



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Π. ΣΟΥΚΑΚΟΣ**

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΟΣΤΕΟΣΑΡΚΩΜΑΤΟΣ
ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ ΜΟΛΟΝΕΥ
[ΠΙΚΟ ΣΑΡΚΩΜΑ - MSV-M]**

**ΑΠΟ
ΙΩΑΝΝΗ Γ. ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΟΥ
ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2000



ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000345901



“ Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα . (Ν. 5343/32 άρθρο 202 παράγραφος 2.”



ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΤΡΟΠΗ

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ : Π. ΣΟΥΚΑΚΟΣ : ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

**Α. ΜΠΕΡΗΣ : ΑΝ/ΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

**Θ. ΞΕΝΑΚΗΣ : ΑΝ/ΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**



ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΤΡΟΠΗ

Π. ΣΟΥΚΑΚΟΣ : ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

**Α. ΜΠΕΡΗΣ : ΑΝ/ΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

**Θ. ΞΕΝΑΚΗΣ : ΑΝ/ΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

**Ν. ΑΓΝΑΝΤΗ : ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

Κ. ΜΑΛΙΖΟΣ : ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

**Μ. ΑΡΓΥΡΟΠΟΥΛΟΥ : ΕΠΙΚ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΑΚΤΙΝΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

**ΑΝ. ΓΕΩΡΓΟΥΛΗΣ: ΕΠΙΚ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**



Στον Γιάννη Αγνάντη δεν οφείλω μόνον την παρότρυνση για την συγγραφή της μελέτης μου, αλλά αυτή καθ'εαυτή την όποια επιστημονική μου υπόσταση.

Για τον λόγο αυτό η αφιέρωση της μελέτης μου στο δάσκαλό μου Γιάννη Αγνάντη συνιστά μία ηθική υποχρέωση που οπωσδήποτε δεν εξοφλεί το χρέος μου προς αυτόν.



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το οστεοσάρκωμα όπως γνωρίζουμε είναι το συνηθέστερο πρωτοπαθές κακόηθες νεόπλασμα των οστών, που χαρακτηρίζεται από ταχεία εξέλιξη χορήγησης εκτεταμένων αιματογενών μεταστάσεων και από μικρό ποσοστό επιβίωσης των πασχόντων, ανεξαρτήτως του είδους της εφαρμοζόμενης θεραπευτικής αγωγής.

Το μεγάλο ποσοστό θνησιμότητας των πασχόντων από οστεοσάρκωμα ατόμων, κατά κανόνα εφήβων, και η αποτυχία των μέχρι σήμερα μεθόδων αντιμετώπισης αυτού, αύξησε όχι μόνο το θεωρητικό αλλά και το πρακτικό ενδιαφέρον για το νεόπλασμα αυτό και οδήγησε κατά τα τελευταία έτη πολλούς ερευνητές στην εκ νέου μελέτη του θέματος τόσο από πλευράς παθογένειας, όσον και από πλευράς θεραπείας. Όπως ήταν φυσικό, εκτός των άλλων, η έρευνα εστράφη και προς την πιθανή αιτιολογική σχέση μεταξύ οστεοσαρκώματος και ιών. Τα μέχρι σήμερα στοιχεία που προέκυψαν επιτρέπουν τη διατύπωση μίας τέτοιας υποθέσεως ή τουλάχιστον δικαιολογούν την περαιτέρω έρευνα προς την κατεύθυνση αυτή.

Τα κυριώτερα από τα στοιχεία αυτά είναι τα ακόλουθα:

- α) Η ανεύρεση εντός του σαρκοματώδους ιστού σωματιδίων τα οποία παρουσιάζουν τους μορφολογικούς χαρακτήρες ιών.
- β) Οι μορφολογικές και αντιγονικές αλλοιώσεις οι οποίες προκαλούνται σε καλλιέργειες φυσιολογικών κυττάρων ανθρώπου, κατόπιν προώθησης σε αυτές διηθήματος εκχυλισμάτων ιστού οστεοσαρκώματος.
- γ) Η ανίχνευση αφ' ενός μεν νέων αντιγόνων επί των σαρκοματωδών κυττάρων, αφ' ετέρου δε αντιστοίχων αντισωμάτων στον ορό πασχόντων από οστεοσάρκωμα.
- δ) Η ανάπτυξη σε πειραματόζωα κακοήθων νεοπλασμάτων χαρακτηριζομένων ως οστεοσαρκωμάτων, κατόπιν ενδοστικής έγχυσης ογκογόνων ιών.



Αφού λάβαμε υπ' όψη τα παραπάνω, οδηγηθήκαμε στην εκπόνηση της παρούσας πειραματικής εργασίας σε επίμυες με σκοπό να μελετήσουμε τη μορφολογία των αναπτυσσομένων, κατόπιν ενδοστικής έγχυσεως ιού Moloney, κακοήθων νεοπλασμάτων χαρακτηριζομένων, όπως αναφέρθηκε, ως "οστεοσαρκωμάτων".

Η όλη εργασία διαιρείται σε δύο μέρη. Στο γενικό μέρος κρίναμε σκόπιμο να παραθέσουμε τα ισχύοντα σήμερα σε ότι αφορά, αφ' ενός μεν στα γενικά περί οστεοσαρκωμάτων, αφ' ετέρου δε στις γενικές αρχές των νεοπλασμάτων, ιδίως στους ογκογόνους ιούς. Στο ειδικό μέρος εκτίθενται τα δικά μας πειράματα και ευρήματα. Ακολουθεί η συζήτηση των δικών μας ευρημάτων σε συσχέτισμό με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας και εξάγονται τα τελικά συμπεράσματα.

Στο Σεβαστό Καθηγητή της Ορθοπαιδικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, κ. Παναγιώτη Σουκάκο εκφράζω την ευγνωμοσύνη μου για την έγκριση του θέματος και την παρότρυνσή του να εκπονηθή αυτή η διδακτορική διατριβή. Επίσης, ευχαριστώ πολύ τους Αναπληρωτές Καθηγητές της Ορθοπεδικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ.κ. Θ. Ξενάκη και Α. Μπερή, Μέλη της Τριμελούς Επιτροπής, για το ενδιαφέρον τους στις διάφορες φάσεις της διατριβής μου.

Στη Σεβαστή Καθηγήτρια της Παθ/μικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Νίκη Αγνάντη, με την προτροπή της οποίας έγινε η παρούσα εργασία, εκφράζω την ευγνωμοσύνη και τις άπειρες ευχαριστίες μου για το αμέριστο ενδιαφέρον που επέδειξε κατά την εκπόνησή της. Τέλος ευχαριστώ θερμά τον Συνάδελφο κ. Νικηφόρο Αποστολικά, Δ/ντή Παθ/μικού Εργαστηρίου Περιφερειακού Αντικαρκινικού Νοσοκομείου Αθηνών "Ο Άγιος Σάββας", για τη σημαντική του συμβολή σε όλες τις φάσεις της εργασίας αυτής.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	ΣΕΛΙΣ
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
2. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	10
3. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	68
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	78
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	91
6. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	92
7. ΑΚΤΙΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ	94
8. SUMMARY	100
9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	101



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ



1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΤΟ ΟΣΤΕΟΣΑΡΚΩΜΑ

Το οστεοσάρκωμα είναι η κακοήθης κατηγορία μιας ομάδας νεοπλασμάτων που εμφανίζεται στα οστά και χαρακτηρίζεται από την ικανότητα παραγωγής οστού ή οστεοειδούς ουσίας. Από την ιδιότητα αυτή, της παραγωγής δηλαδή οστεοειδούς, έλαβε και το ονομά του: οστεογενές σάρκωμα (OSTEOGENIC SARCOMA).

Σύμφωνα με την κατάταξη της (WHO) Παγκοσμίου Οργανώσεως Υγείας, η ομάδα των νεοπλασμάτων που παράγει οστίτη ιστό ή οστεοειδές είναι το οστέωμα, το οστεοειδές οστέωμα και το οστεοβλάστωμα, από την πλευρά των καλοήθων και το οστεοσάρκωμα, από την πλευρά των κακοήθων νεοπλασμάτων. Σ'αυτή την κατάταξη της WHO προστέθηκαν αργότερα και οι υποκατηγορίες του οστεοσαρκώματος, όπως είναι το παραοστικό και το περιοστικό οστεοσάρκωμα.

Ωστόσο, αν στηρίξουμε την κατάταξη σε καθαρά ιστολογικά κριτήρια και τα οποία υποδηλώνουν την ικανότητα ή μη παραγωγής οστεοειδούς ουσίας ή οστίτη ιστού από τα νεοπλασματικά κύτταρα, τότε το οστεοσάρκωμα διακρίνεται σε οστεοβλαστικό, χονδροβλαστικό, ινοβλαστικό και τελαγγειεκτασικό. Από την άποψη όμως της κλινικής και βιολογικής συμπεριφοράς αυτή η στενά ιστοπαθολογική κατάταξη δεν προσφέρει αξιόλογη αντιστοιχία. Αν εξαιρέσουμε το τελαγγειεκτασικό οστεοσάρκωμα (που ιστολογικά παρατηρείται σχεδόν πλήρης αδυναμία των νεοπλασματικών κυττάρων για παραγωγή οστεοειδούς), το οποίο σχετίζεται με κακή πρόγνωση, οι άλλοι τρεις τύποι του οστεοσαρκώματος δεν καταδεικνύουν κάποια ιδιαίτερη βιολογική συμπεριφορά, που να τα κάνει να ξεχωρίζουν μεταξύ τους.

Για το λόγο αυτό η "μικτή" κλινικοπαθολογοανατομική κατάταξη, που βασίζεται κυρίως στη θέση προέλευσης του νεοπλάσματος (μυελός-φλοιός-περίοστέο) ή με άλλα λόγια, κλασσικός τύπος οστεοσαρκώματος, παραοστικό οστεοσάρκωμα και



περιστικό οστεοσάρκωμα, πρέπει να θεωρείται η περισσότερο κατάλληλη για κλινική και παθολογοανατομική χρήση.

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να τονίσουμε πως η καθαρά ιστολογική κατάταξη μπορεί να μην προσφέρει αξιόλογες προγνωστικές πληροφορίες, είναι όμως ένας ανεκτίμητης αξίας οδηγός για τον Παθολογοανατόμο, που με βάση αυτή, μπορεί και πρέπει να κάνει τη διαφορική διάγνωση από παρόμοιας ιστολογικής εικόνας κακοήθη και καλοήθη νεοπλασμάτα των χόνδρων ή των οστών (χονδροσάρκωμα, χονδροβλάστωμα, οστεοειδές οστέωμα) ή των μαλακών μορίων (π.χ. ιστιοκύττωμα).

Από άποψη ιστογενετικής προέλευσης, το οστεοσάρκωμα, κρίνοντάς το από την παρουσία των κυτταρικών στοιχείων που το απαρτίζουν, φαίνεται να προέρχεται από τρία διαφορετικά είδη κυττάρων: την οστεοβλάστη, που παράγει οστεοειδές, την χονδροβλάστη, που παράγει χονδρίνη ουσία και την ινοβλάστη, που παράγει κολλαγόνο. Σήμερα όμως θεωρείται πως το οστεοσάρκωμα προέρχεται από ένα πολυδύναμο αρχέγονο κύτταρο με μεγάλη συγγένεια προς την ινοβλάστη, το οποίο ανάλογα με τη διαφοροποίηση του όγκου και των κυττάρων ειδικότερα μεταπίπτει σε οστεοβλάστη, σε χονδροβλάστη ή και ινοβλάστη με τη δυνατότητα παραγωγής των αντιστοίχων ουσιών σε μικρό ή μεγαλύτερο βαθμό.

Από άποψη συχνότητας, το οστεοσάρκωμα είναι ο πιο συχνός κακοήθης όγκος των οστών και συμβαίνει κυρίως σε ηλικία μικρότερη των 20 ετών. Όταν εμφανίζεται σε μέση ή και μεγαλύτερη ηλικία ασθενών, συνήθως η ανάπτυξη του οστεοσαρκώματος συνδυάζεται με προηγούμενη επίδραση ακτινοβολίας ή ως δευτεροπαθής οντότητα σε έδαφος άλλων οστικών αλλοιώσεων, όπως είναι η ινώδης δυσπλασία ή η νόσος του PAGET των οστών. Αυτό σε ότι αφορά τον κλασσικό τύπο οστεοσαρκώματος. Αντίθετα, το παραοστικό οστεοσάρκωμα εμφανίζεται σε μεγαλύτερες ηλικίες των 20 ετών και το περιστικό στην 2η δεκαετία της ζωής. Από τους τρεις αυτούς τύπους ο πιο συχνός είναι η κλασσική μορφή, ενώ πιο σπάνιο



(1-1,5% των κακοήθων οστικών νεοπλασμάτων) είναι το παραοστικό οστεοσάρκωμα. Τέλος, το περιοστικό είναι ένας εξαιρετικά σπάνιος τύπος. Το ποσοστό του τελευταίου δεν είναι αρκετά ακριβές, γιατί μέχρι πριν από λίγα χρόνια (1976) στατιστικά συμπεριλαμβανόταν στην ίδια ομάδα με το παραοστικό (PAROSTEAL) οστεοσάρκωμα.

Από πλευράς εντοπίσεως, το κλασσικό οστεοσάρκωμα απαντάται στις μεταφύσεις των μακρών οστών και ιδιαίτερα στο κάτω άκρο του μηρού και το άνω άκρο της κνήμης. Ή άλλως, εμφανίζεται χαρακτηριστικά στις περί το γόνυ μεταφύσεις. Θεωρητικά μπορεί να εμφανιστεί σε οποιοδήποτε μέρος του οστού και σε οποιοδήποτε οστούν. Ακόμα μπορεί, σπανίως όμως, να παρουσιάσει πολυκεντρική ανάπτυξη (SYNCHRONOUS MULTICENTRIC OSTEOSARCOMAS). Το παραοστικό οστεοσάρκωμα εμφανίζεται στην εγγύς και άπω, οπίσθια, μεταφυσιακή περιοχή του μηρού, στην κνήμη, στο βραχιόνιο ή και σε άλλα οστά. Το περιοστικό οστεοσάρκωμα εμφανίζεται πιο συχνά στην εγγύς μετάφυση ή διάφυση της κνήμης και λιγότερο συχνά στον μηρό ή το βραχιόνιο. Στο 50% των περιπτώσεων ασθενών με οστεοσάρκωμα, παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα αλκαλικής φωσφατάσης στο αίμα. Τα επίπεδα αυτά της αλκαλικής φωσφατάσης κατέρχονται ή εξαφανίζονται μετά τη θεραπευτική χειρουργική αντιμετώπιση του άκρου, αλλά επανέρχονται σε περιπτώσεις υποτροπής ή μετάστασης. Κλινικό χαρακτηριστικό είναι ο πόνος, η θερμότητα και η ευαισθησία της περιοχής.

Ακτινογραφικά παρατηρούνται χαρακτηριστικές εστίες οστεόλυσης και οστεοπλασίας. Μερικές φορές παρατηρείται και επέκταση του νεοπλάσματος στα γύρω μαλακά μόρια. Σαν ιδιαίτερο ακτινολογικό εύρημα αναφέρεται το τρίγωνο του GODMAN. Αυτή η εικόνα προέρχεται από την ανύψωση του περιοστέου, που προκαλεί ο όγκος και από τον αντιδραστικό ὄχηματισμό οστίτη ιστού στα εγγύς και άνω όρια του όγκου. Το τρίγωνο αυτό περιορίζεται μεταξύ φλοιού και περιοστέου. Ωστόσο αυτός ο



σχηματισμός δεν είναι ορατός ιστολογικά και επιπλέον δεν είναι απόλυτα ενδεικτικός του οστεοσαρκώματος. Έτσι μπορεί να παρατηρηθεί και σε άλλα κακοήθη οστικά νεοπλάσματα, σε ταχέως αυξανόμενες οστεολυτικές βλάβες, όπως είναι οι ανευρυσματικές κύστεις ή ακόμα και σε φλεγμονώδεις καταστάσεις των οστών.

Από τις ποικιλίες του κλασσικού οστεοσαρκώματος, το τελαγγειεκτασικό, εμφανίζεται σαν πυκνή λοβιώδης σκίαση καθηλωμένη με φαρδιά βάση στο φλοιό των οστών. Διήθηση του μυελού μπορεί να παρατηρηθεί σε απώτερα στάδια. Τέλος, το περιεστικό οστεοσάρκωμα εμφανίζεται σαν διαύγαση με ακαθόριστα όρια που περιέχει οστεοποιημένες λεπτές ακιδόμορφες σκιάσεις που μοιάζουν με φτερό. Όμως καμιά από τις περιγραφείσες ακτινολογικές εικόνες δε μπορεί να είναι απόλυτα τυπική για τους τύπους αυτούς του οστεοσαρκώματος.

Από την παθολογοανατομική πλευρά, η παρουσία κακοήθους οστεοειδούς ή οστίτη ιστού, που είναι αποτέλεσμα παραγωγής των νεοπλασματικών οστεοβλαστών, αποτελεί και το καθοριστικό ιστολογικό στοιχείο για τη διάγνωση του οστεοσαρκώματος. Βέβαια, η ποσοτική παρουσία του οστεοειδούς ποικίλει ανάλογα με τον τύπο του οστεοσαρκώματος με ακραία περίπτωση εκείνη του τελαγγειεκτασικού τύπου, όπου η παρουσία του είναι μηδαμινή. Από την άλλη πλευρά η "ποιοτική" του συμμετοχή φθάνει μέχρι το σχηματισμό καλά διαμορφωμένων οστεοδοκίδων.

Πέραν όμως της παραγωγής οστικής ουσίας, μπορεί παράλληλα να υπάρξει και παραγωγή κακοήθους χόνδρου ή ακόμα και παραγωγή κολλαγόνου από κακοήθη συνδετικογενή ατρακτοειδή κύτταρα. Συνήθως η παραγωγή αυτών των ιστικών στοιχείων από τα ανάλογα κύτταρα (οστεοβλάστες, χονδροβλάστες, ινοβλάστες) λαμβάνει χώρα σε όλα σχεδόν τα οστεοσαρκώματα κάθε φορά σε άλλη έκταση και ποιότητα. Εν τούτοις, η παρουσία καθυπεροχής ή αποκλειστικότητας σχεδόν ενός εξ' αυτών των στοιχείων, προσδιορίζει και τον ιστολογικό τύπο του οστεοσαρκώματος.



Ετσι το τελευταίο διακρίνεται σε οστεοβλαστικό, ινοβλαστικό και χονδροβλαστικό, ενώ ένας τέταρτης επιθετικότητας τύπος, το τελαγγειεκτασικό οστεοσάρκωμα, χαρακτηρίζεται από την πλήρη αδυναμία των κυττάρων του νεοπλάσματος να παράγουν οστεοειδές.

Όπως ήδη τονίσαμε, σύμφωνα με τη γνώμη των περισσότερων συγγραφέων, μια τέτοια διαίρεση του οστεοσαρκώματος δεν προσφέρει αξιόλογες προγνωστικές πληροφορίες, με εξαίρεση μόνον τον τύπο του τελαγγειεκτασικού οστεοσαρκώματος.

Το ινοβλαστικό στοιχείο του οστεοσαρκώματος συνίσταται από ατρακτοειδή κύτταρα τα οποία παράγουν κολλαγόνο. Τα κύτταρα αυτά είναι αρκετά άτυπα, τοποθετούνται σε δέσμες και παράγουν κολλαγόνο ή σχηματίζουν ακόμη και οστίτη ιστό. Το ινοβλαστικό αυτό στοιχείο του όγκου, όπως και το χονδροβλαστικό, αναπτύσσεται συνήθως στις επιφανειακές περιοχές του οστεοσαρκώματος. Για το λόγο αυτό υπάρχει μεγάλος κίνδυνος για λανθασμένη τυποποίηση του όγκου από τον Παθολογοανατόμο, όταν ληφθούν δείγματα (από τον Ορθοπεδικό) μόνον από τα περιφερικά τμήματα του όγκου.

Το χονδροβλαστικό στοιχείο του οστεοσαρκώματος παρέχει την εικόνα ενός ιστολογικού βαθμού κακοήθειας (GRADE II ή III) χονδροσαρκώματος με ή χωρίς εστιακή ασβεστοποίηση.

Το κακοήθες οστεοειδές ή οστίτης ιστός εμφανίζεται σε αφαλατωμένες τομές σαν ακανόνιστες νησίδες ή δοκίδες ποικίλου πάχους, συνιστάμενες από ομοιογενές ηωσινόφιλο ή ελαφρώςβασεόφιλο υλικό. Μέσα σ' αυτό το υλικό διακρίνονται σε άλλοτε άλλη πυκνότητα, άτυπες οστεοβλάστες με υπερχρωματικούς πυρήνες. Μερικά από τα κύτταρα είναι πολυπύρρηνα. Υπάρχουν επίσης αρκετές μιτώσεις, πολλές από τις οποίες είναι άτυπες. Σε μερικές περιοχές η παραγωγή οστεοειδούς μπορεί να προσλαμβάνει δαντελωτή μορφολογία, ενώ παρατηρούνται μικρές ή μεγαλύτερες περιοχές αποτιάνωσης, οι οποίες φαίνονται με τη χρώση ρουτίνας



αιματοξυλίνης-ηωσίνης ασθενώς κυανές. Μεγαλύτερη παραγωγή οστεοειδούς έχει σαν αποτέλεσμα την ως ένα βαθμό μείωση των κυτταρικών στοιχείων, ώστε ακτινολογικά να δίνεται η εντύπωση "σκληρότητας" λόγω της αυξημένης ακτινοσκίασης. Ο τύπος αυτός αναφέρεται στη βιβλιογραφία και σαν σκληρυντικός τύπος του οστεοσαρκώματος. Ιστολογικά το οστεοειδές οργανώνεται σε οστεοδοκίδες με εκτεταμένη αποτιτάνωση.

Άλλες φορές όμως μπορεί να σχηματίσει μεγάλες συμπαγείς περιοχές. Αυτή η ιστολογική εικόνα του σκληρυντικού οστεοσαρκώματος δημιουργεί τεράστιες δυσκολίες στη διάγνωση, αφ' ενός μεν λόγω της καλής αρχιτεκτονικής της βλάβης και αφ'ετέρου λόγω του ότι οι νεοπλασματικοί οστεοβλάστες στις περιπτώσεις αυτές παρουσιάζουν ελάχιστη ατυπία.

Σε μερικά οστεοσαρκώματα η οστεοπλασία αυτή συμβαίνει σε μικρές περιοχές, ενώ σε άλλα (οστεολυτικές ποικιλίες) σε εκτεταμένες οστεολυτικές περιοχές και πλήρη οστεοπλαστική απουσία και τότε η ιστολογική εικόνα μπορεί να μοιάζει αρκετά με κακόηθες ινώδες ιστιοκύττωμα, οπότε η ιστολογική διάγνωση καθίσταται δύσκολη. Επιπροσθέτως, μερικοί τέτοιοι όγκοι μπορούν να εμφανίζουν καλοήθη γιγαντοκύτταρα οστεοκλαστικού τύπου και αρκετά λεπτοτοιχωματικά διευρυσμένα αιμοφόρα αγγεία. Αυτή ακριβώς η τελευταία εικόνα αντιστοιχεί στον τύπο του τελαγγειεκτασικού οστεοσαρκώματος.

Το οστεοσάρκωμα μπορεί να παρουσιάζει μικρές περιοχές αιμορραγικής διήθησης και νέκρωσης. Το παραοστικό οστεοσάρκωμα αναπτύσσεται χαρακτηριστικά στην οστική επιφάνεια, δηλαδή, στην έξω σπιβάδα του φλοιού. Η βάση του όγκου φαίνεται να είναι περισσότερο αποτιτανωμένη απ' ό,τι η περιφέρεια του. Η χαρακτηριστική ιστολογική εικόνα είναι εκείνη της ανάπτυξης κανονικών δοκίδων πεταλιώδους (LAMELAR) οστού, η επιφάνεια των οποίων διατρέχεται από αποπλατυσμένες ή υπερπλαστικές οστεοβλάστες. Το υπόστρωμα (μεσοδοκιδώδεις



περιοχές) καταλαμβάνεται από τα νεοπλασματικά κύτταρα ποικίλης πυκνότητας. Τα νεοπλασματικά αυτά κύτταρα είναι συνήθως ατρακτοειδή. Μερικές φορές όμως η ατυπία τους δεν είναι τόσο μεγάλη, οπότε τότε δημιουργείται το πρόβλημα διαφορικής διάγνωσης από καλοήθεις νεοπλασίες και ιδιαίτερα από την ινωμάτωση. Αλλά και γενικότερα τα νεοπλασματικά κύτταρα δε δείχνουν μεγάλη ατυπία, ενώ οι μιτώσεις είναι σπανιότατες. Ακόμα και οι νησίδες χονδρικού ιστού, όταν υπάρχουν, δεν παρουσιάζουν αξιόλογη ατυπία, ώστε, αν η θέση του νεοπλασματικού χόνδρου είναι επιφανειακή, το νεόπλασμα να μοιάζει με οστεοχόνδρωμα. Σε λιγότερο ώριμους όγκους, η οστεοπλασία είναι μικρότερη και η ατυπία από την άλλη μεριά μεγαλύτερη. Στις περιπτώσεις αυτές δε δημιουργείται σοβαρό διαφοροδιαγνωστικό πρόβλημα. Τέλος, το περιοστικό οστεοσάρκωμα εμφανίζει χαρακτηριστική μικροσκοπική εικόνα υπό μορφήν υβώδους υπέγερσης, η οποία αποτελείται κυρίως από νεοπλασματικό χονδρικό ιστό. Έτσι, σε μια ιστολογική τομή κάθετη στην επιφάνεια του οστού, θα παρουσιαστεί μία στενή στιβάδα από ατρακτοειδή κύτταρα και κάτω από αυτή κακοήθης χόνδρινος ιστός σε λοβιακή διάταξη και εστιακή αποτιτάνωση.

Το χονδρικό στοιχείο αντιστοιχεί σε GRADE II-III χονδροσάρκωμα. Οι όζοι του κακοήθους χόνδρου παρουσιάζουν επίσης μια περιφερική λωρίδα από κακοήθη ατρακτοειδή κύτταρα αναμεμιγμένα με περιοχές από κακοήθες οστεοειδές στα έξω οριά τους.

Τα όρια μεταξύ νεοπλασματικής μάζας και ανέπαφου φλοιού χαρακτηρίζονται από τη δημιουργία ώριμου δοκιδώδους οστίτη ιστού κάθετα τοποθετημένου στο φλοιό. Μέσα στις δοκίδες μπορούν να βρεθούν οστεοβλάστες, λιπώδης ιστός ή νεοπλασματικά ατρακτοειδή κύτταρα. Ακόμα μπορεί να παρατηρηθεί και σχηματισμός κακοήθους οστεοειδούς.

Πέραν αυτών των ευρέως γνωστών και εν χρήσει απαντωμένων τύπων οστεοσαρκώματος, αναφέρονται το μικροκυτταρικό οστεοσάρκωμα αλλά και το καλά



διαφοροποιημένο ενδοστικό οστεοσάρκωμα, των οποίων όμως η αποδοχή ως ιδιαίτερων οντοτήτων, δεν έγινε ακόμα ευρέως αποδεκτή.

Το ιστολογικό GRADE του οστεοσαρκώματος, το οποίο έχει προταθεί και χρησιμοποιείται από διάφορους ερευνητές, φαίνεται πως δεν ανταποκρίνεται σε μεγάλο βαθμό στη βιολογική συμπεριφορά του όγκου.

Το οστεοσάρκωμα χορηγεί προτίστως αιματογενείς μεταστάσεις κυρίως στους πνεύμονες, στα άλλα οστά, στους νεφρούς ή σε άλλα παρεγχυματώδη όργανα. Η δια της λεμφικής οδού μετάσταση είναι αρκετά σπάνια. Θα πρέπει να τονισθεί πως, πνεύμονικές μικρομεταστάσεις υπάρχουν σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις κατά την ώρα της διάγνωσης.

Η πρόγνωση τού κλασσικού τύπου του οστεοσαρκώματος παραμένει η χειρότερη σε σχέση με τους άλλους όγκους των οστών. Σε μία ανασκόπηση της βιβλιογραφίας 1973 έως 1992 μελετήθηκαν οι προγνωστικοί παράγοντες που επηρεάζουν την επιβίωση των ασθενών με μη μεταστατικό οστεοσάρκωμα των άκρων.

Με βάση προκαθορισμένα κριτήρια επιλέγησαν οκτώ εργασίες για μελέτη και εξαγωγή συμπερασμάτων σε ότι αφορά τους εξής προγνωστικούς παράγοντες:

- Ηλικία
- Φύλο
- Ανατομική θέση όγκου
- Μέγεθος όγκου
- Νέκρωση όγκου

Από τους ανωτέρω παράγοντες διαπιστώθηκε τελικά ότι μόνο η νέκρωση του όγκου η οποία ακολουθεί την προεγχειρητική χημιοθεραπεία έχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την επιβίωση, ιδιαίτερα όταν το ποσοστό νέκρωσης



υπερβαίνει το 90%. Επίσης, προεγχειρητική χημειοθεραπεία έχει καταστήσει πιθανή τη χειρουργική θεραπεία του οστεοσαρκώματος των άκρων με διάσωση του μέλους. Παράγοντες όπως το μέγεθος του όγκου έχουν ασθενή μόνο συσχέτιση (στατιστική σημαντικότητα μόνο στη μονοπαραγοντική ανάλυση).

Η πρόγνωση του παραοστικού οστεοσαρκώματος εμφανίζεται να είναι καλύτερη από εκείνη του κλασσικού τύπου. Όμως, από διάφορες σειρές αυτή η διαφορά δε φαίνεται να είναι και τόσο σαφής. Αυτό πιθανότατα οφείλεται στο γεγονός ότι υπάρχει διαφορετική κλινική και παθολογοανατομική προσέγγιση αυτής της οντότητας. Έτσι, παραοστικά σαρκώματα μεγαλύτερου GRADE τα οποία διηθούν τον μυελό, δε φαίνεται να έχουν καλύτερη πορεία από εκείνη του κλασσικού οστεοσαρκώματος.

Τα χαμηλού GRADE οστεοσαρκώματα όμως φαίνεται να έχουν καλύτερη πρόγνωση έστω και αν υπάρχει διήθηση του μυελού. Η πρόγνωση του περιοστικού οστεοσαρκώματος φαίνεται να είναι παρόμοια με εκείνη του παραοστικού.



ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



2. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΓΕΝΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΩΝ

Νεοπλάσματα θεωρούνται, όπως είναι γνωστό, άσκοπες και διαρκούς αύξησης υπερπλαστικές επεξεργασίες αυτόνομες από τον υπόλοιπο οργανισμό, των οποίων η αιτιολογία παραμένει άγνωστη.

Τέτοιες επεξεργασίες αναπτύσσονται στους ανθρώπους αλλά και σε διάφορα σπονδυλωτά ζώα, έντομα και φυτά. Όπως αναφέρθηκε, η προέλευση της νεοπλασματικής νόσου και τα αίτια της ανάπτυξής της δεν είναι γνωστά. Από πολλών ετών πάρα πολλές θεωρίες έχουν διατυπωθεί για την αιτιολογία των νεοπλασμάτων, μεταξύ δε των πρώτων, αναφέρουμε τη θεωρία του Coehnheim 1875¹.

Ο συγγραφέας αυτός υποστήριξε ότι, τα νεοπλάσματα αναπτύσσονται από εμβρυϊκά κυτταρικά υπολείμματα, τα οποία σε ανύποπτο χρόνο με τη δράση διαφόρων ερεθιστικών παραγόντων υφίστανται νεοπλασματική εξαλλαγή. Η θεωρία αυτή μπορεί ίσως να ερμηνεύσει την ανάπτυξη ορισμένων μόνον νεοπλασμάτων της παιδικής ηλικίας κυρίως, δε μπορεί όμως να αιτιολογήσει την ανάπτυξη νεοπλασματικών επεξεργασιών σε ενήλικες και ως εκ τούτου δε γίνεται αποδεκτή. Σήμερα υποστηρίζεται ότι η ανάπτυξη νεοπλασματικής επεξεργασίας μπορεί να πραγματοποιηθεί με δύο τρόπους:

Κατά τον πρώτο τρόπο, τα νεοπλάσματα αναπτύσσονται από ένα μόνο μητρικό κύτταρο, το οποίο υφίσταται τη νεοπλασματική εξαλλαγή. Κατά το δεύτερο τρόπο, στη γένεση του νεοπλάσματος μετέχουν περισσότερα από ένα κύτταρα, που βρίσκονται σε διαφορετικές θέσεις ιστών ή οργάνων που ονομάζονται ογκοπλαστικές.

Αντιπροσωπευτικό παράδειγμα της πρώτης θεωρίας είναι οι μονοκλωνικές αιμοσφαιρινοπάθειες, όπως το πλάσματοκυτταρικό μυέλωμα, και ίσως οι νεοπλασίες του λεμφαδενικού και αιμοποιητικού ιστού.



Η δεύτερη θεωρία βασίζεται στη συχνότατη παρατηρούμενη τάση ανάπτυξης πολλαπλών νεοπλασιών σε περιορισμένη περιοχή ιστών καθώς και στην ανάπτυξη υποτροπιάζόντων νεοπλασμάτων, πλησίον της πρωτοπαθούς εστίας που αφαιρέθηκε.

