

MC29 VÍRUS ÁLTAL ELŐIDÉZETT MÁJDAGANATOK CSIRKÉKBEN

I. A VÍRUSINDUKÁLT MÁJTUMOROK FÉNYMIKROSZKÓPOS MORPHOLÓGIÁJA ÉS HISTOGENESISE

LAPIS KÁROLY, az MTA lev. tagja,* D. BEARD tudományos munkatárs, J. W. BEARD
M. D., a mikrobiológia professzora

Közlésre érkezett: 1973. VII. 27.

A kísérletesen létrehozott primaer májdaganatok hosszú évtizedek óta az érdeklődés előterében állnak (Kinosita, 1937, Sasaki és Yoshida, 1935; Yoshida, 1934). Az orthoaminoazotoluollal előidézett májdaganatokra vonatkozó első megfigyelések (Yoshida, 1934) óta, nagyszámú különböző, kémiaiilag nem is rokon, szintetikus vegyület májrák-keltő hatása vált ismertté. Fény derült arra is, hogy a szintetikusan előállított hepatocarcinogeneken kívül a természetben is nagyszámban fordulnak elő olyan anyagok — aflatoxinok, cycasin, safrol és a pyrrolizidin alkaloidákkal rokon vegyületek —, amelyek szintén májrakkeltőnek bizonyultak (Pitot, 1970). A különböző vegyületek adagolásával létrehozott májdaganatokra vonatkozó ismereteink fejlődését számos, áttekintő közleményben foglalták össze. A létrehozott daganatok histopathológiájáról és histopathogenesiséről különösen jó áttekintést nyújt Stewart és Snell (1957, 1959) összefoglaló közleménye. Pitot (1970), Miller és mtsai (1966), valamint Miller és Miller (1953, 1966a, 1966b) áttekintő közleményeiből pedig a különböző hepatocarcinogének metabolizmusára vonatkozó ismeretekről, és arról kaphatunk összefoglaló áttekintést, hogy e carcinogenek, ill. azok metabolitjai hogyan kötődnek és fejtik ki hatásukat a cél-szerv, azaz a máj sejtjeire és sejtközzötti állományára. Annak ismeretében, hogy oly különböző szintetikus vegyületek, és a természetben előforduló anyagok bizonyultak májrák-keltőnek, meglepőnek tűnik, hogy egészen a legutóbbi ideig a vírusoknak a primaer májrákok előidézésében játszott szerepéről úgyszólván semmit sem tudtunk. Ez annál meglepőbb, mivel ugyanezen periódusban különböző állatokban előforduló számos daganatféleség víruseredetét bizonyították (Beard, 1963a, 1963b; Gross, 1970). Meg kell azonban jegyeznünk, hogy a megismert nagyszámú filtrálható agens által létrehozott daganatok kevés kivételtől elte-

* A vizsgálatok túlnyomó részt a Duke Medical Center, Department of Surgery, Division of Experimental Surgery laboratóriumaiiban történtek, ahol szerző az 1972. év folyamán meghívott visiting professzor minőségben dolgozott

kintve mesodermális eredetű szövetekből indultak ki. Figyelmet érdemlő kivételnek tűnik az a megfigyelés, hogy az MC29 szárnyas leukosis vírus — egyebek mellett — magas százalékban elsődleges májdaganatok létrehozására is képes (Beard és mtsai, 1970; Heine és mtsai, 1966).

Az MC29 szárnyas daganat vírus törzset eredetileg 1960-ban Sofiában, Bulgáriában izolálták egy spontán leukosisban megbetegedett tyúkból (Ivanov és mtsai, 1964). Az izolált törzssel végzett kísérletek során kiderült, hogy e vírus a daganatok kivételesen széles spektrumának előidézésére képes. A vele történt fertőzést követően myelocytoma, myelocytomatosis, erythroblastosis, lymphomatosis, vesedaganatok, a peritoneum, pericardium és epicardium mesotheliomáinak kifejlődését, és nagy százalékban elsődleges májdaganatok létrejöttét figyelték meg (Beard, 1963a, 1963b; Beard és mtsai, 1970). Az MC29 vírus azon rendkívüli sajátosságának felismerése, hogy a különböző mesodermális eredetű daganatféleségeken kívül, entodermális eredetű daganat, májrák előidézésére is képes (Beard, 1963a, 1963b; Heine és mtsai, 1966) különösen megnövelte érdeklődésünket az MC29 vírustörzs carcinogen potenciálja iránt. A felsoroltakon kívül, különös sajátos vonása e vírusnak, egyéb szárnyas leukózis vírustörzsekkel szemben, hogy *in vitro* a csirkeembryo fibroblast sejtek masszív morfológiai transformációját hozza létre, és megfelelő dózissal történő fertőzés esetén a csirkeembryo sejtek monolayer tenyészetében jellegzetes focusképződést is kivált (Bolognesi és mtsai, 1968; Heine és mtsai, 1969; Langlois és mtsai, 1967, 1969, 1970; Langlois és Beard, 1967). Az MC29 vírustörzs sajátos tulajdonságának ismeretében az utóbbi néhány esztendőben különböző időpontokban több mint 2000 csibét fertőztünk MC29 vírussal. E csibék gondos megfigyelés alatt álltak, és kivétel nélkül boncolásra kerültek, a létrehozott májdaganatok és egyéb elváltozások felderítése, szerveik histológiai feldolgozása céljából. Jelen közleményben e kísérletsorozatokat folyamán észlelt több száz májtumor fénymikroszkópos tanulmányozása alapján összefoglaljuk az MC29 vírustörzs által indukált elsődleges májdaganatok fénymikroszkópos histopathológiájára, valamint e daganatok histogenesisére vonatkozó megfigyeléseinket.

Anyag és módszer

Víruskészítmények

Plasma-pool A.

MC29 vírussal fertőzött, és myelocytomában megbetegedett szárnyasokat szívpunkcióval elvéreztettünk, és az összegyűjtött vérplasmát 02 Celas filteren keresztül (Celas Corporation, America, Philadelphia, Penn.) szűrtük át.

Szövettenyésztő folyadék

Az A plasma-pool-t használtuk, hogy Rous resistantia indukáló factor-tól (RIF) mentes csirkeembryo sejttenyészeteket fertőzzünk korábbi közleményben leírt módszer szerint (Bolognesi és mtsai 1968; Calnek, 1964). A sejteket Calnek (1964) módszere szerint olyan MI99-es mediumban tenyésztettük, melyet tryptosephosphat broth-szal és bovin serummal egészítettünk ki, emellett penicillint, streptomycint, valamint fungizonet adtunk hozzá. A „Tápfolyadék A” jelzésű készítményt úgy nyertük, hogy a tenyészeteknek „plasma-pool A”-val történő fertőzése után 30 nappal szüreteltük le a tenyésztő közegét. A kultúrák már 10–11 nappal a fertőzés után teljesen transformálódtak, a szüretelést mégis csak a 30. napon végeztük el.

A tenyészfolyadék B jelzésű készítményt ezzel szemben úgy nyertük, hogy a kultúrák fertőzése után a 17. napon szüreteltük le a tápfolyadékot, vagyis a kultúrák transformációját követő 7. napon. Valamennyi leszüretelt tápfolyadékot mindkét készítmény esetében $1,2 \mu$ pórusnagyságú millipor filteren (Millipore filter Corporation, Bradford, Mass.) szűrtük át.

Kísérleti állatok

Kísérleteinkhez vagy a beltenyésztett fehér Leghorn 15-ös vonalba tartozó csibéket (Regional Poultry Research Laboratory, East-Lansing, Michigan), vagy Shaver törzsű fehér Leghorn csibéket (Shaver Poultry breeding Farms Ltd. Galt, Ontario, Canada) használtunk. A csibéket a Central Carolina Farmer's Exchange, Durham, North Carolina cégtől szereztük be. A csibék fertőző anyaggal történő beoltása azok 1–5 napos korában történt, és a fertőzést követően naponként vagy arra szükségesnek mutatkozó intervallumokban vérkeneteket készítettünk a keringő véralakos elemekben beálló változások regisztrálására.

A vírus particulumok koncentrációja

A vírus koncentrációt a fertőzésre használt vérplasmában és szövettenyésztő folyadékokban, agarra ülepített particulumok elektronmikroszkópos leszámolásával, és ehhez csatlakozó számításokkal határoztuk meg. Ezek szerint a fertőzésre használt plasma-pool A készítmény $1,3 \times 10^9$ vírus particulumot tartalmazott ml-enként. A szövettenyészetekből nyert „tápfolyadék A” készítmény ugyancsak $1,3 \times 10^9$ vírus particulumot tartalmazott ml-enként, a „tápfolyadék B” jelzésű készítmény pedig 2×10^8 vírus particulumot tartalmazott ml-enként.

A fertőzés módja

A fentebb leírt törzsekből származó 1—5 napos csibéket a szárny-vénán át, intravénásan fertőztük. A plasma-pool A jelzésű készítményből az állatok egy része 0,2 ml-t, más része 0,1 ml mennyiséget kapott. A szövettenyészítő folyadék A jelzésű készítményből az állatokat 0,5 ml volumenű anyaggal fertőztük, míg a szövettenyészítő folyadék B jelzésű készítményből állatonként 0,1 ml-t vittünk be intravénásan a szárny-vénába.

Az állatok megfigyelése, leölése és feldolgozása

Az állatok a fertőzés után gondos megfigyelés alatt álltak. Naponként, vagy más szükségesnek mutatóköző intervallumban vérkeneteket készítettünk, kóros véralakos elemek megjelenésének nyomonkövetésére. Az állatok a fertőzést követő 25, 45 nap között erősen anaemizálódtak, és azokat elhullás előtt szívpunkcióval elvéreztettük, majd gondosan felboncoltuk, és a macroscopos leleteket jegyzőkönyvileg rögzítettük. Az állatok 30—50%-ában macroscopos is megállapítható kisebb-nagyobb körülírt tumoros csomó alakult ki a májban. Ezek a tumoros csomók csakúgy, mint az egyéb szervekben észlelt tumoros infiltrációk szövettani feldolgozásra kerültek. Az anyagokat fénymikroszkópos vizsgálat céljára Zenker-oldatban rögzítettük, a csontot és a csontvelőt pedig puffert formalinban. A paraffinba ágyazott anyagokból rutinszerűen hematoxylin-eosinnal festett metszetek készültek. Az esetek egy részében speciális eljárásokat, és pedig PAS-reakciót, Gömöri-féle ezüst impregnációt, Mallory-féle festést, valamint az epe-pigment kimutatására szolgáló festést is végeztünk.

Macroscopos morphológia

Az 1—6 sz. ábrák demonstrálják a fertőzést követő késői szakban, vagyis az infectio utáni 30—45. nap között leölt csirkékben kialakult elsődleges májdaganatok macroscopos vonásait. Szembetűnő a daganatok multiplex volta, valamint a tumoros csomók különböző nagysága. A tumoros csomók eloszlását tekintve egyik májleány sem mutatkozott predilectiós helynek.

A legtöbb daganatos csomó jól körülírt volt, bár histológiai vizsgálat szerint betokolódás jelei nem mutatkoztak, és a stroma reakció is igen csekély volt és gyér számú tumor körül fordult elő. Egyes csirkékben igen különböző típusú daganatok fejlődtek ki. A legtöbb csirkében azonban volt egy alaptípusa a kifejlődött daganatnak, előfordultak átmeneti formák más típusok felé. A legkisebb daganatok kis gombostűfejnyi, 0,5—1,0 mm átmérőjű, enyhén a máj felszíne fölé emelkedő csomók formájában jelentkeztek, míg a nagyobb daganatok 5—10 mm átmérőjűek voltak, de változatlanul jól körülhatárolt csomóknak mutatkoztak. A nagyobb daganatos csomók szembetűnően

a májfelszín fölé emelkedtek. Némelyik nagyobb daganat felszínének közepén köldökszerű behúzóadás mutatkozott. Ez feltehetően a daganatos csomó közepén végbemenő necroticus folyamat következtében fellépő retractio, visszahúzóadás eredménye. Necrosisok ugyanis — amint az a metszlapon megállapítható volt —, a daganatos csomók középső, rosszabbul táplált részében, meglehetősen rendszeresen előfordultak. Olykor a szomszédos tumorok összeolvadtak, különösen ha a daganatos csomók igen nagyszámúak voltak. A szervezet deformáló és helyéből kimozdító, vagy más hasi zsigert dislocaló nagyobb tumorok azonban ritkán fordultak elő.

