego, wyróżnia się dwa typy podścieliska:

– o regularnym, falistym przebiegu włókien, na ogół bez cech szkliwienia o delikatnym tylko rozluźnieniu struktury i pogrubieniu włókien; nie obserwuje się tu odczynów komórkowych,

– o zbitym podścielisku, w którym liczba komórek ulega redukcji lub odwrotnie – następuje fibroplazja i rozplem fibroblastów, które tworzą nieregularnie przepłatające się wiązki i mają często liczne figury podziałowe. Towarzyszy temu obecność GAG z grupą karboksylową, co wskazuje na niedojrzałość tkanki łącznej. Występuje też znaczna kumulacja bezpostaciowej substancji ECM (8).

Niekiedy mamy do czynienia z typem mieszanym nowotworu, tj. obok rozplemu fibroblastów występuje rozluźnienie i nieregularne szklwienie włókien kolagenowych, ale podścielisko nie zawiera odczynów komórkowych.

Fibroplazji towarzyszą czasem nacieki komórkowe złożone z limfocytów i komórek plazmatycznych lub samych tylko komórek plazmatycznych, zwłaszcza w raku o niskim stopniu zróżnicowania. Z kolei procesom martwiczym, a zwłaszcza owrzodzeniom w obrębie guza nowotworowego, może towarzyszyć naciek granulocytów obojętnochłonnych, chociaż nie wykazano wyraźnego związku pomiędzy tymi procesami, gdyż z reguły martwica dotyczy obwodu guza, a więc jego strefy najbardziej aktywnej. Naciek komórkowy w podścielisku może być także wynikiem zakażenia nowotworu bakteriami (6, 13).

W reakcjach immunologicznych typu komórkowego, odgrywających ważną rolę w obronie przeciwnowotworowej, zaangażowane są wszystkie komórki, które stanowią skład odczynu zapalnego. Np. napływ eozynofili i monocytów do ogniska nowotworowego oraz uaktywnienie komórek śródbłonna naczyń krwionośnych pobudza TNF alfa. Powstaje wtedy martwica włóknikowata naczyń włosowatych uzależniona od uszkodzenia strukturalnej jednostki histologicznej, jaką jest zespół komórek śródbłonna, ich błony podstawne i odnośne zaplecze łącznotkankowe (7, 17). Podobne zmiany powstają w wyniku reakcji antygen – przeciwciało, zlokalizowanej na wysokości bariery włóscinkowej (śródbłonek – błona podstawna).

### Podsumowanie

Podścielisko łącznotkankowe (zrąb) wpływa modelująco na mięsz nowotworu. Odwrotnie poprzez macierz zewnątrzkomórkową (ECM) i szczeliny koneksynowe nowotwór, oddziałuje na zrąb. Czasem zrąb wykazuje atypię komórkową, a nawet ulega ułożliwieniu. Dlatego też uważa się, że nowotwór jest wynikiem choroby współżycia tkankowego i wyrazem zakłócenia więzi organizmu.

Nacieki komórkowe w zrębie nowotworów złośliwych są wyrazem obrony tkankowej lub/i wtórną odpowiedzią na zmiany wsteczne jak martwica i zwyrodnienie, prawdopodobnie również reakcją na obecność karcinogenu.

Nowotwory można podzielić na dwie grupy, tj. produkujące zrąb (nienabłonkowce złośliwe, czyli mięsaki) i korzystające ze zrębu tkanki miejscowej (nabłonkowce złośliwe, czyli raki).

Guzom anaplastycznym (niskozróżnicowanym) towarzyszy fibroplazja, a więc odmłodzenie tkanki łącznej, natomiast w nowotworach wysokozróżnicowanych podścielisko przejawia większy stopień podobieństwa do dojrzałej tkanki łącznej. Ma to istotny wpływ na wnikanie komórek rakowych w podścielisko, gdyż im bardziej zbity zrąb, tym większa skłonność do naciekania drobnoogniskowego i rozproszonego, podczas gdy rozluźnienie struktury podścieliska sprzyja masywnym naciekom wielogniskowym. Wnikanie komórek nowotworowych w podścielisko jest jednym z kryteriów ich agresywności i może decydować o szybkości i rozległości powstawania przerzutów. Przerzuty nowotworowe decydują bowiem o przyszłym losie pacjenta.