Ως παραδείγματα που ενισχύουν την παραπάνω θεωρία αναφέρονται:

1. Η ανάπτυξη νεοπλασμάτων από μεταβατικό επιθήλιο του ουροποιητικού συστήματος της αποχετευτικής μοίρας του, από την πύελο μέχρι την ουροδόχο κύστη. Στην προκειμένη περίπτωση δε μπορεί βέβαια να αποκλεισθεί και το ενδεχόμενο μετεμφύτευσης.
2. Η πολυποδίαση του παχέος εντέρου καθώς και πολλές φορές η παρατηρούμενη ανάπτυξη πολλών νεοπλασματικών εστιών σε έδαφος ελκώδους κολίτιδος.
3. Η πολλαπλή ανάπτυξη μαλιγγιακών και βασικοκυτταρικών καρκινωμάτων σε δέρμα εκτεθειμένο στην ηλιακή ακτινοβολία.
4. Τα πολλαπλά ινομώματα της μήτρας.
5. Η συχνή ανάπτυξη πολλαπλών ινοαδενωμάτων στο μαστό.
6. Η πολυεστιακή μορφή πρωτοπαθούς ηπατοκυτταρικού καρκινώματος, που αναπτύχθηκε σε έδαφος κίρρωσεως.
7. Η σύγχρονη ανάπτυξη νεοπλασμάτων σε επιθήλιο, με την ίδια εμβρυολογική καταγωγή, όπως της χοληδόχου κύστης, των χοληφόρων πόρων και του παγκρεατικού πόρου. Το ίδιο μπορεί να υποστηριχθεί και για τη σύγχρονη ανάπτυξη νεοπλασμάτων σε επιθήλια που προέρχονται από την ομάδα αιδοίου-κόλπου-πρωκτού.

Με βάση τα παραπάνω, εάν δεχθούμε την ύπαρξη της ογκοπλαστικής περιοχής, πρέπει να εξετάσουμε τους παράγοντες οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για τη δημιουργία της. Βέβαια, είναι γνωστό ότι πολλές νεοπλασίες αναπτύσσονται αυτόματα ως αποτέλεσμα αγνώστου αιτίου. Εν τούτοις, έχει αποδειχθεί ότι μερικές απ' αυτές



εκδηλώνονται μετά από επιδράσεις γνωστών αιτιολογικών παραγόντων. Αυτοί μπορούν να καταταγούν ως ακολούθως:

A. Ενδογενείς

1. Η κληρονομικότητα
2. Η φυλή και η γεωγραφική κατανομή
3. Η ηλικία
4. Το φύλο και οι ορμόνες
5. Η ανοσοβιολογική κατάσταση

B. Εξωγενείς

1. Φυσικοί
2. Χημικοί
3. Βιολογικοί και κυρίως οι ιοί



ΕΞΩΓΕΝΕΙΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

1. ΦΥΣΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Η εμφύτευση ικανού αριθμού αδρανών υλικών (κομμάτια πλαστικής ύλης γυάλινων σφαιριδίων κ.α.) σε διάφορα μέρη του σώματος πειραματοζώων προκαλεί την ανάπτυξη κακοήθων νεοπλασμάτων και ειδικότερα σαρκωμάτων².

Η νεοπλασματική ανάπτυξη είναι συνάρτηση του μεγέθους και σχήματος των υλικών αυτών και ανεξάρτητη της χημικής σύνθεσης αυτών. Στον άνθρωπο η εμφύτευση αδρανών υλικών δεν αποτελεί σημαντικό νεοπλασματικό παράγοντα, αν λάβουμε υπόψη το μεγάλο αριθμό ατόμων τα οποία φέρουν προσθετικά υλικά και την παρατηρούμενη μικρή συχνότητα ανάπτυξης νεοπλασμάτων γύρω από τα υλικά αυτά. Το γεγονός αυτό αποδίδεται στο μεγάλο λανθάνοντα χρόνο που απαιτείται για την ανάπτυξη της νεοπλασματικής επεξεργασίας. Φυσικούς παράγοντες στενά συνδεδεμένους με τη νεοπλασματική ανάπτυξη αποτελούν, όπως είναι γνωστό, η ραδιενεργός και υπεριώδης ακτινοβολία καθώς και μερικά χρόνια νοσήματα.

1.1 Ραδιενεργός ακτινοβολία

Από την αρχή του αιώνα είχε διαπιστωθεί η άμεση σχέση που υπάρχει ανάμεσα στη ραδιενεργό ακτινοβολία και τα νεοπλασμάτα. Σαν κλασσικό παράδειγμα αναφέρεται η ανάπτυξη δερματικών καρκινωμάτων πάνω σε χώρους ακτινοβολίας αλλά και ινοσαρκωμάτων³. Εξ' άλλου, με επίδραση ραδιενεργού ακτινοβολίας σε πειραματόζωα, αναπτύχθηκαν μετά από μακρό χρόνο κακοήθη νεοπλάσματα του δέρματος, υποδορίου ιστού, οστικού ιστού, λεμφικού ιστού κ.α⁴. Ειδικότερα,



ανάπτυξη οστεοσαρκώματος παρατηρήθηκε σε άτομα τα οποία υπέστησαν ακτινοβολία για τη θεραπεία καλοήθων νεοπλασμάτων, όπως οι γιγαντοκυτταρικοί όγκοι ή σε φλεγμονώδεις αλλοιώσεις, όπως η φυματίωση.

Η ενσωμάτωση επίσης ραδιενεργών ουσιών μέσα στα οστά (εσωτερική ακτινοβολία) ακολουθείται πολλές φορές από ανάπτυξη οστεοσαρκώματος. Όπως είναι γνωστό, αρκετά ραδιενεργά στοιχεία όπως, το ράδιο, μεσοθόριο, και πρόστιο, συμπεριφερόμενα όπως το ασβέστιο, εναποτίθενται στο σκελετό, όπου με συνεχή ακτινοβολία προκαλούν την ανάπτυξη οστεοσαρκώματος. Έτσι ερμηνεύεται και η ανάπτυξη οστεοσαρκωμάτων σε εργάτες βιομηχανίας ωρολογίων το 1928, οι οποίοι ασχολούνταν με τη βαφή των δεικτών των ωρολογίων με φθορίζουσα ουσία από ράδιο και μεσοθόριο⁵. Η συνήθεια της μείξης των ψυκτρών, με τις οποίες γινόταν η βαφή των δεικτών των ωρολογίων, είχε σαν αποτέλεσμα την κατάποση αρκετής ποσότητας ραδιενεργών στοιχείων και την εναπόθεσή τους στο σκελετό των εργατών. Αυτοί οι τελευταίοι ανέπτυξαν οστεοσαρκώματα μετά από παρέλευση 1-5 ετών. Κατά το πρόσφατο παρελθόν τεράστιο ζήτημα δημιουργήθηκε παγκόσμια με το ραδιενεργό πρόστιο SR90, το οποίο ελευθερώνεται στην ατμόσφαιρα από τους διάφορους τύπους πυρηνικών δοκιμών. Το ραδιενεργό αυτό στοιχείο, αφού προσληφθεί από τη χλωρίδα, εισάγεται τελικά στον ανθρώπινο οργανισμό με το γάλα των αγελάδων. Πιθανώτατα όμως το ραδιενεργό αυτό στοιχείο καταστρέφεται ταχύτερα απ' ό,τι αρχικά πιστευόταν.

Η κατά την τελευταία τριακονταετία αύξηση της συχνότητας των περιστατικών λευχαιμίας αποδίδεται στην επίδραση της ραδιενεργού ακτινοβολίας στο μυελό των οστών. Κλασικό και συγχρόνως τραγικό παράδειγμα αποτελεί η αυξημένη συχνότητα ανάπτυξης λευχαιμίας σε επιζώντα άτομα του πυρηνικού βομβαρδισμού των πόλεων Nagasaki και Hirosima⁶. Όχι σπάνια εξ' άλλου παρατηρήθηκε και



ανάπτυξη λευχαιμίας σε άτομα που πάσχουν από αγκυλωτική σπονδυλοαρθρίτιδα, μετά από εφαρμογή ακτινοθεραπείας⁷. Αυξημένη επίσης συχνότητα ανάπτυξης λευχαιμίας αναφέρεται σε παιδιά, των οποίων η μητέρα υπέστη ακτινοβολία κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης για τη μέτρηση της διαμέτρου της πυέλου^{8, 9, 10, 11}. Στις περισσότερες από τις παραπάνω περιπτώσεις η αναπτυχθείσα λευχαιμία είναι οξεία, ο δε χρόνος από την ακτινοβολία μέχρι την εμφάνισή της ποικίλλει από 2 έως 8 έτη. Τελικά, η ραδιενεργός ακτινοβολία είναι δυνατόν να προκαλέσει την ανάπτυξη κακοήθων νεοπλασμάτων σε διάφορα όργανα όπως, ο θυρεοειδής αδένας¹², οι πνεύμονες (εργάτες μεταλλείων ουρανίου)¹³ και το ήπαρ (ανάπτυξη αγγειοσαρκώματος μετά από αγγειογραφία με διοξείδιο του θορίου)¹⁴.

Ιδιαίτερα τονίζεται ότι, τα προκαλούμενα από τη ραδιενεργό ακτινοβολία νεοπλάσματα καθόλου δε διαφέρουν κλινικά ή ιστολογικά από αυτά που προκαλούνται από άλλες αιτίες ή απο αυτά που αυτομάτως αναπτύσσονται. Οι υπεύθυνοι παθογενετικοί μηχανισμοί, με τους οποίους επιτελείται η μετά από ραδιενεργό ακτινοβολία νεοπλασματική εξαλλαγή των κυττάρων, δεν είναι γνωστοί. Κατά καιρούς έχουν ενοχοποιηθεί οι επερχόμενες με την ακτινοβολία αλλοιώσεις του DNA των γονιδίων, ακόμη δε και η ενεργοποίηση προϋπάρχοντος ογκογόνου ιού.

1.2 Υπεριώδης ηλιακή ακτινοβολία

Άτομα ανοικτού κυρίως χρώματος, εκτεθειμένα στην ηλιακή ακτινοβολία, αναπτύσσουν με την πάροδο του χρόνου διάφορα δερματικά νεοπλάσματα, όπως κερατωσικά θηλώματα, μαλπιγγιακά ή βασικοκυτταρικά καρκινώματα, ακτινική κεράτωση κ.α.. Θεωρείται επίσης πιθανό ότι η ηλιακή ακτινοβολία αποτελεί προδιαθεσικό παράγοντα για την ανάπτυξη κακοήθους μελανώματος.



1.3 Θερμική ακτινοβολία

Η επίδραση της θερμικής ακτινοβολίας σαν παράγοντα που προκαλεί την ανάπτυξη νεοπλασμάτων αμφισβητείται. Πιθανώτατα αυτή προάγει την ανάπτυξη νεοπλασμάτων σε έδαφος που υπέστη την επίδραση γνωστών καρκινογενετικών παραγόντων, όπως, της υπεριώδους ακτινοβολίας, πίσσας ή προϊόντων καύσης καπνού ή άνθρακος. Η ανάπτυξη καρκινώματος στα χείλη ατόμων που χρησιμοποιούν καπνοσύριγγα, καθώς και η ανάπτυξη καρκινωμάτων του δέρματος της κοιλιάς σε άτομα που φέρουν στο υπογάστριο καλάθι γεμάτο καιόμενο άνθρακα, (Kangri basket carriers)^{15, 16} ενισχύει την άποψη αυτή.

1.4 Χρόνια νοσήματα

Η άποψη που διατυπώθηκε από τον Virchow, ότι η νεοπλασματική επεξεργασία είναι το αποτέλεσμα της παρατεταμένης επίδρασης στους ιστούς χρόνιων ερεθισμάτων, δεν είναι σήμερα παραδεκτή, γιατί ικανός αριθμός χρόνιων νοσημάτων είναι δυνατόν να αποτελέσει το έδαφος πάνω στο οποίο θα αναπτυχθεί νεοπλασματική επεξεργασία. Τα χρόνια αυτά νοσήματα αποτελούν είτε φλεγμονώδεις επεξεργασίες των καλυπτικών επιθηλίων, είτε μεταβολικές ή στερητικές νόσους.

1.5 Χρόνιες φλεγμονώδεις επεξεργασίες των καλυπτικών επιθηλίων



Στην κατηγορία αυτή υπάγονται:

- α) Τα χρόνια έλκη των κισσών της κνήμης
- β) Τα συρίγγια της χρόνιας οστεομυελίτιδας
- γ) Δερματικές ουλές από παλιά εγκαύματα

Στις περιστάσεις αυτές είναι δυνατόν να αναπτυχθούν επιδερμογενή καρκινώματα.

δ) Γαστρικό έλκος. Αυτό είναι δυνατόν να αποτελέσει το έδαφος ανάπτυξης καρκινώματος του στομάχου. Το ποσοστό κακοήθους εξαλλαγής προϋπάρχοντος έλκους στομάχου ποικίλλει στις διάφορες στατιστικές από 4-6%. Αντίθετα, τα χρόνια έλκη του 12/δακτύλου ποτέ δεν υφίστανται καρκινωμάτωση εξαλλαγή.

Ισως γιατί ο βλεννογόμος του 12/δακτύλου παρουσιάζει αυξημένη και μυστηριώδη αντίσταση στην καρκινωμάτωση επεξεργασία.

ε) Ελκώδης κολίτιδα¹⁷. Σε περιπτώσεις ελκώδους κολίτιδας το ποσοστό ανάπτυξης καρκινώματος ανέρχεται περίπου σε 4% την πρώτη 10ετία. Το ποσοστό αυτό ανέρχεται σημαντικά στο 30%, εάν η νόσος διαρκεί περισσότερο από 12 έτη, αυξάνεται δε ακόμα περισσότερο στις περιπτώσεις κατά τις οποίες η νόσος προσβάλλει ολόκληρο το παχύ έντερο και τα συμπτώματα έρχονται πριν την ηλικία των 25 ετών.

στ) Η χολολιθίαση. Η ανάπτυξη καρκινώματος της χοληδόχου σε χολολιθίαση κύστης αποτελεί μάλλον σπάνια επιπλοκή της νόσου αυτής. Ομως, το καρκίνωμα της χοληδόχου κύστης συνοδεύεται από την παρουσία χολόλιθων σε ποσοστό που ανέρχεται στο 75% των περιπτώσεων¹⁸.



1.7 Μεταβολικές ή στερεητικές νόσοι

α) Η κίρρωση του ήπατος

Το πρωτοπαθές καρκίνωμα του ήπατος σε ποσοστό που ανέρχεται στο 90% των περιπτώσεων αναπτύσσεται σε έδαφος κίρρωσης. Για το χολαγγειακού τύπου πρωτοπαθές καρκίνωμα του ήπατος το ποσοστό αυτό κατέρχεται σε 25% των Περιπτώσεων¹⁹.

β) Η βρογχοκήλη εξ ανεπαρκίας ιωδίου. Η ανάπτυξις καρκινώματος του θυροειδούς επί εδάφους βρογχοκήλης αποτελεί σπάνιαν επιπλέον της νόσου. Η αντίληψη που επικρατεί σήμερα είναι ότι δεν υπάρχει σχέση μεταξύ βρογχοκήλης και καρκίνου του θυροειδούς αδένος²⁰

γ) Η νόσος του Paget των οστών

Όπως είναι γνωστό, σε έδαφος νόσου του Paget των οστών όχι σπάνια παρατηρείται ανάπτυξη ινοσαρκώματος, οστεοσαρκώματος, ή και γιγαντοκυτταρικού όγκου.

δ) Χρόνιο ιδιοπαθές λεμφοίδημα²¹.

Η νόσος αυτή μερικές φορές αποτελεί το έδαφος ανάπτυξης αγγειοσαρκωμάτων.



2. ΧΗΜΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Το καρκίνωμα του οσχέου των καπνοδοχοκαθαριστών του Λονδίνου, που χαρακτηρίστηκε από τον Pott (1775)²² σαν επαγγελματική νόσος, αποτέλεσε την πρώτη υπόνοια της τυχόν υφιστάμενης σχέσης μεταξύ μερικών χημικών ουσιών και νεοπλασματικής νόσου.

Έκτοτε πλήθος ερευνητών ασχολήθηκε με σκοπό την ανακάλυψη και άλλων επαγγελματικών νεοπλασματικών νόσων. Έτσι, σήμερα είναι γνωστό το καρκίνωμα της ουροδόχου κύστης των εργατών της βιομηχανίας συνθετικών χρωμάτων²³, το καρκίνωμα των εργατών που χρησιμοποιούν ενώσεις του αρσενικού²⁴, το καρκίνωμα των πνευμόνων των εργατών μεταλλείων χρωμίου-νικελίου και ασβεστίου, καθώς και των καπνιστών, το αδενοκαρκίνωμα των παραρρινίων κόλπων των εργατών της βιομηχανίας ξύλου κ.α.²⁵.

Το 1914 από δύο Ιάπωνες ερευνητές του Yamagiwa και Ichitawa έγινε η πρώτη πειραματική απόδειξη της καρκινογόνου δράσης της πίσσας του άνθρακος. Οι εν λόγω ερευνητές προκάλεσαν σε πειραματόζωα την ανάπτυξη δερματικού καρκινώματος με συνεχή τοπική εναπόθεση πίσσας.

Μετά το επιτυχές αυτό πείραμα καρκινογένεσης το ενδιαφέρον των ερευνητών στράφηκε προς την προσπάθεια απομόνωσης της κυρίως καρκινογόνου ουσίας, που περιέχεται μέσα στην πίσσα. Έτσι, με απόσταξη αυτής σε υψηλές θερμοκρασίες ελήφθησαν κλάσματα που έμοιαζαν με εκείνα του πολυκυκλικού-υδρογονάνθρακα 1:2 βενζανθρακένιου. Η ουσία αυτή είναι ασθενώς καρκινογόνος. Συγγενείς όμως προς αυτήν ενώσεις, όπως είναι το 1:2:5:6 διβενζανθρακένιου αποδείχθηκαν πειραματικά πολύ ισχυρές καρκινογόνες ουσίες. Έκτοτε, πάρα πολλές ουσίες²⁶ απομονώθηκαν σε



καθαρή μορφή, που ανήκουν γενικά στην ομάδα των αρωματικών πολυκυκλικών υδρογονανθράκων, όπως το μεθυλχολανθρένιο (που προσομοιάζει χημικά με τα χολικά άλατα) και το ισχυρότερο όλων το 3: βενζοπυρένιο.

Χημικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν παλαιότερα στη βιομηχανία κατασκευής συνθετικών χρωμάτων και που ανήκουν στην ομάδα των αρωματικών αμινών, αποδείχθηκαν επίσης ισχυρά καρκινογόνα²⁷. Από αυτές οι σημαντικότερες είναι η α-ναφθυλαμίνη, η β-ναφθυλαμίνη και η βενζιδίνη. Οι παραπάνω ουσίες χορηγούμενες με την τροφή σε πειραματόζωα προκαλούν την ανάπτυξη καρκινώματος της ουροδόχου κύστης. Αντίθετα, η επίδραση αυτών κατ' ευθείαν στο βλεννογόνο της ουροδόχου κύστης των ίδιων πειραματόζωων, δε συνοδεύεται από ανάπτυξη νεοπλασματος.

Από τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι, την κυρίως καρκινογόνο ουσία αποτελεί ενδιάμεσο προϊόν του μεταβολισμού των χημικών τούτων ενώσεων και ειδικότερα η 2 αμινο-1- ναφθόλη. Η τελευταία αυτή παράγεται στο ήπαρ, όπου, αφού αντιδράσει με το γλυκουρονικό οξύ εξουδετερώνεται και παράγεται έτσι η 2-αμινο-1-ναφθυλ-γλυκουρονίδη, η οποία στη συνέχεια αποβάλλεται με τα ούρα. Ατυχώς όμως ο βλεννογόνος της ουροδόχου κύστης του ανθρώπου και μερικών ζώων, όπως των σκύλων, εκκρίνουν το ένζυμο β-γλυκουρονιδάση, το οποίο προκαλώντας τη διάσπαση της 2-αμινο-1-ναφθυλ-γλυκουρονίδης, απελευθερώνει αμιγή την καρκινογόνο ουσία. Η σακχαρολακτόζη εμποδίζει την ενέργεια της β-γλυκουρονιδάσης και κατά συνέπεια την καρκινογόνο δράση της β-αμινο-1-ναφθόλης.

Το παραπάνω αποτελεί αντιπροσωπευτικό παράδειγμα απομακρυσμένης καρκινογένεσης (Remote Carcinogenesis). Με τον όρο αυτό χαρακτηρίζεται η καρκινωμάτωσης ανάπτυξη η οποία λαμβάνει χώρα σε περιοχή του οργανισμού που βρίσκεται μακριά από εκείνη της εισόδου της καρκινογόνου ουσίας.



Άλλη καρκινογόνος ουσία που ανήκει στην ομάδα των αρωματικών αμινών είναι η 2-ακετυλαμινοφλουορένη. Αυτή, όταν χορηγείται με την τροφή σε πειραματόζωα προκαλεί την ανάπτυξη νεοπλασμάτων σε διάφορα όργανα, όπως είναι το ήπαρ, οι πνεύμονες, η ουροδόχος κύστη, το έντερο, οι μαστοί και πολύ παράδοξα, οι έξω ακουστικοί πόροι. Πιθανώτατα στην περίπτωση αυτή η κυρίως καρκινογόνος ουσία, που δεν έχει καθορισθεί ακόμα, αποτελεί ενδιάμεσο προϊόν του μεταβολισμού της 2-ακετυλαμινοφλουορένης. Η ουσία αυτή βεβαίως αναπτύσσει την καρκινογόνο της δράση στις διάφορες οδούς απέκκρισής της. Η έγκαιρη διαπίστωση της ισχυρής καρκινογόνου δράσης της 2-ακετυλαμινοφλουορένης²⁸ υπήρξε ευτυχές γεγονός, αν ληφθεί υπόψη ότι αυτή επρόκειτο να χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή εντομοκτόνων.

Τρίτη ομάδα χημικών καρκινογόνων ουσιών αποτελούν οι χρωστικές του αζώτου 80 (A20-Dyes)²⁹, κυριώτερος αντιπρόσωπος των οποίων είναι το κίτρινο του βουτύρου (4-διμεθυλαμινοαζοβενζένιο). Η ουσία αυτή πειραματικώς χορηγούμενη με την τροφή προκαλεί την ανάπτυξη πρωτοπαθών νεοπλασμάτων του ήπατος, χωρίς να προηγηθεί νέκρωση ή κίρρωση του ηπατικού παρεγχύματος. Η νεοπλασματική δράση της εν λόγω ουσίας καθίσταται ισχυρότερη, εάν η διαίτα των πειραματοζώων είναι φτωχή σε ριβοφλαβίνη. Στον άνθρωπο αμφισβητείται η νεοπλασματική δράση του κιτρίνου του βουτύρου, αν και έχει χρησιμοποιηθεί στο εμπόριο σαν χρωστική διαφόρων τροφών και δερμάτων.

Εκτός από τις παραπάνω χημικές ουσίες, και φυσικές³⁰ ουσίες έχουν επίσης αποδειχθεί καρκινογόνες, προς απογοήτευση των ένθερμων υποστηρικτών της άποψης ότι, η επιστροφή του ανθρώπου στο φυσικό τρόπο ζωής θα προκαλέσει εξάλειψη της νεοπλασματικής νόσου. Οι σημαντικότερες φυσικές συναντώμενες καρκινογόνες ουσίες είναι: Η αφλατοξίνη και η κυσασίνη. Η αφλατοξίνη που



αποτελεί την κυρίως τοξική ουσία του παρασίτου *Aspergillus Flavus*, με το οποίο πολλές φορές μολύνονται διάφορες φυσικές τροφές του ανθρώπου, αποδείχθηκε πειραματικά ισχυρότατη καρκινογόνος ουσία του ήπατος³¹.

Η υψηλή συχνότητα ανάπτυξης καρκινώματος του ήπατος των κατοίκων της Αφρικής είναι δυνατόν να αποδοθεί κυρίως στην καρκινογόνο δράση της ουσίας αυτής και λιγότερο στην κακή διατροφή τους. Η κυσασίνη αποτελεί γλυκοσίδη του φυτού *Cycos Circinalis*, που φύεται στην Απω Ανατολή. Η ουσία αυτή πειραματικά χορηγούμενη προκαλεί την ανάπτυξη ποικίλων νεοπλασμάτων με συχνότερο το νεόπλασμα του ήπατος. Η καρκινογόνος δράση τόσο της αφλατοξίνης όσο και της κυσασίνης αποδίδεται στις προκαλούμενες διαταραχές του DNA. Την ίδια δράση παρουσιάζει και η καρκινογόνος ουσία που ονομάζεται νιτροζαμίνη³². Η χημική σύνθεση της ουσίας αυτής είναι ανάλογη με εκείνη των ενδιάμεσων προϊόντων μεταβολισμού της κυσασίνης. Οι χημικές καρκινογόνες ουσίες βάσει του τρόπου δράσης τους κατατάσσονται γενικά σε τρεις κατηγορίες:

α. Καρκινογόνες ουσίες άμεσης δράσης.

Αυτές, αφού ενωθούν με μερικά συστατικά των κυττάρων, προκαλούν μοριακές αλλοιώσεις με αποτέλεσμα τη νεοπλασματική εξαλλαγή του κυττάρου.

β. Προκαρκινογόνες ουσίες

Αυτές καθίστανται καρκινογόνες μετά από μεταβολική μετατροπή, που επέρχεται συνήθως με τους οξειδωτικούς μηχανισμούς του οργανισμού. Το γεγονός ότι μερικές χημικές ουσίες εκδηλώνουν την καρκινογόνο αυτή δράση μόνο σε ορισμένα όργανα-στόχους υποδηλώνει ότι τα όργανα αυτά διαθέτουν τα απαραίτητα



εκείνα ένζυμα για τη μετατροπή των ουσιών αυτών σε καρκινογόνες. Σε σπάνιες περιπτώσεις η ενεργοποίηση των εν λόγω ουσιών επιτελείται με μικροοργανισμούς όπως π.χ. της μικροβιακής χλωρίδος του εντέρου.

γ. Ουσίες που προάγουν την καρκινογόνο δράση των παραπάνω δύο κατηγοριών.

Αυτές, όπως το κρωτονέλαιο και οι φαινόλες, απλά επιταχύνουν τη νεοπλασματική ανάπτυξη μετά από δράση άμεσων καρκινογόνων ή προκαρκινογόνων ουσιών.

Μηχανισμοί δράσης των χημικών καρκινογόνων ουσιών.

Οι μηχανισμοί δράσης των χημικών καρκινογόνων ουσιών στο κύτταρο για την εκδήλωση της νεοπλασματικής εξαλλαγής δεν είναι ακριβώς γνωστοί. Για το σκοπό αυτό διατυπώθηκαν διάφορες θεωρίες. Σύμφωνα με την πρώτη άποψη η νεοπλασματική εξαλλαγή των κυττάρων θεωρείται σαν αποτέλεσμα της επερχόμενης μετάλλαξης αυτών, εξαιτίας της σύνδεσης των ουσιών αυτών με εκλεκτικές περιοχές DNA του πυρήνα. Σύμφωνα με τη δεύτερη άποψη, οι καρκινογόνες ουσίες συνδεόμενες με RNA των κυττάρων προκαλούν την πρόσκαιρη αλλοίωσή τους. Η στη συνέχεια μετατροπή του αλλοιωμένου RNA σε πυρηνικό DNA με το ένζυμο αντίστροφη τρανσκριπτάση καθιστά την αλλοίωση μόνιμη και κληρονομούμενη, με αποτέλεσμα τη νεοπλασματική εξαλλαγή των κυττάρων. Κατά την τρίτη άποψη, οι καρκινογόνες ουσίες προκαλούν αλλοίωση του αγγελιοφόρου ή μεταφερόμενου ριβονουκλεϊνικού οξέος με αποτέλεσμα το σχηματισμό αλλοιωμένων πρωτεϊνών ή ακόμη την αλλοίωση προϋπαρχόντων φυσιολογικών τέτοιων πρωτεϊνών.

Οι αλλοιωμένες, με τον ένα ή τον άλλο τρόπο αυτές πρωτεΐνες, στην περίπτωση κατά την οποία αφορούν σε κυτταρικά ένζυμα, όπως η πολυμεράση του DNA, είναι δυνατόν να προκαλέσουν ελαττωματικό αναδιπλασιασμό του DNA κατά τη φάση του



πολλαπλασιασμού του κυττάρου και τη νεοπλασματική εξαλλαγή των θυγατρικών κυττάρων. Εξ' άλλου, εάν η αλλοίωση αφορά σε πρωτεΐνη υπεύθυνη για τον έλεγχο των ρυθμιστικών γονιδίων του κυττάρου, είναι δυνατόν να επέλθουν σταθερά αναπαραγόμενες επιγενετικές αλλοιώσεις, με αποτέλεσμα τη νεοπλασματική εξαλλαγή αυτών.



3. ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Οι ογκογόνοι ιοί, όπως αποδεικνύεται από πειράματα που έγιναν σε ζώα, αποτελούν το σημαντικότερο βιολογικό αιτιολογικό παράγοντα ανάπτυξης των νεοπλασμάτων.

Οι πειραματικές μελέτες με διάφορους ιούς επιχειρούνται και κατευθύνονται από τους ερευνητές για την εκπλήρωση τριών κυρίως αντικειμενικών σκοπών.

- α) Την ανακάλυψη ή αναγνώριση νέων ιών, που παρουσιάζουν ογκογόνους χαρακτήρες.
- β) Την ανάλυση και διερεύνηση των ενδοκυτταρικών εξεργασιών, που είναι υπεύθυνες για την περαιτέρω ανάπτυξη της νεοπλασματικής νόσου και
- γ) Την επίδραση διαφόρων παραγόντων, όπως φαρμάκων, ορμονών, ακτινοβολίας, στην ανάπτυξη και πορεία των ιογενών νεοπλασμάτων, ανεξάρτητα από τις εξεργασίες που τα προκάλεσαν.

Ιστορικά μπορεί να διακρίνει κάποιος δύο φάσεις ερευνών σαφώς διαχωριζόμενες μεταξύ τους μέχρι τη χρονική περίοδο του 2ου Παγκοσμίου Πολέμου. Η πρώτη φάση αρχίζει το 1908 όταν οι Ellerman και Bang³³ πέτυχαν τη μεταβίβαση λευχαιμίας σε πτηνά με παράγοντα ελεύθερων κυτταρικών στοιχείων. Στο γεγονός αυτό δεν αποδόθηκε η πρέπουσα σημασία μέχρι που το 1911³⁴ από τον Peyton Rous επιτεύχθηκε μεταμόσχευση σαρκώματος σε κατοικίδια πτηνά με παράγοντα σαφώς διαχωριζόμενο από τα σαρκωματούδη κύτταρα. Έκτοτε μεσολάβησε ευρεία αδρανής περίοδος μέχρι την ανακοίνωση από τον R.Shope το 1933³⁵ του πρώτου παραδείγματος επιτυχούς, ελευθέρως κυττάρων, μεταμόσχευσης νεοπλασματος σε κουνέλια. Το νεόπλασμα αυτό είναι γνωστό σαν θήλωμα κονίκλου του Shope.

Αμέσως μετά, από τον Bittner (1936), διατυπώθηκε η άποψη ότι τα νεοπλάσματα των μαζικών αδένων των επίμυων αναπτύσσονται με τη συνέργεια



τριών αιτιολογικών παραγόντων (α) του γενετικού, (β) του ορμονικού και (γ) του παράγοντος που βρίσκεται μέσα στο γάλα των ζώων και παρουσιάζει τους χαρακτήρες ιού. Την ίδια περίπου εποχή ο Lucke (1934) περιέγραψε νεοπλασματικό όγκο των νεφρών των βατράχων, που μεταβιβάζεται πιθανότατα με τον ιό. Αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα μεσολάβησε μέχρι να προσδιορισθεί ο παράγοντας του γάλακτος του Bittner, ενώ οι παρατηρήσεις του Lucke δεν έχουν πλήρως διευκρινισθεί³⁶. Η πρώτη φάση των ερευνών στα ιογενή νεοπλάσματα, που κυριαρχείται από μελέτες που έγιναν πάνω στους όγκους του Rous και των θηλωμάτων του Shope απέφερε ανεκτίμητες πληροφορίες, όσον αφορά σε φυσικά απαντώμενες νεοπλασματικές νόσους, οι οποίες με ακρίβεια αναπαράγονται, ελεύθερες κυττάρων, μετά από ενοφθαλμισμό αυτών επάνω σε υγιή ζώα του ίδιου είδους. Εξ' άλλου, έγιναν πολύ σημαντικές γενικές παρατηρήσεις, που αφορούσαν σε κάποιες χαρακτηριστικές ιδιότητες της νεοπλασματικής επεξεργασίας. Κατά τη φάση αυτή των ερευνών οι Rous και συνεργάτες εξέτασαν 45 φυσικά αναπτυσθόντες όγκους κατοικιδίων πτηνών και με επιτυχία μεταμόσχευσαν 5 από αυτούς με παράγοντες ελευθέρων νεοπλασματικών κυτταρικών στοιχείων. Οι εν λόγω όγκοι αναφέρονται γενικά σαν "διηθητικοί", αφορούν όμως σε σαρκώματα, που διαφέρουν μεταξύ τους σε κάποιες μόνο λεπτομέρειες.

1. Όγκοι ορνίθων I (CHICKEN TUMOUR) CT1

Το νεόπλασμα αυτό υπήρξε ο πρόγονος όλων των μελετώμενων ακόμη και σήμερα όγκων, οι οποίοι ονομάζονται γενικά "Σαρκώματα Rous". Όπως αρχικά έχουν περιγραφεί από το Rous (1991), πρόκειται για μαλθακής σύστασης ατρακτοκυτταρικά σαρκώματα με εκτεταμένες αιμορραγικές διηθήσεις και εκσεσημασμένη παραγωγή βλεννοπρωτεϊνών. Οι αρχικές γενόμενες μεταμοσχεύσεις των νεοπλασμάτων αυτών



χαρακτηρίζονταν από τη βραδεία εξέλιξη και πετυχαίνονταν μόνο σε συγγενή εξαιμάτος πτηνά με αυτά, πάνω στα οποία φυσικά ανεπτυσσόταν ο όγκος. Αργότερα όμως και η μεταμόσχευσή τους πετυχαινόταν ευκολώτερα και η ανάπτυξή τους ήταν ταχύτερη.