A daganatos gócek, nagyságuktól függően, sárgásfehér, szürke, olykor vörösesbarna színűek voltak, ritkán enyhén sárgászöld színű daganatok is előfordultak. A metszlapon a nagyobb daganatokban változó alakú és nagyságú, sárgás vagy vérzéses területek voltak megfigyelhetők a centralis régióban. A daganatok rendszerint valamivel lágyabbak és törékenyebbek voltak, mint a környező májszövet, a nagyobb tumoros csomók különösen lágy, törékeny velős állományúnak bizonyultak. Előfordultak azonban a tumorokban olykor kisebb, körülírt, tömöttebb gócek, olykor pedig porc-kemény területek is (1–4. ábra).

A fentebb leírt daganatok mellett elég gyakran előfordultak előbbiektől eltérő, sajátos macroscópos és microscópos vonásokkal rendelkező daganatok is. Ezek mint kicsiny 1–5 mm átmérőjű, enyhén a felszín fölé emelkedő, élénk, ragyogó vörös színű csomók, vérrel telt cysták mutatkoztak, melyeket szélükön keskeny szürkés-fehér szegély zárt körül. Ezen szürkés, lágy tumoros szövet alkotta a falát az egyébként vérrel telt cystaszerű képződményeknek. Ezen laesiók megjelölésére a haemorrhagiás carcinoma elnevezést javasoljuk, hogy megkülönböztessük őket az MC29 vírussal fertőzött csirkék májában kialakuló daganatok egyéb formáitól. A haemorrhagiás carcinomák rendszerint simultan, más típusú tumoros csomók között szétszórtan fordultak elő. Némely csirkében azonban kizárólag ilyen haemorrhagiás típusú tumoros csomók fordultak elő, igen nagy számban (5–6. ábra).

Az MC29 vírus által indukált májtumorokra jellemző szembetűnő sajátos vonásként említhetjük, hogy azok teljesen cirrhosis mentes májban alakultak ki, bár egyébként a máj rendszerint megnagyobbodott volt. A daganatos csirkék egyrésztében áttételek macroscóposan is megfigyelhetők voltak, elsősorban a tüdőben, de olykor a lépben is. Az áttételek kölesnyi színes gombostűfejnyi fehér csomócskák formájában tűntek elő.

A fénymikroszkópos leletek ismertetése

A vírusfertőzést követő korai májelváltozások tanulmányozására nem állítottunk be külön kísérleti csoportokat. Minden kísérlet esetén előfordult azonban, hogy a fertőzött csibék közül néhány elhullott a fertőzést követő első

napokban, vagy a későbbi időpontokban, de még a daganatok kialakulását megelőzően. Ezen állatok szervei is rendszeresen szövettani feldolgozásra kerültek. Ily módon a májban a daganatok kifejlődését megelőzően végbemenő elváltozásokról is többé-kevésbé hű képet nyerhettünk.

A fertőzést követő első napokban elpusztult állatok májának vizsgálata során szerzett tapasztalataink szerint a vírusfertőzést követően — legalább is az általunk alkalmazott dózis mellett — nem következik be a májlebenyekék egyes zónáit érintő, vagy a zónáktól függetlenül májsejt csoportokat, nagyobb területeket érintő necrosis. Gócos véletlenszerű eloszlásban egy-egy májsejt pusztulása viszont rendszeresen előfordult. A pusztuló sejtek egy része erősen duzzadt, ún. ballonsejtté alakult, és bennük magfestődés nem mutatkozott, a mag lysis mehetett végbe. Máskor a pusztuló sejtek zsugorodtak, élénk eosinophil festődést mutattak, és bennük igen kicsiny piknotikus mag vagy magfragmentumok mutatkoztak. A pusztuló májsejtek azonban szórványosan fordultak elő. A sejtek túlnyomó többsége épnek bizonyult, ill. kóros elváltozásként csak a lipidesepppek felszaporodását észleltük. A Kupffer-sejtek többnyire duzzadtak, kötélékeikből kiváltak, aktiválódtak.

Az egy héttel, tíz nappal a vírusfertőzést követően elpusztult csibék egy részének májában kisebb-nagyobb gócokban átalakult, transformált májsejtcsoportokat figyelhettünk meg (7–8. ábra). A transformált májsejtekből álló gócek többnyire mikroszkópos kicsinységűek voltak. E gócek teljesen szabálytalan, véletlenszerű eloszlásban fordultak elő, és a gócek a májlebenyekék nagyságánál rendszerint kisebbek voltak. A lebenyke egyik zónája sem bizonyult praedilectiós helynek, olykor a vena centralis körüli zónában, máskor a középső, ill. a portalis traktushoz közel eső széli zónában találtunk ilyen góceket. A transformált hepatocyták igen sajátos, jellegzetes cytológiai vonásokkal rendelkeztek. A normál májsejtekhez képest lényegesen megnagyobbodott polygonális sejtekben jelentősen megnagyobbodott, vesicularis küllemű mag foglalt helyet, a maghártya élesen kirajzolódott. Az üresnek tűnő, duzzadt sejtmagvakban egy vagy több feltűnően megnagyobbodott éles kontúrú nucleolus tűnt szembe. Gyakran a vízenyős vesicularis magban helyet foglaló szembetűnő nagy nucleolus a sejtmagnak madárszemszerű küllemet kölcsönzött. A transformált sejtek cytoplasmája haematoxylin eosinnal sötétebb basophil festődést mutatott. A transformált sejtek között nagy számban találtunk osztódó sejteket is. A májsejtek ezen átalakulása rendszerint együtt járt az adott területen a májszerkezet átépülésével is. A transformált hepatocytákból álló gócek területén a trabecularis szerkezet megbomlott, a transformált sejtek szabálytalan alakú acinusszerű képződményeket alkottak, vagy több sejtsorból álló, rövid, vastkos trabeculákat hoztak létre, melyeket tágult sinusoidok öveztek. A transformált sejtekből álló trabeculákat a szokásosnál tágabb sinusoidok övezték, az acinusszerű járatok között is megfigyelhetők voltak a tágult sinusoidok és a kötélékeikből kivált duzzadt Kupffer sejtek. Gyakran észleltünk olyan képet,

mikoris egyugyanazon májsejt-gerenda egyik szakasza transformált sejtekből állt, melyhez normális hepatocytákból álló szakasz csatlakozott. Olyan acinusok is előfordultak, melyeket részint transformált, részint pedig normál hepatocyták alkottak. Ezen képek alapján az a benyomásunk alakult ki, hogy a májsejtek in situ transformációja következett be a vírus infectio hatására. A transformált hepatocytákból álló gócot semmiféle sejtes reakció nem választotta el a környező ép májszövettől (7—8. ábra). A transformált hepatocytákból álló gócok területén a sinusoidok is jelentős átalakulást szenvedtek, lefutásuk szabálytalanná vált, tágult és szűkült, vagy teljesen komprimált, obliterált szakaszok váltogatták egymást.

A mintegy két héttel a fertőzést követően elhullott csibék egy részének makroszkóposan épnék tűnő májában szövettanilag elszórtan, szabálytalan, elágazó acinusok átmetaszeteit figyelhettük meg, amelyeket transformált hepatocyták alkottak. Az acinusokat a transformált májsejtek egy sorban bélelték, olykor azonban a sejtek egymásra torlódtak és szakaszosan, az acinus hám többmagorossá, vagy éppen többsorossá vált. E képletek atypusos acinusszerű képződménynek felelnek meg. Ilyen atypusos mirigyes struktúrák izoláltan, máskor pedig csoportosan fordultak elő. Lumenük némelykor üres volt, többnyire azonban desquamált, pusztuló májsejtek törmeléke és fehérjedús eosinophil festődésű homogén massa volt megfigyelhető benne (9—10. ábra). Hasonló képződményeket a később elhullott daganatos állatok tumoros májának daganattól megkímélt területein is gyakran megfigyeltünk. Ritkábban a csibék májában a transformált hepatocytákból nem atypusos acinusok, hanem a környezettől elhatárolódó, jól körülírt kerekded gócok, ún. hyperplasiás csomók alakultak ki (11. ábra). A hyperplasiás gócot alkotó sejtek között gyakori volt az oszló sejtek előfordulása. A gócok területén az eredeti lebenykés szerkezetnek nyomai sem ismerhetők fel. A gócok többsejtsorból álló, hosszabb-rövidebb, változó orientációjú trabecularis struktúrákból épülnek fel, melyeket szabálytalan lefutású, változó tágasságú sinusoidok választanak el egymástól.

Fenti elváltozások mellett a csibék májának egy részében kisebb-nagyobb kiterjedésű, körülírt, szabálytalan alakú leukémiás infiltrátumokat is megfigyelhettünk (11. ábra).

Ritkábban egy másik elváltozás-sor is megfigyelhető volt a fertőzést követően 10—14 nappal elhullott csibék egy részének májában, és hasonló elváltozásokat észleltünk a tumorosan elhullott állatok egy részében is a máj daganattól megkímélt, makroszkóposan épnék mutatózó területein. Ezen elváltozások elsősorban a májlebenykék portalis tractussal szomszédos széli zónáiban voltak megfigyelhetők. Egy-egy portalis tractus területén kis epeutak proliferációja, felszaporodása volt megfigyelhető; ezen kis epeutakat hólyagos chromatinszegény, ovális magvú, alacsony köbhámsejtek bélelték egy rétegben. Olykor a burjánzó kis epeutak a szomszédos májparenchymába

is benyomultak, máskor csak az epeutakat bélelő hámsejtekhez hasonló sejtek, ún. ovális sejtek hatoltak be a szomszédos májparenchymába elágazódó, keskeny sejtkötegek formájában (12. ábra). E burjánzó sejtek májsejt irányában differenciálódtak és belőlük fénymikroszkópos citológiai vonásaikat tekintve a korábban leírt transformált hepatocytákhoz hasonló sejtek alakultak ki, melyek vagy torzult acinusszerű képződményeket, vagy többsejtsoros zömök trabeculákat alkotnak (13, 14, 16. ábra). A kialakult acinusszerű járatok egy részének lumene kitágult, benne sűrű fehérjedús PAS pozitív secretum halmozódott fel, vagy hámválásuk egy-egy szakaszon körkörösén ellapult, s ennek eredményeként endothelszerű béléssel rendelkező mikrocysták alakultak ki (15. ábra).

Az MC29 vírussal fertőzött csibékben kialakult májdaganatok — mint már utaltunk rá — a néhány Kupffer sejtes sarcomától, haemangioendotheliomától eltekintve kivétel nélkül hepatocellularis rákoknak bizonyultak.

A megfigyelt májdaganatok histológiailag négy alaptípusba sorolhatók, éspedig: 1. trabecularis carcinomák, 2. adenocarcinomák, 3. anaplasticus carcinomák és 4. az úgynevezett haemorrhagiás carcinomák. Némelykor ugyanazon histológiai alapszerkezet volt megfigyelhető ugyanazon májban előforduló multiplex tumoros csomók mindegyikében. Az esetek többségében azonban különböző histológiai felépítésű daganatok változó kombinációban voltak megfigyelhetők egyugyanazon májban. Nem volt az sem kivételes jelenség, hogy egyetlen körülírt tumoros csomóban a fent említett histológiai variánsok egymás mellett fordultak elő. A továbbiakban a fentebb említett négy szövettani alaptípus fontosabb jellegzetességeit ismertetjük, ugyanakkor igyekszünk módot találni arra is, hogy a vírusindukált tumorok morfológiai megjelenésére jellemző dinamikus variabilitásra is rámutassunk.