### Piśmiennictwo

1. *Behrs O. H.*: Cancer Res. 70, 1393, 1992.
2. *Ben-Ze'ev A., Robinson G. S., Bucher N. I. R., Farmer S. R.*: Proc. natn. Acad. Sci. USA 83, 2161, 1988.
3. *Chen D., Magnuson V., Hill S., Arnaud C., Steffensen B., Klebe R. J.*: J. Biol. Chem. 267, 2350, 1992.
4. *Clark P., Connolly P., Moores G. R.*: J. Cell Sci. 109, 287, 1992.
5. *Korohoda W., Czyż J.*: Folia histoch. Cytobiol. 32, 113, 1994.
6. *Nowak H. F., Terlikowski S., Sulkowska M., Sulkowski S.*: Onkologia weterynaryjna. Postępy w diagnostyce i terapii. Konf. Olsztyn 163, 1997.
7. *Radzikowski C.*: Nowotwory 45, 184, 1995.
8. *Richardson W.*: Br. J. Cancer. 10, 415, 1966.
9. *Steffen J.*: Nowotwory. Supl. II 44, 17, 1994.
10. *Stetler-Stevenson W. G.*: Am. J. Path. 148, 5, 1996.
11. *Szala S., Radzikowski C.*: Nowotwory 47, 1, 1997.
12. *Terlikowski S., Nowak H. F., Lotocki W.*: Neoplasma 2, 125, 1996.
13. *Tsuda T., Tippens D., Gordon A., Ross R., Gowen A. M.*: Am. J. Path. 126, 51, 1987.
14. *Vassalli P.*: Anns Rev. Immunol. 10, 411, 1992.
15. *Warner A.*: J. Cell Sci. 89, 1, 1988.
16. *Wójcicka-Barłomiejczyk B. I., Wocierowski J.*: Post. biol. Kom. 20, 171, 1993.
17. *Woods A. E., Papadimitriou J. M.*: J. Path. Bact. 123, 165, 1977.

Adres autora: prof. zw. dr hab. Janusz A. Madej, ul. Liskego 4/5, 50-345 Wrocław; e-mail: madej@ozi.ar.wroc.pl

**TRYLAND M., KLEIVANE L., ALFREDSSON A., KJELD M., ARNASON A., STUEN S., GODFROID J.: Infekcja *Brucella* u ssaków morskich w części Północnej Oceanu Atlantyckiego. (Evidence of *Brucella* infection in marine mammals in the North Atlantic Ocean). Vet. Rec. 144, 588-592, 1999 (21)**

Nie jest dokładnie znana rola dzikich gatunków zwierząt jako rezerwuaru *Brucella*. Stąd też w okresie 1987-1996 przebadano testem ELISA 1386 surowic pochodzących od 4 gatunków fok i 3 gatunków wielorybów żyjących w części Północnej Oceanu Atlantyckiego. Surowice reagujące pozytywnie w odczynie ELISA przebadano następnie w odczynie aglutynacji, odczynie aglutynacji zmodyfikowanym EDTA, testem z czerwienią bengalską, odczynie wiązania dopełniacza i w teście anti-complement-ELISA. Przeciwciała dla *Brucella* występowały u 7 z 8 badanych gatunków zwierząt, brak ich było jedynie u *Erignathus barbatus*. Częstotliwość wyników pozytywnych (%) wynosiła u *Cystophora cristata* 35, *Phoca groenlandica* 2, *Ph. hispida* 10, *Balaenoptera acutorostrata* 8, *B. physalus* 11 i *B. borealis* 14. *Brucella* wyosobniono z wątroby i śledziony *B. acutorostrata*.