2. Όγκος ορνίθων VII (CT VII)

Το σάρκωμα αυτό, σε αντίθεση προς το προηγούμενο, είναι σκληρής σύστασης και βραδείας ανάπτυξης, χαρακτηρίζεται όμως από την παραγωγή χονδρικού και μερικές φορές οστίτου ιστού³⁷.

3. Όγκος ορνίθων XVII (CT XVII)

Το εν λόγω νεόπλασμα είναι επίσης βραδείας ανάπτυξης σάρκωμα, χαρακτηριζόμενο από την άφθονη παραγωγή κολλαγόνου³⁸.

4. Όγκος ορνίθων XXX (CT XXX)

Το νεόπλασμα αυτό παρουσιάζει τους ίδιους σχεδόν μορφολογικούς χαρακτήρες όπως το νεόπλασμα CT XVII³⁴.

5. Όγκος ορνίθων XLII (CT XLI)

Το κακόηθες αυτό νεόπλασμα είναι σχεδόν πανομοιότυπο προς το σάρκωμα CT IO⁴⁰. Κατά τις επόμενες δεκαετίες επιτεύχθηκε από διάφορους ερευνητές η ανάπτυξη



πάρα πολλών διηθητικών σαρκωμάτων, που αναφέρονται με λεπτομέρεια από τους Claud και Murphy (1933)⁴¹, Andrewes 1934⁴² και Fouldes 1934⁴³. Ειδικότερα στη Μ.Βρετανία την ίδια εποχή διατηρούνταν από το Imperial Cancer Research Fund τα παρακάτω αυτόχθονα νεοπλάσματα:

α) MILL HILL (MH)

Το νεόπλασμα αυτό ήταν σκληρής σύστασης και βραδείας εξέλιξης ινοσάρκωμα⁴⁴.

β) MH2

Αυτό αρχικά περιγράφηκε σαν ενδοθηλίωμα, αργότερα όμως χαρακτηρίστηκε σαν δικτυωσάρκωμα^{45, 46}.

γ) ROUS SARCOMA (CT I) και

δ) Το σάρκωμα του Fujinami

Το σάρκωμα αυτό ήταν σχεδόν όμοιο προς το σάρκωμα ROUS CTI με τη διαφορά ότι η μεταμόσχευσή του πετυχαινόταν τόσο σε όρνιθες όσο και σε νήσους.

Αργότερα προστέθηκαν και δύο άλλα νεοπλάσματα.



ε) ΜΗ 13

Σάρκωμα παρόμοιο με το σάρκωμα ROUS κ.α⁴⁷.

στ) ΜΗ 14

Ινοσάρκωμα παρόμοιο με το σάρκωμα προς το ΜΗ Ι.

Όλα τα παραπάνω νεοπλάσματα ήταν διηθητικά, κατά κανόνα όμως ανεπτύσσονταν με μοσχεύματα. Πάνω στα νεοπλάσματα έγιναν μελέτες που αφορούσαν στη συχνότητα επιτυχίας ή υποστροφής των μοσχευμάτων, στο βαθμό ανάπτυξης των επιτυχών μεταμοσχεύσεων, στη συχνότητα και διασπορά των μεταστατικών εστιών και στους μικροσκοπικούς χαρακτήρες της πρωτοπαθούς και των μεταστατικών εστιών. Το νεόπλασμα ΜΗ2 ήταν τελείως διάφορο από τα λοιπά νεοπλάσματα, τόσο στην ιστολογική του υφή, όσο και στη συχνότητα χορήγησης και διασποράς των μεταστάσεων. Τα υπόλοιπα νεοπλάσματα κατατάσσονταν γενικά είτε στα μαλθακής σύστασης και ταχείας ανάπτυξης σαρκώματα, είτε στα σκληρά και βραδείας ανάπτυξης ινοσαρκώματα. Εν τούτοις, καθένα από αυτά παρουσίαζε και ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, τόσο κατά την ιστολογική υφή όσο και κατά την κλινική του συμπεριφορά, με τα οποία γίνεται δυνατός ο διαχωρισμός του. Τα ιδιαίτερα αυτά χαρακτηριστικά των εν λόγω νεοπλασματικών όγκων διατηρούνταν καθ' όλη τη μακρά περίοδο των μεταμοσχεύσεων, αναπαράγονταν όμως σταθερά και με ακρίβεια και με μεταμόσχευση ελεύθερη κυττάρων, όπως οι προαναφερθέντες όγκοι του ROUS⁴⁸. Το σημαντικό στοιχείο όμως των διηθητικών παραγόντων δεν ήταν ότι προκαλούσαν την ανάπτυξη κάποιου είδους νεοπλάσματος, αλλά ότι, με αυτούς αναπτύσσονταν νεοπλάσματα που παρουσίαζαν τους ίδιους φαινοτυπικούς



χαρακτήρες των νεοπλασμάτων από τους οποίους προέρχονταν⁴⁹. Οι διηθητικοί αυτοί παράγοντες ονομάστηκαν από τους Claude και Murphy μεταφερόμενοι μεταλλάκτες, άλλοι όμως ερευνητές χρησιμοποίησαν τον όρο "ιοί". Με τον όρο αυτό χαρακτηρίζαν ζώντες μικροοργανισμούς, εξωγενούς προέλευσης, οι οποίοι αποτελούν το γενεσιουργό αίτιο ανάπτυξης των νεοπλασμάτων. Η άποψη αυτή θα αποτελέσει τη βάση της διατυπωθείσας, την εποχή εκείνη, ιογενούς θεωρίας των όγκων. Ο τίτλος της θεωρίας παρέμεινε ο ίδιος μέχρι σήμερα, το περιεχόμενο όμως αυτής είναι βασικά διάφορο της παλαιάς, η οποία και κατά την εποχή εκείνη δύσκολα γινόταν αποδεκτή, ενώ σήμερα είναι τελείως αβάσιμη.

Η ελεύθερη κυττάρων μεταμόσχευση των προαναφερθέντων διηθητικών νεοπλασμάτων, παρουσίασε κατά την αρχική φάση των πειραμάτων αρκετές ανωμαλίες και ιδιορρυθμίες, οι οποίες προκάλεσαν τον προβληματισμό των τότε ερευνητών. Οι Gye και Andrewes⁵⁰ αναφέρουν χαρακτηριστικά ότι, τα ως άνω νεοπλάσματα παρουσιάζουν μια μη διηθητή φάση διάρκειας 6 μηνών, κατά την οποία επανειλημμένες προσπάθειες προς μεταμόσχευση στάθηκαν ανεπιτυχείς. Κατά το τέλος της περιόδου αυτής η ικανότητα του νεοπλάσματος προς μεταμόσχευση επανερχόταν (διηθητή φάσις). Ιδιαίτερα τονίζεται από τους συγγραφείς ότι, κατά τις δύο αυτές φάσεις τα νεοπλάσματα παρουσίαζαν τους ίδιους μορφολογικούς χαρακτήρες. Ο διαχωρισμός επομένως αυτών, ως προς την φάση την οποία διανύουν, έγινε αδύνατος. Αργότερα, οι Gramer και Foulds⁵¹ επιβεβαίωσαν τις παρατηρήσεις των Gye και Andrewes. Η αυτόματη επαναφορά της ικανότητας προς μεταμόσχευση των εν λόγω νεοπλασμάτων καθιστά φανερό ότι, ο ιός επέζησε κατά τη διάρκεια της μη διηθητικής φάσης υπό λανθάνουσα ή κεκαλυμμένη μορφή.

Την ίδια περίπου χρονική περίοδο αρκετοί ερευνητές προκάλεσαν την ανάπτυξη νεοπλασμάτων σε πτηνά, με ενδομυϊκές ενέσεις πύσσας ή των τότε διαθέσιμων κεκαθαρωμένων υδρογονανθράκων και προσπάθησαν να πετύχουν την



ελεύθερη μεταμόσχευση των κυττάρων αυτών.

Τα αποτελέσματα των προσπαθειών αυτών είναι σε πολλά σημεία αντιφατικά⁵². Οι Foulds και Andrewes απέτυχαν στην προσπάθεια μεταμόσχευσης όγκων ελευθέρως κυττάρων που αναπτύχθηκαν με καρκινογόνους υδρογονάνθρακες, παρά την παρουσίαση στους όγκους αυτούς αντιγόνων τελείως διαφορετικών από αυτά του σαρκόματος Rous. Εν τούτοις, ο Gross⁵³ σε εναιώρημα των όγκων αυτών ελευθέρων κυττάρων βρήκε παράγοντες που μοιάζουν με τους ιούς. Τα ευρήματα του Gross αμφισβητούνται, πιστεύεται δε ότι, εάν ο ιός Rous ενοχοποιείται για την ανάπτυξη των εν λόγω σαρκωμάτων, όπως συνάγεται από τα ανοσολογικά ευρήματα, αυτός ανευρίσκεται σε λανθάνουσα κατάσταση.

Την εποχή εκείνη ήταν δύσκολο να κατανοηθεί και να εξηγηθεί η ικανότητα του παράγοντα του σαρκόματος Rous να παραμείνει σε μη διηθητή μορφή επί σειράς μεταμοσχεύσεων, αυτόματα δε να επανεμφανίζεται στα διηθήματα των όγκων χωρίς αλλοίωση των χαρακτηριστικών του. Ο Foulds για την εξήγηση του φαινομένου αυτού υπέθεσε ότι, ο εν λόγω παράγοντας, κατά τη διάρκεια της μη διηθητικής φάσης, βρίσκεται συνδεδεμένος με το πρωτόπλασμα του κυττάρου ή μέρους αυτού, μεταβιβάζεται δε στα θυγατρικά κύτταρα κατά τη φάση της διαίρεσης του μητρικού κυττάρου. Δύο δεκαετίες αργότερα ο ίδιος συγγραφέας συμπληρώνει ότι, το ενεργό στοιχείο των διηθητών παραγόντων αποτελεί το ριβονουκλεϊνικόν οξύ, το οποίο είναι ενσωματωμένο στους κληρονομικούς μηχανισμούς του κυττάρου. Επί πλέον διατυπώθηκε η άποψη, ότι απαραίτητη προϋπόθεση για τη διατήρηση της νεοπλασματικής επεξεργασίας αποτελεί η αναπαραγωγή του διηθητού παράγοντα σε ποσότητα ικανή να παρακολουθήσει την διαίρεση του κυττάρου. Πέραν όμως από την ελάχιστη αυτή ποσότητα αυτός συνδέεται μετά με τις πρωτεΐνες του κυττάρου, διαχωρίζεται απ' αυτό και καθίσταται ικανός για επιβίωση και έξω από το κύτταρο⁵⁴. Ο Shore είναι ο πρώτος ερευνητής, ο οποίος με τη μελέτη των θηλωμάτων του



δέρματος των κονίκλων των ενδημούντων στην κοιλάδα του ποταμού Μισσισιπή, γνωστών ως κερασφόρων, παρουσίασε σαφείς ενδείξεις για την ιογενή προέλευση των νεοπλασμάτων των θηλαστικών. Ο ερευνητής απέδειξε πειραματικά ότι, διηθημένα εναιωρήματα ιστού θηλωμάτων σε γλυκερίνη όταν τοποθετηθούν σε σκαριφηθέντα υγιή δέρματα αγρίων ή κατοικιδίων κονίκλων προκαλούν την ανάπτυξη θηλωμάτων όμοιων σε όλα μ' αυτά, που αναπτύσσονται φυσικά.

Τόσο τα τελευταία αυτά, όσο κι αυτά που πειραματικά αναπτύσσονται, παρουσιάζουν τους ίδιους ιστολογικούς χαρακτήρες, αποτελούμενα δηλαδή από λεπτούς αγγειοσυνδετικούς άξονες, που φέρονται κάθετα προς την επιφάνεια του δέρματος, και επικαλυπτόμενα από πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο, που υφίσταται παρακεράτωση ή κερατινοποίηση των επιπολής του στίχων⁵⁵. Η πειραματική ανάπτυξη των θηλωμάτων μόνο επάνω σε σκαριφηθέν δέρμα, καθιστά εμφανές ότι, απαραίτητη προϋπόθεση της ανάπτυξης αυτών αποτελεί η επίδραση του νεοπλασματικού παράγοντα πάνω στις βαθύτερες στιβάδες της επιδερμίδος. Η ενδοφλέβια χορήγηση του διηθήματος δεν προκάλεσε την ανάπτυξη θηλωμάτων σε φυσιολογικό σκαριφηθέν ή υπερπλαστικό επιθήλιο. Από τα παραπάνω πειραματικά δεδομένα αποδεικνύεται ότι, η νεοπλασματική δράση του ιού των θηλωμάτων του Shope εκδηλώνεται μόνο μετά από την επίδραση αυτού πάνω στο δέρμα των κονίκλων και λαγών. Το διήθημα των θηλωμάτων των αγρίων κονίκλων περιέχει σημαντική ποσότητα ενεργού ιού. Αντίθετα με τη διήθηση θηλωμάτων, που αναπτύχθηκαν πειραματικά σε κατοικίδια ζώα, σπάνια λαμβάνεται ιός και σε μικρή ποσότητα. Εν τούτοις, η επαναμόλυνση των κατοικιδίων ζώων προκαλεί την ανάπτυξη ειδικών αντισωμάτων στον ορό των ζώων, τα οποία αδρανοποιούν τον ιό. Το φαινόμενο αυτό είναι δυνατό να εξηγηθεί με την υπόθεση ότι, ο ιός του Shope βρίσκεται και στα θηλώματα των κατοικιδίων, αλλά σε μη διηθητική κεκαλυμμένη μορφή.



Ο Rous και οι συνεργάτες του μελέτησαν με λεπτομέρεια τη λεπτή υφή και συμπεριφορά των θηλωμάτων Shore και διαπίστωσαν ότι αυτά παρουσιάζουν πάρα πολλά κοινά χαρακτηριστικά με τους νεοπλασματικούς όγκους. Ειδικότερα παρατήρησαν ότι, μετά την αρχική του ανάπτυξη δεν υπήρχαν ενδείξεις απελευθέρωσης ιού απ' αυτά και μόλυνση των γειτονικών φυσιολογικών κυττάρων της επιδερμίδας. Από τις μελέτες αυτές ανεκτίμητα στοιχεία συγκεντρώθηκαν που αφορούν στην εξέλιξη και κακοήθη εξαλλαγή των θηλωμάτων. Αναφέρεται από τους συγγραφείς η ανεύρεση θηλώματος που παρουσιάζει τους μορφολογικούς χαρακτήρες επιδερμογενούς καρκινώματος 393 ημέρες μετά τον ενοφθαλμισμό του κονίκλου με ιό του Shore. Αργότερα αποδείχθηκε ότι, μετά παρέλευση αρκετού χρόνου πολλά από τα θηλώματα εξαλλάσσονται προς επιδερμογενή καρκινώματα. Οι Rous και Beaud⁵⁶ διαπίστωσαν την κακοήθη εξαλλαγή των θηλωμάτων σε 7 από τους 10 κονίκλους μετά από πέρασμα 200 ημερών από τον ενοφθαλμισμό. Οι ίδιοι ερευνητές περιγράφουν δύο τύπους καρκινωμάτων: α) τα μυκητοειδή, σχετικά καλοήθους μορφής, κατά το περισσότερο ή λιγότερο, θηλώδους μορφολογικά και β) ελκωτικά διαβρωτικά που χορηγούνται εύκολα και είναι ταχείας μετάστασης. Τα πιο ζωηρά αναπτυσσόμενα θηλώματα διακρίνονται από την αυξημένη τάση προς κακοήθη εξαλλαγή και περνούν από τρία στάδια, δηλαδή του καλοήθους θηλώματος, του κακοήθους θηλώματος και τελικά του μαλπιγγιακού καρκινώματος. Μαζί με τα μαλπιγγιακά καρκινώματα βρέθηκαν και νεοπλάσματα που αντιστοιχούν σε ένα από τα προηγούμενα στάδια, ήτοι του καλοήθους ή κακοήθους θηλώματος, καθώς η ανάπτυξη του είχε σταθεροποιηθεί στο στάδιο αυτό. Απ' αυτό συνεπάγεται ότι διάφοροι άγνωστοι συμπαρομαρτούντες παράγοντες όπως και η εφαρμοζόμενη πειραματική μέθοδος καθορίζουν τον ακριβή χρόνο της περαιτέρω εξέλιξης των νεοπλασμάτων αυτών, κυρίως με τη βραδεία εξέλιξη θηλωμάτων. Εξ' άλλου, τα νεοπλάσματα που παρουσιάζουν αυξημένη τάση για καρκινωμάτωση εξαλλαγή,



προφανώς βρίσκονται σε κάποιο στάδιο κατά το οποίο η περαιτέρω εξέλιξη προς καρκίνωμα είναι αναπόφευκτη και μη εξαρτώμενη από εξωγενείς παράγοντες. Έτσι οι Kidder και Rous^{57,58} παρατήρησαν κακοήθη εξαλλαγή αρκετών θηλωμάτων μετά από πέρασμα αρκετού χρονικού διαστήματος και χωρίς εφαρμογή εξωτερικών ερεθισμάτων. Αξιοσημείωτο τυχαίνει το γεγονός ότι, η παραγωγή ιού από τα καρκινώματα ή μικτές εξεργασίες, που αποτελούνται από θηλώματα και καρκινώματα, έγινε αδύνατος, ενώ αντίθετα, παίρνεται πάντοτε ιός από αμιγή θηλώματα, που αναπτύχθηκαν στο ίδιο το ζώο. Οι παραπάνω πειραματικές παρατηρήσεις αποτελούν την έμπρακτη απόδειξη ωρισμένων γενικών αρχών, οι οποίες διέπουν τις νεοπλασματικές επεξεργασίες, που διατυπώθηκαν πολύ αργότερα, όπως η βαθμιαία ανάπτυξη των νεοπλασμάτων, ή σταθεροποίηση μερικών απ' αυτά στο ενδιάμεσο στάδιο ανάπτυξης, όπως και η ιδιότητα πολλών απ' αυτά που βρίσκονταν σε προκαρκινωματώδη στάδιο, να εξελίσσονται σε κακοήθη ανεξάρτητα από την επίδραση εξωγενών ερεθισμάτων. Περιγράφονται (από το Syverton)^{59,60,61,62} 4 στάδια εξέλιξης των θηλωμάτων του Shope, τα οποία είναι: 1ο. Στάδιο επώσεως διάρκειας 7-24 ημερών από τον ενοφθαλμισμό. 2ο. Στάδιο ταχείας ανάπτυξης, στο οποίο παρατηρείται αυξημένος ρυθμός πολλαπλασιασμού των επιδερμικών κυττάρων. 3ο. Στάδιο στατικό, στο οποίο παρατηρείται ισορροπία μεταξύ των αναπαρογόμενων και απολεπιζόμενων επιδερμικών κυττάρων και 4ο. Στάδιο τελικό, κατά το οποίο τα αναπτυχθέντα θηλώματα είτε υποστρέφουν είτε εξελίσσονται προς καρκινώματα.

Ιδιαίτερα τονίζεται από τους συγγραφείς ότι τα θηλώματα ηλικίας πάνω από 15 μηνών ήταν ιστολογικά κακοήθη. Σπανίως αναπτύχθηκαν θηλώματα, που ενώ διέφυγαν την υποστροφή έπαθαν κακοήθη εξαλλαγή. Εν τούτοις το φαινόμενο της υποστροφής μερικών από τα θηλώματα και της κακοήθους εξαλλαγής των υπολοίπων παραμένει ανεξήγητο. Προφανώς η υποστροφή αυτών δεν οφείλεται ούτε στην παραγωγή αντισωμάτων από το ζώο ξενιστή ούτε στην εξαφάνιση του ιού, αν ληφθεί



υπόψη ότι παρελήφθη ενεργός ιός από θηλώματα που υφίστανται υπόστροφες αλλοιώσεις^{63,64}.

Αντίθετα, οι Rous και συνεργ. κατόρθωσαν να παράγουν μικρές ποσότητες ιού από καρκινώματα (γνωστά ως VX2), που μεταμοσχεύθηκαν σε κατοικίδιους κονίκλους. Στις αρχικές μεταμοσχεύσεις των ανωτέρω νεοπλασμάτων, δεν έγινε δυνατό να παραληφθεί ιός από αυτά παρά την ανεύρεση στον ορό των ζώων ειδικών ιογενών αντισωμάτων. Βέβαια στην περίπτωση αυτή πιθανώτατα ο ιός βρίσκεται σε καλυμμένη μορφή. Το VX2 νεόπλασμα διατηρήθηκε κατά τη διάρκεια του 2ου Παγκοσμίου Πολέμου με συνεχείς μεταμοσχεύσεις, χωρίς όμως ελέγχους της αντιγονικής του ικανότητας, μεταπολεμικά όμως επανεξετάσθηκε αυτό (διανύοντας την 120η γενεά μεταμόσχευσης) με τις σύγχρονες μεθόδους και όργανα έρευνας, που ήταν στη διάθεση των ερευνητών όπως η τεχνική του ανοσοφθορισμού και το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Εν τούτοις, τόσο η ανεύρεση αντισωμάτων όσο και στοιχείων ιού, έγινε αδύνατη. Αντίθετα, από παρόμοιο προς το VX2 νεόπλασμα, που χαρακτηρίστηκε VX7, έγινε δυνατό να παρθεί ιός σε μικρή όμως ποσότητα. Το νεόπλασμα αυτό είναι αντιγονικά όμοιο προς τα θηλώματα Shore, στον ορό δε των πειραματόζωων ανευρέθηκε υψηλός τίτλος από αντισώματα⁶⁵. Πρέπει να τονισθεί ότι, ο ιός που παίρνεται από καρκινώματα προκαλεί σταθερά την ανάπτυξη θηλωμάτων και όχι καρκινωμάτων^{66,67,68, 69, 70}.

Η δεύτερη μεταπολεμική περίοδος των ερευνών στα ιογενή νεοπλάσματα αρχίζει το 1951, όταν ο Cross πέτυχε τη μεταβίβαση της λευχαιμίας των επίμυων με παράγοντα ελεύθερο από κυτταρικά στοιχεία. Όπως είναι γνωστό, στην εποχή αυτή επαναστατικές μέθοδοι έρευνας έχουν καθιερωθεί σε γενική χρήση, όπως το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, η τεχνική των ιστοκαλλιέργειών, του ανοσοφθορισμού κ.α.. Εξ' άλλου, τελείως πρόσφατες γνώσεις και αντιλήψεις, όσον αφορά στη γενετική



και την φύση των ιών εν γένει, έχουν προκύψει από τη μοριακή βιολογία. Αναφέρουμε χαρακτηριστικά ότι η διπλή έλικα του DNA διαπιστώθηκε το 1953, ο γενετικός κώδικας το 1961, τα ρυθμιστικά κυκλώματα του Jacob - Menod το 1961. Ο δε Lwooff διατύπωσε τη θεωρία του για τους ιούς, αφού χαρακτήρισε αυτούς σαν στοιχεία γενετικής ουσίας, η οποία μπορεί να μεταφέρει πληροφορίες για την αναπαραγωγή λοιμογόνων σωματιδίων. Η κοινή λευχαιμία, που μελετήθηκε από τον Cross, συναντάται σποραδικά σ' όλες τις ποικιλίες επίμυων, σε δύο όμως απ' αυτές των AKR και C58 παρατηρείται σε μεγαλύτερη συχνότητα. Ο Cross παρασκεύασε εκχυλίσματα λευχαιμικού ιστού ελεύθερα από κυτταρικά στοιχεία από τις παραπάνω δύο ποικιλίες επίμυων και ένεσε αυτά σε νεογνά της ποικιλίας C3H η οποία παρουσιάζει μικρή συχνότητα ανάπτυξης λευχαιμίας. Έτσι πέτυχε να αυξήσει το ποσοστό συχνότητας της λευχαιμίας των ζώων της ποικιλίας C3H, στο ίδιο περίπου ποσοστό με τα ζώα των ποικιλιών AKR και C58. Τα επόμενα έτη έγινε δυνατή η ανάπτυξη λευχαιμίας σε πειραματόζωα με εκχυλίσματα ελευθέρων κυτταρικών στοιχείων, διαφόρου τύπου από νεοπλάσματα που μεταμοσχεύθηκαν. Αργότερα αποδείχθηκε ότι, οι ιοί, που βρίσκονται στα εκχυλίσματα των παραπάνω νεοπλασμάτων, αποτελούν αθώους επιβάτες αυτών των νεοπλασμάτων. Απ' αυτούς ο ιός Moloney μοιάζει μ' αυτόν του Cross, ο ιός του Graffi προκαλεί την χλωρολευχαιμία και ο ιός του Friend σπάνια συναντιέται σε φυσική κατάσταση. Ο ιός του Rouscher αποτελεί πιθανώτατα συνδυασμό του ιού Friend και του Cross. Ο Cross αναφέρει ότι κατά τη διάρκεια των πειραμάτων του σε κάποια πειραματόζωα, αντί της αναμενόμενης λευχαιμίας, αναπτύχθηκαν τραχηλικοί όγκοι. Αργότερα αποδείχθηκε ότι οι όγκοι αυτοί αποτελούν πρωτοπαθείς νεοπλασματικές επεξεργασίες της παρωτίδας, οι οποίες μαζί με άλλα νεοπλάσματα, που αναπτύχθηκαν αλλού, οφείλονται στην ύπαρξη άλλου ιού διαφορετικού από της λευχαιμίας. Ο ιός αυτός ονομάστηκε από τον Cross "ιός των παρωτιδικών όγκων". Ο εμβολιασμός



πειραματόζωων με εκχυλίσματα παρωτιδικών όγκων δεν προκαλεί την ανάπτυξη παρόμοιων νεοπλασμάτων στα ζώα αυτά. Εν τούτοις η μόλυνση ιστοκαλλιιεργειών από νεφρικά κύτταρα πιθήκου με τα παραπάνω εκχυλίσματα προκαλεί αλλοιώσεις των κυτταρικών στοιχείων της καλλιέργειας. Τα τελευταία αυτά ενιέμενα σε νεογνά επίμυων προκαλούν την ανάπτυξη νεοπλασμάτων της παρωτίδας και άλλων οργάνων. Ο ιός αυτός, επειδή προκαλεί την ανάπτυξη διαφορετικού είδους νεοπλασμάτων, ονομάστηκε Polyoma ιός^{71, 72}.

Αργότερα, που έγινε δυνατό να διερευνηθεί η λεπτή υφή των ανωτέρω ιών, αποδείχθηκε ότι, το πυρηνικό οξύ του ιού του Cross και του Rous αποτελείται από ριβονουκλεϊνικό οξύ, ενώ του ιού Shope και Polyoma ιού από δεσοξυριβονουκλεϊνικό οξύ.



DNA ΟΓΚΟΓΕΝΕΙΣ ΙΟΙ

Οι DNA ογκογενείς ιοί αποτελούν το 1/4 από τους 600 περίπου γνωστούς μέχρι σήμερα DNA ιούς, αποτελούν όμως μέρος τεσσάρων από τις 6 ταξινομημένες ομάδες δηλαδή: Ροχνίριος, Ηερπεςνίριος, Ραρανανίριδες και Αδενονίριος. Ιδιαίτερα τονίζεται ότι οι DNA ογκογενείς ιοί, εκτός αυτών του γένους Ηερπεςνίριος, προκαλούν στους φυσικούς ξενιστές τους την ανάπτυξη όχι κακοήθων αλλά καλοήθων νεοπλασμάτων. Εν τούτοις μερικοί απ' αυτούς μετά από κατάλληλη επεξεργασία μπορούν να γίνουν κακοήθεις ογκογενείς ιοί.

Το ενδιαφέρον των ερευνητών της προηγούμενης δεκαετίας στράφηκε προς τους τελευταίους αυτούς ιούς. Η μόλυνση καλλιιεργειών φυσιολογικών κυττάρων με τους ιούς αυτούς προκαλεί σε μερικά απ' αυτά ανάπτυξη τελείως νέων, αλλά σταθερών ιδιοτήτων, οι οποίες προσομοιάζουν με τις παρατηρούμενες στα κύτταρα που προέρχονται από αυτόματα αναπτυσσόμενα νεοπλάσματα. Με τον τρόπο αυτό μπορούν να μελετηθούν ποσοτικά οι αλληλοειδράσεις μεταξύ των ιών και γενετικών ομοιογενών πληθυσμών φυσιολογικών κυττάρων, χωρίς την επίδραση των ανοσοβιολογικών μηχανισμών. Εξ' άλλου, με τις ιστοκαλλιιεργειες πετυχαίνεται η χρησιμοποίηση διαφόρων μεθόδων της μοριακής βιολογίας, οι οποίες θα ήταν αδύνατο να εφαρμοσθούν στο ζωντανό πειραματόζωο.

Ροχνίριος

Οι ιοί του γένους Ροχνίριος είναι οι μεγαλύτεροι από τους ιούς του ζωϊκού βασιλείου, περιέχουν δε το μεγαλύτερο ποσό DNA (160-200 εκατ. Daltons διπλής έλικας DNA) από κάθε άλλο ιό. Το σχήμα των ιών είναι ορθογώνιο παραλληλόγραμμα, σαν πλίνθος, διαστάσεων 300x240x100μ., η λεπτή όμως υφή αυτών είναι πολύπλοκη. Αυτοί αποτελούνται από ένα διπλής κοιλότητας πρωτεϊνικό



περίβλημα, που περικλείει DNA, που περιβάλλεται από μερικές μεμβράνες ιογενούς προέλευσης. Όλοι οι ιοί του εν λόγω γένους έχουν κοινό νουκλεοπρωτεϊνικό αντιγόνο και αρκετά ένζυμα μεταξύ των οποίων μία τρανσκριπτάση. Ο πολλαπλασιασμός του ιού γίνεται μέσα στο πρωτόπλασμα των κυττάρων και ωριμάζει κατά ομάδες μαζί μέσα στο πρωτόπλασμα. Μερικές φορές ο ιός ελευθερώνεται από το κύτταρο - ξενιστή, που περιβάλλεται από χαλαρή μεμβράνη, που προέρχεται από την πρωτοπλασματική μεμβράνη του κυττάρου. Το γένος Poxvirus διαιρείται σε 5 υπογένη και μία ομάδα ιών, οι οποίοι δεν έχουν ακόμη ταξινομηθεί. Αρκετοί Poxvirus προκαλούν μετρίου βαθμού επιθηλιακές υπερπλασίες στους φυσικούς ξενιστές, ενώ μερικοί από αυτούς όπως ο Fowpox και ο Molluscum Contagiosum, προκαλούν σχετικά ευμεγέθεις δερματικούς όγκους στα πτηνά και τον άνθρωπο αντίστοιχα. Δύο μόνο Poxvirus, ο Yaba και ο ιός του ινώματος των κονίκλων προκαλούν την ανάπτυξη ευμεγέθων δερματικών όγκων και στους φυσικούς ξενιστές τους και στα πειραματόζωα.

Yaba Poxvirus

Ο φυσικός ξενιστής του εν λόγω ιού είναι άγνωστος^{73, 74}. Πιθανολογείται ότι είναι Αφρικανικό πρωτόζωο. Ο ιός αυτός προκαλεί την ανάπτυξη ευμεγέθων εντοπισμένων καλοήθων δερματικών όγκων στον Ασιατικό πίθηκο της Δυτικής Αφρικής και μετά από υποδόριο ή ενδοδερμικό ενοφθαλμισμό σε πιθήκους Rhesus, σε κάποια πρωτόζωα της Αφρικής^{75, 76} και ανθρώπους⁷⁷. Πνευμονικοί όγκοι αναπτύσσονται σε κάποιους πιθήκους με εισπνοή αεροσταγονιδίων, που περιέχουν ιό⁷⁸, μετά όμως από ενδοφλέβιο ένεση σε πιθήκους Rhesus πολυάριθμοι μικροί όγκοι μπορούν να αναπτυχθούν στον υποδόριο ιστό, την καρδιά, τους γραμμωτούς μύς και



τους πνεύμονές τους. Οι νεοπλασματικές επεξεργασίες είναι τυπικές υπερπλασίες του υποδόριου ιστού χωρίς συμμετοχή του επιθηλίου, εκτός από τις περιπτώσεις κατά τις οποίες παρατηρείται εξέλκωση αυτού. Οι αναπτυχθέντες όγκοι χαρακτηρίζονται σαν ιστοκυττώματα⁷⁹. Σε διάστημα 48 ωρών από τον ενοφθαλμισμό, τα ιστοκύτταρα μεταναστεύουν στον υποδόριο ιστό, όπου παθαίνουν εκσεσημασμένες μορφολογικές αλλοιώσεις, που συνίστανται από ευμεγέθεις πυρήνες και πυρήνια και ταχεία υπερπλασία. Πρωτοπλασματικά έγκλειστα είναι δυνατό να αναγνωρισθούν από την 8η ημέρα, γίνονται όμως εμφανή την 3η εβδομάδα, δηλαδή κατά το τέλος του σταδίου της υπερπλασίας. Τα νεοπλασματικά κύτταρα μοιάζουν με ινοβλάστες, στερούνται όμως της ικανότητας παραγωγής κολλαγόνου και προέρχονται από ιστοκύτταρα. Η ίαση επέρχεται εξ' αιτίας της λύσης των νεοπλασματικών κυττάρων, τα οποία συνήθως γίνονται πολυπύρηννα, πριν από την τέλεια εξαφάνισή τους. Δεν υφίστανται ενδείξεις κακοήθους εξαλλαγής των παραπάνω νεοπλασμάτων. Οι πολυάριθμοι όγκοι, που αναπτύσσονται μετά από ενδοφλέβιο ένεση του ιού, οφείλονται προφανώς σε πολυεστιακή μόλυνση και όχι σε χορήγηση μεταστάσεων.