1. *Trabecularis carcinomák*

Leginkább ezen daganat architektúrájában mutatkozik hasonlóság a májsejtek normális trabecularis elrendeződéséhez. A daganatsejtek változó szélességű és hosszúságú trabeculákat képeznek. Helyenként a trabeculák csak néhány sejt vastagságúak, máshol pedig a daganatsejtek széles kötegeiből épülnek fel. Harántmetszetben a trabeculák szélességüktől függően megjelenhetnek acinusszerű formációk vagy nagyobb, szabálytalan cilindrikus sejt-masszák, sejtesoportok formájában. A daganatos sejtkötegek nem mutatnak szabályos orientációt, olykor párhuzamosan futnak, majd a szomszédos kötegek anastomizálnak, egybefolynak. Az egybefolyt trabeculák sejtes elemei helyenként adenomatosus struktúrákat képeznek. Némelykor a daganatsejtekből felépülő trabeculák esetében bizonyos radiális elrendeződés felismerhető, a lebenyikes szerkezetet utánzó kép azonban még a leginkább differenciált

trabeculáris daganatban sem látható. A daganatos sejtkötegek sejtjei között olykor epecanaliculusokat vagy azok csökevényes formáit figyeltük meg. Epe-secretiora vagy epepangásra utaló jeleket rendszerint nem észleltünk, besűrűsödött epe nem fordult elő ezen tumorokban, vagy csak kivételes jelenség volt. Gyakori lelet volt viszont, hogy több transformált daganatos májsejt övezett egyetlen tágult epecanaliculust, ily módon tubularis elrendeződést öltve. Ilyen formációk olykor nagy számban voltak megfigyelhetők elszórtan, a daganat különböző területein, amely egyébként alapszerkezetét tekintve, trabeculáris szerkezetű volt. Az ilyen daganatok erősen emlékeztetnek szerkezetükben az embrionális máj architektúrájára. A trabeculákat változó szélességű, olykor szakaszosan kitágult, máskor elkeskenyedett sinusoidok övezik. A sinusoidok többnyire vérteltek voltak, és a kiszélesedett, vérrel telt sinusoidok harántmetszetben vértelt cavernosus üregek formájában mutatkoztak. E daganatok igen stromaszegények, ezüstimpregnációs készítményekben is csak vékony argiophil rostok figyelhetők meg a trabeculák között (17., 18., 19. ábra). Sejtes stromareakció is igen ritkán mutatkozott és csekély mérvű volt, lymphocyták halmazaként jelentkezett a tumoros csomók körül. A Kupffer-sejtek száma a daganatos csomón belül kevesebbnek tűnt, mint a környező normális májban. Helyenként azonban felhalmozódott Kupffer-sejt csoportok voltak megfigyelhetők a daganatos sejtkötegek között. A daganatos trabeculákat alkotó sejtek alapvető cytológiai vonásai erősen festődő eosinophil cytoplasma, nagy kerekded, ovoid mag, nagy világos nucleoplasmával és szembetűnő prominens nucleolussal. Maguk a sejtek polygonálisak, a sejt-szélek jól kifejezettek. A vesicularis küllemű mag a szembetűnő maghártáival és a sötétén festődő prominens nagy nucleolussal madárszemszerű küllemmel bír. Egnél több nucleolust tartalmazó sejtek is gyakran előfordultak.

Olykor sajátos, bizarr alakú sejtmagvak is előfordultak, különösen a daganatos gócok centrális zónájában. A transformált májsejtek mitoticius aktivitása meglehetősen magas volt, különösen a daganatos gócok széli zónájában, ahol egy-egy nagy nagyítású látótérben három—hat osztódó sejt is megfigyelhető volt.

Nagyszámú, daganatos góc szövettani vizsgálata alapján az a benyomásunk alakult ki, hogy a trabeculáris felépítésű tumoros csomók többsége közvetlenül a portalis tractussal érintkező parenchyma sejtek transformációjának eredményeként alakult ki, és ezt követően progresszíven növekedett a lebenyke centruma felé, előbb-utóbb eltorzítva az eredeti lebenykes szerkezetet. Előfordultak azonban ritkán olyan esetek is, és ez különösen a kisebb tumoros gócok esetében volt megállapítható, amikor a trabeculáris felépítésű gócok intralobularis, tehát a lebenyke belsejében levő májsejtekből való eredete volt megállapítható.

Mint már utaltunk rá, előfordultak olyan trabecularis felépítésű tumoros gócok is, amelyekben a trabecularis felépítésű mezők mellett más szöveti szer-

kezetű területek is jelen voltak. Különösen mirigyes formációk fordultak elő gyakran, az alapjában véve trabeculáris felépítésű tumoros csomók széli területein (20. ábra). Trabeculáris szerkezetű és anaplasticus tumoros mező együttes előfordulását is észleltük. Ilyenkor az anaplasticus gócot felépítő sejtek májsejt eredete átmeneti formák nyomon követésével, rendszerint felismerhető volt. Nagyobb területeket érintő necrosist e tumoros gócban nem észleltünk, viszont egyes sejtek, vagy néhány sejtből álló sejtcsoportok degenerációja, necrosis a szélesebb trabeculákban és a nagyobb alveolaris sejtfészekben gyakori jelenség volt. Ez nem ritkán pseudoglandularis szerkezet, olykor cysticus formációk kialakulásához vezetett. A necrobiotikus folyamatokkal egyidejűleg a daganat más területein meglehetősen nagyszámú sejtoszlás fordult elő.

2. *Adenocarcinoma*

Ezen csoportba tartozó daganatok szorosan egymás mellett elhelyezkedő tubulusokból, acinusokból állnak, amelyek rendezetlen orientációban foglalnak helyet, és a metszés síkjától függően kerekded vagy elongált képletek formájában tűnnek fel (21., 22., 23. ábra). A tubuláris, mirigyes struktúrák falát alkotó sejtek köb- vagy hengerhám alakúak, egy vagy több rétegben helyezkednek el, és rendszerint kisebb-nagyobb lument zárnak körül, mely olykor alig észrevehető. Olykor előfordulnak viszont egészen kitágult lumennel rendelkező, cysticus mirigyszerű struktúrák is. A sejtek kerekded magva condensált chromatinrögöket tartalmaz, részint a maghártya menti elrendeződésben, részint pedig szétszórtan a nucleoplasmában. A magban egy vagy több erősen megnagyobbodott nucleolus foglal helyet. Az acidophil cytoplasma intenzívebben festődik a sejtek apexe, lumen felé tekintő felszíne felől, mint a bázison. A sejtmagvak a köbhám alakú sejtekben általában a sejt centrumában foglalnak helyet, míg a hengerded sejtekben általában basalis localisatiójúak; némelykor viszont az apexhez közelebb helyezkednek el.

E mirigyes felépítésű daganatos gócok rendszerint jól körülírtak. Olykor a daganatos góc szélén egy-egy szakaszon a kötőszöveti rostok megtömődése volt megfigyelhető, de folytonos tok a daganatos gócok körül nem alakult ki. Helyenként lymphocytá halmazok voltak megfigyelhetők a góc periferiáján. A mirigyes struktúrákat alkotó sejtek között számos oszló alak volt megfigyelhető. A daganatos gócok területén a vérerek daganatsejtes invasiója, s a lumenen belül a betört daganatsejtek tovaburjánzása, daganatsejt embólusok kialakulása viszonylag gyakori jelenség volt. A sejtelhalás gyakoribb volt, mint a trabecularis tumorokban. A mirigylumenekben desquamált necroticus, necrobiotikus sejtek nem ritkán fordultak elő. Különösen a nagyobb daganatokban, körülírt gócokban nagyobb sejt-, sőt acinuscsoportokat érintő necro-

sis is előfordult kisebb-nagyobb bevérzéstől kísérvé. A daganatos gócokat alkotó mirigyes struktúrák körül ezüstimpregnációs készítményen argiophil basal-membran mutatható ki (24. ábra). Az acinusok közti terekben fibroblastok, s szórványosan lymphocyták figyelhetők meg. Egyes gócokban a kötőszövetes stroma mérsékelten felszaporodott. Előfordultak olyan mirigyes felépítésű gócok, melyek a portalis tractus képleteivel semmi összefüggést nem mutatnak. Az ilyen góccok eredetére vonatkozóan feltételezhetjük, hogy azok a máj-sejtek vírusfertőzés hatására véletlenszerű eloszlásban bekövetkezett transformációjával kapcsolatban jöttek létre. Ugyancsak előfordultak azonban olyan mirigyes felépítésű daganatos gócok is, amelyek portalis tractussal álltak szoros összefüggésben. Az utóbbi gócok keletkezésében a vírusfertőzés hatására direkt transformálódott májsejtek mellett a portalis tractus felől a májparenchyma felé nyomuló ovális sejtek részvétele sem zárható ki.

A fentebb leírt szerkezeti típustól az adenocarcinomás gócokban is többféle eltérést észleltünk. Előfordul, amikor az acinusokat alkotó hepatocyták kötélkeiből kiválnak, szeparálódhatnak, és solid sejtfészkeket vagy széles sejtkötegeket alkotnak, máskor viszont elszórtan, izoláltan foglalnak helyet a reticularis stromában. Másik variáció, amikor az acinusokat több rétegben bélelő hámsejtek a mirigylumenekbe betüremkedő papillaris képződményeket alkotnak. Olykor egészen szabálytalan acinusok és kis cysták is kialakulnak. Sajátos jelenség a daganatos gócok egy részében a sinusoidok erős tágulata és vérteltsége. A vértelt, tág sinusoidokat enyhén megvastagodott endothelium béleli. Anaplasiás és metaplasiás jelenségek is előfordultak a mirigyes felépítésű daganatos gócokban csakúgy, mint a trabecularis neoplasmákban.

3. *Anaplasticus carcinoma*

Az MC29 vírussal fertőzött csirkékben megfigyelt májdaganatok több mint egyharmadában a domináló szerkezeti típus anaplasticus carcinoma volt. Hasonló anaplasticus szerkezetű részletek azonban megfigyelhetők voltak gyakran az egyébként differenciáltabb májtumorok egy-egy területén is.

Az anaplasticus tumoros gócokban a máj normál szerkezetére emlékeztető struktúrák: acinus szerű formációk, trabeculák rendszerint hiányoznak (25., 26. ábra). A daganatot felépítő sejtek semmi szabályos orientációt, elrendeződést nem mutatva, csekély stromától, vékony, finom argiophil rostoktól elválasztott, laza felépítésű, kisebb-nagyobb sejtfészkekben vagy örvényes lefutású sejtkötegekben foglalnak helyet. A sejtek közel azonos nagyságúak, polygonálisak. A sejtek rendszerint nagy, vesicularis küllemű, világos, üresnek tűnő magot tartalmaznak, melyeket szembetűnő maghártya övez. A vesicularis küllemű magvakban az erősen megnagyobbodott nucleolus különösen szembetűnő, s jellegzetes madárszemszerű küllemet kölcsönöz a sejtmagvak-

nak. Láthatjuk, hogy még ezen erősen dedifferenciált, anaplasticus tumorokban is megőriztek bizonyos jellegzetességeket a sejtek, mint a polygonális alak, a cytoplasma bizonyos mértékű szemcsézettsége, a prominens nucleolusok, amelyek segítenek a tumor májsejt eredetének felderítésében. Szórványosan két- vagy többmagvú óriássejtek is előfordultak ezen anaplasticus tumorokban.

A májtumorok közül éppen ezen anaplasticus carcinomák voltak legszegényebbek stromában. Vérereket, sinusoidszerű képződményeket is csökkent számban figyelhettünk meg ezen tumorokban. A csökevényes sinusoidokban sokszor az endotheliális bélés is nehezen volt demonstrálható. A sejtes stromareakció is az anaplasticus gócok körül volt a legszegényesebb. Az anaplasticus tumoros gócokban Kupffer-sejtek is alig fordultak elő. Másik jellegzetes vonásuk ezen anaplasticus tumoroknak, hogy igen nagy számú oszló alakot, sokszor atípusos és bizarr oszlási formákat tartalmaztak, különösen a daganatos gócok perifériás zónáiban. Kisebb-nagyobb necroticus területek előfordulása ugyancsak gyakori jelenség volt. Az anaplasticus carcinomákban talán még kifejezettebb mértékben, mint más felépítésű tumorokban, szembe-tűnő volt az erekbe való betörési készség és az intravascularis növekedési sajátosság. A vénákban rendszeres lelet volt tumoros thrombusok előfordulása (38. ábra). A vérereken belül burjánzó tumorsejtek gyakran az egész lument kitöltötték, olykor a thrombusok valóságos öntvényét képezték az ereknek. Előfordultak viszont az érlumenen belül vérsejtek között szabadon fekvő tumorsejt embólusok is.

Az anaplasticus carcinomák sajátos variánsát képezték azon daganatok, amelyek csaknem kizárólag elnyúlt, orsó alakú sejtekből épültek föl (27., 28. ábra). Ezen daganatok sokkal inkább emlékeztetnek sejtűs fibrosarcoma szöveti képére, mintsem a májrak valamely típusára, és ez a körülmény könnyen téves diagnózist eredményezhet. Gondos vizsgálattal azonban az esetek többségében ezen tumorok májsejt eredete is bizonyítható. Az ilyen *orsósejtes anaplasticus tumoros gócok* (27., 28. ábra) többnyire változó orientációjú sejt-kötegekből épülnek fel. A sejt-kötegek elnyúlt orsó alakú fibroblastokra emlékeztető, de azoknál bőségebb cytoplasmával rendelkező sejtekből épülnek föl, amelyek azonban ugyanolyan madárszemszerű, nagy, hólyagos küllemű és szembe-tűnő nucleolust tartalmazó maggal rendelkeznek, mint a májtumorok egyéb, differenciáltabb formáit felépítő daganatsejtek. Előfordulnak e daganatokban olyan területek is, ahol a sejtek kötegekbe rendeződése is elmarad, és az izolált sejtek minden rendezettséget, orientációt nélkülöző formában helyezkednek el.

A daganatos gócokat felépítő sejtek között oszló alakok, és atípusos torz oszlások jelentős számban fordulnak elő. E daganatos gócok vérerekben, sinusoidokban különösen szegénynek bizonyulnak. Számos metszet gondos áttanulmányozása során ezen orsósejtes tumoros gócokban mindig lehetett

találni izoláltan vagy kisebb csoportokban polygonális szemcsés cytoplasmájú sejteket, és elvétve többmagvú óriássejteket is. Egy-egy ilyen góc sorozat-metszetekben történő feldolgozása során pedig mindig találtunk olyan területeket, ahol a daganatos növekedés differenciáltabb formája is előfordult és trabecularis carcinoma szerkezetére emlékeztető areák is megfigyelhetők voltak. Ezek együttesen segítettek a sajátos felépítésű daganat májsejt eredetének felderítésében.

Az anaplasticus carcinomák harmadik sajátos variánsát az úgynevezett *mozaik-szerkezettel bíró daganatok* képezték (29., 30., 31. ábra).

Az anaplasticus rákok ezen formáját a fellazult szerkezet és nagyszámú, többmagvú óriássejt jelenléte jellemzi. A daganatos gócot felépítő sejtek egymáshoz való kapcsolatukat elvesztették, lazán, egymástól távol, szeparáltan helyezkednek el, és széles intercellularis terek választják el őket. A kép valóban olyan mozaikéhoz hasonló, melyben az alkotó darabkák még nincsenek valamiféle kötőanyaggal egymáshoz rögzítve. Az ilyen mozaik szerkezetű, tumoros gócokban igen csekély mennyiségű stroma van jelen. A sejtek morfológiáját — éppen úgy, mint más vírussal indukált májtumorok egyéb típusaiban — nagy, vesicularis mag, és szembetűnő nagy nucleolus jellemzi. E daganatok másik jellegzetes vonása több magvú óriássejtek viszonylag nagy számban való előfordulása. Az óriássejtek alakjában megjelenése igen változatos. A többnyire kerekded, olykor polygonális óriássejtek (30. ábra) cytoplasmája inkább eosinophil, benne rendszerint a periferián koszorú alakban több, olykor tucatnyi kerekded, vesicularis jellegű, szembetűnő nagy nucleolust tartalmazó mag foglal helyet. Az óriássejtek többnyire szétszórtnak, izoláltan foglaltak helyet a tumoros gócot felépítő mononuclearis sejtek között. Előfordultak igen szabálytalan polygonális alakú, synplasmaszerű cytoplasmatis masszák (31. ábra), melyekben a sejtmagvak tucatjai voltak megfigyelhetők. Az ilyen synplasmaszerű óriássejtek rendszerint csoportosan, egymás mellett, a daganatos góc centrumában foglaltak helyet. A többmagvú sejtek megfigyeléseink szerint transformált hepatocytákból származnak, létrejöttükben a vírusfertőzés által okozott sejtoszlási zavar, a synplasmaszerű képletek kialakulásában pedig a vírusfertőzés által előmozdított sejtfúzió, sejttösszeolvadás játszott szerepet. Jelentősebb fokú necrosis a mozaik szerkezetű tumorokban ritkán fordult elő.

E mozaik típusú daganatok gondos vizsgálatával megállapítható volt, hogy keletkezésük bizonyos kapcsolatban áll a mirigyes felépítésű, daganatos góccal. A mozaik típusú daganatos gócok széli részén ilyen mirigyes struktúrák olykor csoportosan is előfordultak. Helyenként megfigyelhető volt, hogy a tubulusok desintegrációja révén kötélkeikből kiszabaduló sejtekből mozaik szerkezetű mezők alakulnak ki. A mozaik szerkezetű daganatos gócok erősen malignus voltát jelzi, hogy bennük jelentős számban figyelhető meg oszló alak, másrészt az erekbe való betörést is gyakran észleltük.

4. *Haemorrhagiás carcinoma*

E daganatféleség mindig multiplex formában, makroszkóposan vérrel telt cysták formájában jelent meg (5., 6. ábra), egyes csibék májában igen nagy számban. A daganatos góccok nagysága változó: mikroszkopikus méretű góccok, s a máj felszínén előemelkedő csillogó vörös, néhány milliméter, sőt olykor 1—1,5 cm átmérőjű képletek egyaránt előfordulhatnak.

Mikroszkóposan e daganatféleség fő jellegzetessége a tumoros góccok centrumában üregképződés, mely haemorrhagia révén vérrel telik fel (32., 33., 34. ábra). A kialakuló vérrel telt cysták falát tumorsejtek alkotják. A tumorsejtekből álló fal olykor igen széles, máskor csak néhány sejtsorból áll. A falat alkotó daganatsejtek túlnyomó többsége a vírussal indukált májrákok egyéb típusaiban észlelt tumorsejtekhez hasonló: szembetűnő nagy nucleolust és chromatinszegény, vesicularis nagy magot tartalmazó, világos sejtek. Szórványosan előfordulnak azonban közöttük sötéten festődő cytoplasmával és maggal, élesen kirajzolódó mag- és sejtmembránnal rendelkező tumorsejtek is. A daganatsejteknek a környező májsejtgerendák sejtes elemeiből való eredete nyomon követhető.

Sajátos vonása az ilyen haemorrhagiás carcinomás góccoknak, hogy a vérrel telt üreg falát alkotó tumorsejt-köpenyből a daganatsejtek folytonos leválása, desquamációja történik az üreg felé. Ez a mikroszkopikus nagyságrendű és szabad szemmel is jól látható nagy kiterjedésű tumoros góccokra egyaránt jellegzetes. Úgy tűnik, e tumoros góccokban a centralis üregképződés sokkal inkább a tumorsejtek e folytonos, egyenkénti vagy kis csoportokban történő desquamációjának, semmint masszív necrosisnak a következménye. Az üregbe desquamálódó sejtek egy része nem szenved morfológiai változást, és életképességét megőrzi, más sejtek viszont piknotikussá, necrotikussá válnak. Az üregbe desquamálódott daganatsejtek a vérárammal a máj érhalózatába tovamosódnak, a sinusoidokban megrekedve azokat kitölthetik, és belőlük új daganatos góc alakulhat ki.

Metaplasias elváltozások

A vírusfertőzés a májsejtek genetikus regulációjában igen mélyreható zavarokat eredményez, amely nemcsak azok dedifferenciálódásában, malignus daganatsejteké történő transformálódásában, hanem igen gyakran más, téves irányú differenciálódásában, egészen sajátos, a májsejtek vonatkozásában rendkívülinek tekinthető metaplasias elváltozások létrejöttében nyilvánul meg. Ez legtöbbször porcképződésben (38., 39. ábra), tehát olyan szövet megjelenésében nyilvánult meg, amely normális körülmények között egyáltalán nem fordul elő a májban. Nehéz volna véleményt alkotni arról, hogy vajon

ezen metaplasziás komponensei, vagyis a porcszigetek daganatos természetűek-e vagy sem. Említésre méltó azonban, hogy az ilyen összetett jellegű daganatok némelyikében észleltünk metastasisokat a tüdőben, és a tüdőbeli metastasisokban a primaer tumorban látott metaplasziás komponens, a porc szintén jelen volt.

A daganatok terjedése, áttételképzése

A vírusindukált májdaganatok májon és szervezeten belüli progressziójának kérdése további, modern módszerek igénybevételével végzett vizsgálatokat igényel. Lehetséges, hogy a kémiai indukált májtumorkétól jelentősen eltér. Jelenleg csak többszáz májtumor egyszerű histológiai tanulmányozása során nyert impressziókról számolhatunk be e daganatok progresszióját illetően. Úgy tűnik, hogy legalább három különböző útja-módja van a tumoros gócok növekedésének, progressziójának. Mindenekelőtt növekednek e gócok a daganatsejtek oszlása révén történő sejtszaporulat által. A histológiai vizsgálatok során továbbá azt a benyomást nyertük, hogy a daganatos gócok a velük szomszédos májsejtek vírussal történő fertőzése és transformációja révén, majd e transformált sejtek szaporodása, multiplikációja révén is növekedhetnek, progrediálhatnak. A daganatok szerven belüli progressziójának harmadik útja egy vagy több primaer gócból a daganatsejtek disseminációja a szerven belül a máj alterált vascularis hálózatán keresztül. Mint már említettük, az MC29 vírussal fertőzött csibék májában rendszerint multiplex daganatos csomók voltak megfigyelhetők, és e csomókról, amikor már szabad szemmel láthatók, igen nehéz eldönteni, hogy primaer daganatos gócokról, vagy secundaer, azaz metastaticus eredetű gócokról van-e szó.

A daganatok szervezeten belüli terjedéséről pedig az alábbiakban foglalhatjuk össze tapasztalatainkat. Implantációs metastasisokat a peritoneumon nem észleltünk azon ritka esetekben sem, amikor a májrakkal kapcsolatban ascites alakult ki. Áttételeket leggyakrabban a tüdőben (40. ábra) találtunk, azok gyakran már makroszkóposan is megfigyelhetők voltak, kölesnyi, színes, gombostűfejnyi, körülírt csomók formájában, gyakoribbak voltak azonban a csak szövettani vizsgálattal felderíthető micrometastasisok. Daganatsejt embolusokat a tüdő vascularis hálózatában (39. ábra) pedig gyakran olyankor is megfigyeltünk, amikor sem macro-, sem micrometastasisok nem voltak kimutathatók. A tüdőn kívül áttételeket még a lépben figyeltünk meg (41. ábra), ezek azonban a tüdőáttételeknél ritkábban fordultak elő. Az áttételképzés tekintetében nem láttunk különbséget a különböző szöveti szerkezetű tumorok között. Az áttételekben olykor a primaer májtumor szöveti szerkezetéhez hasonló organizációt találtunk, így előfordult, hogy a májbeli adenocarcinoma lépmetastasisaiban is megőrizte mirigyes szerkezetét.

Megbeszélés

Mint a bevezetésben ismertettük, a vegyszeres hepatocarcinogenesis terén az elmúlt 40 évben kiterjedt tanulmányok történtek és jelentős előrehaladás ment végbe, a májrák esetleges víruseredetével, illetve vírus aetiológiájú májrakkal foglalkozó közlemény viszont tudomásunk szerint nem jelent meg. Ez annál inkább meglepő, mert ugyanezen periódusban különböző állatokban számos daganatféleség vírus eredete bizonyosodott be, és egyre több adat gyűlt fel bizonyos malignus daganatok vírus eredetére vonatkozóan is, beleértve az ember egyes daganatféleségeit is (Allen és Cole, 1972; Bernhard, 1970; Falke, 1971; Gross, 1970; Hollmann, 1972; Latarjet, 1971; Sabin, 1968; Sarkar és Moore, 1972; Sheinin, 1971).