Ο ιός του ινώματος των κονίκλων

Ο ιός αυτός σε όλους τους φυσικούς ξενιστές προκαλεί την ανάπτυξη καλοήθων ινωμάτων⁸⁰, όπως και όλα τα άτομα του υπογένους *Myxoma* των *Rovivius*, αν και η περισσότερο γνωστή νόσος, που προκαλείται από τους εν λόγω ιούς, είναι η καθολική μυξωμάτωση των κονίκλων της Ευρώπης. Ο ιός που μελετήθηκε περισσότερο είναι ο ιός του ινώματος του κονίκλου του Shore. Αυτός προκαλεί την ανάπτυξη ινωμάτων, τόσο σε άγριους (*Sylvilagus Floridanus*), όσο και σε κατοικίδιους (*Oryctolagus, Cuniculus*) κονίκλους. Η πρώτη αντίδραση στον ιό συνίσταται σε υπερπλασία ομάδος κυτταρικών στοιχείων, που βρίσκονται γύρω από μικρά αιμοφόρα



αγγεία και τριχοφόρους θύλακες. Σε κατοικίδιους κονίκλους οι αλλοιώσεις πάρα πολύ γρήγορα υποχωρούν, ενώ σε άγριους κονίκλους παραμένουν για μακρότερο χρονικό διάστημα. Στο πρωτόπλασμα όμως των νεοπλασματικών κυττάρων εμφανίζονται πρωτοπλασματικά έγκλειστα, που αποτελούνται από γλυκοπρωτεΐνες⁸¹ όπως και πρωτοπλασματικά έγκλειστα ιογενών σωματιδίων στα υπερκείμενα επιθηλιακά κύτταρα. Ο εμβολιασμός νεογέννητων κατοικίδιων κονίκλων προκαλεί γενικευμένη νόσο που καταλήγει σε θάνατο⁸², ενώ ο εμβολιασμός άγριων κονίκλων μπορεί να προκαλέσει την ανάπτυξη πολύ ευμεγέθων όγκων, που διατηρούνται για σχετικά μεγάλο χρονικό διάστημα^{83, 84}. Ευμεγέθη και επιμένοντα ινώματα που παρουσιάζουν τους μορφολογικούς χαρακτήρες ινοσαρκωμάτων, μπορεί να αναπτυχθούν σε εμβολιασθέντες με ιό κατοικίδιους κονίκλους μετά από επίδραση πίσσας, διαφόρων καρκινογόνων υδρογονανθράκων ή κορτιζόνης⁸⁵.

Οι ιοί του Ερπητα (Herpesvirus)

Πέντε τουλάχιστον διαφορετικοί ιοί του έρπητα αποτελούν τον αιτιολογικό παράγοντα ανάπτυξης κακοήθων νεοπλασιών στον άνθρωπο και τα ζώα:

1. Η νόσος του Marek των ορνίθων. Πρόκειται για εξαιρετικά λοιμώδη λεμφωμάτωση, που προκαλείται από τον ιό Marek⁸⁶.
2. Υπάρχουν σοβαρές υπόνοιες ότι το νεφρικό καρκίνωμα των βατράχων του Lucke προκαλείται από κάποιο ιό έρπητα⁸⁷.
3. Υπάρχουν ενδείξεις που ενισχύουν την άποψη, ότι ο ιός Epstein - Barr, ο οποίος αποτελεί το αίτιο της λοιμώδους μονοπυρήνωσης, συμμετέχει στους αιτιολογικούς παράγοντες, που προκαλούν το λέμφωμα Burkitt, πιθανώς όμως και το ρινοφαρυγγικό



καρκίνωμα του ανθρώπου⁹³.

4. Ο ιός Saimiri του γένους Herpesvirus, αφού απομονώθηκε σε κάποιο είδος πιθήκων (Squirrel Monkeys), προκαλεί ταχεία εξέλιξη θανατηφόρου λευχαιμίας ή δικτυοσάρκωμα σε άλλο είδος πιθήκων (Owi Monkeys)⁸⁸.

5. Τέλος υποστηρίζεται με βάση επιδημιολογικές και ορολογικές έρευνες, ότι ο ιός του απλού έρπητα, τύπου 2, είναι υπεύθυνος για την ανάπτυξη του καρκινώματος του τραχήλου της μήτρας των ανθρώπων⁸⁹.

Οι ιοί του έρπητα εύκολα αναγνωρίζονται εξαιτίας της μορφολογίας τους. Η εικοσαεδρική κάψα τους σχηματίζεται μέσα στον πυρήνα και αποκτά καψίδιο στην ωρίμανση του ιού με εκβλάστηση μέσω της πυρηνικής μεμβράνης. Οι εν λόγω ιοί αποτελούνται από ένα ευθύ μόριο, διπλής έλικας DNA, μήκους περίπου 100 εκατομ. Daltons, που περιβάλλεται από κάψα με εικοσαεδρικό σχήμα, με διάμετρο 100 ημ. η οποία φέρει 162 καψομερίδια. Τα παραπάνω στοιχεία περιβάλλονται από κελύφη με διάμετρο 150 ημ. Ο ιός πολλαπλασιάζεται μέσα στον πυρήνα του κυττάρου - ξενιστή, ωριμάζει με εκβλάστηση μέσω της πυρηνικής μεμβράνης, έχει δε ειδικά αντιγόνα του είδους συνδεδεμένα με την κάψα. Οι ιοί του έρπητα προκαλούν ποικιλία λοιμωδών νόσων, που άλλοτε έχουν εντοπισθεί άλλοτε όμως έχουν γενικευθεί, οι οποίες συνήθως εκδηλώνονται με φυσαλιδώδες εξάνθημα. Χαρακτηριστικό των λοιμώξεων με τους ιούς του έρπητα είναι μία ή περισσότερες υποτροπές μετά από μακρά περίοδο κατά την οποία εξελίσσεται αθόρυβα.

1. Η νόσος του Marek των ορνίθων

Πριν από την αναγνώριση της νόσου αυτής από τον Marek το 1907⁹⁶, τα ορνιθοτροφεία μαστίζονταν περιοδικά από επιδημική λεμφωμάτωση η οποία με μια και μόνο προσβολή ήταν δυνατό να προκαλέσει το θάνατο στο 70% του πληθυσμού



των ορνίθων. Η νόσος χαρακτηρίζεται από την μαζική λεμφοκυτταρική διήθηση των σπλάγχνων και των νεύρων των ορνίθων, προκαλεί όμως το θάνατο των ζώων μέσα σε 6-8 εβδομάδες. Η άκρως λοιμογόνος φύση της νόσου παρέμεινε αίνιγμα, επειδή δεν κατέστη δυνατή η απομόνωση του ιού αμέσως από το νεοπλασματικά κύτταρα και δεν ανευρέθη με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Το παράδοξο αυτό φαινόμενο τελευταία μπόρεσε να εξηγηθεί, με την ανακάλυψη ότι τα πτηνά που νοσούν αποβάλλουν μεγάλες ποσότητες ιού από τους θύλακες των πτερνών τους⁹⁰. Ο ιός που απομονώθηκε, είναι σε όλα όμοιος με τον ιό του έρπητα. Όταν όμως αφηθεί σε ευαίσθητα νεαρά πτηνά, προκαλεί την ανάπτυξη κλασσικής νόσου του Marek⁹¹.

Το γεγονός της παραγωγής του ιού αποκλειστικά και μόνο στους θύλακες των πτερνών είναι δυσεξήγητο. Βέβαιο είναι ότι ο γενετικός κώδικας του ιού βρίσκεται και σε άλλα είδη κυττάρων των πτηνών που νοσούν, δεδομένου ότι η νόσος πειραματικά μεταβιβάζεται με κυτταρικά στοιχεία του λεμφώματος ελευθέρου ιού. Τι εμποδίζει την πλήρη ανάπτυξη του ιού μέσα στα κύτταρα αυτών, παραμένει ακόμη άγνωστο.

2. Το καρκίνωμα των βατράχων του Lucke

Μεγάλος αριθμός βατράχων του είδους *Rana Pipiens* της Νέας Αγγλίας των ΗΠΑ αναπτύσσουν αδενοκαρκινώματα των νεφρών⁹². Τα νεοπλάσματα αυτά πιστεύεται ότι προκαλούνται από είδος ιού του γένους έρπητα για δύο κυρίως λόγους: α) Ιστολογικές εξετάσεις όγκων, που πάρθηκαν στη διάρκεια του χειμώνα, παρουσιάζουν αφ' ενός μεν κυτταρικά έγκλειστα, αφ' ετέρου δε ιούς, που μοιάζουν μ' αυτούς του έρπητα⁹³ και β) Μερικώς κεκαθαρμένα παρασκευάσματα ιών προκαλούν ανάπτυξη όγκων, που χορηγούνται σε γυρίνους⁹⁴. Το τελευταίο αυτό δεν είναι πλήρες αποδεικτικό στοιχείο λόγω της πιθανότητας που υπάρχει για επιμόλυνση των



εκχυλισμάτων του ιού με άλλους ιούς, οι οποίοι είναι γνωστό ότι βρίσκονται στα εν λόγω καρκινώματα⁹⁵. Πλήρης και αναντίρρητη απόδειξη θα ήταν εάν τελείως κεκαθαμένα εκχυλίσματα ιού προκαλούσαν την ανάπτυξη νεφρικών όγκων. Αυτό βέβαια δεν είναι εύκολο να επιτευχθεί, γιατί δεν υπάρχουν in vitro συστήματα, με τα οποία ο ιός του Lucke θα μπορούσε να πολλαπλασιασθεί. Σε αντίθεση προς τα νεοπλάσματα των βατράχων, κατά την διάρκεια του χειμώνα, τα νεοπλάσματα του θέρους δεν περιέχουν ορατά σωματίδια ιού, εκτός της περίπτωσης στην οποία τα ζώα θα τοποθετηθούν για λίγες εβδομάδες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος 4°C. Το φαινόμενο αυτό δημιουργεί την υπόνοια, ότι ο ιός κατά την διάρκεια του θέρους ευρίσκεται μέσα στα νεοπλασματικά κύτταρα σε μορφή προ-ιού. Φαίνεται ότι υπάρχει αμοιβαία σχέση μεταξύ της ανάπτυξης του όγκου και του ιού. Τα νεοπλάσματα αναπτύσσονται και χορηγούν μεταστάσεις συχνότερα όταν τα ζώα διατηρούνται σε θερμοκρασία θέρους (23-26°C), παρά σε θερμοκρασία χειμώνα. Διατυπώνεται η υπόθεση ότι η επεξεργασία της ωρίμανσης του ιού, που γίνεται στη διάρκεια του χειμώνα προκαλεί το θάνατο των κυτταρικών στοιχείων του όγκου⁹⁶. Το αίτιο της μη πλήρους ανάπτυξης των λειτουργιών του ιού στα νεοπλασματικά κύτταρα του όγκου κατά τη διάρκεια του θέρους παραμένει άγνωστο.

3. Ο ιός του Epstein-Barr

Το μισό περίπου των παιδικών θανάτων από κακοήθεις νεοπλασματικές νόσους στη περιοχή της Ανατολικής Αφρικής οφείλεται στο λέμφωμα του Burkitt. Η γεωγραφική κατανομή του εν λόγω κακοήθους νεοπλάσματος πρώτα αναγνωρίστηκε από τον Dennis Burkitt, ο οποίος διατύπωσε την άποψη ότι η νόσος είναι αποτέλεσμα λοίμωξης με ογκογενή ιό που μεταδίδεται με έντομο¹⁰⁴.

Ενδεικτικά στοιχεία, που ενισχύουν την άποψη του Burkitt, προέρχονται από



τις μελέτες του Pike και συνεργ.⁹⁷ οι οποίες απέδειξαν την κατά πλάτος μετάδοση αυτής, δηλαδή ότι προσβάλλει άτομα που βρίσκονται στον ίδιο χρόνο και τόπο και παρουσιάζει επιδημική τάση. Επί πλέον, άλλη νόσος που παρουσιάζει τους χαρακτήρες του λεμφώματος Burkitt, παρατηρήθηκε και στους κατοίκους της Νέας Γουινέας⁹⁸. Με επισταμένες έρευνες εξ' άλλου, περιπτώσεις λεμφώματος Burkitt ανευρέθησαν και σε άλλες περιοχές του κόσμου⁹⁹. Το τελευταίο αυτό γεγονός μαζί με κάποιες ιολογικές μελέτες προκάλεσε την τροποποίηση από τον Burkitt της αρχικής του θεωρίας, που παραδέχθηκε ότι το λέμφωμα μπορεί να οφείλεται σε συνδυασμό δύο παραγόντων, δηλαδή: α) Ενός ιού που βρίσκεται παντού και β) παράγοντα του περιβάλλοντος, ο οποίος είναι γεωγραφικά περιορισμένος και πιθανώτατα συνδεδεμένος με νύγμα εντόμου¹⁰⁰.

Οι Epstein, Achong και Barr, το 1964 ανακοίνωσαν την ανεύρεση σωματιδίων ιού έρπητα σε ιστοκαλλιέργειες λεμφώματος Burkitt. Από τότε σταθερά ανευρίσκεται ιός που ονομάζεται Epstein - Barr σε όλες σχεδόν τις ιστοκαλλιέργειες λεμφοκυττάρων, που παίρνονται από πάσχοντες από τη νόσο¹⁰¹. Ο εν λόγω ιός, παρά την μορφολογική ομοιότητα με τα υπόλοιπα μέλη του γένους των ιών έρπητα, είναι αντιγονικά τελείως διαφορετικός από αυτούς¹⁰², πολλαπλασιάζεται όμως μόνον σε ιστοκαλλιέργειες που αποτελούνται από λεμφοκύτταρα ανθρώπου¹⁰³. Τόσο ιογενή σωματίδια, όσο και καψικά αντιγόνα δε βρέθηκαν σε νωπά τεμάχια όγκου που πάρθηκε από ασθενείς που πάσχουν από τη νόσο¹⁰⁴, αντίθετα στα περισσότερα νεοπλασματικά κύτταρα βρέθηκαν ειδικά αντιγόνα επιφανείας¹⁰⁵. Τα νεοπλασματικά κύτταρα με την τεχνική της ιστοκαλλιέργειας παθαίνουν μίτωση, μετά όμως από διάστημα 3-10 ημερών ποσοστό 0,1-0,5% του πληθυσμού των κυττάρων ορισμένων όγκων περιέχουν καψικά αντιγόνα και σωματίδια ιού. Ο αριθμός των νεοπλασματικών κυττάρων των παραγόντων ιού είναι δυνατόν να πενηκονταπλασιασθεί είτε με την προσθήκη στις καλλιέργειες 5-βρωμο-διοξυ-



ουριδίνης, είτε με τη στέρηση της αργινίνης¹⁰⁶. Επειδή, αφ' ενός μεν η εκατοστιαία αναλογία των νεοπλασματικών κυττάρων, τα οποία παράγουν ιό, παραμένει σταθερή σε πολλές κυτταρικές γενεές¹⁰⁷, αφ' ετέρου δε τα νεοπλασματικά αυτά κύτταρα παθαίνουν λύση, συμπεραίνεται ότι η ενεργοποίηση για σύνθεση ιού είναι αποτέλεσμα στοχαστικών επεξεργασιών οι οποίες παίρνουν μέρος σε περιορισμένο αριθμό πολλαπλασιαζόμενων νεοπλασματικών κυττάρων¹⁰⁸.

Στοιχεία που ενισχύουν την παραπάνω υπόθεση είναι ότι, πειράματα σύζευξης πυρηνικού οξέος, αποδεικνύουν την παρουσίαση πολλαπλών ανατύπων του ιού EB μέσα στα DNA νεοπλασματικών κυττάρων λεμφώματος Burkitt, μη παραγόντων ιού, το οποίο είναι στενά συνδεδεμένο με τα χρωμοσώματα αυτών¹⁰⁹. Ο μηχανισμός με τον οποίο ενεργοποιούνται τα γονίδια του ιού παραμένει ακόμη άγνωστος. Έχει αποδειχθεί ότι λευκοκύτταρα ανθρώπου με την επίδραση ιού του EB in vitro μετατρέπονται από κύτταρα ανίκανα να πολλαπλασιασθούν μέσα σε ιστοκαλλιέργεια σε λεμφοβλαστικά στοιχεία ικανά για συνέχρη υπερπλασία¹¹⁰. Τα παραπάνω κυτταρικά στοιχεία παρουσιάζουν επίσης χαρακτηριστικές χρωμοσωμιακές ανωμαλίες συνιστάμενες πέραν των άλλων σε περίσφιξη του μακρού σκέλους του χρωμοσώματος Νο 10¹¹¹. Η ίδια χρωμοσωμιακή ανωμαλία παρατηρείται και σε κύτταρα ιστοκαλλιεργείων από λεμφώματα Burkitt. Παρόμοιες επίσης αν και λιγώτερο εκσεσημασμένες αλλοιώσεις έχουν ανακοινωθεί και αφορούσαν σε ιστοκαλλιέργειες ινοβλαστών ανθρώπου¹¹². Όλοι οι ασθενείς με λεμφώματα Burkitt παρουσιάζουν στον ορό τους αντισώματα αντί-EB ιού. Παρόμοια αντισώματα χαμηλότερου τίτλου βρέθηκαν και σε μεγάλο αριθμό ενηλίκων υγιών ατόμων¹¹³. Η ερμηνεία στο παράδοξο αυτό φαινόμενο είναι ότι, η μετατροπή του ορού των ανθρώπων από EB-αρνητικούς σε EB-θετικούς λαμβάνει χώρα μετά από νόσηση από λοιμώδη μονοπυρήνωση¹¹⁴, αιτία της οποίας είναι επίσης ο ιός EB. Μερικές όμως φορές αυτή εξελίσσεται υποκλινικά.



Εξ' άλλου, λεμφοβλάστες που παίρνονται από άτομα που πάσχουν από λοιμώδη μονοπυρήνωση και αναπτύσσονται σε ιστοκαλλιέργειες, μπορούν να ενεργοποιηθούν για παραγωγή ιού EB. Μετά απ' αυτά που εκτέθηκαν παραπάνω, παραμένει το ερώτημα, εάν ο ιός EB προκαλεί τη νόσο του Burkitt. Υπάρχουν ενδεικτικά στοιχεία τα οποία ενισχύουν την άποψη ότι ο ιός EB είναι ογκογόνος ιός του ανθρώπου και ότι πιθανώτατα αποτελεί τον αιτιολογικό παράγοντα του λεμφώματος Burkitt. Αυτά είναι: α) Ο ιός EB αναμφισβήτητα αποτελεί το αίτιο της λοιμώδους μονοπυρήνωσης. Η νόσος αυτή εκτός από την αυτόματη ίαση προσομοιάζει με το λέμφωμα Burkitt, ιδίως στα αρχικά στάδια της. β) Ο ιός EB προκαλεί μετατροπή in vitro των κυτταρικών στοιχείων του λεμφικού ιστού του ανθρώπου. γ) Υπάρχει ορολογική συσχέτιση μεταξύ ιού EB και λεμφώματος Burkitt και δ) Η δυνατότητα προσδιορισμού αντιγόνων ιού EB στα νεοπλασματικά κύτταρα του λεμφώματος Burkitt ή αντίστροφα, η παρουσία των EB μετά από καλλιέργεια in vitro ιστικών στοιχείων από το παραπάνω λέμφωμα.

Όπως είναι γνωστό, όλα τα παραπάνω στοιχεία δεν είναι αποδεικτικά της αιτιολογίας της νόσου, εν τούτοις κανένας δεν μπορεί να αρνηθεί ότι συνηγορούν σημαντικά για αυτή.

4. Ο ιός Saimiri

Ο Melender το 1969 κατόρθωσε να απομονώσει από ιστοκαλλιέργεια νεφρών κάποιου είδους πιθήκου (Squirrei) ιό του γένους του έρπητα, ο οποίος προκαλεί κακόηθες λέμφωμα ή δικτυοσάρκωμα σε άλλα είδη πιθήκων και κονίκλους. Αρχικά διευτώθηκε η άποψη ότι, ο εν λόγω ιός δεν ήταν νοσογόνος στους φυσικούς του ξενιστές, αργότερα όμως έγινε γνωστό ότι η πλειονότητα των ζώων ξενιστών αναπτύσσει στον ορό αυτών αντισώματα εναντίον αυτού του ιού¹¹⁵. Τα αντισώματα



αυτά μπορούν να προκαλούν αλλοίωση των αποτελεσμάτων των δοκιμασιών για τον καθορισμό τόσο της νοσογόνου όσο και της νεοπλασματικής ικανότητας του ιού. Ο εν λόγω ιός παρουσιάζει αρκετά χαρακτηριστικά, τα οποία είναι δυνατόν να παραλληλισθούν μ' εκείνα του ιού του EB των ανθρώπων έτσι: α) Μπορεί να ληφθεί από τα λευκοκύτταρα του περιφερικού αίματος των περισσοτέρων ζώων - ζενιστών. β) Όπως τα νεοπλασματικά κύτταρα του όγκου Burkitt είναι ελεύθερα ιών, έτσι και τα κυτταρικά στοιχεία όγκων, που αναπτύχθηκαν μετά από ενοφθαλμισμό του ιού σε άλλο είδος πιθήκων, δεν περιέχουν ιό ή σωματίδια αυτού. γ) Οι γενικές ιδιότητες της ανάπτυξης των νεοπλασματικών κυττάρων σε ιστοκαλλιέργειες προσομοιάζουν με εκείνες των κυττάρων του ανθρώπου, που φέρουν ιό EB.

Εξαιτίας των ιδιοτήτων του ιού που αναφέρθηκαν παραπάνω, ο ιός Saimiri αποκτά τεράστιο ενδιαφέρον, δεδομένου ότι είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί σαν πρότυπο για τη μελέτη των αλληλεπιδράσεων μεταξύ του ιού EB και ανθρώπων.

Πιο κάτω θα αναφερθούμε με λίγα λόγια σ' άλλες τρεις νεοπλασματικές νόσους, οι οποίες πιθανώς είναι άμεσα συνδεδεμένες με τους ιούς του γένους του έρπητα.

α) Καρκινώματα του τραχήλου της μήτρας

Σε γυναίκες που πάσχουν από καρκίνο του τραχήλου της μήτρας βρέθηκαν στον ορό τους αντισώματα κατά του ιού του έρπητα τύπου 2. Αναφέρεται ότι σε κύτταρα που πάρθηκαν με επιχρίσματα του τραχήλου γυναικών, που υπέφεραν από καρκίνο τραχήλου της μήτρας, βρέθηκαν αντιγόνα ειδικά του ιού του έρπητα¹¹⁶. Επιπλέον αναφέρεται ότι ο ιός του απλού έρπητα τύπου 2 όταν ακτινοβοληθεί με υπεριώδη ακτινοβολία προκαλεί μεταμόρφωση των κυττάρων ιστοκαλλιέργειας Hamster¹¹⁷. Όλα τα παραπάνω εκτεθέντα αποτελούν ένδειξη μόνο ότι ο ιός του απλού έρπητα τύπου 2 συνυπάρχει μερικές φορές με τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.



β) Ρινοφαρυγγικό καρκίνωμα

Ορολογικές συσχετίσεις βρέθηκαν μεταξύ του ιού EB και ρινοφαρυγγικού καρκινώματος που αναπτύσσεται σε άτομα Κινεζικής φυλής της ΝΑ Ασίας και μεταξύ ιού EB και νόσου του Hodgkin¹¹⁸. Επί πλέον, DNA του ιού EB ανιχνεύεται σταθερά σε ρινοφαρυγγικό καρκίνωμα. Εάν ο ιός του EB αποτελεί τον αιτιολογικό παράγοντα του ρινοφαρυγγικού καρκινώματος ή απλά συνυπάρχει μ' αυτό, παραμένει ακόμη άγνωστο.

γ) Λέμφωμα των κονίκλων

Ιός του γένους του έρπητα απομονώθηκε σε κονίκλους και προκαλεί την ανάπτυξη λεμφώματος σε άγριους κονίκλους¹¹⁹. Συμπερασματικά, είναι ολοφάνερο ότι σε μεγάλη ποικιλία ζώων ο ιός του έρπητα εισδύει μέσα στα λευκοκύτταρα, τα οποία κάτω από την επίδραση του ιού αρχίζουν να υπερπλάσσονται. Σε μερικές περιπτώσεις η υπερπλασία αυτή καταλήγει σε ανάπτυξη κακοήθους επεξεργασίας (Marek νόσος των ορνίθων), ενώ σε άλλες (ιός EB ανθρώπου) δεν είμαστε βέβαιοι. Σε όλα τα παραπάνω αναφερθέντα παραδείγματα το DNA του έρπητα φαίνεται να συνδέεται σταθερά με το DNA του κυττάρου - ξενιστή και προκαλεί το θάνατο του κυττάρου σε κάθε περίπτωση ενεργοποίησης αυτού με επακόλουθο την παραγωγή ιού.

Οικογένεια Papovaviridae Η οικογένεια των ιών αυτών περιλαμβάνει δύο γένη:

1) Papillomavirus και



2) Polyomavirus

Τα δύο αυτά γένη, αν και ουσιαστικά διαφέρουν μεταξύ τους τόσο κατά το μέγεθος όσο και κατά την περιεκτικότητα σε πυρηνικό οξύ, παρουσιάζουν πολλές κοινές ιδιότητες, όπως η ικανότητα σε ανάπτυξη όγκων. Σε φυσιολογικές συνθήκες κάποιοι από αυτούς τους ιούς προκαλούν την ανάπτυξη μονήρων καλοήθων νεοπλασμάτων, τα οποία μπορούν να παρουσιάσουν κακοήθη εξαλλαγή σε ορισμένο μόνο είδος ζώων, ενώ άλλοι προκαλούν την ανάπτυξη πρωτοπαθών όγκων κατά κανόνα κακοήθων, σε σύντομο σχετικά χρονικό διάστημα, μετά από ενοφθαλμισμό τους σε νεογέννητα τρωκτικά. Οι ιοί της παραπάνω οικογένειας αποτελούνται από ένα κυκλικό μόριο διπλής έλικας DNA 3 και 5 εκατομμυρίων Daltons, έχουν εικοσαεδρική κάψα διαμέτρου 55 ημ. και 45 ημ. αντίστοιχα, με 72 καψομερίδια χωρίς περικάλυμμα, πολλαπλασιάζονται όμως μέσα στον πυρήνα του κυττάρου - ξενιστή.

- 1) Papillomavirus

α) Ιός των θηλωμάτων του κονίκλου

Αυτός είναι πλατιά διαδεδομένος σε φυσικά διαβιούντες κονίκλους (*Sylvilagus Floridanus*) στις μεσοδυτικές πολιτείες των ΗΠΑ. Μεταδίδεται με αρθρόποδα¹²⁰, προκαλεί όμως την ανάπτυξη δερματικών νεοπλασμάτων υφιστάμενων εκσεσημασμένη κερατινοποίηση (κεράτωση). Ιστολογικά πρόκειται για επιθηλιακά νεοπλάσματα¹²¹. Κατοικίδια ζώα (*Oryctolagus Cuniculus*) με άμεση μόλυνση με τον ιό αναπτύσσουν τελείως όμοια νεοπλάσματα, από τα οποία πολύ σπάνια λαμβάνεται ιός¹³⁰, αν και περιέχουν λοιμογόνο DNA¹²². Και στα δύο είδη ζώων, ο αναδιπλασιασμός του DNA στα αναπαραγόμενα βασικά κύτταρα της επιδερμίδας αναστέλλεται, παίρνει όμως μέρος στα κερατινοποιημένα επιθηλιακά κύτταρα με επακόλουθο τη σύνθεση ιογενών πρωτεϊνών και παραγωγή πλήρους ιού¹²³. Αρκετά μεγάλη αναλογία θηλωμάτων παθαίνει κακοήθη εξαλλαγή προς μαλπιγγιακά



καρκινώματα 4 έως 9 μήνες από την εμφάνισή τους. Τα παραπάνω καρκινώματα δεν παράγουν λοιμογόνο ιό, περιέχουν όμως μη ιογενή αντιγόνα¹²⁴. Γενικά ο ιός των θηλωμάτων των κονίκλων φαίνεται ότι ακολουθεί τις αρχές των περισσότερων ογκογενών DNA ιών. Εν τούτοις, αυτός παρουσιάζει και μερικά ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τα οποία τον κάνουν μοναδικό, όπως η παραγωγή και ανάπτυξη λοιμογόνου νουκλεϊνικού οξέος από τα μη λοιμογόνα θηλώματα (ελευθέρων ιού) και η αυξημένη δραστηριότητα της αργινάσης των προσβεβλημένων με ιό κυττάρων. Το 1962 ο Ito κατόρθωσε τον αποχωρισμό λοιμογόνου DNA από καρκινώματα, κακοήθως εξαλλαγέντα θηλώματα, που αναπτύχθηκαν σε κατοικίδιους κονίκλους, είτε με τον ιό των θηλωμάτων, είτε με το DNA του ιού αυτού. Ο ιός των θηλωμάτων προκαλεί την παραγωγή αργινάσης στα μαλπιγγιανά κύτταρα των κονίκλων που ζουν ελεύθεροι και στα κύτταρα των κατοικίδιων τόσο *in vivo* όσο και *in vitro*^{125, 126}. Αν και μερικοί ερευνητές υποστηρίζουν την ιογενή προέλευση του ενζύμου αργινάσης¹²⁷, ο Orth¹²⁸ παρέχει σοβαρές ενδείξεις, ότι το ένζυμο αυτό παράγεται από το κύτταρο - ξενιστή.

β) Ιός των θηλωμάτων του ανθρώπου (HPV)

Ο ιός αυτός προκαλεί την ανάπτυξη μολυσματικών ακροχορδόνων σε ανθρώπους, παρουσιάζει όμως τους μορφολογικούς χαρακτήρες του ιού των θηλωμάτων του Shope¹²⁹. Σε καλλιέργειες νεφρικών κυττάρων πιθήκου ή εμβρυϊκών κυττάρων επιδερμίδος ανθρώπου, ο εν λόγω ιός προκαλεί ενίοτε παθολογικές αλλοιώσεις^{130, 131}. Ο ιός των ακροχορδόνων δε βρίσκεται στις βαθύτερες στιβάδες των κυττάρων αλλά στις επιπολής, όπου τα νεοπλασματικά κύτταρα υφίστανται κερατινοποίηση. Φαίνεται ότι το γονίδιο του ιού βρίσκεται στα κύτταρα της βασικής



στιβάδας σε μορφή προ - ιού, που μετατρέπεται σε πλήρη, ώριμο ιό μόνο όταν τα επιθηλιακά κύτταρα της επιδερμίδας αρχίζουν να κερατινοποιούνται. Άγνωστος παραμένει ακόμη ο μηχανισμός του παραπάνω φαινομένου.

γ) Ιός των θηλωμάτων των βοοειδών

Ο ιός αυτός είναι μορφολογικά όμοιος με τους άλλους 2 προαναφερθέντες ιούς¹³².

2. Polyomavirus

Στο γένος αυτό περιλαμβάνονται 2 ιοί:

α) Polyoma ιός και

β) Simian ιός 40.

α) Polyoma ιός

Αυτός ενδημεί σε πληθυσμούς επίμυων, που ζουν φυσικά, και θεωρείται όμως μη παθογόνος ιός. Εν τούτοις, σε διαφορετικές τεχνικά παραγόμενες συνθήκες προκαλεί την ανάπτυξη νεοπλασμάτων σε νεογέννητους επίμυες¹³³. Τα νεοπλάσματα που αναπτύσσονται συνηθέστερα είναι όγκοι της παρωτίδος και ινοσαρκώματα. Ο εν λόγω ιός προκαλεί την ανάπτυξη νεοπλασμάτων και σε άλλα είδη ζώων, πλην των



επίμυων, με ενοφθαλμισμό αυτών αμέσως μετά την γέννησή τους, ως Hamsters, επίμυς και κόνικλοι.

Ειδικότερα, τα Hamsters αναπτύσσουν νεοπλάσματα μετά από ενοφθαλμισμό αυτών και μετά 3 εβδομάδες από τη γέννησή τους. Τα νεοπλάσματα που αναπτύσσονται στα παραπάνω ζώα αποτελούν κυρίως σαρκώματα νεφρών, που γίνονται ορατά με γυμνό οφθαλμό από την 7η ημέρα από τον ενοφθαλμισμό, σε αντίθεση προς τα νεοπλάσματα των Mice, τα οποία εμφανίζονται όχι νωρίτερα από την 6η εβδομάδα από τον ενοφθαλμισμό. Τα νεοπλάσματα που αναπτύσσονται στους επίμυες αποτελούν κυρίως σαρκώματα, ενώ στους κόνικλους αναπτύσσονται πολλαπλά υποδόρια ινώματα, τα οποία υποστρέφουν μέσα σε διάστημα 4 μηνών. Χαρακτηριστικό είναι ότι όλα τα προκαλούμενα από τον ιό του Polyoma νεοπλάσματα δεν περιέχουν λοιμογόνο ιό, ούτε ιογενή σωματίδια, βρίσκονται όμως μέσα στα νεοπλασματικά κύτταρα με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

β) Simian ιός 40

Γένος Αδενοϊών

Το γένος των Αδενοϊών περιλαμβάνει πολλά είδη απ' αυτά που βρίσκονται στα θηλαστικά (άνθρωποι, πίθηκοι, βοοειδή) και σ' αρκετά πτηνά¹³⁴. Οι εν λόγω ιοί αποτελούνται από ένα ευθύ μόριο διπλής έλικας DNA, μοριακού βάρους 20-29 εκατομ. Daltons. Η κάψα τους παρουσιάζει εικοσαεδρική συμμετρία διαμέτρου 80 ημ., φέρνει όμως 252 καψομερίδια και νηματοειδείς προεκβολές σαν κεραίες οι οποίες προβάλλουν από τις 12 πλευρές. Οι εν λόγω ιοί δεν έχουν κέλυφος, πολλαπλασιάζονται όμως μέσα στον πυρήνα του κυττάρου - ξενιστή. Με ορολογικές μεθόδους αναγνωρίζονται 33 τύποι των ανθρώπων, 12 τύποι των πιθήκων και αρκετοί των πτηνών.