Ilyen körülmények között nagyon is természetes volt, hogy az MC29 vírussal megbetegített csirkékben észlelt májtumorok erősen magukra vonták figyelmünket. Mielőtt a makroszkóposan észlelt daganatokkal részletesebben foglalkoztunk volna, meggyőző bizonyítékokat kellett szereznünk arra nézve, hogy az észlelt tumorok nem egyszerűen a vírusindukált leukozis, myelocytomatosis májbeli manifesztációjának, leukaemiás infiltrátumoknak felelnek meg — ismeretes ugyanis, hogy az MC29 vírus myelocytomatosiszt is előidéz. Meg kellett győződni arról is, hogy nem valamiféle hyperplasiás vagy regeneratív csomókról van szó csupán, hanem olyan valódi májdaganatokról, amelyek nem véletlen folytán alakultak ki, hanem amelyek rendszeresen létrejönnek, és meglehetősen reprodukálható gyakorisággal fordulnak elő az MC29 vírus fertőzés által megbetegített csirkékben.

Az előbbi kérdések közül az első könnyen megválaszolható volt, egyszerűen az érintett májak hisztológiai vizsgálata révén. Ezen tanulmányok szerint, bár leukaemiás infiltrátumok előfordultak a vírusfertőzéssel megbetegített csirkék májában, nem volt nehéz különbséget tenni a leukaemiás, myelocytás infiltráció és azon képződmények között, amelyekről úgy véltük, hogy májdaganatoknak felelnek meg.

A legfontosabb megbeszélendő kérdés az, hogy vajon a májban észlelt képződmények valóban elsődleges malignus daganatok, vagy pedig csupán hyperplasiás regenerációs csomók, göbök a máj állományában. Ezen két elváltozás közötti különbségtétel nem mindig egyszerű, és a kísérletes hepatocarcinogenesis foglalkozó irodalomban sem mindig világos (Popper és Schaffner, 1957; Evans, 1956).

Edmondson (1958) négy olyan vonást domborított ki, amelyek segítenek a hepatocellularis daganatok, májtumorok mikroszkópos identifikálásában. Ezek a következők: 1. A tumorsejtek hasonlósága a májgerendák sejtjeihez. 2. A daganatok trabecularis szerkezete. 3. A trabecularis carcinómák intravascularis növekedésmódja. 4. Változó nagyságú acinusok és canaliculusok képzése.

Higgins (1970) szerint két további kritériumot szükséges hozzáadni az előbbiekhöz. Nevezetesen az epeképzés jelenségét és a kollagen sajátos hiányát, úgyszólván ezen daganatok valamennyiében.

Popper és Schaffner (1957) még szigorúbbak a kísérletes májdaganatok definiálása tekintetében. Véleményük szerint kizárólag csak a hepatocellularis carcinomák fogadhatók el májdaganatként, és malignitási indexként pedig a következő kritériumok szolgálhatnak: 1. az erek invasiója, 2. a környező szövetek invasiója, 3. tumorsejt embolismus előfordulása, 4. távoli metastasisok előfordulása, 5. sikeres transzplantáció.

A következőkben röviden áttekintjük, hogy az MC29 vírusfertőzéssel megbetegített csirkék májában megfigyelt tumoros képződmények hogyan felelnek meg a kísérletes májdaganatok kritériumaként fentebb fellállított követelményeknek.

Az észlelt tumorok sejtjeinek cytológiai vonásait illetően azt mondhatjuk, hogy a tumorsejtek szokásos alak- és nagyságbeli variabilitása ellenére — az erősen anaplastikus rákok kivételével — azoknak májsejtekhez való hasonlósága könnyen felismerhető. A daganatos sejteknek azonban viszonylag kisebb mennyiségű volt a cytoplasmája, és nagyobbak voltak a magjai, mint a normális májsejtek esetében. A daganatsejtek cytoplasmája gyakran acidophilebb és szemcsésebb volt, mint a normál májsejté. Az anaplastikus tumorokban, különösen az orsósejtes carcinomákban azonban a daganatos góccokat felépítő sejtek alig emlékeztettek a májgerendák sejtjeire. Gyakran azonban még ilyen esetekben is acinusszerű vagy szabálytalan orientációjú, trabeculaszerű formációkat találtunk a daganatos góc szélén, vagy a daganatos gócba bezárva, mely képződmények olyan sejtekből álltak, amelyek bizonyos mértékig a májgerendák sejtjeire emlékeztettek. A vírussal indukált májdaganatok sejtjeinek legállandóbb cytológiai jellegzetessége volt a viszonylag nagy, kerekded vagy ovális mag, mely gyakran vesicularis, hólyagos megjelenésű volt, és rendszerint nem volt hyperchromasias. Jellegzetes vonásuk volt továbbá a jelentősen megnagyobbodott, prominens nucleolus, melyből több is lehetett egyugyanazon sejtmagban. Mitosisok, köztük abnormális sejtosztások is meglehetősen bőségesen fordultak elő. A megfigyelt tumorok bizonyos formáiban, különösen a mozaikszerkezetű, anaplasticus rákokban többmagvú óriássejtek is megfigyelhetők voltak, melyek nem egyszer enormis méreteket értek el.

Az észlelt daganatok növekedési típusa túlnyomórészt trabecularis jellegű volt, és desorganizált trabeculamaradványokat gyakran megfigyeltünk még más hisztológiai szerkezetű tumorokban is. Ettől eltekintve azonban hangsúlyoznunk kell, hogy az ilyen vírusindukált májdaganatok növekedési típusa, hisztológiai szerkezete meglehetősen sokféle lehet, és ez a vírusindukált daganatoknak egyik jellegzetes vonása. A növekedési típus nagy variabilitása azonban jellegzetes a különböző vegyszer által keltett májtumorokra is (Stewart

és Snell, 1957, 1959). Tény az is, hogy az emberi májtumorok esetében is a daganatoknak hisztológiai felépítés szempontjából meglehetősen változatos formái fordulnak elő a típusos trabecularis carcinomától a haemorrhagiás carcinomáig, vagy a sarcomát utánzó anaplastikus rákokig (Edmondson 1958; Evans, 1956; Popper és Schaffener, 1957).

A cytológiai vonásokon és a növekedési típuson kívül más fontos kritériumok is vannak azonban, amelyek segítenek eldönteni azt az alapkérdést, vajon az MC29 vírus által megbetegített csirkék májában megfigyelt tumorokat lehet-e malignus májdaganatoknak, májrákoknak tekinteni.

Az észlelt daganatok malignus volta mellett szólnak az erek tumorsejtek által történő invasiója, a daganat intravascularis növekedése, valamint tumorsejt embolusok előfordulása a máj és más szervek, különösen a tüdő vascularis hálózatában. Méginkább bizonyítja ezt távoli metastasisok előfordulása, különösen a tüdőben, de még olyan szervben is, mint a lép — melyről pedig ismert, hogy ritkán fordul elő benne rákmetastasis —, áttétel gyakran megfigyelhető volt. Mindezen vonások együttesen nem hagynak kétséget a megfigyelt májdaganatok malignus volta iránt.

Ezen túlmenően azonban azt is szeretnénk hangsúlyozni, hogy ezen daganatok transplantálhatónak bizonyultak, és rendelkezünk e daganatokból kialakított transplantálható hepatoma-vonallal, amely jól nő, mind intraperitoneális, mind subcutan, mind pedig intramuscularis oltás esetén, és pedig nemcsak az eredeti kísérletekhez használt Duke fehér Leghorn csirketörzsben, hanem a közönséges, kereskedelmi forgalomban beszerezhető csirkékben is (Lapis és mtsai, közlés alatt, a). Megemlítjük még, hogy e vírusindukált májtumorokból sikerült egy in vitro, szövettényészetben növekvő sejtvonalat (Lapis és mtsai, közlés alatt, b) is kialakítanunk, amelynek sejtjei teljesen hasonló cytológiai vonásokkal rendelkeznek, mint a vírusindukált elsődleges májtumorokat felépítő daganatsejtek. Biztonsággal megállapíthatjuk tehát, hogy az MC29 vírusfertőzéssel megbetegített csirkékben kialakuló májtumorok a malignus májdaganatok kritériumaként felállított valamennyi követelménynek megfelelnek. Ez különösen figyelemre méltó, mivel mindezen kritériumoknak a nagyszámú, különböző hepatocarcinogen vegyszer által előidézett májdaganatok közül csak igen kevés felelt meg.

Laboratóriumunkban az utóbbi 6–7 év folyamán meglehetősen sok adat és tapasztalat gyűlt össze arra nézve is, hogy milyen gyakorisággal fordulnak elő a májtumorok a vírusfertőzés után. Tapasztalataink szerint a frissen kelt vagy egynapos Duke fehér Leghorn törzsbe tartozó csibék, frissen szüretelt MC29 vírus „Anyag és módszer” című fejezetben megadott dózissal történő, intravenás fertőzését követően a csirkék 35–40%-ában alakul ki májtumor. Érdeemes megemlíteni, hogy májdaganatok és primaer vesetumorok simultan előfordulása igen gyakori lelet volt. Olykor elsődleges ovarium tumorok voltak megfigyelhetők simultan a májdaganatokkal. A legtöbb

esetben azonban a májtumorok voltak az egyetlen daganatos képződmények a vírusfertőzéssel megbetegített csirkékben. Bár az MC29 vírustörzs más csirketörzsrre is pathogen, májtumorokat más csirketörzsekben azonos dózissal történő fertőzés esetében is kevésbé gyakran, vagy csak szórványosan figyeltünk meg, sőt egyes törzsekben egyáltalán ki sem alakultak májdaganatok.

1—5 napos csirkék fertőzése esetében a fentebb felsorolt daganatféleségek közel azonos arányban fejlődtek ki a fertőzött állatokban, függetlenül attól, hogy milyen korúak voltak a fertőzés idején. Ha viszont a fertőzés 5 naposnál idősebb korban történt, a tumoros megbetegedések aránya jelentősen csökkent vagy zéróra esett. Eddigél ugyan nem végeztünk szisztematikusan arra irányuló kísérleteket, hogy meghatározzuk a tumorképződés dózisfüggését, azt azonban mindenesetre megfigyeltük, hogy a kialakuló tumorok arányát nagymértékben befolyásolta, hogy milyen módszert használtunk a vírus szuszpenzió készítésére, és különösen nagymértékben befolyásolta az a körülmény, hogy vajon frissen szüretelt vagy mélyfagyasztott víruskészítményeket használtunk-e a fertőzésre. Nem ismeretes, hogy a gazdaszervezetben milyen tényezők játszanak szerepet a tumorképződés gyakoriságának és a tumorképződés helyének meghatározásában. A csibék neme e tekintetben nem látszik döntő tényezőnek, mivel nem volt szembetűnő különbség a daganat előfordulásában a hím- és nőnemű csibék között. Azt a tényt azonban, hogy a gazdaszervezeti tényezők különösen döntőek a fertőzéssel megbetegített csirkékben kialakuló reakció jellegének meghatározásában, világosan mutatta egyik újabb keletű kísérletünk. E kísérlet során Shaver törzsű csirkéket fertőztünk ugyanazon vírudózissal és víruskészítménnyel, mint amelyet a Duke törzsű csirkék fertőzésére használtunk, és a Shaver törzsű csirkékben egyetlen májdaganat kialakulását sem észleltük, jöllehet vesetumorok ugyanolyan arányban fejlődtek ki bennük, mint a Duke törzsű csirkékben.

Legjobb tudomásunk szerint ezen laboratóriumban tett megfigyelés előtt vírus által keltett májdaganat nem volt ismeretes. E laboratóriumból az MC29 vírusfertőzés patológiájával foglalkozó korábbi közleményekben (Beard és mtsai, 1970; Heine és mtsai, 1966) az MC29 vírusfertőzés által keltett májdaganatok kérdésével csak érintőlegesen foglalkoztak. Meg vagyunk azonban győződve, hogy e vírussal indukált májdaganatok morfológiájának, hisztogenezisének az ismert kísérletes májrakok morfológiájával, hisztogenezisével való összehasonlítása jelentősen kiterjesztheti a kísérletes májtumorok pathogenesisére vonatkozó ismereteinket általában, annál is inkább, mert várható, hogy a vírus, mint oki tényező sokkal specifikusabb kölcsönhatásba lép a fertőzött sejtek információ-hordozó makromolekuláival, mint a kémiai hepatocarcinogének, vagy azok metabolitjai teszik.