Η ογκογόνος δυνατότητα αρκετών αδενοϊών του ανθρώπου για πρώτη φορά αναγνωρίστηκε από τον Trentin¹³⁵, ο οποίος με ενοφθαλμισμό νεογέννητων Hamsters με αδενοϊό ανθρώπου τύπου 12 προκάλεσε την ανάπτυξη σαρκωμάτων. Από τότε διάφοροι ερευνητές απέδειξαν ότι, τουλάχιστον 12 από τους 33 τύπους αδενοϊών του ανθρώπου καθώς και άλλων ζώων προκαλούν την ανάπτυξη νεοπλασμάτων σε διάφορα είδη τρωκτικών. Στις περισσότερες από τις περιπτώσεις οι αναπτυσσόμενοι όγκοι αφορούν σε σαρκώματα, μερικές φορές όμως μοιάζουν με κακοήθη λεμφώματα¹³⁶. Η ικανότητα για ανάπτυξη νεοπλασμάτων των διαφόρων τύπων αδενοϊών του ανθρώπου ποικίλλει, βάσει δε αυτής κατατάσσονται σε τρεις υποομάδες. 1η Υψηλής ογκογονιτικής ικανότητας (τύπος 12,18 και 31). 2η. Ασθενούς ογκογονιτικής ικανότητας (τύπος 3,7,11,14,16 και 21) και 3η. Μη ογκογόνοι αδενοϊοί¹³⁷. Επανεπιλημμένες προσπάθειες απομόνωσης λοιμογόνου ιού, απ' αυτούς που αναπτύχθηκαν σε νεοπλάσματα, κατέληξαν σε αποτυχία¹³⁸. Εν τούτοις ο Huebener και συνεργ.¹³⁹ απέδειξαν ότι, τα εν λόγω νεοπλάσματα περιέχουν αντιγόνο (T - αντιγόνο) που ανιχνεύεται με τη μέθοδο του ανοσοφθορισμού. Το αντιγόνο αυτό, αν και δεν είναι αντιγόνο του ιού, φαίνεται να είναι ειδικό του ιού. Με δεδομένο ότι τα ζώα που αναπτύσσουν όγκο παράγουν αντισώματα κατά του T-αντιγόνου, αυτά θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν για την ανίχνευση πιθανής νεοπλασματικής νόσου από αδενοϊούς. Ορός που πάρθηκε από 389 ασθενείς με συμπαγείς νεοπλασματικούς όγκους σε προχωρημένο στάδιο, εξετάστηκε για ανίχνευση αντισωμάτων κατά του αντιγόνου T των αδενοϊών 12 και 27. Σημαντική εν τούτοις διαφορά δε βρέθηκε στον ορό που πάρθηκε από υγιή άτομα¹⁵⁵. Εξ' άλλου, η ανίχνευση ιογενούς DNA σε τεμάχια που πάρθηκαν από 200 διαφορετικούς όγκους, που αναπτύχθηκαν σε ανθρώπους, έγινε αδύνατη¹⁴⁰. Από τα παραπάνω πειραματικά δεδομένα συνάγεται ότι, οι αδενοϊοί δεν αποτελούν προφανώς αιτιολογικούς παράγοντες της νεοπλασματικής νόσου του ανθρώπου.



RNA ΟΓΚΟΓΕΝΕΙΣ ΙΟΙ

Την τελευταία δεκαετία υπήρξε εμφανής μεταστροφή του ενδιαφέροντος των ερευνητών από τους DNA ογκογενείς ιούς προς τους RNA ιούς. Το γεγονός αυτό προφανώς οφείλεται εν μέρει μεν στις δικαιολογημένες αμφιβολίες, τις οποίες εγείρουν οι χρησιμοποιούμενες μέθοδοι για τη μελέτη της σχέσης των DNA ιών με τη φυσικά απαντώμενη νεοπλασματική νόσο του ανθρώπου και των ζώων, εν μέρει δε στις νέες αντιλήψεις, οι οποίες προέκυψαν μετά την ανακάλυψη του φαινομένου της ανάστροφης τρανσκριπτάσης. Οι RNA ιοί είναι πλατιά διαδεδομένοι στη φύση, κατατάσσονται όμως σε 11 ομάδες, μία από τις οποίες προκαλεί την ανάπτυξη νεοπλασματικών επεξεργασιών. Η ομάδα αυτή είναι το γένος των Λευκοϊών, που αλλιώς ονομάζονται Oncoμα ιοί, C- τύπου ιοί, Rous ιοί ή Thyλαχονιρίται. Με βάση βιολογικά και ορολογικά χαρακτηριστικά, το γένος των Λευκοϊών υποδιαιρείται σε 4 υπογένη: α. Στην ομάδα αυτή υπάγονται οι ιοί που προκαλούν τη λεύκωση των πτηνών και τη λευχαιμία ή σάρκωμα των επίμυων. β. Ο ιός των όγκων των μαστών των επίμυων. γ. Ιοί που προκαλούν παθήσεις του αναπνευστικού ή νευρικού συστήματος (απομυέλωση) των προβάτων και δ. Ιοί που προκαλούν μη εμφανείς φλεγμονώδεις νόσους σε γάλα πιθήκων και δαμάλης.

Τα κοινά χαρακτηριστικά όλων των ιών του είδους είναι:

1. Το γένωμα αυτών αποτελείται από ένα ταινιοειδές μόριο RNA, μοριακού βάρους 10-20 εκατομ. Daltons, περιβάλλεται όμως από σωληνώδη νουκλεοκάψα.
2. Η λεπτή υφή τους είναι σχεδόν όμοια.
3. Όλα τα μέλη του γένους περιέχουν το ένζυμο της ανάστροφης τρανσκριπτάσης (RNA εξηρητημένη DNA πολυμεράση).



4. Κάθε μέλος του γένους παρουσιάζει ειδικό αντιγόνο.
5. Όλοι οι λευκοϊοί παρουσιάζουν την ίδια περίπου χημική σύνθεση, καθώς αποτελούνται από 60-70 πρωτεΐνες, 20-30 λιπίδια, 2-3 υδρογονάνθρακες, 1% RNA και πολύ μικρό ποσοτό DNA.

Πιο κάτω θα αναφερθούμε λεπτομερέστερα στη λεπτή υφή των λευκοϊών ιδιαίτερα όμως του υπογένους Α. Εδώ θεωρούμε σκόπιμο πριν από την περιγραφή της πολύπλοκης κατασκευής των Λευκοϊών να αναφερθούμε για λίγο στην επεξήγηση κάποιων όρων, όπως σωματίδια τύπου C που ευρέως χρησιμοποιούνται στη σύγχρονη βιβλιογραφία.

A-B και C τύπου σωματίδια

Ο χαρακτηρισμός των σωματιδίων αυτών εισήχθηκε για πρώτη φορά από τον Beruhard το 1958¹⁴¹, βάσει των μορφολογικών χαρακτήρων που παρουσιάζουν κάτω από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο οι ιοί του αδενοκαρκινώματος των μαστών και της λευχαιμίας των επίμυων. Η βασική διαφορά μεταξύ της μορφολογικής εξέλιξης των λευκοϊών του υπογενούς Α της λευχαιμίας και αυτών του υπογένους Β του αδενοκαρκινώματος του μαστού είναι ότι, ο τελευταίος αυτός σχηματίζει στο πρωτόπλασμα του κυττάρου - ξενιστή καλά ανεπτυγμένα σφαιρικά σωματίδια που ονομάζονται ενδοπρωτοπλασματικά σωματίδια τύπου Α. Τα εν λόγω σωματίδια, καθώς ωριμάζουν, αποκτούν περίβλημα που βλαστάνει από την κυτταρική μεμβράνη, ονομάζονται δε "περιβεβλημένα σωματίδια Α.". Τα σωματίδια τύπου Β, τα οποία βρίσκονται μόνο στο αδενοκαρκίνωμα του μαστού, φαίνεται να αποτελούν εκφυλιστικές μορφές των περιβεβλημένων σωματιδίων Α, των οποίων ο πυρήνας διαχωρίστηκε από το περίβλημα. Αντίθετα, οι λευκοϊοί του υπογένους Α ονομαζόμενοι σωματίδια τύπου C δε σχηματίζονται μέσα στο πρωτόπλασμα των



κυττάρων - ξενιστών, αλλά αποκτούν το πολύπλοκο σχήμα τους κατά τη στιγμή της εκβλάστησής τους από την κυτταρική μεμβράνη.

Οι μορφολογικές εξελίξεις των λοιπών λευκοϊών δεν έχουν πλήρως ερευνηθεί. Φαίνεται όμως ότι οι ιοί του υπογένους Γ ωριμάζουν όπως αυτοί του υπογένους Α, ενώ αυτοί του υπογένους Δ όπως αυτοί του υπογένους Β, αν και είναι λίγο μικρότεροι (50 ημ. προς 70 ημ).

Λεπτή υφή των λευκοϊών του υπογένους Α

Οι εν λόγω ιοί, όταν παρατηρούνται με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σε αρνητικής χρώσης παρασκευάσματα παρουσιάζουν πολυμορφία, μερικοί όμως απ' αυτούς φέρουν ουρά. Σήμερα πιστεύεται ότι αυτό οφείλεται σε τεχνικό λάθος. Τομές όμως που πάρθηκαν από καλά μονιμοποιημένα παρασκευάσματα, αποδεικνύουν ότι το σχήμα των ιών αυτών είναι σχεδόν σφαιρικό, με διάμετρο περίπου 100ημ. Το από λιποπρωτεΐνες κέλυφός τους περιέχει πολλαπλά, σαν κόμβους, πεπλομερίδια, που αποτελούνται από γλυκοπρωτεΐνες¹⁴². Το κυρίως σώμα του ιού, παρουσιάζει την πολυπλοκότερη κατασκευή από όλους τους RNA ιούς. Οφείλεται στην πληθώρα των γενετικών πληροφοριών τις οποίες μεταφέρουν οι λευκοϊοί. Έτσι το κυρίως σώμα τους παρουσιάζει κυβική συμμετρία και αποτελείται από 2 στοιχεία: α) Στιβάδα από δακτυλιοειδείς σχηματισμούς, διαμέτρου 6 ημ. με σχήμα εξαγωνικό, οι οποίοι επικάθονται. β) Μembrάνη πάχους 3 ημ., η οποία περικλείει σωληνοειδή σχηματισμό, που παρουσιάζει ελικοειδή συμμετρία.

Ο παραπάνω σχηματισμός συνήθως είναι δακτυλιοειδής, μερικές φορές όμως προσλαμβάνει συμπαγή μορφή. Πιστεύεται ότι το πυρηνικό οξύ του ιού είναι συνδεδεμένο με το σχηματισμό αυτό.



Πρωτεΐνες και αντιγόνα των λευκοϊών.

Η περιγραφή των πρωτεϊνών και των αντιγόνων των λευκοϊών γίνεται εξαιρετικά δύσκολη, αφ' ενός μεν εξαιτίας της έλλειψης κοινής ορολογίας, αφ' ετέρου δε γιατί επικρατούν μικρές διχογνωμίες μεταξύ των διαφόρων ερευνητών¹⁴³. Γενικά μπορεί να λεχθεί ότι οι λευκοϊοί περιέχουν 7 ή 8 πολυπεπτίδια από τα οποία 2 είναι γλυκοπρωτεΐνες που βρίσκονται σαν πεπλομερίδια στο περίβλημα του ιού, παρουσιάζουν όμως ειδική του είδους αντιγονική ιδιότητα. Το κύριο σώμα του ιού περιέχει αρκετά πολυπεπτίδια, πολλά από τα οποία παρουσιάζουν 2 τύπους αντιγονικών ιδιοτήτων:

- α) Αντιγόνα ειδικά, που συναντιώνται σε όλους τους λευκοϊούς που απομονώθηκαν από ένα είδος πειραματόζωου και
- β) Ειδικά αντιγόνα κοινά σε όλους τους ιούς που απομονώθηκαν από διαφορετικά είδη πειραματόζωων. Όλοι οι ιοί RNA περιέχουν αντιγόνα του τύπου α , αντίθετα αντιγόνα τύπου β περιέχουν μόνο οι ιοί της λευχαιμίας των θηλαστικών.

Ένζυμα

Οι λευκοϊοί περιέχουν πληθώρα ενζύμων, μεταξύ των οποίων είναι: γαλακτική αφυδρογονάση και εξοκινάση¹⁴⁴, ριβονουκλεάση¹⁴⁵, ριβολουκλεάση¹⁴⁶, ενδονουκλεάση¹⁴⁷, εξωνουκλεάση, πολυνουκλεοειδική συνδεσμάση, ΑΤΡάση¹⁴⁸, πυρηνική κινάση και φωσφατάση, πρωτεϊνική κινάση¹⁴⁹, RNA μεθυλάση¹⁵⁰ και το κυριώτερο ένζυμο η RNA εξηρημένη, DNA πολυμεράση ή ανάστροφη τρανσκριπτάση.

Αρκετά από τα παραπάνω ένζυμα, όπως η ΑΤΡάση, βρίσκονται στο περίβλημα



του ιού, τα περισσότερα όμως από αυτά είναι συνδεδεμένα με τον κυρίως ιό, δηλαδή με το πυρηνίδιο αυτού. Δεν έχει ακόμη διευκρινισθεί εάν τα παραπάνω ένζυμα παράγονται από τον ιό ή εάν αυτά απορροφώνται απ' αυτόν στην περίοδο της ωρίμανσής του. Η τρίτη εκδοχή είναι ότι αυτά βρίσκονται σε μικρά κενοτόπια, τα οποία παίρνονται μαζί με τον ιό στην επεξεργασία της κάθαρσής του. Παρά την έλλειψη σαφών ενδείξεων, πιστεύεται ότι τα παραπάνω ένζυμα είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη του ιού, αφού δρουν π.χ. με τον εξής τρόπο: η ανάστροφη τρανσκριπτάση συμβάλλει στη σύνθεση του DNA, το οποίο στη συνέχεια με τη δράση συνδεσμάσων και νουκλεασών ενσωματώνεται στο DNA του κυττάρου ξενιστή, από το οποίο θα λάβει μέρος η αναπαραγωγή ιού. Η ανάστροφη τρανσκριπτάση έχει ληφθεί σε κεκαθαρμένη μορφή από αρκετούς λευκοϊούς και έχει εκτενώς μελετηθεί από διάφορους ερευνητές¹⁵¹. Το ένζυμο αυτό βρίσκεται επί τα εντός του περιβλήματος του ιού, υπολογίσθηκε δε ότι αντιστοιχούν δέκα μόρια ενζύμου ανά εκατό ιού¹⁵², το μοριακό όμως βάρος αυτού είναι περίπου 90.000 Daltons¹⁵³ στον ιό των επίμυων. Αντίθετα, το ένζυμο αυτό, που παίρνεται από τους ιούς πτηνών αποτελείται από δύο πολυπεπίδια 110.000 και 69.000 Daltons αντίστοιχα. Το ένζυμο αυτό αποτελεί ειδικό αντιγόνο τελείως διαφορετικό από τα υπόλοιπα αντιγόνα του ιού.

Λιπίδια

Όλα σχεδόν τα λιπίδια των λευκοϊών βρίσκονται εντοπισμένα στο περίβλημα αυτών. Όπως είναι γνωστό το τελευταίο αυτό προέρχεται από την κυτταρική μεμβράνη του κυττάρου - ξενιστή. Ως εκ τούτου, η σύνθεση των λιπιδίων του ιού δε διαφέρει απ' αυτή των λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης. Εν τούτοις, κάποιιοι ερευνητές βρήκαν σε κάποιες περιπτώσεις ελάχιστες αλλά σαφείς διαφορές¹⁵⁴. Αυτό



οφείλεται πιθανώς στο ότι η εκβλάστηση του ιού παίρνει μέρος σε καθορισμένες περιοχές της κυτταρικής μεμβράνης του κυττάρου ξενιστή, οι οποίες παρουσιάζουν διαφορετική σχέση με τις υπόλοιπες περιοχές αυτής.

Πυρηνικά οξέα

Τα πυρηνικά οξέα όλων των ογκογενών ιών αποτελούνται από τα εξής 5 συστατικά:

1. RNA ταινιοειδές υψηλού μοριακού βάρους

Πιστεύεται ότι στο οξύ αυτό εδράζεται η γενετική ουσία του ιού, αποτελείται όμως από δύο υπομονάδες α και β, οι οποίες διαχωρίζονται ηλεκτροφορητικά. Η μεγαλύτερη υπομονάδα α βρίσκεται μόνο στους ιούς οι οποίοι παρουσιάζουν την ικανότητα μεταμόρφωσης των ινοβλαστών ιστοκαλλιέργειας. Η τυχόν απώλεια της υπομονάδας αυτής συνοδεύεται από απώλεια της ικανότητας του ιού για μεταμόρφωση ινοβλαστών της ιστοκαλλιέργειας χωρίς όμως την ικανότητα του ιού για αναδιπλασιασμό. Βρέθηκαν επίσης ποιοτικές διαφορές της σύνθεσης της εν λόγω υπομονάδας¹⁵⁵.

2. 4S RNA

Οι λευκοϊοί των πτηνών περιέχουν 20 περίπου μόρια 4S RNA, τα οποία δε διαφέρουν από αυτό του κηττάρου - ξενιστή¹⁵⁶. Μέρος του 4S RNA είναι συνδεδεμένο με το υψηλό μοριακό βάρος RNA με δεσμούς υδρογόνου¹⁵⁷.



3. 5 - 7 S RNA

Ο ιός του σαρκώματος του Rous περιέχει 4 περίπου μόρια 5-7 S RNA, μοριακού βάρους 80.000 Daltons, το οποίο προσομοιάζει με το 5S RNA, που βρίσκεται στα ριβοσώματα¹⁵⁸.

4. 18 και 28 S RNA

Πάρα πολλοί λευκοί περιέχουν μικρή ποσότητα 18 και 28 S RNA σε όλα όμοια μ' αυτό των ριβοσωμάτων του κυττάρου ξενιστή. Αυτό πιστεύεται ότι είναι απότοκο της μη καλής λήψης κεκαθαρωμένων παρασκευασμάτων του ιού.

5. DNA

Αρκετοί ογκογενείς RNA ιοί περιέχουν μικρή ποσότητα DNA¹⁵⁹, το οποίο σχεδόν είναι όμοιο με το DNA του κυττάρου – ξενιστή¹⁶⁰ και του οποίου η δράση παραμένει άγνωστη. Πιο κάτω θ' αναφερθούμε στην περιγραφή τριών φυσικών απαντώμενων νεοπλασματικών νόσων των ζώων οι οποίες προκαλούνται από RNA ιούς και στους οποίους στηρίζονται οι πρόσφατες αντιλήψεις και βασικές θεωρίες ιογενούς καρκινογένεσης. Αυτές είναι:

1. Λευχαιμία των επίμυων (γίνεται αναφορά στο κεφάλαιο «Συζήτηση»)
2. Το καρκίνωμα των μαστών των επίμυων
3. Το σάρκωμα του Rous.



2. Καρκινώματα των μαζικών αδένων των επίμυων. (Λευκοϊός υπογένους Β) Ο Bittner¹⁶¹ για πρώτη φορά διατύπωσε την άποψη ότι τα καρκινώματα των μαζικών αδένων των επίμυων οφείλονται στη συνύπαρξη και αλληλοεπίδραση τριών παραγόντων δηλαδή:

- α) Γενετικού
- β) Ορμονικού και
- γ) Παράγοντα που βρίσκεται μέσα στο γάλα, και που παρουσιάζει τα χαρακτηριστικά ιού.

Αργότερα, όταν ο ιός μπόρεσε να παρθεί σε καθαρή μορφή, αποδείχθηκε ότι είναι παρόμοιος με τον ιό της λευχαιμίας των επίμυων με ελάχιστες μόνο μορφολογικές διαφορές¹⁶². Τα σωματίδια αυτά του ιού ονομάστηκαν "Β σωματίδια" σε αντιδιαστολή προς τα περισσότερο συμμετρικά C σωματίδια του ιού της λευχαιμίας. Σε αντίθεση προς τους άλλους λευκοϊούς, σωματίδια των οποίων δεν παρατηρούνται μέσα στο πρωτόπλασμα των κυττάρων ξενιστών, άωρα σφαιρικά σωματίδια των ιών αυτών βρίσκονται μέσα στο πρωτόπλασμα των προσβεβλημένων κυττάρων, τα ονομαζόμενα σωματίδια Α. Τα σωματίδια αυτά ωριμάζουν με εκβλάστηση διά μέσου της πρωτοπλασματικής μεμβράνης των κυττάρων-ξενιστών.

Ο ιός του καρκινώματος των μαζικών αδένων των επίμυων, όπως και οι άλλοι λευκοϊοί αυτών, περιέχει μονής έλικας RNA μοριακού βάρους 10 εκατομ. Daltons περίπου και το ένζυμο της ανάστροφης τρανσκριπτάσης, αλλά είναι αντιγονικά διάφορος των λοιπών ιών των επίμυων¹⁶³. Σωματίδια του ιού βρίσκονται σε μεγάλη ποσότητα στον ιστό φυσιολογικών μαζικών αδένων, στο γάλα γενεών επίμυων που παρουσιάζουν υψηλή συχνότητα ανάπτυξης καρκινωμάτων των μαστών. Ο ενοφθαλμισμός νεαρών επίμυων μ' αυτό τον ιό προκαλεί την ανάπτυξη καρκινώματος των μαστών. Εν τούτοις ιστοκαλλιέργειες ιού δεν έχουν ακόμη ικανοποιητικά



αναπτυχθεί. Τελείως πρόσφατα, με βιολογικές μεθόδους ανακαλύφθηκε ότι ο ιός του Bittner αποτελείται από δύο τύπους ιούς, οι οποίοι ονομάστηκαν αντίστοιχα MTV-S και MTV-L¹⁶⁴.

Ο ιός MTV-S προκαλεί την ανάπτυξη όγκων στους νεογέννητους θήλεις επίμυες, μεταδίδεται όμως αποκλειστικά και μόνο με το γάλα της μητέρας. Ο άλλος ιός MTV-L μεταδίδεται με τα γεννητικά κύτταρα και των δύο φύλλων αλλά ποτέ με το γάλα. Αυτός, αν και παρουσιάζει μειωμένη ογκογενετική ικανότητα έναντι του ιού MTV-S, προκαλεί την ανάπτυξη σωματιδίων τύπων B¹⁶⁵. Εν τούτοις, τα σωματίδια αυτά δεν απομονώθηκαν σε λοιμογόνο μορφή. Λόγω του γεγονότος αυτού διατυπώθηκε η άποψη ότι, ο ιός MTV-L μεταδίδεται συνήθως σαν προ-ιός¹⁶⁶. Ένας τρίτος τύπος ιού έχει ακόμη απομονωθεί, που ονομάστηκε MTV-S, και που παρουσιάζει υψηλή ογκογενετική ικανότητα, όπως ο τύπος MTV-S, μεταδίδεται όμως με τα γεννητικά κύτταρα και με το γάλα. Ο Timmermans¹⁶⁷ με χορήγηση καρκινογόνων ουσιών σε γένος επίμυων ελεύθερων ιών προκάλεσε την ανάπτυξη υψηλής ογκογενετικής ικανότητας.

Με βάση τις παρατηρήσεις που έγιναν στα ιογενή νεοπλάσματα των μαζικών αδένων των επίμυων, ο Bentvelzen¹⁶⁸ διατύπωσε την θεωρία του προ-ιού, η οποία βασικά είναι παρόμοια μ' αυτή των ογκογονιδίων του Hewbner, που διαφέρει μόνο σε λεπτομέρειες. Ο Bentvelzen υποστηρίζει ότι, στα γεννητικά κύτταρα των επίμυων υπάρχει χρωμόσωμα, μέσα στο οποίο φέρεται το DNA ανάτυπο του RNA γονιδίου του ιού. Το ανάτυπο αυτό του DNA αποκαλεί ο συγγραφέας γενετικό προ-ιόν. Σε φυσιολογικές συνθήκες η αποκρυπτογράφιση του προ-ιού εμποδίζεται από τον καταστολέα, που παράγεται στο ρυθμιστικό γονίδιο. Η μη καταστολή του προ-ιού είναι αποτέλεσμα γενετικών μεταλλάξεων του ρυθμιστικού γονιδίου (ή του Operator γονιδίου), με επακόλουθο την αποκρυπτογράφιση του προ-ιού και την απελευθέρωση αυτού από το κυτταρικό γονίδιο υπό μορφήν ελευθέρου RNA σωματικού γονιδίου. Το



τελευταίο αυτό μπορεί να υποστεί αντίστροφη αποκρυπτογράφηση με το ένζυμο της ανάστροφης τρανσκριπτάσης με αποτέλεσμα το σχηματισμό DNA ανατύπου του RNA προ-ιού. Το νεοσχηματισθέν DNA στη συνέχεια ενσωματώνεται στο γενετικό κώδικα του κυττάρου - ξενιστή σε τέτοια θέση, όπου, δεν είναι προσιτό στους κατασταλτικούς μηχανισμούς του κυττάρου, με επακόλουθο τη συνεχή αποκρυπτογράφηση αυτού και παραγωγή ιού, ο οποίος προκαλεί τη νεοπλασματική εξαλλαγή. Ο ίδιος συγγραφέας δεν αποκλείει την πιθανότητα ότι ο προ-ιός μπορεί να εδράζεται στα μιτοχόνδρια ή σε άλλα εξωχρωμοσωματικά σωματίδια, όπως τα μικροχρωμοσώματα.

3. Σαρκώματα του Rous

Η ανάπτυξη κακοήθων νεοπλασμάτων του συνδετικού ιστού σε όρνιθες είναι σποραδικά παρατηρούμενο φαινόμενο, του οποίου η επίπτωση δεν είναι γνωστή. Αυτό οφείλεται προφανώς στο γεγονός ότι οι όρνιθες αποτελούν ευρέως διαδεδομένο είδος διατροφής, ως εκ τούτου όμως σπάνια διανύουν ολόκληρο το μήκος της ζωής τους. Παρατηρήσεις που έγιναν στους όγκους αυτούς, απέδειξαν την ύπαρξη διαφόρων ειδών νεοπλασμάτων, ανάλογα με την ιστολογική τους υφή και συμπεριφορά. Ετσι, κάθε είδος νεοπλάσματος παρουσιάζει ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τα οποία επακριβώς αναπαράγονται και μεταβιβάζονται με τον ομόλογο ιού σε σάρκωμα του Rous και διατηρήθηκε με σειρά μεταμοσχεύσεων καθ' όλη τη διάρκεια του 2ου Παγκοσμίου πολέμου. Οι απόγονοι όμως αυτού αποτελούν ακόμη και σήμερα το συνηθέστερο χρησιμοποιούμενο είδος νεοπλάσματος για τη μελέτη, όχι τόσο λόγω των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών αυτού, όσο λόγω αυτών του ιού, που προκαλεί τον όγκο. Ετσι κατά τη διάρκεια των μεταμοσχεύσεων και των εργαστηριακών χειρισμών, που έγιναν σ' αυτές, το σάρκωμα του Rous έχασε με την πάροδο του χρόνου πολλά



από τα αρχικά του χαρακτηριστικά. Αναφέρεται χαρακτηριστικά ότι ο Reyton Rous, του οποίου ο όγκος φέρει το όνομά του, αποκάλεσε αυτό εργαστηριακό τερατούργημα. Από την διάσπαση του ιού Rous είτε τυχαία, είτε με εργαστηριακές μεθόδους, προέκυψαν διάφορα είδη ιών με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά όσο αφορά στο είδος των ζώων, στα οποία αναπτύσσονται και στην ογκογενετική τους ικανότητα. Η τελευταία αυτή σε κάποιες ποικιλίες ιών εμφανίζεται μόνο κατόπιν της παρουσίας και άλλου "βοηθητικού ιού". Παρατηρήσεις που έγιναν στις ιδιότητες του ιού Rous οδήγησαν τον Temin¹⁶⁹ στη διατύπωση της τρίτης θεωρίας της ιογενούς καρκινογένεσης, η οποία είναι τελείως διαφορετική από αυτές, που έχουν περιγραφεί παραπάνω.

Η εν λόγω θεωρία βασίζεται σε μακροχρόνιες παρατηρήσεις σε ιστοκαλλιέργειες κυττάρων του σαρκόματος Rous, οι οποίες κατέληξαν στη διαπίστωση του φαινομένου της ανάστροφης αποκρυπτογράφησης και στη μεταφορά γενετικών πληροφοριών από το RNA στο DNA.

Η επιβεβαίωση του φαινομένου αυτού έγινε με την ανακάλυψη από τον Temin του ενζύμου "ανάστροφη τρανσκριπτάση". Συγχρόνως με τον Temin, ο Baltimore ανακάλυψε την παρουσία ομοίου ενζύμου στον ιό της λευχαιμίας των επίμυων. Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή τα γεννητικά κύτταρα των σπονδυλωτών δε μεταφέρουν τη γενετική πληροφορία με την αναπαραγωγή του ιού σε μορφή προ-ιού ή ογκογονιδίων, αλλά μέρος μόνο των απαιτούμενων πληροφοριών υπάρχει σε κάποιες περιοχές των χρωμοσωμάτων των φυσιολογικών γεννητικών κυττάρων σε μορφή προϊόντων. Τα θυγατρικά κύτταρα, που προέρχονται από τα γεννητικά κύτταρα, χαρακτηρίζονται από την ικανότητά τους για γενετική εξέλιξη και διαφοροποίηση, η οποία πετυχαίνεται με αλληλοδιαδοχή πληροφοριών που μεταφέρονται από το DNA προς RNA, αφού αρχίσουν από την αποκρυπτογράφηση των γονιδίων των γεννητικών κυττάρων, όπου βρίσκεται και το γονίδιο του πρωτο-ιού. Με τις κυκλικές αυτές



αποκρυπτογραφήσεις μπορούν να προκύψουν νεώτερες πληροφορίες, οι οποίες σε μορφή DNA ενσωματώνονται στα κυτταρικά χρωμοσώματα, που μεταφέρονται μ' αυτά στα θυγατρικά κύτταρα κατά τη διάρκεια της μιτωτικής διαίρεσης των κυττάρων. Σε πλέον πρόσφατες δημοσιεύσεις ο Temin¹⁷⁰ κατ' επανάληψη τονίζει ότι ο πρωτοϊός αποτελεί φυσιολογικό συστατικό των χρωμοσωμάτων των γεννητικών κυττάρων των υπεύθυνων για την κανονική εμβρυογένεση και διαφοροποίηση, προκαλεί όμως τη νεοπλασματική ανάπτυξη σχετικά σπάνια και δευτερογενώς εξαιτίας της κακής εξελικτικής ανάπτυξης του πρωτο-ιού.

Αξιοσημείωτο τυχαίνει το γεγονός ότι οι θεωρίες που εκτέθηκαν παραπάνω, της ιογενούς προέλευσης των κακοήθων νεοπλασιών, παρά τις ουσιώδεις διαφορές τους, περιέχουν σαν κοινή προϋπόθεση της νεοπλασματικής ανάπτυξης την ενεργοποίηση των γενετικών πληροφοριών, μετά από επίδραση φυσιολογικών εξεργασιών, που αφορούσαν στους κυτταρικούς ρυθμιστικούς μηχανισμούς. Έτσι, οι μεν Huebner και Bentvelzen παραδέχονται την παρουσία ρυθμιστικών συστημάτων του τύπου Jacobn - Monod, ο δε Temin την παρουσία φυσιολογικών κυττάρων ρυθμιστών ή φυσιολογικών κυτταρικών μηχανισμών. Επομένως, απαραίτητη προϋπόθεση για την εκδήλωση των φαινοτυπικών χαρακτήρων των γενετικών πληροφοριών και την ανάπτυξη της κακοήθους νεοπλασματικής επεξεργασίας αποτελεί η επίδραση στη γενετική ουσία δυναμικών βιοτονικών ή επιγενετικών συστημάτων.



ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



3. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΟ - ΜΕΘΟΔΟΙ - ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ

Για τα δικά μας πειράματα χρησιμοποιήθηκε ο ιός σαρκώματος Moloney (MSV-M), ο οποίος ευγενώς μας παραχωρήθηκε από τον ερευνητή, Καθηγητή Dr. G. Wande Woude από το Εθνικό Ινστιτούτο Καρκίνου N.C.I. (Frederick, Maryland) των ΗΠΑ. Ο ιός αυτός μας στάλθηκε αεροπορικώς μέσα σε ξηρό πάγο (θερμοκρασίας - 70°C) και διατηρήθηκε καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων σε καταψύκτη στην ίδια θερμοκρασία.

Η εκτέλεση του πειράματος έγινε με την έγχυση διαλύματος του ιού Moloney 0,05ml. Το διάλυμα αυτό εγχυνόταν με λεπτότατη βελόνα ενδοστικά στην κάτω επίφυση του δεξιού μηριαίου κονδύλου, αφ' ενός μεν με την κάμψη της κατά γόνυ άρθρωσης, οπότε η βελόνα περνώντας μέσα από το θύλακο της άρθρωσης και στη συνέχεια τον αρθρικό χόνδρο του μηριαίου, έφθανε τελικά μέσα στο οστό (Ομάδα 1η και 2α), αφ' ετέρου δε με την πλάγια νύξη του οστού από τη βελόνα κατά το κάτω τριτημόριο του μηριαίου οστού (έξω επιφάνεια), οπότε η βελόνα, αφού περνούσε το φλοιό του μηριαίου, έφθανε μέσα στο οστό (3η και 4η ομάδα). Η έγχυση που αναφέρεται πιο πάνω έγινε βέβαια με σχολαστικό καθαρισμό της περιοχής, με οινόπνευμα και ιώδιο για να αποφευχθεί η μικροβιακή μόλυνση. Τα δικά μας πειραματόζωα ποικιλίας Wistar - Lewis και διαφόρων καλλιιεργειών ηλικίας ενός και τριών 24/ώρων διαχωρίστηκαν σε 4 ομάδες.