Az a tény, hogy emberben — mint ismeretes — a primaer májdaganatok jelentős hányada vírushepatitist követő cirrhosis talaján fejlődik ki (Kendrey,

1959; Korpássy és Sólyom, 1961; MacDonald, 1956; Magyar, 1961; Sagebiel és mtsai 1963; Sheldon és James, 1948; Steiner, 1954) ezen vírusindukált kísérletes májdaganatok alapos tanulmányozását különösen fontossá teszi.

Igen fontos, szembetűnő vonása ezen vírussal indukált májdaganatoknak kifejlődésük, és további növekedésük extrem rapid volta. Ez különösen szembetűnő akkor, ha összehasonlítjuk a daganatok kifejlődéséhez szükséges időt e vírus és a vegyszerek által létrehozott májtumorok esetében. Vegyszeres hepatocarcinogenesis esetén a májtumorok kialakulásának gyakoriságát és a kifejlődésükhöz szükséges latencia periódustartamát alapján véve az alkalmazott carcinogen potenciája és azon idő hossza határozza meg, mely idő során a carcinogent adagoltuk, etettük, vagy más módon juttattuk a szervezetbe (Pitot, 1970). Vannak természetesen járulékos tényezők is (mint amilyen a diéta összetétele, nem, törzs, és a kísérletben használt állatok hormonalis statusa), amelyek módosító hatással bírnak. Jól ismert azonban, hogy még a legerősebb májrák-keltő vegyszer esetében is a tumorketkezés latencia periódusa legalábbis jónéhány hónap, mint pl. a nitroso-morpholin esetében is (Bannasch és mtsai, 1972). Az MC29 vírusfertőzéssel megbetegített Duke törzsű csirkékben ezzel szemben teljesen kifejlődött májtumorok jöttek létre a fertőzést követő egy-másfél hónapon belül, amelyet nem lehet egyszerűen a csirkék rövidebb, természetes élettartamával magyarázni.

Másik alapvető és szembetűnő vonásuk az MC29 vírus által keltett májtumoroknak, hogy e daganatok anélkül fejlődtek ki, hogy a megbetegített csirkék májában cirrhosis kialakulása előzte volna meg a daganatok létrejöttét. A cirrhosis és májrák kapcsolata hosszú idő óta az érdeklődés előterében áll. Ezen problémával kapcsolatban igen sok ellentmondó adat található az irodalomban és a probléma tisztázása tekintetében az utóbbi években sem sok előrehaladás történt. Régen több szerző úgy vélte, hogy a cirrhosis és elsődleges májrák egymást követő előfordulása tisztán a véletlen műve (Kelsch és Kiener 1876). Mások (Marekwald 1896; Wegelin 1905) pedig egyenesen azon a véleményen voltak, hogy a daganat hozta létre a májfibrosist. A májráknak cirrhosis-sal való társulása gyakoriságára vonatkozóan közölt adatok is meglehetősen változatosak, 18,2–82%-ig (Popper és Schaffner 1957). A korábbi irodalomban ezt a társulást közel 100%-osnak könyvelték el, és némelyik kutató cirrhosis jelenléte nélkül a primaer hepatocellularis carcinoma diagnózisát kérdésesnek tekintette (Counseller és McIndoe 1926). Nem kétséges, hogy a cirrhosis a hepatocellularis carcinoma előfutárának tekinthető, mint arra Sabourin (1881) hosszú idővel ezelőtt rámutatott. Újabb és pontosabb tanulmányok azonban arra utalnak, hogy a májrákok kevesebb, mint 50%-a társul cirrhosis-sal (Higgins 1970), bár a cirrhosisban szenvedő egyének napjainkban elért megnyúló túlélése bizonyára jelentősen megnövelheti májrák kifejlődésének esélyeit. Tény azonban, hogy sok elsődleges májrák kifejlődik emberben is cirrhosis nélkül (Almaden és Ross 1954; Blatchford 1952) csakúgy, mint álla-

tokban is létrejönnek spontán májrákok és kísérletesen keltett májtumorok is cirrhosis kialakulása nélkül (Popper és Schaffner 1957).

Mint a daganatok makroszkópos vonásainak leírása során kifejtettük, az MC29 vírus által indukált májdaganatok esetében a multicentrikus eredet éppen olyan szabály, mint más kísérletesen létrehozott májtumorok esetében (Orcel és Roland 1963; Orcel és mtsai 1963; Popper és Schaffner 1957). A máj két lebenyének daganatos involváltságát illetően semmi különbség nem mutatkozott.

Nem végeztünk ugyan eddigelé célzottan az MC29 vírussal történő fertőzést követően kialakuló korai májelhváltozások megismerésére irányuló szisztematikus kísérleteket, a fertőzést követően korán, spontán elhulló csibék máját viszont rendszeresen megvizsgáltuk szövettanilag. Ennek alapján, valamint a tumoros májakban észlelt nem tumoros, ún. társult elváltozások ismeretében e vírussal indukált daganatok hisztopathogeneziséről és a daganatok kialakulását megelőzően a máj állományában végbemenő elváltozásokról elég megbízható képet nyertünk.

Mindenekelőtt biztonsággal megállapíthatjuk, hogy a vírusfertőzést követően — legalábbis az általunk alkalmazott dózis mellett — nem következik be a májlebenszövet bizonyos zónáját érintő, vagy a zónáktól függetlenül májsejtsortokat, nagyobb területeket érintő necrosis. Ez igen szembetűnő és úgy véljük, igen lényeges különbség számos hepatocarcinogen vegyszer hatásával szemben. Disseminált, unicellularis májsejt necrosis viszont, ha gyér számban is, de rendszeresen előfordul az MC29 vírussal fertőzött csibék májában. Nyilvánvaló, hogy a jelentősebb necrosis hiánya a magyarázata annak, hogy a vegyszeres hepatocarcinogének behatása után oly szokványos proliferatív, regenerációs jelenségek nem, vagy csak szórványosan, és igen limitált formában voltak megfigyelhetők a vírussal fertőzött csirkék májában.

Különböző kémiai carcinogének által, ill. az MC29 vírus által létrehozott májdaganatok histogenesisében a legalapvetőbb különbség tehát véleményünk szerint abban foglalható össze, hogy a vegyszeresen előidézett hepatocarcinogenesis során a daganatok kialakulását rendszerint toxicus necrosis, és olyan proliferatív jelenségek előzik meg, melyek során és következtében a máj eredeti szerkezete felbomlik és a májparenchyma jelentős átépülése következik be (Arcasoy és mtsai 1968; Bannasch és Muller 1964; Bannasch és Reiss 1971; Brock és mtsai 1940; Carnaghan 1967; Dalton és Edwards 1942; Daoust 1962; Daoust és Cantero 1959; Daoust és Molnar 1964; Farber 1956; Gardner és mtsai 1969; Kendrey és Németh 1965; Laird és Barton 1961; MacDonald 1961; Magee és Barnes 1956; Maisin és mtsai 1962; Maruya 1939; Morris és mtsai 1956; Mulay és Congdon 1953; Orr 1940; Price és mtsai 1952; Richardson és Borsos-Nachtnabel 1951; Rubin és mtsai 1964; Shear 1937; Ungar és Goldberg 1959). A vegyszeres hepatocarcinogenesisrel kapcsolatban lefolyó proliferatív folyamatokban a kiváltó ágens természetétől függetlenül

jellegzetesen főleg kétféle sejt vesz részt. Különösen jellegzetes az ú. n. ovális sejtek felszaporodása (Pitot 1970). Ezen ovális sejtek irodalmi adatok szerint (Popper és mtsai 1957; Rüttner és Rondez 1960; Wilson és Leduc 1958) a májregeneráció sajátos formájával kapcsolatban megjelenő sejtek. Histogenezisük nem tisztázott, egyesek (Edwards és White 1941; Farber 1956; Gardner és mtsai 1969; Grisham és Hartroft 1972; Mulay és Firminger 1952; Opie 1944; Schaffner és Popper 1961) szerint az epeutakból, mások (Leduc 1959; Wilson és Leduc 1958) szerint a májsejtekből származnak.

A vírusfertőzött csibékben olykor-olykor megfigyelhető volt ugyan a periportalis mezőből kiindulóan ovalis sejtek mérsékelt proliferációja, e sejtek legtöbb hepatocarcinogen behatása nyomán fellépő és rendszerint a májparenchyma bizonyos fokú átépülését eredményező intenzív proliferációját azonban sohasem észleltük. Epeút proliferáció szintén nem, vagy csak kivételesen fordult elő vírusfertőzött csibéinkben. A vegyi hepatocarcinogének esetében oly gyakori cysticus epeút tágulatok vagy cholangiofibrosis (Bannasch és Reiss 1971; Gupta 1955; Reuber és Glover 1967b; Stewart és Snell 1957, 1959) kialakulása hasonlóképpen kivételes jelenség volt. Ennek ellenére nem zárhatjuk ki, hogy az észlelt daganatok némelyike az ovalis sejtek proliferációja és transformációja eredményeként jött létre. Nem volt azonban különbség az ilyen daganatok histológiai szerkezetében és cytológiai vonásaiban a valódi májsejt-eredetű tumorokéhoz képest. Megfigyeléseink tehát nem mondanak ellent azon nézeteknek (Edwards és White 1941; Kinoshita 1937; Popper és Schaffner 1957), miszerint a hepatocellularis és a ductularis sejt eredetű tumorok egyetlen egységet képeznek. Kifejezésre jut a transformáció a sejtek fokozottá vált proliferációjában, a sejtosztások számának megnövekedésében és az eredeti májszerkezet megváltozásában. A transformált sejtek szaporodásával kapcsolatban a trabecularis szerkezetet körülírtan, gócosan — transformált sejtek által alkotott — szűk lumenű tubulusokból álló mezők váltják fel. E területeken a máj architektúrája az embrionalis máj szerkezetéhez válik hasonlóvá. Más területeken viszont a transformált sejtek proliferációja körülírt — leginkább hyperplasiás csomóknak nevezhető — gócok kialakulásához vezet.

A vegyszeres hepatocarcinogenesis során szerzett tapasztalatok alapján sokan az ilyen hyperplasiás csomókat mind az emberi, mind a kísérletes hepatocellularis carcinomák obligát praecursorainak tekintik (Epstein és mtsai 1967; Farber 1968; Klavins és mtsai 1955; Merkow és mtsai 1967, 1969, 1971; Reuber és Glover 1967a) és úgy vélik, hogy legalábbis a malignus hepatomák egy része ennek talaján képződik.

Magunk ilyen — morphologiai vonásaiban a kémiai carcinogenesis során leírt hyperplasiás csomókhoz hasonló — hyperplasiás solid csomókat az MC29 vírussal fertőzött csirkékben viszonylag gyér számban figyeltük meg. Ilyen gócot többnyire csak azon májakban észleltünk, melyek állományában máshol már májsejt eredetű malignus tumoros csomók voltak.

A transformált sejtek által képzett tubulusokból álló mezők előfordulása a fentebb leírt solid hyperplasiás góckénál sokkal gyakoribb volt. Tapasztalataink szerint biológiai potenciál tekintetében ezen tubularis struktúrákból álló mezők a hepatocellularis carcinomáknak éppen olyan kiindulási talaját, praecursorát képezik, mint az előbbi, a kémiai hepatocarcinogenesisből jól ismert solid hyperplasiás csomók.

A harmadik elváltozás-típust, mely ugyancsak a hepatocellularis rákok előfutárának tekinthető, atypusos mirigyes laesio névvel illettük. Hasonló struktúrákat kémiai hepatocarcinogenesis kapcsán is megfigyeltek, Stewart és Snell (1957, 1959) glandular lesion név alatt tárgyalja a vegyszeresen indukált májdaganatokkal társult laesiók sorában, míg azonban szerzők burjánzó epeutak derivatumaként írják le és értékelik e struktúrákat, magunk úgy véljük, hogy a vírusfertőzött csirkék májában e struktúrákat többnyire transformált hepatocyták formálják. Ilyen struktúrákat megfigyeltünk kialakult hepatocellularis tumoros csomók peremén is a tumoros csomó és az ép májparenchyma határán, melyet szintén annak jeleként értékelhetünk, hogy ezen atypusos, mirigyes struktúrák ugyancsak a hepatocellularis tumorok praecursor laesioinak sorába tartoznak.