Ομάδα πρώτη

Η πρώτη ομάδα περιλάμβανε 20 επίμυες 24 ωρών, οι οποίοι υπέστησαν εμβολιασμό του ιού σύμφωνα με τον τρόπο που περιγράφηκε πιο πάνω. Από τα



πειραματόζωα αυτά στα 16 σημειώθηκε καννιβαλισμός, ενώ τα υπόλοιπα άρχισαν να θυσιάζονται από την 29η ημέρα της γέννησης ένα κάθε μέρα. Από την ομάδα αυτή σ' ένα από τους επίμυες αναπτύχθηκε οστεοσάρκωμα (θυσιάσθηκε την 33η ημέρα από τη γέννησή του).

Ομάδα δεύτερη

Η δεύτερη ομάδα περιλάμβανε 20 επίμυες διαφόρων καλλιεργειών ηλικίας 24 ωρών, οι οποίοι υπέστησαν τον εμβολιασμό του ιού σύμφωνα με τον τρόπο που περιγράφηκε προηγούμενα.

Σε 5 από τα πειραματόζωα της ομάδας σημειώθηκε καννιβαλισμός, τα υπόλοιπα όμως άρχισαν να θυσιάζονται 2 κάθε μέρα μετά την 26η μέρα της γέννησής τους, ενώ στην ομάδα αυτή σε 2 από τους επίμυες αναπτύχθηκε οστεοσάρκωμα (θυσιασθέντα την 31η και 32η ημέρα της από τη γέννησή τους).

Ομάδα τρίτη

Η τρίτη ομάδα περιλάμβανε 20 επίμυες διαφόρων καλλιεργειών ηλικίας 72 ωρών, οι οποίοι υπέστησαν τον εμβολιασμό του ιού κατά το δεύτερο περιγραφέντα τρόπο. Από τα πειραματόζωα αυτά όλα επέζησαν, ο δε θυσιασμός τους άρχισε από την 20η ημέρα από τη γέννησή τους ανά 2 ημερησίως. Από την ομάδα αυτή σε έναν από



τους επίμυες υπάρχει υπόνοια κακοήθειας (θυσιασθέντα την 30η ημέρα της γεννήσεως).

Ομάδα τέταρτη

Η τέταρτη ομάδα περιλάμβανε 20 επίμυες διαφόρων καλλιεργειών ηλικίας 72 ωρών, οι οποίοι υπέστησαν τον εμβολιασμό του ιού κατά το δεύτερο περιγραφέντα τρόπο. Από την ομάδα αυτή όλοι οι επίμυες επέζησαν, όμως ο θυσιασμός τους άρχισε από την 16η ημέρα της γέννησης τους, ανά 2 κάθε μέρα. Κανένας απ' αυτούς δεν ανέπτυξε κακοήθεια.



ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ

Όλες οι περιπτώσεις μας (59) εξετάσθηκαν ιστολογικά με τη χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης. Κύριος σκοπός ήταν η ανεύρεση κακοήθειας και ιδιαιτέρως οστεοσαρκώματος οποιασδήποτε ιστολογικής μορφής. Πέραν τούτου εξετάσθηκαν λεπτομερώς οι αλλοιώσεις και γενικότερα η κατάσταση των διαφόρων ανατομικών μορίων της περιοχής του μηρού όπου ενέθησαν οι ιοί.

Συγκεκριμένα εξετάσθηκαν: ο χόνδρος στην περιοχή των επιφύσεων, η κατάσταση του οστίτη ιστού, ο μυελός των οστών, το περίοστεο, καθώς και τα παρακείμενα μαλακά μόρια, και κυρίως οι μύες αλλά και τα παρακείμενα αρθρικά μόρια.

Τα αναλυτικά ιστολογικά ευρήματα παρατίθενται στον πίνακα I, στον οποίο επίσης αναφέρεται ο αριθμός κάθε μιας περίπτωσης, καθώς και η ημερομηνία θυσιάσεως του πειραματόζωου. Στον πίνακα II αναφέρονται τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα των ιστολογικών ευρημάτων.

Τρεις από τις περιπτώσεις μας (οι 4,16 και 17) ανέπτυξαν τελικά οστεοσάρκωμα. Το οστεοσάρκωμα το οποίο αναπτύχθηκε είναι οστεοβλαστικού τύπου με έντονη κυτταροβρίθεια και μικρή παραγωγή οστεοειδούς. Στις δύο περιπτώσεις περιορίζεται στις μεταφύσεις, ενώ σε μία αναπτύσσεται κατά μήκος του φλοιού και πέραν των μεταφύσεων μέχρι τη διάφυση. Ο όγκος λόγω της μικρής ηλικίας του (33 ημερών) δεν έχει προσλάβει μακροσκοπική ογκοειδή μορφολογία, ώστε να διηθεί και τα μαλακά μόρια της περιοχής εκτός από μία περίπτωση (16) όπου διηθείται ο υπερκείμενος χόνδρος.

Η πρώτη περίπτωση (αρ.4) ανέπτυξε ινοβλαστικού τύπου οστεοσάρκωμα, το οποίο όμως βρέθηκε στα αρχικά στάδια ανάπτυξης, περιοριζόμενο στην περιοχή των επιφύσεων. Παρουσιάζει μέτρια κυτταρική ατυπία και μέτριο αριθμό



πυρηνοκινησιών. Τη νεοπλασία συνοδεύει πάχυνση του περιosteού κοντά στον όγκο και προς την περιοχή της διάφυσης. Ταυτόχρονα παρατηρείται και υπερπλασία των γραμμωτών μυϊκών κυττάρων της περιοχής, μεγάλη κυτταροβρίθεια και παρουσία πολυάριθμων ινοβλαστών.

Τα παραπάνω συνοδά της νεοπλασίας ιστολογικά ευρήματα μπορούν να αποδοθούν στη δράση του ενεθέντος καρκινογόνου ορού, που όμως δεν κατόρθωσε να αναπτύξει νεοπλασία (π.χ. λειομυοσάρκωμα). Τα άλλα ανατομικά μόρια, όπως είναι ο χόνδρος, ο μυελός των οστών και τα παρακείμενα αρθρικά μόρια δεν παρουσίασαν ιδιαίτερες ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις.

Η δεύτερη και τρίτη περίπτωση (16 και 17 αντιστοίχως) ανέπτυξαν οστεοβλαστικού τύπου οστεοσάρκωμα. Και στις δύο περιπτώσεις το νεόπλασμα παρουσίαζε μέτρια κυτταρική ατυπία και σχετικά μικρό αριθμό πυρηνοκινησιών, ενώ παρατηρήθηκε προς τα κάτω (διάφυση) επέκταση. Στην μία από αυτές μάλιστα (16) παρατηρήθηκε και διήθηση του υπερκείμενου χόνδρου από το οστεοσάρκωμα. Η τελευταία περίπτωση συνοδεύεται επίσης (όπως και στην πρώτη περίπτωση) από υπερπλασία του μυϊκού ιστού. Ο χόνδρος, ο μυελός των οστών και τα παρακείμενα αρθρικά μόρια δεν παρουσιάζουν κάτι το ιδιαίτερο, εκτός από μία σχετική πάχυνση του περιosteού.

Ιδιαίτερο ιστολογικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν δύο από τις περιπτώσεις μας (αρθρ. 31 και 34), στις οποίες παρατηρήθηκε έντονη δραστηριότητα των οστεοβλαστών σε αριθμό και έκταση ώστε θα μπορούσε να θεωρηθεί σαν κατάσταση ευρισκόμενη στα όρια της κακοήθους εξαλλαγής. Η πρώτη από αυτές συνοδευόταν επίσης από πάχυνση του περιosteού και υπερπλασία του παρακείμενου μυϊκού ιστού.

Σχολιάζοντας τα επιμέρους ιστολογικά ευρήματα των περιπτώσεων που δεν ανέπτυξαν νεοπλασία, θα μπόρούσαμε να παρατηρήσουμε τα εξής:

Σε 13 συνολικά περιπτώσεις βρέθηκε διέγερση των οστεοβλαστών της



επίφυσης με τη μορφή μικρής ή μετρίας υπερπλασίας των οστεοβλαστών της περιοχής, χωρίς όμως την παρουσία ατυπίας ή αξιόλογου αριθμού πυρηνοκινησιών. Σε όλες τις περιπτώσεις η υπερπλασία αυτή δεν υπερέβαινε σε έκταση την αντίστοιχη ανατομική περιοχή.

Ο παρακείμενος χόνδρος δεν παρουσίαζε σε καμιά περίπτωση (εκτός από εκείνη με το οστεοσάρκωμα, αριθ. 16) αξιόλογες ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις. Ο μυελός των οστών ήταν από τα περισσότερο επηρεασμένα ανατομικά μέρη της περιοχής. Σε 27 συνολικά περιπτώσεις ο μυελός εμφάνιζε διαταραχή στην κυτταροβρίθεια. Πιο αναλυτικά, σε 21 περιπτώσεις ο μυελός ήταν έντονα κυτταροβριθής χωρίς όμως να είναι νεοπλασματικός ή να παρουσιάζει υπερχή μιας συγκεκριμένης κυτταρικής σειράς. Στις υπόλοιπες 32 περιπτώσεις από το σύνολο του υλικού ο μυελός των οστών ήταν νορμοκυτταρικός. Όμως σε 7 περιπτώσεις από αυτές παρατηρήθηκε μια σχετική υπερπλασία της ερυθράς σειράς. Σε 17 από τις 59 περιπτώσεις παρατηρήθηκε διαφόρου βαθμού περιουσιτική αντίδραση υπό μορφή πάχυνσης του περιosteού και μικρής ινοβλαστικής αντίδρασης. Τέλος, σε δύο περιπτώσεις παρατηρήθηκε φλεγμονώδης αντίδραση των αρθρικών μορίων της περιοχής, στη μία με τη μορφή λεμφικών αθροίσεων και στην άλλη με τη μορφή φλεγμονώδους κοκκιώματος.



ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

I

ΠΕΡΣΕΙΣ	ΧΟΝΔΡΟΣ	ΟΣΤΙΤΗΣ ΙΣΤΟΣ ΕΠΙΦΥΣΕΩΝ	ΜΥΕΛΟΣ ΟΣΤΩΝ	ΠΕΡΙΟΣΤΕ Ο	ΜΥΕΣ	ΑΡΘΡΙΚΑ ΜΟΡΙΑ
1	-	-	N.K.	-	-	-
2	-	-	K.B.	Π	-	-
3	-	-	N.K.	-	-	-
4	-	Αρχομενο Νοβλαστ.	N.K.	Π	ΥΠΕΡ.	-
5	-	ΥΠΕΡ	K.B.	-	-	-
6	-	ΥΠΕΡ	K.B.	Π	-	-
7	-	ΥΠΕΡ	N.K.	-	-	-
8	-	-	N.K.	-	-	ΚΟΚΚΙΩ ΜΑ
9	-	-	N.K.	-	-	ΛΕΜΦΙΚΟΣ ΑΘΡΟΙΣ
10	-	ΥΠΕΡ	K.B.	Π	-	-
11	-	-	N.K.	-	-	-
12	-	-	K.B.	-	ΥΠΕΡ.	-
13	-	-	N.K.	Π	-	-
14	-	ΥΠΕΡ	K.B.	-	-	-
15	-	-	N.K.	-	-	-
16	ΔΙΗΘΗΣΗ	Οστεοβλαστικό	N.K.	Π	ΥΠΕΡ.	-
17	-	Οστεοβλαστικό SA	N.K.	Π	-	-
18	-	-	K.B.	Π	-	-
19	-	-	K.B.	Π	-	-
20	-	-	K.B.	-	-	-
21	-	-	K.B.	-	-	-
22	-	-	N.K.	Π	-	-
23	-	ΥΠΕΡ	N.K.	Π	-	-
24	-	-	-	-	-	-



ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

II

ΠΕΡ/ΣΕΙΣ	ΧΟΝΔΡΟΣ	ΟΣΤΙΤΗΣ ΙΣΤΟΣ ΕΠΙΦΥΣΕΩΝ	ΜΥΕΛΟΣ ΟΣΤΩΝ	ΠΕΡΙΟΣΤΕΟ	ΜΥΕΣ	ΑΡΘΡΙΚΑ ΜΟΡΙΑ
25	-	ΥΠΕΡ	Υ.Κ.	-	-	-
26	-	-	Κ.Β.	-	-	-
27	-	-	Ν.Κ.	Π	-	-
28	-	-	Ν.Κ.	Π	-	-
29	-	ΥΠΕΡ	Ν.Κ.	-	-	-
30	-	-	Κ.Β.	-	-	-
31	-	ΟΡΙΑ ΚΑΚΟΗΘ.	Κ.Κ.	Π	ΥΠΕΡ	-
32	-	-	Ν.Κ.	Π	-	-
33	-	-	Ν.Κ.	-	-	-
34	-	ΟΡΙΑ ΚΑΚΟΗΘ.	Ν.Κ.	-	-	-
35	-	-	Κ.Β.	-	-	-
36	-	ΥΠΕΡ	Υ.Κ.	-	-	-
37	-	-	Κ.Β.	Π	-	-
38	-	-	Ν.Κ.	-	ΥΠΕΡ	-
39	-	-	Υ.Κ.	-	-	-
40	ΔΙΗΘΗΣΗ	ΥΠΕΡ	Κ.Β.	-	-	-
41	-	-	Ν.Κ.	-	-	-
42	-	-	Υ.Κ.	-	-	-
43	-	-	Ν.Κ.	Π	-	-
44	-	-	Κ.Β.	Π	-	-
45	-	-	Κ.Β.	-	-	-
46	-	ΥΠΕΡ	Κ.Β.	-	-	-
47	-	-	Ν.Κ.	-	-	-
48	-	-	Ν.Κ.	-	-	-



ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

III

ΠΕΡ/ΣΕΙΣ	ΧΟΝΔΡΟΣ	ΟΣΤΙΤΗΣ ΙΣΤΟΣ ΕΠΙΦΥΣΕΩΝ	ΜΥΕΛΟΣ ΟΣΤΩΝ	ΠΕΡΙΟΣΤΕΟ	ΜΥΕΣ	ΑΡΘΡΙΚΑ ΜΟΡΙΑ
49	-	-	N.K.	-	-	-
50	-	-	N.K.	Π	-	-
51	-	-	N.K.	-	ΥΠΕΡ	-
52	-	ΥΠΕΡ	K.B.	-	-	-
53	-	-	K.B.	-	-	-
54	-	-	N.K.	-	-	-
55	-	-	N.K.	-	-	-
56	-	-	N.K.	-	-	-
57	-	-	N.K.	Π	ΥΠΕΡ	-
58	-	ΥΠΕΡ	K.B.	-	-	-
59	-	-	N.K.	-	-	-

NK= Νορμοκυτταρικός

KB= Κυτταροβριθής

KK= Υποκυτταρικός

Π= Πάχυνση

ΥΠΕΡ=Υπερπλασία

- = Κατά φύσιν



4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η πρώτη φορά που έγινε προσπάθεια να αναπτυχθούν πειραματικώς οστεοσαρκώματα από ιούς σε ζώα (ποντίκια) ήταν στις αρχές του αιώνα και έγινε στο εργαστήριο του Rexton Rous και των συνεργατών του στο Ινστιτούτο Rockefeller (9). Οι ιοί που χρησιμοποιήθηκαν για πειραματική πρόκληση οστεοσαρκωμάτων ανήκουν στην ομάδα ιών τόσο του DNA όσο και RNA. Στην πρώτη ομάδα ανήκουν για παράδειγμα ο ιός Polyoma ή ο ιός SV40 οι οποίοι προκαλούν οστεογενή αλλά και άλλα είδη σαρκωμάτων ενιεμένα σε πειραματόζωα. Στην δεύτερη ομάδα ανήκουν ποικίλοι RNA ιοί του σαρκώματος των μυών των οποίων η μοριακή μορφολογία είναι του τύπου C (5α). Τέτοιου είδους ιοί είναι οι ιοί FBJ & FBR που είναι ικανοί να δημιουργήσουν όγκους σε ιδιαίζουσες αραιώσεις. Τα σαρκώματα τα οποία προκαλούνται από τους ιούς αυτούς παρουσιάζουν ταχυστά ανάπτυξη διηθώντας γρήγορα τους περιξιστούς, δίνουν μεταστάσεις προκαλώντας τον θάνατο τελικά του πειραματόζωου (6, 9).

Simian ιός 40

Ο ιός αυτός υπήρξε ένας από τους πολλούς απομονωθέντες ιούς στη διάρκεια της πλατιάς διαδεδομένης *in vitro* καλλιέργειας νεφρικών κυττάρων πιθήκου, για την ανάπτυξη του ιού της πολυεμυελίτιδος και άλλων ιών σε μεγάλες ποσότητες για την παρασκευή εμβολίων¹⁷¹. Ο εν λόγω ιός, μαζί με τον ιό Polyoma, χρησιμοποιήθηκε πλατιά για την μελέτη της κακοήθους εξαλλαγής φυσιολογικών κυττάρων σε καλλιέργειες. Από τις μελέτες αυτές (Koprowski¹⁷², Black¹⁷³, Macpherson¹⁷⁴) προκύπτει ότι η νεοπλασματική εξαλλαγή είναι πολυφασικό και όχι ξαφνικά επερχόμενο φαινόμενο. Οι παραπάνω ερευνητές, με παρατηρήσεις που έγιναν σε



καλλιέργειες ανθρωπίνων ιστών μετά από επίδραση SV 40 ιού, διακρίνουν 4 κυρίως φάσεις:

1η φάση. Αυτή διαρκεί λίγες εβδομάδες, τα δε κυτταρικά στοιχεία της καλλιέργειας εμφανίζονται φυσιολογικά, πλην ελαφρών αλλοιώσεων, οι οποίες προκαλούν τη νέκρωση του 10-20% των κυττάρων.

2η φάση. Χαρακτηρίζεται από την ανώμαλη υπερπλασία μικρού σχετικά αριθμού εξαλλαγέντων ήδη κυττάρων, διαρκεί όμως 15-33 εβδομάδες.

3η φάση. Σύμφωνα μ' αυτή, όλα τα κυτταρικά στοιχεία της καλλιέργειας, εκτός ολίγων εξαιρέσεων, υφίστανται υπόστροφες αλλοιώσεις, που φτάνουν μέχρι νέκρωση, διαρκεί όμως από 2 εβδομάδες έως 5 μήνες.

4η φάση. Κατά την τελευταία αυτή φάση τα επιζήσαντα κυτταρικά στοιχεία της καλλιέργειας αναπτύσσονται ταχύτατα, απαρτίζουν δε ομάδες ομοιόμορφων κυττάρων με εκχύλιση των οποίων δε λαμβάνεται ιός αλλά είναι δυνατό να διατηρούνται επ' αόριστο (αθανασία) σε καλλιέργειες.

Στη χρονική περίοδο αμέσως μετά την κακοήθη εξαλλαγή, τα κυτταρικά στοιχεία της καλλιέργειας παθαίνουν μορφολογικές αλλοιώσεις και παρουσιάζουν ανωμαλίες των χρωμοσωμάτων τους. Πρέπει να τονισθεί εδώ ότι καμμία από τις παραπάνω αλλοιώσεις δεν είναι παθογνωμονική της νεοπλασματικής εξαλλαγής.

1. Λευχαιμία των επίμυων

Η ανάπτυξη καθαρόαιμων γενών επίμυων διευκόλυνε τους ερευνητές στη μελέτη διαφόρων ικανών για μεταμόσχευση νεοπλασματικών όγκων. Κατά τη διάρκεια των ερευνών απομονώθηκε από τους όγκους αυτούς ικανός αριθμός ιών,



μερικοί από τους οποίους προκαλούν τη λευχαιμία των επίμυων¹⁷⁵. Από τους ιούς αυτούς οι πλέον σημαντικοί και εκτενέστερα μελετηθέντες είναι:

α) Ο ιός του Cross¹⁷⁶

β) Ο ιός του Friend¹⁷⁷

γ) Ο ιός του Moloney¹⁷⁸

δ) Ο ιός του Rauscher¹⁷⁹

Ιδιαίτερα τονίζεται εδώ ότι με τον όρο λευχαιμία χαρακτηρίζεται μέτρια διαφοροποιημένο λεμφοκυτταρικό σάρκωμα, που αναπτύσσεται αρχικά στο θύμο αδένα, στη συνέχεια γενικεύεται και καταλαμβάνει το λεμφαδενικό ιστό και το μυελό των οστών. Λεμφογενής λευχαιμία μπορεί να αναπτυχθεί μετά από μεγάλο χρονικό διάστημα σε μακροβιούντα ζώα. Η νόσος συναντιέται σε μεγάλη σχετικά συχνότητα μόνο σε 2 γένη καθαρόαιμων επίμυων, το AKP και το C. Η συχνότητα της νόσου σε άλλα γένη επίμυων είναι πολύ μικρή, εν τούτοις αυτή μπορεί να φθάσει τα επίπεδα των υψηλής συχνότητας ζώων με την επίδραση διαφόρων εξωγενών παραγόντων, όπως η ολόσωμη ακτινοβολία των ζώων, η χορήγηση χημικών καρκινογόνων ή ορμονών κ.α.^{180,181}, ιδίως οιστρογόνων. Για το παραπάνω θέμα εκτεταμένες πειραματικές μελέτες έγιναν κατά καιρούς από διάφορους ερευνητές, ξεχώρισε ιδιαίτερα μεταξύ αυτών ο Kaplan, ο οποίος ασχολήθηκε για 25 χρόνια με πειράματα σε ζώα που δέχθηκαν ακτινοβολία. Αυτός μετά από χορήγηση ακτινοβολίας σε ποικιλίες επίμυων (C 57 BL) με χαμηλή συχνότητα ανάπτυξης λευχαιμίας, παρατήρησε την παρουσία λευχαιμογενούς παράγοντα, που έμοιαζε με τα ιογενή σωματίδια τύπου C. Τα σωματίδια αυτά ονομάστηκαν απ' αυτό "λευχαιμικός ιός της ακτινοβολίας" (Radiation Leukemia Virus). Αργότερα διατυπώθηκε η υπόθεση ότι και νεοπλασματικές επεξεργασίες που προκλήθηκαν με χημικές ουσίες φιλοξενούν παρόμοιους ιούς. Ο εν λόγω ιός, αφού παράχθηκε μια φορά, μπορεί να εμβολιασθεί



επ' αόριστον στο θύμο αδένα επίμυων C57 BL που προκαλεί την ανάπτυξη νεοπλασμάτων, από τα οποία παίρνεται με εκχύλιση σε ενεργό μορφή, προκαλεί όμως την ανάπτυξη άλλων γενεών νεοπλασμάτων, που προηγήθηκε από την ακτινοβολία θυμεκτομή στα περισσότερα είδη επίμυων, αναστέλλει τη νεοπλασματική ανάπτυξη, επανεμφανίζεται όμως αυτή μετά από μεταμόσχευση θύμου αδένος που δεν ακτινοβολήθηκε, στον οποίο και αναπτύσσεται η νεοπλασία. Γενικά πιστεύεται ότι η ανάπτυξη λευχαιμίας εξαρτάται από την αλληλοεπίδραση 5 τουλάχιστον παραγόντων.

1. Του λευχαιμικού ιού 2. Του θύμου αδένα 3. Του μυελού των οστών 4. Του περιβάλλοντος και 5. Των εξωγενών φυσικών ή χημικών παραγόντων.

Ο Karlan θεωρεί τον ιό σαν τον πρωτοπαθή παράγοντα της λευχαιμίας, οι δε υπόλοιποι παράγοντες προκαλούν την ενεργοποίηση και απελευθέρωση αυτού. Ο τελευταίος αυτός προϋπάρχει φυσιολογικά σε λανθάνουσα μορφή κάπου στο μυελό των οστών. Κατά τον ίδιο ερευνητή ο λευχαιμικός ιός παραμένει σ'όλη τη διάρκεια της ζωής του ξενιστή αβλαβής, γίνεται όμως παθογόνος μόνον όταν επέλθει διαταραχή της σχέσης ξενιστή - ιού, οπότε ενεργοποιείται με επακόλουθο την ανάπτυξη της νεοπλασματικής νόσου. Η φύση της διαταραχής της παραπάνω σχέσης στην υψηλή συχνότητα ανάπτυξης λευχαιμίας σε ζώα δεν είναι γνωστή. Στη χαμηλής συχνότητας ποικιλία ζώων αντίθετα, η ενεργοποίηση του ιού παίρνει μέρος μετά την επίδραση φυσικών ή χημικών παραγόντων. Ο κατ'αυτό τον τρόπο ενεργοποιηθείς ιός επιδρά στους στόχους κυττάρων, στην προκειμένη περίπτωση των λεμφοκυττάρων, τα οποία συνέχεια πολλαπλασιαζόμενα προκαλούν την πλήρη ανάπτυξη αυτόνομης νεοπλασματικής νόσου.

Οι Huebener και Gilden¹⁸² με ανοσοβιολογικές μεθόδους πέτυχαν τον προσδιορισμό ειδικών αντιγόνων, τα οποία είναι κοινά αντιγόνα, αφού συναντώνται σε όλα τα άτομα του γένους των ιών τύπου C. Ως εκ τούτου, τα παραπάνω αντιγόνα μπορούν να χρησιμεύσουν σαν δείκτες της παρουσίας ιού ή μέρους αυτού.



Οι παραπάνω ερευνητές διαπίστωσαν την ευρύτατη διάδοση του ιού σε φυσιολογικούς ή νεοπλασματικούς ιστούς διαφόρων ερπετών (έχιδνες), πτηνών και θηλαστικών. Εξ' άλλου υπάρχουν ενδείξεις παρουσίας του ιού σε φυσιολογικούς εμβρυϊκούς ιστούς (σπληνός, θύμου, εντέρου και γεννητικών αδένων) επίμυων, οι οποίοι ανέπτυξαν αυτόματα ή κατόπιν χορήγησης καρκινογόνων ουσιών κακοήθη νεοπλάσματα. Εν τούτοις, η ανεύρεση λοιμογόνου ιού είτε με ενοφθαλμισμό πειραματόζωων είτε με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έγινε αδύνατη.

Με βάση τα παραπάνω πειραματικά δεδομένα, ανεπτύχθηκε από τους Huebener και Torado¹⁸³ η μία από τις τρεις βασικές θεωρίες της ιογενούς προέλευσης της νεοπλασματικής νόσου, η οποία βασίζεται στην υπόθεση των ογκο-γονιδίων. Η βασική υπόθεση της εν λόγω θεωρίας είναι ότι, οι γενετικές πληροφορίες οι απαραίτητες για την αναπαραγωγή των RNA ιών τύπου C, βρίσκονται σε φυσιολογικά κύτταρα αρκετών σπονδυλωτών σε μορφή ογκο-γονιδίων. Τα τελευταία αυτά απαρτίζουν μέρος από τα φυσιολογικά γονίδια των κυττάρων, που αναπαράγονται με αυτά και μεταβιβάζονται σε όλα τα θυγατρικά κύτταρα. Ετσι πιστεύεται ότι τα ογκογονίδια αποτελούν το DNA ανάτυπο του RNA γονιδίου του ιού. Άλλη βασική υπόθεση της θεωρίας είναι ότι, η φαινοτυπική εκδήλωση του ογκογονιδίου είναι η παραγωγή ιού και η απ' αυτό νεοπλασματική εξαλλαγή του κυττάρου καταστέλλεται κάτω από φυσιολογικές συνθήκες με ρυθμιστικούς παράγοντες παρόμοιους με τα ρυθμιστικά κυκλώματα των Jacob - Monod. Οι ανωτέρω ερευνητές πιστεύουν ότι, διαταραχή που επέρχεται στα ρυθμιστικά συστήματα εξαιτίας της επίδρασης διαφόρων παραγόντων, όπως του γήρατος, γενετικών ανωμαλιών, ορμονικών, ανοσοβιολογικών ή εξωγενών καρκινογόνων ουσιών, προκαλεί τη μη ανάπτυξη της αποκρυπτογράφησης των ογκογονιδίων, με αποτέλεσμα την εμφάνιση των νεοπλασματικών ικανοτήτων αυτών. Επομένως, κατά τους ίδιους ερευνητές η βασική αιτία της καρκινογένεσης θεωρείται η μη ανάπτυξη



και ενεργοποίηση του ογκογονιδίου. Διατυπώνουν την άποψη ότι ο έλεγχος της νεοπλασματικής νόσου θα εξαρτηθεί από τον ακριβή προσδιορισμό των υπεύθυνων παραγόντων που προκαλούν την ανάπτυξη της ενεργοποίησης του ογκογονιδίου.

Οι Harvey (5β) και Moloney (12α) ακολούθως στα μέσα της δεκαετίας του 1960 περιέγραψαν ανάπτυξη συμπαγών όγκων και ιδιαίτερα οστεοσαρκωματικό σε mice, rat & hamsters με ιούς τους οποίους απομόνωσης από stock moloney leukemia virus. Οι ιοί αυτοί είναι σήμερα γνωστοί ως MSV-H (murine sarcoma virus - Harvey) και ως MSV-M (Murine sarcoma virus - moloney). Την τελευταία ποικιλία ιού MSV-M χρησιμοποιήσαμε και εμείς στην παρούσα μελέτη με σκοπό να προκαλέσουμε πειραματικά οστεοσαρκώματα σε επίμυες. Προς τα τέλη της δεκαετίας του 1960 και άλλοι ερευνητές όπως ο Soehner και συν (139) και ο Fujinaya και συν (5α) εδημιούργησαν πειραματικά οστεοσαρκώματα σε Rats και hamsters χρησιμοποιώντας είτε τον ιό MSV-M (II) είτε και συνδιασμό των MSV-H & MSV-M.

Όπως ήδη προαναφέραμε πέραν των ιών MSV που προκαλούν οστεοσάρκωμα υπάρχουν και άλλα είδη ιών που είναι ικανά να προκαλέσουν τον ίδιο όγκο ενιέμενα σε πειραματόζωα. Οι ιοί αυτοί είναι μια ποικιλία ιών DNA που φέρονται με το όνομα SV40 (simian virus 40). Η κυρία διαφορά των ιών αυτών από τους ιούς MSV είναι ότι οι τελευταίοι προκαλούν σχεδόν αποκλειστικά και μόνο οστεοσάρκωμα ενώ οι ιοί SV-40 πέραν του οστεοσαρκώματος προκαλούν και άλλους όγκους όπως είναι η λευχαιμία, το λεμφοσάρκωμα ή το δικτυοσάρκωμα (3). Για το λόγο αυτό ο ιός MSV είναι ο πλέον προτιμητέος για την πειραματική πρόκληση οστεοσαρκωμάτων. Ο ιός MSV-M τον οποίο και εμείς χρησιμοποιούμε στην παρούσα μελέτη προέρχεται από πλάσμα αίματος ποντικών (rats) στους οποίους έχει γίνει προηγουμένως ενοφθαλμισμός με ιό moloney leukemia virus κατά τη γέννησή τους. Ο ιός μετά την συγκομιδή του διατηρείται σε χαμηλή θερμοκρασία (-70°C) μέχρι την ώρα της



χρησιμοποίησής του.

Μετά από ενοφθαλμισμό MSV-M από Rat οστεοσάρκωμα σε καλλιέργειες ιστών έγινε κατορθωτό να μελετηθεί ο ιός με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (5a). Στα κύτταρα της καλλιέργειας βρέθηκαν μεγάλες ποσότητες ώριμων και ανώριμων μερών του ιού MSV-M που μορφολογικά φαίνεται να είναι ταυτόσημος με τον ιό murine leukemia type C. Πιο συγκεκριμένα τα ώριμα μέρη έδιναν μια κεντρική ηλεκτροσκοιρότητα (πυκνότητα) από νουκλεοτίδια τα οποία περιβάλλονται από μια εξωτερική μεμβράνη. Τα ανώριμα τμήματα του ιού αποτελούνται από μιά εξωτερική διπλοστιβαδεμένη μεμβράνη, μια άλλη μέση μεμβράνη και μια εσωτερη περισσότερο ηλεκτροπυκνωτική απο τις άλλες δύο. Για την πρόκληση οστεοσαρκώματος σε πειραματόζωα η θέση επιλογής ενοφθαλμισμού του ιού MSV-M φαίνεται να είναι η ενδοαυλική οστική έγχυση (5, 5a, 11 κτλ). Από απόψεως επιλογής οστών το μηριαίο οστόύν προσφέρεται περισσότερο επειδή είναι το μεγαλύτερο σε μέγεθος, έχει ευρή αυλό και πέραν αυτών είναι σε θέση που επιτρέπει ευκολότερους χειρισμούς που απαιτούνται κατά τη διάρκεια ενοφθαλμισμού του ιού. Αλλά η ενδοαυλική έγχυση του διαλύματος είναι μεν θέση εκλογής εναφθαλμισμού αλλά δεν είναι και η μοναδική για την πρόκληση οστεοσαρκώματος. Άλλοι τρόποι είναι η ενδοπεριτοναϊκή ή ενδομυϊκή έγχυση του ιού MSV-M(11). Οι τελευταίοι τρόποι όμως δεν δίνουν εξίσου ικανοποιητικά αποτελέσματα με εκείνα της ενδοαυλικής ένεσης σε ότι αφορά την ταχύτητα ανάπτυξης των οστεοσαρκωμάτων αλλά και το ποσοστό επιτυχούς ανάπτυξης του όγκου στα πειραματόζωα.

Από τη δική μας μελέτη αποδείχθηκε ότι το ποσοστό επιτυχίας ανάπτυξης οστεοσαρκώματος στα πειραματόζωα εξαρτάται επιπλέον και από τον τρόπο με τον οποίο γίνεται η προσπάθεια έγχυσης του διαλύματος MSV-M στον μυελικό σωλήνα. Οπως μπορούμε να παρατηρήσουμε στο [βιβλίο και μέθοδοι] στις δύο πρώτες ομάδες όπου η εισαγωγή της βελόνης εγένετο παραλλήλως προς τον άξονα του μυελικού



σωλήνα, είχαμε και την επιτυχή ανάπτυξη οστεοσαρκώματος στα ενοφθαλμισθέντα οστά. Αντίθετα η προσπάθεια έγχυσης του ιού με τρόπο που η βελόνα εισηγετο κάθετα στον μυελικό σωλήνα (2η και 3η ομάδα) δεν κατορθώθηκε να αναπτυχθεί οστεοσάρκωμα σε κανένα από τα σαράντα ενιεθέντα πειραματόζωα.

Η αποτυχία αυτή μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι η έγχυση του διαλύματος MSV δεν εγένετο μέσα στον μυελικό σωλήνα αλλά έξω από αυτόν δηλαδή μέσα στο πάχος του φλοιού ή στα περίξ μαλακά μόρια. Βεβαίως το γεγονός ότι ακόμα και η εξωμυελική (11) έγχυση ιού, MSV μπορεί να προκαλέσει οστεοσάρκωμα δεν αντιβαίνει στα δικά μας ευρήματα καθότι η πρόκληση οστεοσαρκώματος με αυτόν τον τρόπο απαιτεί μεγαλύτερο χρόνο επώασης αφενός και αφετέρου μεγαλύτερες αραιώσεις του διαλύματος του ιού. Αλλωστε η έντονη υπερπλάσια των μυϊκών κυττάρων στην περιοχή της έγχυσης καταδεικνύει και την καρκινογόνο δράση του ιού στον περίξ μυϊκό ιστό που όμως στις δικές μας περιπτώσεις δεν έφθασε στο σημείο να προκαλέσει μυοσάρκωμα. Η ανάπτυξη οστεοσαρκωμάτων στις θέσεις ενοφθαλμισμού του ιού MSV-M γίνεται λίγες μέρες μετά την εισαγωγή του ιού. Συνήθως το μέσο διάστημα ανάπτυξης είναι εκείνο των τριάντα περίπου ημερών (11).

Στη δική μας μελέτη η πλήρη ανάπτυξη του όγκου έγινε μετά την 30η ημέρα από την ημέρα του ενοφθαλμισμού.

Το ποσοστό επιτυχούς ανάπτυξης πειραματικού οστεοσαρκώματος σε διάφορα είδη πειραματόζωων (Rats, mice & hamsters) φθάνει μέχρι το 80% του αριθμού των ενοφθαλμισμένων ζώων (5, 11, 5α). Τα δικά μας ποσοστά επιτυχούς ανάπτυξης (πλήρους ογκόμορφης επεξεργασίας) οστεοσαρκωμάτων φτάνει για την πρώτη ομάδα το 25% και για τη δεύτερη το 15% αν από τον συνολικό αριθμό αφαιρεθούν τα ζώα τα οποία υπέστησαν καννιβαλισμό. Κάνοντας αναδρομή στην διεθνή βιβλιογραφία δεν διαπιστώσαμε παρόμοιο φαινόμενο ¹⁸⁴. Τα ποσοστά αυτά θα ήταν ασφαλώς υψηλότερα αν η θυσία των πειραματόζωων εγένετο μετά την 30η ημέρα όπου περίπου



αρχίζει να εμφανίζεται η ογκόμορφη επεξεργασία στο οστό ή οποία όμως μπορεί να εμφανιστεί και πολύ αργότερα μέχρι την 65η ημέρα (11). Εν τούτοις ο σκοπός της παρούσης μελέτης δεν ήτο μόνο η ανάπτυξη (η πλήρης) οστεοσαρκώματος αλλά και η προσπάθεια ανεύρεσης και μελέτης αρχόμενης νεοπλασματικής επεξεργασίας στο οστόν. Για τον λόγο αυτό η θυσία των πειραματοζώων άρχισε αρκετά νωρίς (από την 20η ημέρα και μετά) όταν τα μακροσκοπικά δεδομένα ήταν συμβατικά με αρχόμενη νεοπλασία στο σημείο ενοφθαλμισμού του ιού MSV-M. Οπως φαίνεται και στα αποτελέσματα σε αρκετά πειραματόζωα παρατηρήθηκε έντονη οστεοβλαστική υπερπλασία και σε δύο τουλάχιστον περιπτώσεις η τελευταία ήταν έντονη με αρχόμενη ατυπία και μικρή μιτωτική δραστηριότητα ώστε θα μπορούσε να θεωρηθεί ως αρχόμενη εστία ανάπτυξης οστεοσαρκώματος. Η μικροσκοπική εμφάνιση του οστεοσαρκώματος που προκαλείται από τους ιούς MSV ή και από άλλους τύπους ιών είναι παρόμοια με εκείνη των ανθρωπίνων οστεοσαρκωμάτων .

Την πληρέστερη περιγραφή της μικροσκοπικής και υπερμικροσκοπικής υφής των πειραματικώς προκαλούμενων οστεοσαρκωμάτων έκαναν ο Fujinaye και συν. Οι ερευνητές αυτοί εμελέτησαν με κοινό και ηλεκτρονικό μικροσκόπιο οστεοσαρκώματα τα οποία αναπτύχθηκαν σε Rats & Hamsters μετά από ένεση διαλύματος συνδιασμού ιών MSV-H και MSV-M. Τα οστεοσαρκώματα χαρακτηρίστηκαν ως μικτά οστεογενή, χονδρογενή, αγγειωματώδη και σκληρυντικά. Οι όγκοι αποτελούνταν από ατρακτοειδή ωοειδή ή στρογγυλά κύτταρα ενώ παρατηρήθηκαν και γιγαντοκύτταρα σε μερικές περιπτώσεις που πρόσδιδαν την όψη γιγαντοκυτταρικών όγκων των οστών. Βρέθηκαν επίσης περιοχές με ιστιοκύτταρα και γιγαντοκύτταρα του τύπου των ξένων σωμάτων.

Προέχουσα ωστόσο εικόνα ήταν αυτή του οστεογενούς οστεοσαρκώματος το οποίο ξεκινούσε από το περίοστεο. Μέσα στον όγκο παρατηρήθηκαν περιοχές με εμφανή οστεοπλασία ή χονδροπλασία και ήταν διάσπαρτες ανάμεσα σε



αδιαφοροποίητα κακοήθη κύτταρα. Το μέγεθος και η πυκνότητα αυτών των περιοχών όπως και των επιμέρους κυττάρων που τις αποτελούσαν ήταν αποτέλεσμα της εστιακής διαφοροποίησης του όγκου σε οστεοβλαστικό, χονδροβλαστικό ή ινοβλαστικό τύπο οστεοσαρκώματος. Ο αναπτυσσόμενος όγκος διηθούσε τόσο τις περιοχές του μυελού υπό μορφήν ανάπτυξης οστεοβλαστών μεταξύ των κυττάρων του μυελού των οστών, όσο και τα πέριξ μαλακά μόρια (κυρίως μύς) υπό μορφήν διασπάρτων κυττάρων ή μικρών βλαστών. Όπως εδείχθη και στα «αποτελέσματα» τα δικά μας ευρήματα είναι παρόμοια με αυτά που περιεγράφησαν. Το ινοβλαστικό οστεοσάρκωμα που αναπτύχθηκε στο ένα εκ των πειραματοζώων αποτελείται από ατρακτοειδή κύτταρα κυρίως ενώ τα υπόλοιπα δύο αναπτυχθέντα οστεοσαρκώματα είναι οστεοβλαστικού τύπου, αποτελούμενα από στρογγυλά, ωοειδή ή ακανονίστου σχήματος κύτταρα.

Ενδιαφέρον είναι ότι και τα δικά μας ευρήματα συμφωνούν με εκείνα του Fuginaye σε ότι αφορά το σημείο ότι, υπάρχει έντονη περιοριστική επέκταση του οστεοσαρκώματος. Το ιδιαίτερα εμφανές αυτό εύρημα είναι σε μια από τις περιπτώσεις μας όπου ο όγκος αναπτυσσόμενος υποπεριοριστικά στον φλοιό φθάνει μέχρι την διάφυση. Η παραγωγή οστεοειδούς στις δικές μας περιπτώσεις είναι σε ποικίλο βαθμό όχι μόνο μεταξύ των όγκων αλλά και μέσα στον ίδιο όγκο. Ενδιαφέρον είναι ότι στις 17 από τις 59 περιπτώσεις μας παρατηρήθηκε αντίδραση του περιostίου υπό μορφή υπερπλασίας των οστεοβλαστών. Αυτό πιθανώς είναι αποτέλεσμα ερεθισμού τις ογκογόνου δράσης του ιού MSV ο οποίος στα συγκεκριμένα πειραματόζωα δεν κατόρθωσε να αναπτύξει οστεοσάρκωμα, προφανώς λόγω της πρόωρης θυσίας των επιμύων (προ της 30ης ημέρας). Το φαινόμενο αυτό της υπερπλασίας των οστεοβλαστών, είναι περισσότερο έντονο σε δύο περιπτώσεις από τις 17 (περίπτωση 31 και 34), όπου η υπερπλασία είναι σε τέτοιο βαθμό έντονη ώστε θα μπορούσε να χαρακτηριστεί και ως αρχόμενο οστεοσάρκωμα. Αλλά και η



υπερμικροσκοπική υφή των πειραματικώς αναπτυσσομένων οστεοσαρκωμάτων με τον ιό MSV-M είναι παρόμοια με εκείνη των ανθρωπίνων (11). Κατ'αρχάς υπάρχει όγκος με εκτεταμένη οστεοποίηση. Η οστική ουσία καλύπτεται από οστεοβλάστες που στις περισσότερες περιπτώσεις μεταπίπτουν σε οστεοκύτταρα, τα τελευταία είναι επιμήκη ή ακανόνιστα με αντιστοίχου σχήματος πυρήνα. Το αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο είναι καλά αναπτυγμένο στα οστεοκύτταρα αλλά δεν είναι εξίσου εμφανές και στους οστεοβλάστες. Η κυτταροπλασματική επιφάνεια δεν συνάπτεται απευθείας με την οστική ουσία. Η περιοχή ανάμεσα στο κύτταρο και την οστική ουσία πληρούται από μη οστεοποιούμενες κολλαγόνες ίνες. Το οστεοειδές συνίσταται από κολλαγόνους ίνες εύρους 45-90 nm. Κρύσταλλοι υδροξυαπατίτου παρατηρούνται στις ίνες του ασβεστοποιημένου οστεοειδούς. Οι οστεοβλάστες είναι μεγάλοι, ωειδείς ή ακανόνιστοι. ο δε πυρήνας είναι τοποθετημένος έκκεντρα στο κύτταρο μακριά από τον οστεοκυτταρικό σύνδεσμο. Οι χονδρογενείς περιοχές του οστεοσαρκώματος αποτελούνται από οστεοποιημένη και μη οστεοποιημένη χονδρίνη ουσία και χονδροκύτταρα. Η μη οστεοποιημένη χονδρίνη ουσία αποτελείται από ίνες εύρους 15-25nm. Τα χονδροκύτταρα στα βόθρια της μη οστεοποιούμενης χονδρινής ουσίας είναι στρογγυλά ή ωειδή με πολυάριθμες προσεκβολές στο διάστημα του βοθρίου. Στα χονδροκύτταρα παράλληλες γραμμές από αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο περιέχει μια άμορφη ουσία, λίγο πιο πυκνή ηλεκτρομικροσκοπικώς από το πέριξ κυτταρόπλασμα. Στα κύτταρα αυτά η συσκευή Golgi είναι πλήρως αναπτυγμένη. Κόκκια γλυκογόνου βρίσκονται σε μεγάλο αριθμό διασκορπισμένα στο κυτταρόπλασμα.

Ομως ανεξάρτητα από τις παρατηρήσεις που γίνονται με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, οι οποίες δείχνουν ότι η υφή των πειραματικώς αναπτυχθέντων οστεοσαρκωμάτων είναι παρόμοια με εκείνη των ανθρωπίνων, το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο δεν είναι σε θέση να κάνει ασφαλή διάγνωση κατά πόσον τα υπό μελέτη κύτταρα (οστεοβλάστες) ή η οστική ουσία είναι νεοπλασματικά (5α). Η πειραματική



ανάπτυξη οστεοσαρκώματος με ενοφθαλμισμό του MSV-M σε πειραματόζωα όπως και η παρούσα μελέτη ή ακόμη και η ανάπτυξη όγκου σε πειραματόζωα μετά από ένεση εκχυλίσματος ελευθέρων κυττάρων από τμήμα όγκου άλλου πειραματοζώου, καταδεικνύουν προταρχικώς τη δυνατότητα ανάπτυξης οστεοσαρκωμάτων από συγκεκριμένους ιούς, ή με άλλα λόγια την ιογενή προέλευση ορισμένων οστεοσαρκωμάτων. Εκ τούτου πηγάζει αυτομάτως το ερώτημα κατά πόσον και ο ανθρώπινος τύπος οστεοσαρκώματος θα μπορούσε να είναι ιογενούς αιτιολογίας. Στο ερώτημα αυτό προσπάθησαν να απαντήσουν διάφοροι ερευνητές όπως οι Reilly & συν καθώς και ο Friedlander & συνεργάτες.

Η πρώτη ομάδα ερευνητών, εφαρμόζοντας τη μέθοδο του έμμεσου ανασοφθορισμού, ανακάλυψαν ειδικό αντιγόνο οστεοσαρκώματος σε ανθρώπινα είδη οστεοσαρκωμάτων. Πενήντα από τους πενήνταοκτώ όρους ασθενών που μελέτησαν αντέδρασαν με τον ιστό του οστεοσαρκώματος, όπως φάνηκε με τον φθορισμό της μεμβράνης του κυτταροπλάσματος των όγκων. Οι ίδιοι ερευνητές προχώρησαν ακόμη περισσότερο ανακαλύπτοντας το ίδιο αντιγόνο σε Hamsters τα οποία είχαν εμβολιασθεί κατά τη γέννησή τους με εκχύλισμα ελεύθερων κυττάρων από ανθρώπινο οστεοσάρκωμα. Η παρουσία του ανθρώπινου ειδικού αντιγόνου οστεοσαρκώματος στα σαρκώματα των Hamsters τα οποία αναπτύχθηκαν με εκχυλίσματα ανθρώπινων οστεοσαρκωμάτων υποδηλώνει ότι αυτά τα νεοπλάσματα προκλήθηκαν από ιό ανθρώπινου οστεοσαρκώματος. Η δεύτερη ομάδα (Friedlander και συν) εισήγαγε τον ιό MSV-M σε νεογέννητα Wistar-Lewis Rats (όπως και τα δικά μας πειραματόζωα) κατόρθωσαν να αναπτύξουν οστεοσάρκωμα σε μεγάλη αναλογία. Χρησιμοποιώντας στη συνέχεια τη ραδιοσημασμένη θυμιδίνη [^3H -Thymoline] κατόρθωσαν, χρησιμοποιώντας κύτταρα στόχους επάνω σε καλλιέργεια κυττάρων από τους ίδιους όγκους, να αποδείξουν ότι τα οστεοσαρκώματα που παράγονται από τον Moloney sarcoma virus παρουσιάζουν μεγάλες ιστοπαθολογικές και ανοσοβιολογικές



ομοιότητες με τα ανθρώπινα οστεοσαρκώματα.



5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα προκύπτοντα τελικά συμπεράσματα της πειραματικής μας μελέτης συνοψίζονται ως ακολούθως:

1. Η ενδοστική χορήγηση ιού Moloney προκάλεσε την ανάπτυξη νεοπλασμάτων στο μηριαίο οστόν σε επίμυες διαφόρων Ομάδων.
2. Η συχνότητα ανάπτυξης του νεοπλάσματος ήταν σημαντικά μεγάλη όταν η χορήγηση του ιού έγινε το πρώτο 24/ωρο της ηλικίας των ζώων.
3. Η συχνότητα ανάπτυξης του νεοπλάσματος ήταν σημαντικά μεγάλη σε επίμυες που θανατώθηκαν τη 31η - 33η ημέρα από την έγχυση του διαλύματος.
4. Το μέγεθος των αναπτυχθέντων όγκων ήταν ανάλογο του χρόνου θανάτωσης των ζώων.
5. Ιστολογικώς οι αναπτυχθέντες όγκοι, στο σύνολό τους παρουσίαζαν τους χαρακτήρες οστεοσαρκώματος (2 οστεοβλαστικού και 1 ινοβλαστικού τύπου).



6. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα εργασία αποσκοπεί στη μελέτη πειραματικώς προκληθέντων οστεοσαρκωμάτων σε επίμνες. Πέραν του επιδιωκομένου αποτελέσματος της δημιουργίας αυτών των οστεοσαρκωμάτων, μελετάται ο τρόπος ανάπτυξής των σε ό,τι αφορά το χρόνο (χρόνος εμφάνισης του όγκου από την ημέρα των ενοφθαλμισμού του ιού) τον τόπο (ακριβής ανατομική εντόπιση του όγκου) και τη μορφολογία (ιστολογικά χαρακτηριστικά) του νεοπλάσματος.

Παραλλήλως μελετάται και η επίδραση του ίδιου ιού στα οστά των επιμύων όπου δεν κατέστη δυνατή η πειραματική ανάπτυξη του οστεοσαρκώματος. Μελετάται το είδος της επελθούσης βλάβης και η τυχόν σχέση της με το οστεοσάρκωμα. Για την πραγματοποίηση της παρούσης μελέτης χρησιμοποιήσαμε για την πειραματική πρόκληση οστεοσαρκώματος τον ιό σαρκώματος Moloney (Moloney sarcome virus ή MSV-M).

Ως πειραματόζωα χρησιμοποιήσαμε επίμνες του τύπου Wistar-Lewis τα οποία σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα είναι και τα καταλληλότερα για το είδος αυτό της μελέτης. Χρησιμοποιήσαμε ογδόντα (80) συνολικά Wistar-Lewis, νεογέννητα τα οποία διαχωρίσαμε σε τέσσερις ομάδες (1η, 2η, 3η και 4η) των είκοσι (20). Στα



πειραματόζωα αυτά έγινε έγχυση 0,05 ml διαλύματος MSV-M ενδοστικώς ακριβώς κάτω από την επίφυση του δεξιού μηριαίου κονδύλου. Η έγχυση αυτή έγινε για μεν την πρώτη και δεύτερη ομάδα πειραματοζώων, το πρώτο 24ωρο μετά τη γέννησή τους, ενώ για την τρίτη και τέταρτη ομάδα το τρίτο εικοσιτετράωρο.

Η πορεία του πειράματος ελέγχεται καθημερινά κλινικώς (επισκοπικώς και ψηλαφητικώς) αλλά και ακτινογραφικώς (ακτινογραφία των άκρων) κάθε δεύτερη ημέρα. Τελικώς τα πειραματόζωα εθυσιάσθηκαν ανά ομάδα σε τέσσερις διαφορετικούς χρόνους (16η, 20η, 24η και 29η ημέρα) ενώ πολλά από αυτά χάθηκαν λόγω κανιβαλισμού από τις μητέρες τών. Κατά την ιστολογική εξέταση των άκρων που παρουσίασαν ογκόμορφη επεξεργασία διαπιστώθηκαν τρία οστεοσαρκώματα (δύο οστεοβλαστικά και ένα ινοβλαστικό). Τα δύο από αυτά αναπτύχθηκαν στην επίφυση και το τρίτο στο μεταξύ μετάφυσης και διάφυσης.

Όλα τα προκληθέντα πειραματικώς οστεοσαρκώματα της μελέτης μας αναπτύχθηκαν μετά την 30η ημέρα από τον εμβολιασμό, ενώ η επιτυχής ανάπτυξή του όγκου στο σύνολο του υλικού μας ήταν του ύψους του 25%.

Τέλος, πιστεύουμε ότι με την πειραματική μας μελέτη συμβάλαμε στην πληρέστερη κατανόηση της ιογενούς θεωρίας ανάπτυξης του οστεοσαρκώματος.



**ΑΚΤΙΝΟΛΟΓΙΚΗ
&
ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗ
ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ
ΤΟΥ
ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ**

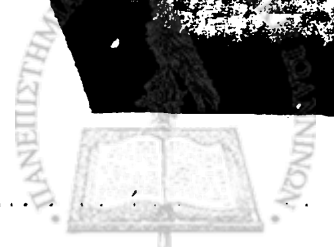




Περίπτωση 1: φυσιολογική απεικόνιση μηριαίου οστού πριν την έγχυση διαλύματος



Περίπτωση 2: φυσιολογική απεικόνιση μηριαίου οστού



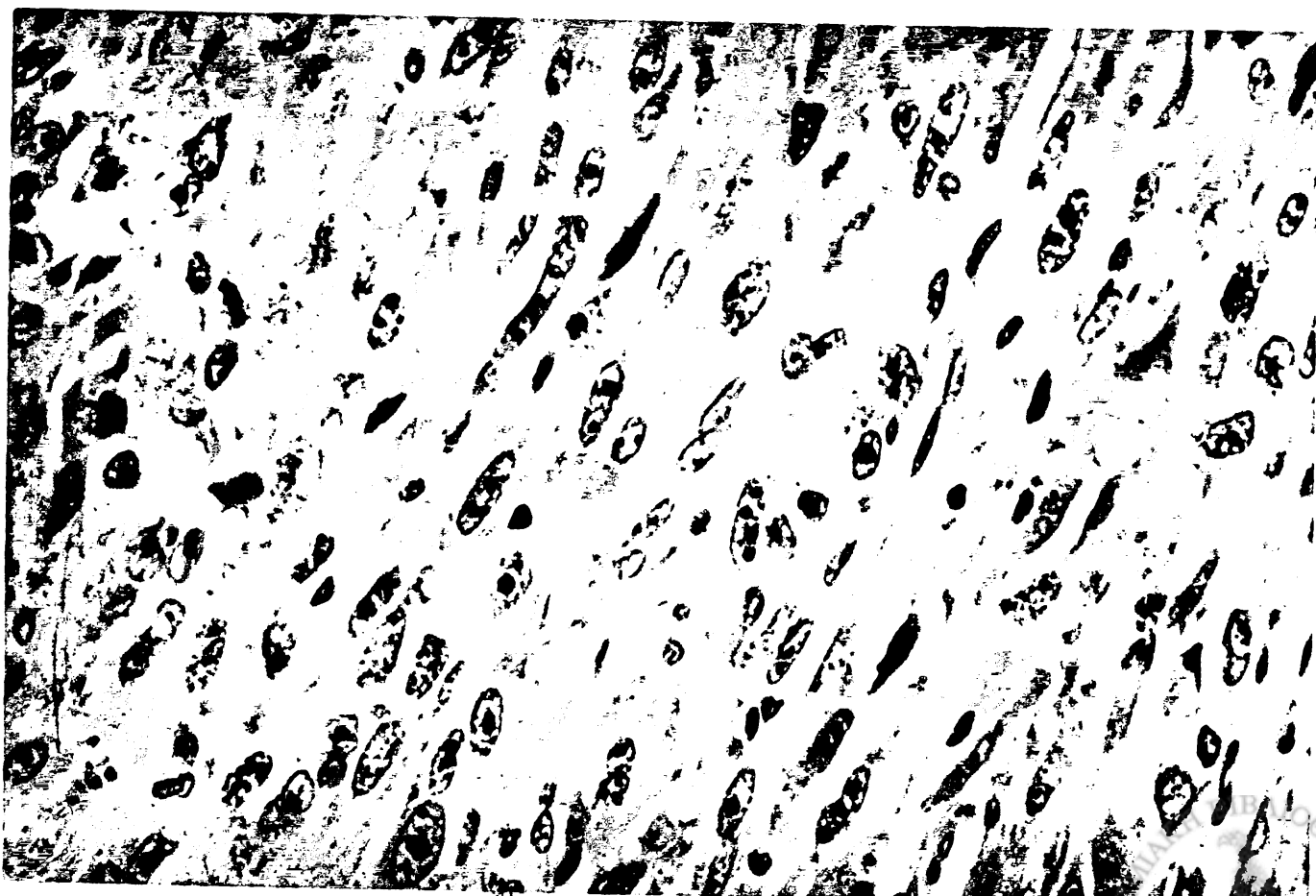


Περίπτωση 3: Διόγκωση μαλακών μορίων μηριαίου οστού και
7η ημέρα από την έγχυση.



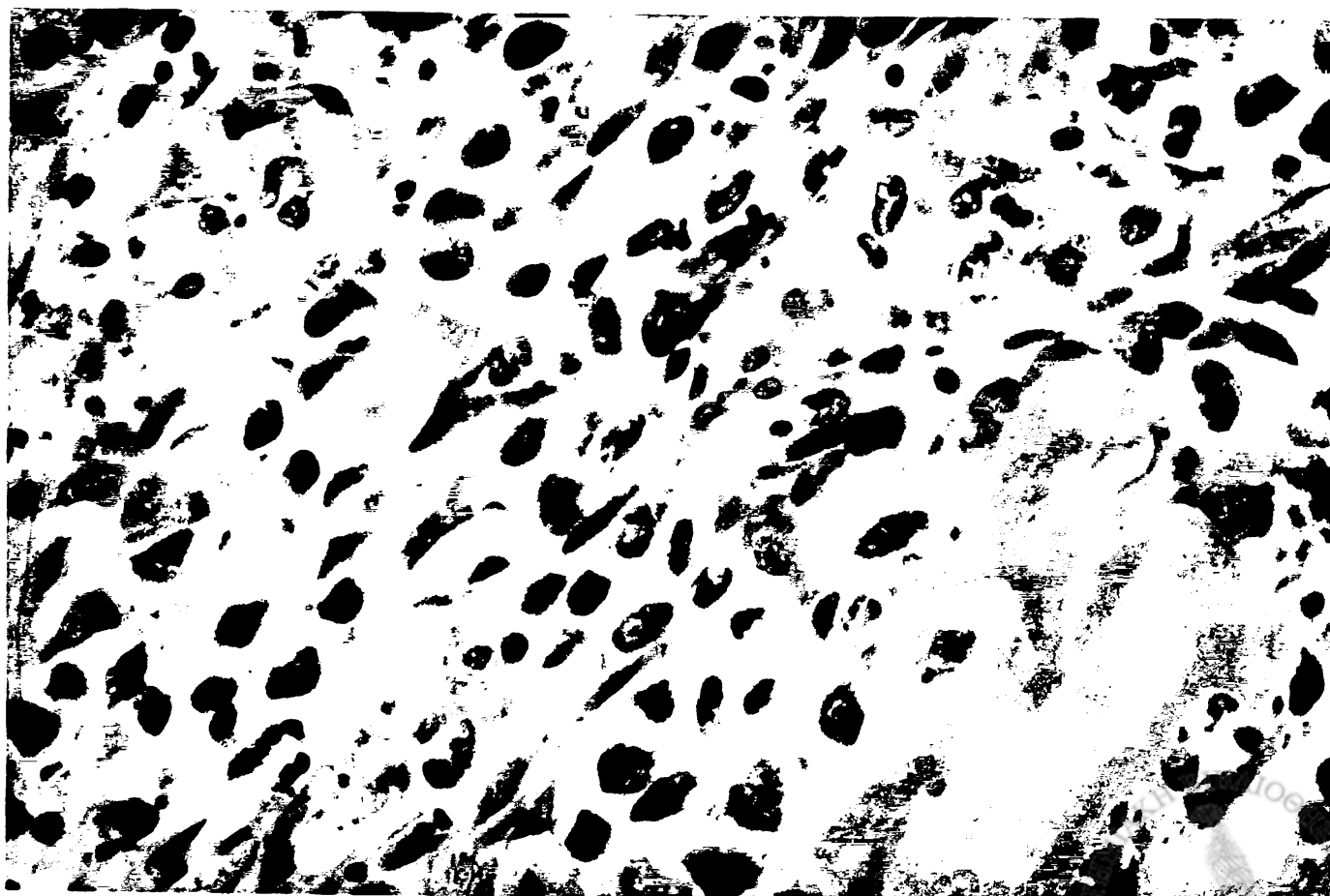
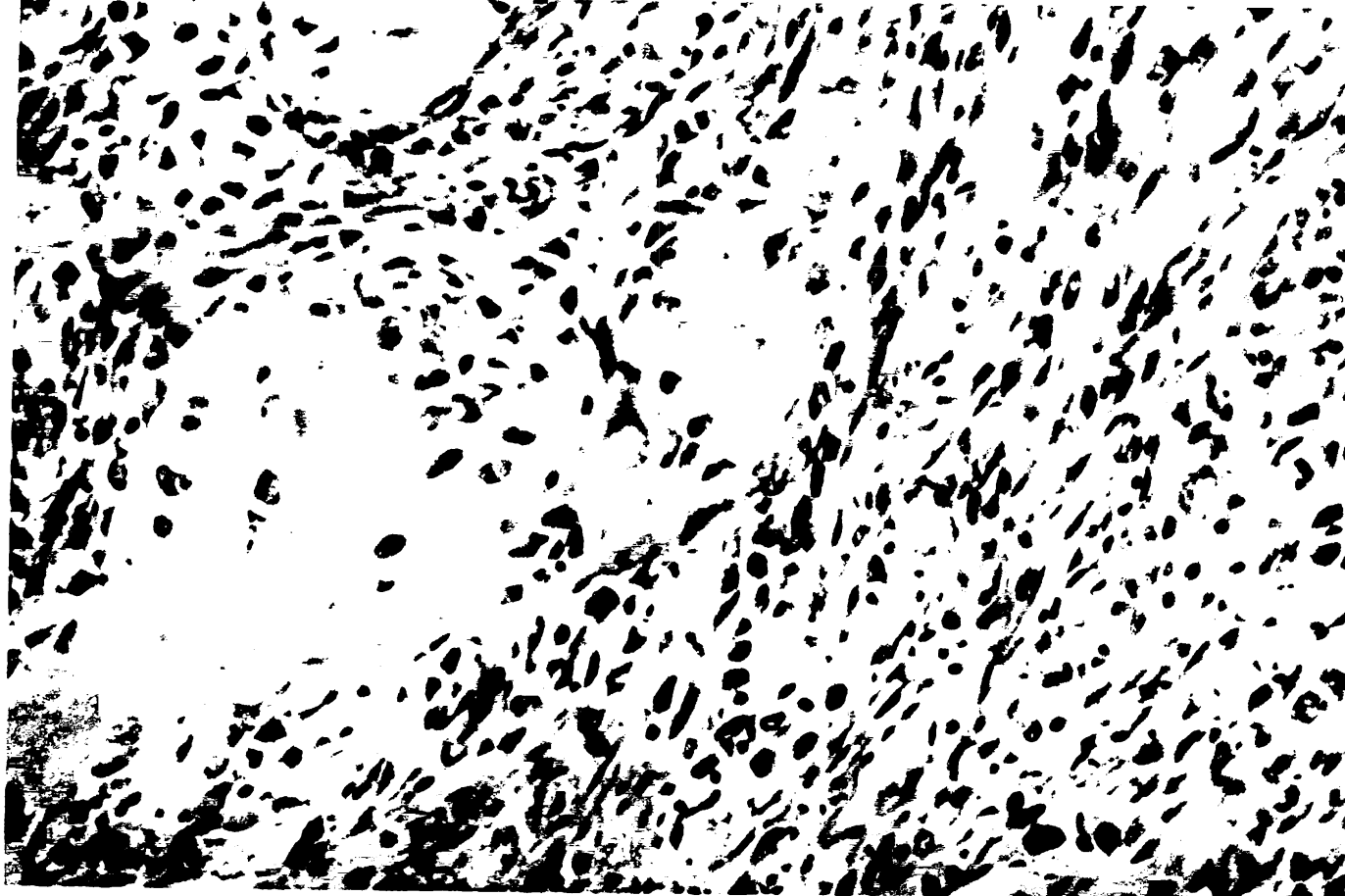


Περίπτωση 5: Ακτινογραφική απεικόνιση της περιπτώσεως
αφορά σε οστεοβλαστικού τύπου οστεοσάρκωμα.



Περίπτωση 4 : Ινοβλαστικού τύπου οστεοσάρκωμα με μέτρια κυτταρική ατυπία και μέτριο αιθυό πυροκινησιών. Χρόση : Αιματοξυλίνη-Ηωσίνη , μεγένηυση X 20.





Περίπτωση 16 : Οστεοβλαστικού τύπου οστεοσάρκωμα με μέτρια κυτταρική ατυπία και μέτριο αριθμό πυροκινήσιών. Χρώση : Αιματοξυλίνη-Ηωσίνη , μεγένθυση X 20.

SUMMARY

The present thesis intends to study experimentally developed **Osteosarcoma** in mice. Beyond the aspired result of the creation of these, the way of advancing them is studied in terms of time (the time of appearance of the tumor from the day of the inoculation of the virus), of location (precise anatomic localization of the tumor), and of quality (histological characteristics) of the neoplasma.

In the meantime, the effect of the virus itself on the bones of the mice is studied as well, since the experimental evolution of the **Osteosarcoma** could not be effected. In addition, the type of the caused damage and its probable relation with the **Osteosarcoma** is studied. For the realization of the present study and the experimental provocation of the **Osteosarcoma**, we used Moloney sarcoma virus or MSV-M.

As for experimental animals, we used mice of the Wistar-Lewis type, which according to the bibliographic facts are the most proper for this kind of study. Moreover, we used eighty (80), newborn Wistar-Lewis in whole, which we separated in four groups (1st, 2nd, 3rd and 4th) of twenty (20). In these experimental mice was effected endsteal infusion of 0,025ml MSV-M solution, precisely under the epiphysis of the right femoral condylus. The infusion concerning the first and the second group of experimental mice occurred in the first-twenty-four (24) hours after their birth, while concerning the third and the fourth groups occurred in the third twenty-four (24) hours.

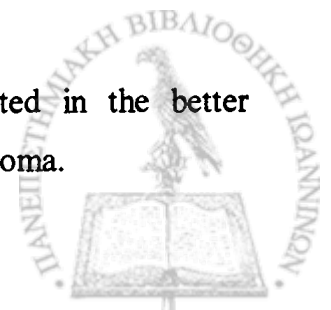
The course of the experiment was controlled daily not only clinically (in supervision and in parable), but also radiographically (radiography of the extremities) every two days.

Ultimately, these experimental mice were sacrificed in teams and in four different times (16th, 20th, 24th, and 29th day), while a lot of them died after being cannibalized by their mathers.

During the histological examination of the extremities which developed a tumor ruass, three **Osteosarcoma** (two osteoblastic and one fibroblastic) were ascertained. Two of them evolved in the epiphysis and the third in between the metaphysis and the diaphysis.