Az MC29 vírus által előidézett májrákok histológiai képe — hasonlóan a vegyszeresen előidézett kísérleti májdaganatokéhoz — igen változatosnak bizonyult. Nem kevésbé változatos az emberi elsődleges májrákok szöveti megjelenése sem. A legtöbb pathológiai kézikönyvben azonban a kérdés igen le van egyszerűsítve, s a primaer májcarcinoma mikroszkópos képét illetően csak a hepatocellularis és cholangiocellularis rák, esetleg még a hepatocholangioma vagy kevert típusú tumor elnevezés használatos (Anderson 1966; Ribbert és Hamperl 1950).

Több szerző (Köhn 1955; Orsós 1930) a májrákok hepatocellularis és cholangiocellularis carcinomákra való felosztását nem tartja helyesnek, éppen mivel az elnevezés bizonyos histogenetikai determinációt is magában foglal (Berman 1951, 1957, 1958; Popper és Schaffner 1957) és hangsúlyozzák, hogy az experimentális tanulmányok is erősen támogatják azt a nézetet, hogy a hepatocellularis és a ductularis sejt eredetű tumorok egységet képeznek (Edwards és White 1941; Kinoshita 1955; Popper és Schaffner 1957). A máj fejlődésére vonatkozó embriológiai megfigyelések alapján fenti nézet helyessége aligha tagadható. Ennek ellenére a legtöbb szerző egyetért a májrákok hepatocellularis és cholangiocellularis rákokra történő felosztásával (Anderson 1966; Evans 1956; Higgins 1970; Ribbert és Hamperl 1950). Legtöbbször a histológiai vonásokban mutatkozó különbségek ezt az elkülönítést indokolják is, jelen ismereteink fényében azonban úgy tűnik, hogy e megjelölés nem mindig helyesen utal e daganatok histogenesisére, hanem csak descriptív értékkel bír. A hepatocellularis carcinoma tehát nem minden esetben jelenti, hogy olyan rákról van szó, mely kizárólag polygonalis májsejtekből veszi kezdetét, és

viszont, talán a cholangiocarcinomák sem feltétlen és kizárólag az epe ductusok hámból származhatnak.

A primaer májrákok eredetének, histogenesisének tisztázására irányuló vizsgálatok során segítséget nyújt, ha a daganatot felépítő sejtek megőrzik azon normál sejtek bizonyos funkcionális sajátosságait, amelyekből származnak. Differenciált, májsejt eredetű rákokban epeképzés különösen mikroszkóposan gyakran megfigyelhető, sőt, az ilyen daganatok áttéteiben is leírták epefesték képződését. Epe jelenlétét a májdaganatokban a hepatocellularis eredet biztos jelének tekintik (Evans 1956; Gall 1960; Köhn 1955). Az MC29 vírus által keltett májtumorokban epesecretio jelei kivételesen ritkán fordultak elő.

Bizonyos mértékig a májsejt-eredet mellett értékesíthető jelként értékelik a glycogen jelenlétét is a tumorsejtekben (Evans 1956). Glycogen kimutatására irányuló célzott histokémiai vizsgálatokat ugyan nem végeztünk, az elektronmikroszkópos célra feldolgozott esetekben azonban a daganatsejtek egy részében glycogen nyomokban előfordult.

A klasszikus pathológiai irodalomban azt, ha valamely primaer májtumorban a nyáktermelő aktivitás jeleként nyálkafestő szerekkel jellegzetesen festődő anyag jelenik meg (Anderson 1966), az epeúthámsejtekből való eredet biztos jelének tartják. Köhn (1955) viszont monográfiájában amellet foglalt állást, hogy nyálka jelenléte nem teszi még indokolttá, hogy valamely májtumort a májsejteredetű rákoktól elkülönítsünk. Steiner (1960) pedig arra mutatott rá, hogy a biztosan hepatocellularis eredetű májrákok mintegy 1%-ában mucin mutatható ki a daganatban, tehát a nyáksecretio jelenléte sem 100%-osan megbízható jel a hepatocellularis és cholangiocellularis eredetű májtumorok elkülönítésében.

Mint leleteink ismertetéséből kiderül, bőséges stromaképződéssel és nyáktermeléssel járó típusos cholangiocellularis carcinoma egyszer sem fordult elő az MC29 vírusfertőzéssel megbetegített csirkékben. Nyáktartalmú secretumot olykor a társult laesiok közé sorolt, valószínűleg praeblastomatosus jellegű, atypusos mirigyformációk egy részében megfigyeltünk, a kialakult májtumorokban viszont mucin festőkkel jellegzetes festődést adó anyagot nem észleltünk. Tudjuk, mindez nem zárja ki, hogy a megfigyelt hepatocellularis megjelenésű — különösen a mirigyes — rákok egy része nem lehet cholangiocellularis eredetű, hiszen többnyire elfogadott, hogy az epeúthámból és sokak által epeúthám eredetűnek tartott burjánzó ovalis sejtekből teljesen differenciált májsejtek jöhetnek létre (Beard és mtsai 1970; Grisham és Hartroft 1972; Schaffner és Popper 1961). Periportal ovalis sejtproliferáció pedig, ha mérsékelt formában is, a vizsgált májak egy részében előfordult.

Láthatjuk, milyen nehéz, szerteágazó és komplex probléma a primaer májtumorok histogenesisének kérdése, és hogy a histogenesis és histológiai osztályozás kérdései ugyancsak milyen bonyolult, komplex módon függenek össze és még napjainkban is mennyire tisztázatlanok. Helyesen állapítja meg

azonban Evans (1956) daganat-histopathológiával foglalkozó kézikönyvében: „Az elsődleges májdaganatok histogenesisére vonatkozó ellentmondó teoriák csak tükrözik a májparenchyma sejtek és az epeút-hám eredetére és specificitására vonatkozó ellentmondó nézeteket”.

Tekintettel arra, hogy még nem tettük szisztematikus vizsgálat tárgyává a májban a vírusfertőzést követően a daganatok kifejlődését megelőzően végbemenő elváltozásokat, rákelőző állapotokat, jelenleg nem foglalhatunk véglegesen állást az MC29 vírus által előidézett májrákok histogenesisét illetően. Annyit azonban eddigi vizsgálataink alapján is biztonsággal megállapíthatunk, hogy az MC29 vírussal fertőzött csirkékben cholangiocellularis carcinoma jellegzetes morfológiai vonásaival rendelkező májdaganat nem fordult elő és a megfigyelt májtumorok túlnyomó többsége hepatocellularis eredetű volt. A májtumorok histogenesisére kérdéseinek szisztematikus tanulmányozása — összehasonlító jelleggel az MC29 vírussal fertőzött, illetve kémiai hepatocarcinogennel kezelt csirkék májában — legközelebbi célkitűzéseink közé tartozik.

A histogenesis megoldatlan kérdéseitől függetlenül lényegében a legtöbb szerző egyetért abban, hogy a primaer májrákok histológiai vonásaik alapján legalább három nagy csoportba oszthatók: 1. hepatocellularis carcinoma, 2. cholangiocarcinoma, 3. a kevert típusú cholangio hepatomák. Egyetértés van a tekintetben is, hogy ugyanazon májban különböző eredetű és histológiai vonásokkal rendelkező tumorkok egymás mellett fordulhatnak elő, sőt, mint Popper és Schaffner (1957) hangsúlyozzák, még egyugyanazon daganatos csomóban is hepatocellularis és ductularis epithelium és olyan átmeneti struktúrák, melyek előbbiekből mindegyikéből származhatnak, gyakran előfordulnak együttesen. A májrákokkal közelebről foglalkozó szerzők (Evans 1956; Hamperl 1970; Higgins 1970) fenti három típus mellett különösen a hepatocellularis rák kategórián belül számos altípust különítenek el (Berman 1951, 1957, 1958; Gall 1956, 1960). Jónak tartjuk Higginson (1955, 1956) beosztását, aki a májsejtrák kategórián belül további altípusok: trabecularis, vesicularis vagy acinaris és anaplasticus rák elkülönítését látja célszerűnek. Lényegében hasonló véleményt képvisel Albertini (1955) és Higgins (1970) is, Roulet (1957) viszont a hepatocellularis rák további altípusokra való felosztását önkényesnek tartja.

A májrákok Higginson-(1955, 1956)féle beosztásban szereplő típusainak leírását találjuk Evans (1956) könyvében is.

Bőséges adatokkal rendelkezünk a kísérletes, indukált májrákok histológiai sajátosságaira vonatkozóan is (Firminger 1955; Kelly és mtsai 1966; Stewart és Snell 1957, 1959). Ezen adatokból mindenekelőtt az állapítható meg, hogy a legkülönbözőbb kémiai rákkeltőkkel előidézett májcarcinomák — amint azt Firminger (1955), (Firminger és Mulay 1952) hangsúlyozza — szöveti szerkezetüket tekintve egymáshoz nagyon hasonlítanak és nem különíthetők

el azon az alapon, hogy milyen hepatocarcinogen anyaggal hozták azokat létre. A nagyszámú kísérletes munkából az is kitűnik, hogy az indukált májtumorok szöveti felépítésükben nem különböznek, vagy legalábbis nagyon hasonlítanak az emberi májrákokhoz. Firminger (1955), (Firminger és Mulay 1952), valamint Stewart és Snell (1957, 1959) összefoglaló munkáiból az is kiderül, hogy az egerek és patkányok különböző vegyszerekkel előidézett májrákja — az emberi carcinomához hasonlóan — leggyakrabban hepatocellularis carcinomának felel meg. Kelly és mtsainak (1966) vizsgálata alapján úgy látszik, hogy magasabbrendű emlősökben ugyanez a helyzet: a majmokban N-nitrosodiaethylamine hatására többségben hepatocellularis carcinomák jöttek létre. Nincs tehát semmi meglepő abban, hogy az MC29 vírus által csírkékben létrehozott májdaganatok ugyancsak hepatocellularis carcinomának bizonyultak. Stewart és Snell (1957, 1959) — áttekintve a különböző vegyszerekkel létrehozott májdaganatokban előforduló histológiai patterneket — úgy vélik, hogy a máj indukált daganatai az alábbi négy histológiai típusba sorolhatók: 1. trabecularis carcinoma, 2. adenocarcinoma, 3. anaplasticus carcinoma és 4. sarcomatosus szerkezetű daganatok. Szerzők (1957, 1959) is hangsúlyozzák, hogy a histológiai típusok kombinációinak legszélesebb variációja fordulhat elő ugyanazon májban keletkező multiplex daganatokban.

Vírusindukált májtumoraink osztályozása során a fentebb idézett csoportosítási eljárások közül elsősorban Higginson (1955, 1956), valamint Stewart és Snell (1957, 1959) beosztását vettük figyelembe és az észlelt hepatocellularis carcinomáknak: trabecularis, adenomatosus és anaplasticus, valamint vérzéses típusát különítettük el. Az anaplasticus rákok meglehetősen heterogén megjelenésűek voltak s e csoporton belül az egyszerű anaplasticus rákokon kívül a mozaikszerű szerkezettel rendelkező, syncytialis óriássejteket tartalmazó és az orsósejtes sarcoma képét utánzó altípusok voltak elkülöníthetők.

A leírt típusok többségének morfológiai vonásai részben a human patológiából (Anderson 1966; Berman 1951, 1957, 1958; Evans 1956; Higgins 1970; Köhn 1955), részben a vegyszeresen indukált májrákokra vonatkozó tanulmányokból (Firminger 1955; Kelly és mtsai 1966; Stewart és Snell 1957, 1959) jól ismertek s ezért külön megvitatást nem igényelnek. Az anaplasticus rákok egyes formáinak és a vérzéses rákok histológiai vonásai viszont megvitatásra szorulnak. Az anaplasticus májrákok között sajátos — tudomásunk szerint korábban le nem írt — formát képviselnek a mozaikszerű patternnel rendelkező májcarcinomák. E daganattípus jellegzetességét — mint az elnevezésből is kitűnik — az képezi, hogy a daganatos góc — a mozaikhoz hasonlóan — igen változó alakú és nagyságú egységekből, sejtekből épül fel és a sejtek a gócon belül teljesen izoláltak, azokat széles intercellularis terek választják el egymástól, a gócon belül stromaelemek hiányoznak és rendszerint a daganatos gócok vascularizációja sem alakult ki. Ez képezheti a magya-

rázatát, hogy az ilyen daganatos gócok kicsik, többnyire mikroszkopikus méretűek és centrumukban mégis rendszerint necrosis jelei mutatkoznak. E daganatok szerkezeti fölépítése csekély mértékben emlékeztet a máj szöveteire, és sejteinek többsége is elvesztette májsejt jellegzetességeit, rendszerint azonban található egy-egy sejt, mely részben megőrizte azokat és így segítenek a daganatok májsejt eredetének felderítésében.