All the experimentally caused **Osteosarcoma** of our study were developed thirty (30) days after the injection, while the successful evolution of the tumors in the total of our material amounted to twenty-five percent (25%).

Finally, we believe that with our experimental study we contributed in the better understanding of the viral theory and its relation to the development of osteosarcoma.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. **WALTER JB & ISRAEL MS:**
GENERAL PATHOLOGY 4th ei. 1974, σελ.374

2. **BRAND, KG., BUOEN, LC, JOHNSON, K.H. et al:**
Etiological factors, stages, and the role of the foreign body in foreign body, tumorigenesis:
A review Cancer Res. 35(2): 279-86 Feb 75

3. **MARCH H.C.:**
Leukemia in Radiologists in a 20 year period.
American Journal of Medical Science, 220, 282-286, (1950)

4. **HORI, G.G. WARREN, S., PATTERSON, B et al:**
Gamma-ray induction of malignant tumors in rats.
Am. J. Pathol. 65: 279-92, Nov 71

5. **DAVIS, C. BRAUN, RC and ALEXANDER, R.W.:**
Osteogenic Sarcoma in a Luminous Watch Dial Painter.
Archives of Surgery N. 86, σελ. 190-195, (1963)

6. **HEYSEL, R. et al:**
Leukemia in Hiroshima Atomic bomb Survivors
Blood (J. Hematology blood) N. 15: 313-331 (1960)

7. **COURT BROWN W. M. and ABBATT, JD.:**
The incidence of Leukemia in Ankylosing Spondylitis treated with x-rays. A preliminary report. Lancel, i. σελ. 1283-1285 (1955)



8. STEWART, A. et al.:
Malignant Disease in Childhood and Diagnostic Irradiation in Utero
Lancet, ii, σελ. 447-462 (1956)

9. LEADING ARTICLE:
Harmful effects of Diagnostic Irradiation
Lancet I, σελ. 255-259 , (1963)

10. MACMAHON, B.:
Prenatal X-Ray exposure and Childhood Cancer.
Journal of the National Cancer Institute 28, σελ. 1173-1191, (1962)

11. LEADING ARTICLE:
More on Leukemia and Radiation
Lancet ii, σελ. 1383-1385, (1960)

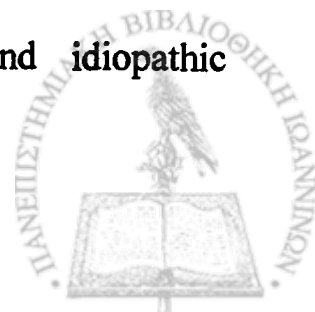
12. WILSON, G.M. et al:
Thyroid Neoplasm following Irradiation.
British Medical Journal N ii: 929-934, (1958)

13. HUEPER, W.C.:
Recent Developments in Environmental Cancer.
Archives of Pathology, 58, 360-399, 475 and 645 (1954).

14. DA SILLVA HORTA, J. et al:
Malignance and other late effects following administration of Thorotrast
Lancet ii, σελ. 201-205 (1965)



15. NEVE, E.E.:
KANGRI – BURN - CANCER.
Brit, Med. Journal ii, 1255-1256, Dec (1923)
16. VAUGHAN, D.:
“Tar Cancer and the Kangri”
Brit, Med. Journal ii, 495-496, Sept. (1925)
17. HINTON J.M.:
“Risk of malignant change in ulcerative colitis”
Gut 7 (5) 427-432 , Oct.1966
18. KIRSHABAUM J.M. and KOZOLL, D.D.:
Carcinoma of the Gall BLADDER and Extra-hepatic bile Ducts.
Surge. Gynecol. And Obstet 73, 740-754, Nov. (1941)
19. EDMONDSON, H.A. and STEINER, P.E.:
“Primary Carcinoma of the Liver “
Cancer (Phil) 7, 462-503, May (1945).
20. SLOAN LN:
Of the origin characteristic and behavior of the Thyroid Cancer
J. of Clin. Endocrinology 14, 1309-1311 (1954)
21. MACKENZIE, D.H.:
Lymphangio sarcoma arising in chronic congenital and idiopathic
lymphoedema.
J. of Clin. Pathol 24: 524-529 Sept.1971



- 22 HEIDELBERGER C :.
Current Events in chemical carcinogenesis.
Fed. Proc. 32: 2154-2161 Dec. 73 (53 ref.)
- 23 POTTER M.:
Percivall pot's contribution to cancer research .
Nat. cancer Inst. Monogr. 10, 1 (1963)
- 24 MILLER, JA.:
Carcinogenesis by chemicals: An overview – G. H. A. Clows Memorial
Lecture.
Cancer Research 30: 559-576, (1970)
- 25 RYSER, H.:
"Chemical carcinogenesis"
New England Journal of Medicine 285 (13) , 721-734 , 23 Sept.1971
- 26 HUEPER, W.:
Recent developments to environmental cancer.
Arch. Of Path. 58, 475-523 (1954)
- 27 BOYLAND, E.:
The Biochemistry of cancer of the bladder.
Brit. Med. Bull. No:14 153-158 (1958)
- 28 WEISBURGER, E. and WEISBURGER, J.:
Chemistry, Carcinogenicity and Metabolism of 2- Fluor amine and related
compounds.
Advance in Cancer Res 5: 331-431 (1958)



- 29 MILLER, J. - MILLER E.:
The Carcinogenic Aminoazo Dyes
Advances in Cancer Res 1: 339-396, (1953)
- 30 BONSER, G.:
Factors concerned in the location of human and experimental tumors.
Brit. Med. J. II: 655-660 (1967)
- 31 KALENGAYI, M. and DESMET, W.:
Sequential histological and histochemical study of the rat liver during
aflatoxin B1-induced carcinogenesis.
Cancer Res. 35 (10) : 2845-52, Oct. 75
- 32 LEADING ARTICLE :
Nitrides, Nitrosamines and Canser.
Lancet I. 1071-1076 , (1968)
- 33 ELLERMANN V and BANG, O.:
Experimentelle Lenkamie bei Huhnery Gentrabi of Bakt.
Abt. 1, 46, 595-609, Jan. (1908).
- 34 ROUS, P.:
A sarcoma of the Fowl transmissible by an Agent separable from the Tumor
Cells.
J. Exp. Med. 13, 397-411, Feb. (1911)



- 35 SHOPE, R.:
Infections Papillomatosis of Rabbits.
J. Exp. Med. 58, 607-624 (1933)
- 36 TEMIN, H.:
Malignant transformation of cells by viruses.
Perspectives in Biology and Medicine 14: 11-26, autumn 1970
- 37 TYTLER, W.:
"A transplantable new Growth of the Fowl producing cartilage and bone"
J. Exp. Med. 17, 466-481 (1913)
- 38 ROUS, P. and LANGE, L.:
The characters of a Third Transplantable Chicken Tumor due to a filterable
cause a sarcoma of intracranial pattern.
J. Exp. Med. 18, 651-664, July (1913)
- 39 ROUS, P.:
On certain Spontaneous Chicken Tumors as manifestations of a single
disease.
J. Exp. Med. 19, 570-575, Apr. (1914)
40. LANGE, L.:
On certain Spontaneous Chicken Tumors as manifestations of a single
disease.
J. Exp. Med. vol 19, 577-580, Apr. (1914)



41. CLAUDE, A. and MURPHY J.B.:
Transmissible Tumors of the Fowl .
Physiol. Rev. 13 , 246-275 (1933)
42. ANDRESWES, C.H.:
Viruses in Relation to the Etiology of Tumors.
Lancet 2, 63-69 and 117, Jun (1934)
43. BEGG, A.M.:
A filterable Fibro- sarcoma of the Fowl.
Br. J. Exp. Path 10, (322-326) Aug. 1929
44. FOULDS, L.:
The Filterable Tumors of Fowls – A Critical Review.
Scient. Rep. Imp. Cancer Res. Fund. 11, Supp 1 – 41 (1934)
45. BEGG, A.M.:
A Filterable Endothelioma of the Fowl.
Lancet 1, 912-915, Apr. (1927)
46. MURRAY, J.A. and BEGG, A.M.:
Histology and Histogenesis of the Filterable Endothelioma of the Fowl.
Scient Rep. Imp. Cancer Res. Fund. Lond. 9, 1-13 (1932)
47. FOULDS, L.:
The Growth and Spread of six filterable Tumors of the Fowl, transmitted by
Grafts.
Scient Rep. Imp. Cancer Res. Fund Lond. 11, 1- 13 (1934)



48. FOULDS L.:
 Histological Studies on Filterable Tumors of the Fowl with special
 Reference to metastatic Growths.
 Scient. Rep. Imp. Cancer Res. Fund. Lond 11, 15 (1934)
49. ROUS P. and MURPHY, JB.:
 On the Causation by filterable agents of three distinct Chicken Tumors.
 J. Exp. Med. 19, 52-69, Oct. (1914)
50. GYE W.E. and ANDREWES, C.H.:
 A study of the Rous Fowl Sarcoma No 1, I filterability.
 Br. J. Exp. Path 7, 81-87, March (1926)
51. CRAMER W and FOULDS L.:
 On the Transmission of the Rous Sarcoma No 1 of the Fowl by Frozen
 Material.
 Scient. Rep. Invest. Imp. Cancer Research Fund 9, 33-39 (1930)
52. FOULDS, L.:
 Observations on non- Filterable Fowl Tumors.
 Amer. J. Cancer 31, 404-413 (1937)
53. GROSS, L.:
 Amer. J. Cancer 31, 404-419 (1937)
54. FOULDS L.:
 Neoplastic Development.
 The Chemical Basis of Development, pp 680-699 (1958)



55. STEWART, H.L. SNELL, KC et al :
Atlas of Tumor Pathology.
Section 12, Fasc. 40.pp. 30-33 (1959)
56. BEARD, J.W. and ROUS P.:
A virus – Induced Mammalian Growth with the characters of a Tumor (The Shope Rabbit Papilloma).
J. EXP. Med. 60: 723-740, (1934)
57. KIDD, J.G. and ROUS, P.:
Cancers Deriving from the virus papillomas of wild rabbits under natural conditions.
J. Exp. Med. 71, 813-838 (1940)
58. KIDD JG. And ROUS P.:
A. Transplantable rabbit carcinoma originating in a virus-induced Papilloma and containing the virus in masked or altered form
J. Exp. Med. 71, 813-838 (1940)
59. SYVERTON JT:
The pathogenesis of the Rabbit Papilloma- to- carcinoma sequence.
Ann. N.Y. Acad Sci 54, 1126-1140 (1952)
60. SYVERTON JT. DASCOMB HE et al:
The virus-induced papilloma to carcinoma sequence.
The ground pattern in natural and experimental infections.
Cancer Res. 10, 379-393 (1950)



61. SYVERTON JT., DASCOMB HE et al:
 Virus-induced rabbit papilloma to carcinoma sequence.
 Carcinomas in the natural Host, the cottontail rabbit.
 Cancer Res. 10, 440-461 (1950)
62. SYVERTON JT, WELLS, EB et al:
 The virus-induced rabbit papilloma to carcinoma sequence.
 Immunological text for papilloma virus in cottontail carcinomas.
 Cancer Res. 10, 474-483 (1950)
63. GINDER DR:
 Rabbit Papillomas and the Rabbit Papilloma virus, a review.
 Ann N.Y. Acad. Sci. 54 1120-1125 (1952)
64. KIDD, J.G. BEARD J.W. and ROUS, P:
 Serological reactions with a virus causing rabbit papillomas which become
 cancerous
 J.Exp. -Med. 64 63-72 (1936)
65. ROUS P.:
 Commends [σε δημοσίευση του R. Dulbecco με τίτλο A Consideration of
 virus-host
 Relationship in Virus-induced neoplasia of the Cellular Level.
 Cancer Res. 20: 751-761, 1960 , Cancer Res. 20, 764-765 (1960)
66. DE THE G. REVIERE, M. and BERNAHARD W.:
 Tumeur VX2 Du Lapin domestique derivée du papillome de Shope.
 Bull Ass. Fr. Etude Cancer 47, 570-584 (1960)



67. GROSS L.:
Pathogenic properties and "Vertical" Transmission of the Mouse Leukemia agent.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. NY. 78, 342-348, Aug. (1951)
68. GINDER DR and FRIEDEWALD NF:
V2 Carcinoma in the rabbit eye
Cancer Res. 12, 429-437 (1952)
69. MELLORS, RC:
Tumor cell localization of the Antigens of the Shope Papilloma Virus And the Rous Sarcoma virus.
Cancer Res. 20, 744-746, (1960)
70. ROGERS S, KIDD JG and ROUS, P.:
Further studies on 3-Aminoacids in normal and neoplastic tissues
Cancer Res 10: 237-242 (1950)
71. ADERVONT, H.B.:
The Viruses.
Vol 3 pp. 307-316 (1959)
72. GUERIN, M. and OBERLING CH:
Neoplasies et Cancers a Virus (1961)
73. NOYES WF:
Studies on the Human Wart Virus II. Changes in Primary Human Cell Cultures
Virology 25, 358-363, (1965)



74. VOHN DS and GALLAGER JF:
Some Physiochemical Properties of Yaba Poxvirus Deoxyribonucleic Acid
J. Virology 3, 114-118: (1969)
75. BEARCROFT WGC and JAMESON MF:
An Outbreak of Subcutaneous Tumours in Rhesus Monkeys
Nature (London) 182, 195-203 (1958)
76. NIVEN, JSF. ARMOSTRONG, JA et al:
Subcutaneous "Growths in Monkeys Produced by a Poxvirus
J. Pathol Bacteriol 81, 1-14 (1961)
77. GRACE JT and MIRANO EA:
Human Susceptibility to a Simian Tumor Virus
Ann. N.Y. Acad. Sci. 108, 1123-1128 (1963)
78. WOLFE, L.G. GRIESEMER, R.A. and FARRELL, R.L.:
Experimental Aerosol transmission of Yaba virus in Monkeys.
J. Nat. Cancer Insnt. 41, 1175-1195, Nov. (1968)
79. SPROUL, E.E. METZGAR, R.S. and GRACE, JT.:
The Pathogenesis of Yaba Virus-induced Histiocytomas in Primates
Cancer RES. 23, 671-675 (1963)
80. FENNER, F. and RATCLIFFE, FN:
"Mycomatosis" Cambridge Univ. Press.
London, and NY. (1965)



81. FISHER. E.R.:
The Nature and Staining Reactions of the Fibroma- Cell; Inclusions of the Shope Fibroma of the Rabbit.
J. Nat Cancer Inst. 14, 355-362 (1953)
82. DURAN-REYNALS F.:
A hemorrhagic disease occurring in chickens inoculated with the rous and Fuginami viruses.
Yale J. Biol Med. 13, 77-98 (1940)
83. YUILL, T.M. and HANSON R.P.:
Infection of Suckling Cottontail Rabbit with Shope's Fibroma Virus
Proc Soc. Ep. Biol. Med. 117: 376-380, 1964
84. KILHAM, L and DALMAT H.T.:
Host- Virus- Mosquito Relations of Shope Fibromas in Cottontail Rabbits.
Amer. J. Hyg. 61, 45-54, July (1955)
85. ANDREWES C.H. and AHLSTROM, C.G.:
A transplantable sarcoma occurring in a rabbit inoculated with tar and infectious Fibroma virus.
J. Pathol, Bacteriol 47, 87-99 (1938)
86. WITTER, R.L. et al:
Cell culture techniques for primary isolation of Marek's disease associated herpes virus.
Avian. Diseases 13(1) 101-118 feb.1969



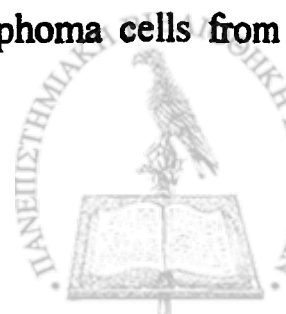
87. MIZELL, M. TOPLIN, J. and ISSACS, J.J.:
Tumor Induction in Developing Frog kidneys by a Zonal Centrifuge
Purified fraction of the Frog Herpes-type Virus
Science 165, 1134-1137 (1969)
88. MELENDEZ, L.V., Daniel MD, HUNT RD, et al:
Herpes-virus saimiri. V . Further evidence to consider this Virus as the
etiological agent of a lethal disease in primates which resembles a malignant
Lymphoma.
J. Nat. cancer Instr. 44: 1175-81, May 70
89. NAHMIAS , A.J. et al:
Antibodies to herpes virus hominids types 1 and 2 in humans. Women with
cervical cancer
Amer. J. Epidemiol. 91(6) 547-552 June 1970
90. CALNEK, B. W. et al:
Avian Dis 14, 219-232 (1969)
91. BIGGS, P.M. et al.:
The Etiology of Marek's Disease . An Oncogenic Herpes – Type Virus.
Perspect. Virol. 6, 211-237 (1968)
92. LUCKE, B.:
Carcinoma of the Kidney in the Leopard Frog: The occurrence and
Significance of Metastasis.
Amer. J. Cancer 34, 15-30 (1938)



93. MIZELL, M., et al.:
Herpes – Type Virus Recovery from “Virus- Free” Frog Kidney Tumors.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 127, 808-814, Oct. (1958)
94. MIZELL, M., et al:
“Virus free” frog kidney tumors.
Science 165, 1134-1147 (1969)
95. GRANOFF, A.:
Heterozygosis and phenotypic mixing with newcastle Disease Virus.
Gold spring Harbor Symp. Quant. Biol. 27o, 319-326 (1962)
96. KLEIN, G.:
Herpes-viruses and Oncogenesis.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 69: 1056-64, April 72 (106 ref)..
97. PIKE, M.C., WILLIAMS, E.H. and WRIGHT, B.:
Burkitt’s Tumour in the West Nile District of Uganda 1961-5
Brit. Med. J. 2, 395-399 (1967).
98. BOOTH, K., et al:
Burkitt Lymphoma in Papua New Guinea
Brit. J. Cancer 21, 657-664 (1967).
99. BURKITT, D.P.:
Burkitt’s Lymphoma outside the know endemic areas of Africa and New
Guinea
Intern. J. Cancer 2, 562-565 (1967).



100. BURKITT, D.P.:
Etiology of Burkitt's Lymphoma – an alternative Hypothesis to a Vectored Virus.
Nat. Cancer Inst. 42, 19-28, Jan. (1969)
101. EPSTEIN, M.A.:
Aspects of the virus.
Advan. Cancer Res. 13, 383-387 (1970)
102. HENLE, W. and HENLE, G.:
"Oncogenesis and Herpesviruses"
Intern. Agency for Cancer Res. Publ. No2, Lyon, France (1972)
103. EPSTEIN, M.A. et al:
Morphological and biological studies on a virus in cultured Lymphoblasts from Burkitt's Lymphoma.
J. Exp. Med. 121, 761-769 (1965)
104. NADKARNI, J.S. et al:
EB viral antigens in Burkitt tumor biopsies and early cultures.
Intern. J. Cancer 6: 10-7, 15 Jul. 1970
105. KLEIN, G. et al.:
Membrane immune cuorescence reactions of Burkitt Lymphoma cells from biopsy specimens and tissue cultures.
J. Nat. Cancer Inst. 39, 1027-1043 (1967)



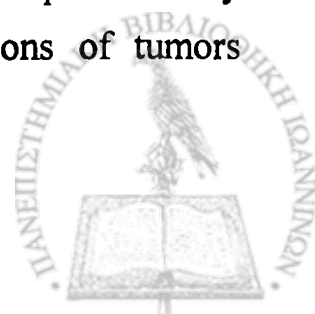
106. GERPER, P.:
Activation of Epstein-Barr virus by 5- bromodeoxyuridine in "Virus-Free"
Human cells.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 69, 83-85 (1972)
107. RABSON, A. et al:
Morphologic Cytogenetic and virologic studies in vitro of a malignant
Lymphoma from an African child.
Intern. J. Cancer 1, 86-106 (1966)
108. HINUMA, Y. and GRACE J.:
Cloning of Burkitt Lymphoma cells cultured in vitro.
Cancer 22, 1089-1095 (1968)
109. NONOYAMA, M. and PEGANO J.:
Detection of Epstein - Barr virus DNA from viral genome in nonproductive
cells.
Nature (New Biol). 233: 103-6, 22 Sept. 71
110. HENLE W. and al:
Herpes-type virus and chromosome marker in normal leukocytes after
Growth with irradiated Burkitt's cells
Science 157: 1064-65 (1967)
111. MILES C. and O NEILL, F.:
Chromosome studies of 8 in vitro lines of Burkitt's Lymphoma.
Cancer Res. 27, 392-402 (1967).



112. PROBERT, M. and EPSTEIN, M.:
Morphological transformation in vitro of Human fibroblasts by Epstein-Barr virus: preliminary observations.
Science 175: 202- 3, 14 Jan. 72
113. KLEIN, G.:
Tumor-specific transplantation antigens: G.H. Clowes Memorial Lecture.
Cancer Res. 28, 625-635 (1968)
114. HENLE, W. and HENLE G.:
Effect of Arginine-deficient Media on the Herpes – type virus associated with cultured Burkitt tumor cells.
J. Virol 2: 182-191 (1968)
115. DEINHARDT, F.:
Studies on the transmission of Human viral hepatitis to marmoset monkeys.
J. Exp. Med. 125: 673-688, 1967
116. ROYSTON, I. And AURELIAN, L.:
Immune fluorescent Defection of Herpes-virus antigens in Exfoliated cells from Human cervical carcinoma .
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 67: 204-212, 1970
117. DUFF, R. and RAPP, F.:
Oncogenic transformation of hamster cells after exposure to herpes simplex virus type 2. Nature (New Biol.) 233: 48-50 , 8 Sept. 71



118. HOHANSSON, B. et al:
Epstein-Barr virus (EBV) Associated antibody patterns in malignant lymphoma and leukemia. I. Hodgkins disease.
Intern. J. Cancer 6: 450-462, 1970
119. HINZE, H.C.:
New member of the Herpes virus Group isolated from wild cottontail rabbits.
Infection Immunity 3, 350-354, Feb. (1971)
120. HINZE, H.C.:
Arthropod transmission of rabbit papillomatosis .
J. Exp. Med. 108: 9 – 20 (1958)
121. SHOPE, R.E. and HURST, E.W.:
Infections papillomatosis of rabbits.
J. Exp. Med. 58: 607-624 (1933)
122. ITO, Y.:
Relationship of components of papilloma virus to papilloma and carcinoma cells.
Gold Spring harbor Symp. Quant. Biol. 27, 387-394 (1962)
123. ORTH, G. et al:
Evidence for and localization of vegetative viral DNA replication by autoradiographic detection of RNA-DNA hybrids in sections of tumors induced by Shope papilloma virus.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 68: 1876-80 , Aug 1971



124. EVANS, C.A. et al:
Antiviral and Antitumor Immunologic Mechanisms as operative in the Shope papilloma – carcinoma system.
Gold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 27, 453-462 (1962)
125. ROGERS, S.:
Induction of arginase in rabbit epithelium by the Shope rabbit papilloma virus.
Nature (London) 183, 1815-1821 (1959)
126. PASSEN, S. and SCHULTZ, R.B.:
Use of the Shope papilloma virus induced arginase as a biochemical marker in vitro.
Virology 26: 122-126 (1965)
127. ROGERS, S. and MOORE, M.:
Studies of the mechanisms of action of the Shope rabbit papilloma virus.
J. Exp. Med. 117: 521-542, (1963)
128. ORTH, G. et al:
On the arginase of the Shope papillomas.
Virology 31: 729-731, (1967)
129. WILLIAMS, M.G. et al:
Morphological characterization of the virus of the Human common Wart (Verruca Vulgaris).
Nature (London) 189, 895 (1961)



130. MENDELSON, C.G. and KLIGMAN, A.M.:
Isolation of Wart virus in Tissue culture.
Arch. Dermatol 83: 559-562 (1961)
131. OROSZLAN, S. and RICH, M.A.:
Human Wart virus: In vitro cultivation.
Science 146: 531-533, (1964)
132. BLACK, P.H. et al:
Transformation of Bovine Tissue culture cells by Bovine papilloma virus.
Nature (London) vol.199, 1016-1018, sept. 7, 1963
133. ROWE, W.P.:
The epidemiology of mouse Polyoma virus infection .
Bacteriol, Rev. 25: 18-31, (1961)
134. NORRBY, E.:
"Comparative Virology"
p. 105 Academic Press, N.Y. (1971)
135. TRENTIN, J.J. et al:
The quest for Human cancer viruses.
Science 137: 835-841 (1962)
136. LARSON, V.M. et al:
Studies of Oncogenecity of Adenovirus type-7 viruses in Hamsters.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 118: 15-24 (1965)



137. GREEN, M.:
Oncogenic viruses.
Ann. Rev. Biochem 39, 701-756 (1970)
138. HUEBNER, R.J. et al:
Oncogenic effects in Hamsters of Human Adenovirus , type 12 and 18.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 48: 2051-2058 (1962)
139. HUEBNER, R.J. et al:
Tumors induced in Hamsters by a strain of Adenovirus Type 3: Sharing of tumor antigens and "Neoantigens" with those produced by Adenovirus type 7 tumors.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 54: 381-388 (1965)
140. GREEN, M.:
Molecular basis for the attack on cancer.
Proc. Nat. acad. Sci. U.S. 69: 1036-41, Apr. 72 (21 ref.)
141. BERNHARD, W.:
Electron microscopy of tumor cells and tumor viruses. A review
Cancer Res. 18: 491-509 (1958)
142. RIFKIN, D.B. and COMPANS, R. W.:
Identifications of the spike proteins of Rous sarcoma virus.
Virology 46: 485-489, Nov. 1971.



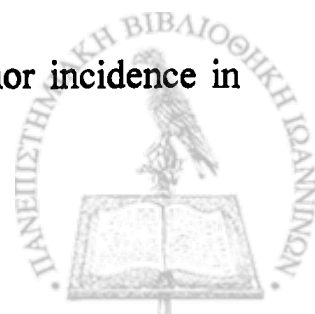
143. NERMUT, M.V. et al:
 Properties of mouse Leukemia viruses. 3 Electron microscopic appearance as revealed after conventional preparation techniques as well as freeze-drying and freeze-etching.
 Virology 49: 345-358 (1972)
144. MIZUTANI, S. and TEMIN, H.M.:
 Enzymes and nucleotides in visions of Rous sarcoma virus
 Virol. 8: 409-416 Oct. 71
145. MOLLING, K., BOLOGNES D.P. Baner H, et al:
 Association of viral reverse transcriptase with an enzyme degrading.
 The RNA moiety of RNA-DNA hybrids.
 Nature New Biol. 234, 240-3, 22 Dec 71
146. ROSENBERGOVA, M. et al:
 Demonstration of a nuclease activity associated with the Avian myeloblastosis virus during attempted purification of the virus and its ribonucleic acid.
 SCIENCES NATURELLES 260, 514-558, May 1965
147. MIZUTANI, S. and TEMIN, H.M.:
 An RNA – dependent DNA Polymerase in visions of Rous sarcoma virus.
 Gold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 35, 847-849 (1970)
148. MOMMAERTS, A.B. et al:
 Dephosphorylation of Adenosine Triphosphate by concentrates of the virus of Avian Erythromyeloblastic Leukosis
 Proc. Soc. Biol. Med. 79, 450-455, Feb. (1952)



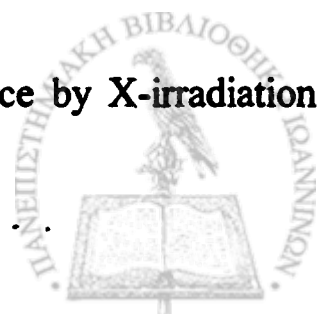
149. STRAND, M. and AUGUST, J.T.:
 Protein kinase and phosphate acceptor proteins in Ranscher murine
 lenkalmia virus
 Nature New Biol. 233, 137-40, 29 Sep 71
150. GANTT, R.R., Stromberg KJ, Montes de Oca F:
 Specific RNA methylase associated with avian myeloblastosis virus.
 Nature (London) 234, 35-7, 5 Nov 71
151. GALLO ROBERT:
 Reverse transcriptase, the DNA polymerase of oncogenic RNA virus.
 Nature (London) 234: 194-198 (1971)
152. KACIAN DL, WATSON KF, BURNY A, et al:
 Purification of the DNA polymerase of avian myeloblaston vinis
 Biochim biophys Acta 246:365-83, 24 Sept 71
153. HURWITZ, J. and LEIS, J.:
 RNA dependent DNA polymerase activity of RNA tumor viruses, I.
 Directing influence of DNA in the reaction
 J. Virol. 9, 116-29 Jan 72
154. QUIGLEY, J.P. Rijkim DB, Reich E:
 Phospholipid composition of Rous sarcoma virus, host cell membranes and
 Other enveloped RNA viruses.
 Virology 46, 106-16, Oct 71



155. DUESBERG, P.H. and VOGT, P.K.:
Differences between the Ribonucleic Acids of transforming and non transforming Avian tumor viruses.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 67: 1673-1680 (1970)
156. ERIKSON, R.L.:
Studies on the RNA from Avian Myeloblastosis virus.
Virology 37: 124-131 (1969)
157. ERIKSON, E. and ERIKSON, R.L.:
Association of 45 vibonucleic acid with oncornavirus ribonucleir acids:
J. Virol. 8, 254-6, Aug 71
158. BISHOP, J.M. et al:
The Low Molecular weight RNA's of Rous sarcoma virus.
Virology 42: 927-937 (1970)
159. LEVINSON, N.E. et al.:
Presence of DNA in Rous sarcoma virus.
Nature (London) 227: 1023-1025 (1970)
160. VARMUS, H. et al Levinson WE, Bishop JM:
Extent of transcription by the RNA dependent DNA polymerase of Rous sarcoma virus. Nature New Biol. 233, 19-21, 1 Sept (1971)
161. BITTNER, J.J.:
Some possible effects of nursing on the mammary gland tumor incidence in mice.
Science 84, 162-171 (1936)



162. BERNARD, N. and BAUER, A.:
Mice en evidence de corpuscules d'aspect viral dans des tumeurs mammaires de la souris. Etude en microscope electronique.
C.R. Acad. Sci. (Paris) 240, 1380-1382, March (1955)
163. HILGERS, J. NOWINSKI RC, GEERING G, et al:
Detection of avian and mammalian oncogenic RNA viruses (oncornaviruses) by immune fluorescence
Cancer Res 32, 98-106, Jan 72
164. MUHLBOCK, O. and BENTVELZEN, O.:
The transmission of the mammary Tumor viruses.
Perspect. Virol 6, 75-87 (1968)
165. CALAFAT, J. and HAGEMAN, P.:
Some remarks on the morphology of virus Particles of the B type and their isolation from mammary tumors.
Virology 36: 308-311 (1968)
166. DAAMS, J.H. et al:
Genetical resistance of inbred strain C57 BL mice against mammary tumor inciting virus II. Resistance by means of a repressed provirus.
Genetica 38: 400-406 (1968)
167. TIMMERMANS, A. et al:
Activation of a mammary tumor virus in 020 strain mice by X-irradiation and Urethane J. Gen. Virol. 4: 619-621 (1969)



168. BENTVELZEN, P.:
"RNA Viruses and Host Cell Genome in Oncogenesis" p.p. 309-317 (1972)
169. TEMIN, H.M.:
Nature of the Provirus of Rous sarcoma.
Nat. Cancer, Inst. Monogr. 17:557-570, Apr. (1964)
170. BALTIMORE, D.:
Viral RNA dependent DNA Polymerase in virions of RNA tumor viruses.
Nature, Vol. 226, 1209-1211, June 27, 1970
171. TEMIN, H.M.:
The provirus hypothesis: speculations on the significance of RNA directed
DNA
Synthesis for normal development and for carcinogenesis
J Watl Cancer Inst 46: 3-7, Feb 71
172. KOPROWSKI, H.:
The Emperor's New Clothes, or an inquiry into the present status of tumor
viruses and virus tumors.
Harvey Lectures, Series 60: 173-216 (1966)
173. BLACK, P.H.:
The oncogenic DNA viruses : A review in vitro transformation studies.
Ann. Rev. Microbiol. 22: 391-426 (1968)
174. MACPHERSON, I.:
The characteristics of Animal cells transformed in vitro.
Adv. Cancer Res. 13: 169-215 (1970)



175. MOLONEY, J.B.:
The Rodent Leukemia's: Virus – induced Murini Leukemia.
Annual Rev. Med. 15, 383-392, Aug. (1964)
176. GROSS, L.:
Development and serial cells free message of a highly potent strain of mouse leukemia virus .
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 94: 767-771 (1957)
177. FRIEND, C.:
Cell-free transmission in adult Swiss mice of a disease having the character of Leukemia.
J. Exp. Med. 105: 307-318 (1957)
178. MOLONEY, J.B.:
Biological studies on a Lymphoid Leukemia Virus extracted from sarcoma 37 I origin and introduced to 2Y investigations.
OrJ. Nat. Cancer Inst. 24, 933-951, Apr. (1960)
179. RAUSCHER, F.J.:
A virus – induced Disease of mice characterized by erythrocytopoiesis and Lymphoid Leukemia .
J. Nat. Cancer Inst. 29, 515-543, Sept. (1962)
180. KAPLAN, H.S.:
“On the Natural History of Murine Leukaemias” ,1968 (book)



181. KAPLAN, H.S.:
"On the Natural History of Murine Leukaemias" :
Presidential address Cancer Res. 27: 1325-1340 (1967)
182. HUEBNER, R.J. and GILDEN, R.V.:
"RNA Viruses and Host Genome in Oncogenesis" p.p. 197-205 (1972)
183. HUEBNER, R.K. and TODARO, G.J.:
Oncogenes of RNA tumor viruses as determinants of cancer.
Proc. Nat. Acad. Sci USA 64: 1087-1094 (1969)
184. SVARE - B. KINSLEY- CH:
INFANTICIDE: Accounting for genetic variation in mice.
PHYSIOL- BEHAV. 1984 July 33(1) p.p. 137-152