Óriássejtek rendszerint az ilyen mozaik-szerkezetű anaplasticus rákokban fordultak elő. Emberi májrákokban és főként anaplasticus típusban írtak le óriássejteket (Evans 1956; Lichtman 1953; Popper és Schaffner 1957). Óriássejtek előfordulását a vegyszeresen előidézett májrákokban is leírták. Az óriássejtek nagyság, alak és a sejtmagvak száma szempontjából rendkívül nagy változatosságot mutatnak, a néhány sejtmagot tartalmazó sejtektől és az enormis nagyságot elérő, akár száznál is több magot tartalmazó synplasma-szerű képződményekig. A vírusindukált májtumorokban az óriássejtek széles skálájának gyakori előfordulása nem meglepő, hiszen ismeretes, hogy nem egy nem oncogen vírussal történő fertőzés esetén is gyakran jönnek létre többmagvú óriássejtek, synplasma-szerű képződmények (Anderson 1966).

Megvitatást érdemel még a vírusindukált májtumorok közül a vérzéses carcinoma típus. Kisebb vérzések bármilyen típusú májrákban előfordulnak, s rendszerint necrosishoz csatlakoznak. Az MC29 vírus által indukált májrákok egy részében a bevérzés olyan fokú volt, hogy a tumoros csomók már szabad szemmel, mint vérrel telt cysták tűntek elő. Szövettani vizsgálat szerint a cysták falát néhány sejtsornyi vastagságban ugyanolyan transformált hepatocyták alkotják, mint amilyenek a solid tumoros csomókat felépítik. Az üreget kitöltő véralakos elemek között olykor kötelékeiből kivált, lekerekedett, ép vagy necrobioticus daganatsejtek is előfordultak mintegy jelezvén, hogy e cysták létrejötté a daganatsejtek fokozott necrosis hajlamának eredményeként, a folyamatos necrosishoz csatlakozó bevérzés révén alakultak ki. Emberben is előfordult a májráknak hasonló megjelenési formája, mely „Esperance-féle haemorrhagiás hepatoma” (Rathmell és Mains 1949) néven ismeretes.

A human pathológiából ismert, hogy a májdaganatok jellegzetes sajátossága az erekbe — vena portae, vena hepatica, vena cava inferior — való betörési hajlam (Edmondson és Steiner 1954; Evans 1956; Popper és Schaffner 1957). Ezt a jelenséget vírusindukált májtumorainkban is gyakran megtaláltuk. Tapasztalat szerint azon időponttól kezdve, amikor a tumorsejtek az erek, capillarisok, venulák vagy nagyobb vénák lumenébe kerülnek, rákos cytaemiával kell számolni. A máj vascularis hálózatából tovasodródó daganatsejtek, tumorsejt embolusok a vérárammal a tüdőbe kerülnek, a tüdők ér-hálózata képezi e tumorsejtek szóródásának útjába iktatott első filtert (Walther 1948). A tüdőkben tumorsejt embolusok előfordulását gyakran megfigyeltük, de ritkábban észleltük, mint ahány esetben az intrahepaticus ér-invasiót ki tudtuk mutatni. A tüdők vascularis hálózatában a kisebb-nagyobb

tumorsejtembolusok előfordulásához képest a tüdőbeli erek falának invasiója, definitív tüdőáttételek kialakulása ritkábban fordult elő. Az extrahepaticus áttételek közül mégis leggyakoribbak a tüdőmetastasisok voltak. A tüdőáttételeken kívül elsősorban a lépben, olykor a vesében figyeltünk meg metastasisokat több esetben. A különböző szöveti szerkezetű májtumorok között az áttétképzés tekintetében nem láttunk különbséget. Lépmetastatisok olyan esetekben is előfordultak, amikor a tüdőben nem találtunk áttételeket, amely arra utal, hogy a májtumorokból elsodródó daganatsejtek tovaszóródásának útjában álló tüdőbeli capillaris hálózat filter szerepe nem tökéletes. Korpássy és mtsai (1954, 1958) transplantabilis tumorból kialakított daganatsejt suspensio intravenás bevitelével és a szóródás nyomonkövetésével más modellen bizonyították, hogy ilyen transpulmonalis passage előfordul.

Vírusindukált tumor esetében természetesen az áttételekkel kapcsolatban mindig felmerül, hogy ténylegesen tumorsejtek szóródása révén létrejött valódi áttételekről van-e szó, vagy a fertőző vírus hatására helyben létrejött újabb tumorokról. Az intrahepatikus érinvasio, a tüdőben pedig jellegzetes transformált hepatocytákból álló intravascularis tumorsejt embolusok gyakori előfordulása valószínűsíti, hogy az áttételek ténylegesen tovasodott tumorsejtek megtelepedése és további proliferációja révén alakulnak ki. Megerősíti ezt az a körülmény, hogy az áttételeket alkotó sejtek nemcsak cytológiai vonásaikban hasonlítottak az elsődleges tumor sejtjeihez, hanem olykor a lépáttételekben a hepatocellularis adenocarcinomák architektúráját híven utánzó mirigyes szerkezetet láttunk, a lépben pedig nincsenek olyan normál sejtes elemek, amelyek a vírusfertőzésre mirigyes daganatos hámburjánzással tudnának válaszolni.

A csirkék vírusindukált májtumorai esetében csakúgy, mint az emberi májrákrok esetében (Berman 1951, 1958; Cameron 1954; Halpert és Erickson 1955; Kendrey 1965) leggyakoribbak a tüdőmetastasisok voltak. Egyes adatok (Kendrey 1965; Kendrey és Besznyák 1959; Köhn 1955; Lunzenauer 1955; Mensh és Hanno 1944) szerint az emberi májcarcinoma haematogén áttételei között a csontmetastasisok gyakoriságban a tüdőáttételek után következnek. A májtumoros csirkékben makroszkóposan csontáttételeket nem észleltünk, szövettani vizsgálatot pedig a csontokból nem végeztünk.

A vegyszeresen előidézett májdaganatok áttétképzésének tanulmányozására általában nem sok figyelmet fordítottak. Magunk (Lapis 1956) patkányokban paradimethylaminoazobenzol adagolásával előidézett májtumorok kapcsán tanulmányoztuk az áttétképzést. Áttételeket a kialakult malignus májtumorok 42%-ában észleltünk. Leggyakrabban hasúri implantációs metastasisok fordultak elő, de nyirokcsomó- és tüdőáttételek is gyakoriak voltak. Nyirokcsomó metastasisokat és a különböző szervekben haematogen szórás eredményeként kialakult áttételeket a magasabbrendű emlősökben vegyszeresen előidézett májrákrok esetében is leírtak (Kelly és mtsai 1966). Májumo-

ros csirkékben implantációs metastasisokat nem észleltünk, a haematogen szórás eredményeként kialakuló tüdő- és lépmetastasisokat viszont — mint említettük — elég gyakran megfigyeltünk.

IRODALOM

- Albertini, A. V.: Histologische Geschwulstdiagnostik. G. Thieme Verlag, Stuttgart (1955).
 Allen, D. W. és Cole, P.: N. Engl. J. Med. **286**, 70 (1972).
 Almaden, P. J. és Ross, S. W.: Ann. Intern. Med. **40**, 146 (1954).
 Anderson, W. A. D.: Pathology. Fifth edition. The C. V. Mosby Co., Saint Louis (1966).
 Arcasoy, M., Smuckler, E. A. és Beneditt, E. P.: Amer. J. Path. **52**, 841 (1968).
 Bannasch, P. és Muller, H. A.: Arzneimittel-Forsch. **14**, 805 (1964).
 Bannasch, P., Papenburg, J. és Ross, W.: Z. Krebsforsch. **77**, 108 (1972).
 Bannasch, P. és Reiss, W.: Z. Krebsforsch. **76**, 193 (1971).
 Beard, J. W.: Advanc. Cancer Res. **7**, 1 (1963a).
 Beard, J. W.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **108**, 1057 (1963b).
 Beard, D., Chabot, J. F., Langlois, A. J., Hillman, E. A. és Beard, J. W.: Arch. Geschwulstforsch. **35**, 315 (1970).
 Berman, C.: Primary carcinoma of the liver. H. K. Lewis and Co., London (1951).
 Berman, C.: Acta Un. int. Cancr. **13**, 669 (1957).
 Berman, C.: Cancer Res. **5**, 55 (1958).
 Bernhard, W.: Schweiz. Med. Wschr. **100**, 1045 (1970).
 Blatchford, F. W.: Gastroenterology **21**, 238 (1952).
 Bolognesi, D. P., Langlois, A. J., Sverak, L., Bonar, R. A. és Beard, J. W.: J. Virol. **2**, 576 (1968).
 Brock, N., Druckrey, H. és Hamperl, H.: Z. Krebsforsch. **50**, 431 (1940).
 Calnek, B. W.: Nat. Cancer Inst. Monogr. **17**, 425 (1964).
 Cameron, G. F.: Gastroenterology **27**, 161 (1954).
 Carnaghan, R. B. A.: Brit. J. Cancer **21**, 811 (1967).
 Counseller, V. S. és McIndoe, A. H.: Arch. intern. Med. **37**, 363 (1926).
 Dalton, A. J. és Edwards, J. E.: J. Nat. Cancer Inst. **3**, 319 (1942).
 Daoust, R.: Cancer Res. **22**, 743 (1962).
 Daoust, R. és Cantero, A.: Cancer Res. **19**, 757 (1959).
 Daoust, R. és Molnar, F.: Cancer Res. **24**, 1898 (1964).
 Edmondson, H. A.: Tumors of the liver and intrahepatic bile ducts. In: Atlas of tumor pathology, Sect. VII. Fasc 25. Armed Forces Institute of Pathology. Washington, D. C. (1958).
 Edmondson, H. A. és Steiner, P. E.: Cancer **7**, 462 (1954).
 Edwards, J. E. és White, J.: J. Nat. Cancer Inst. **2**, 157 (1941).
 Epstein, S., Ito, N., Merkow, L. és Farber, E.: Cancer Res. **27**, 1702 (1967).
 Evans, R. W.: Histological appearances of tumours. E. and S. Livingstone Co. Edinburgh and London (1956).
 Falke, D.: Dtsch. med. Wschr. **96**, 1167 (1971).
 Farber, E.: Cancer Res. **16**, 142 (1956).
 Farber, E.: Cancer Res. **28**, 1859 (1968).
 Firminger, H. I.: J. Nat. Cancer Inst. **15**, 1427 (1955) Suppl.
 Firminger, H. I. és Mulay, A. S.: J. Nat. Cancer Inst. **13**, 19 (1952).
 Freeman, J. A. és Spurlock, B. O.: J. Cell Biol. **13**, 437 (1962).
 Gall, E. A.: Tumors of the liver (Ed: Schiff, L.) Diseases of the liver. Lippincott Co. Philadelphia and Montreal (1956).
 Gall, E. A.: Arch. Path. **70**, 226 (1960).
 Gardner, D., Albert, R. és Troll, W.: Proc. Amer. Ass. Cancer Res. **10**, 28 (1969).
 Gillman, J., Gilbert, C. és Spence, I.: Cancer **7**, 1109 (1954).
 Grisham, J. W. és Hartroft, W. S.: Lab. Invest. **10**, 317 (1972).
 Gross, L.: Oncogenic viruses. Pergamon Press, New York (1970).
 Grundmann, E. és Sieburg, H.: Beitr. path. Anat. **126**, 57 (1962).
 Gupta, D. N.: Nature (Lond.) **175**, 257 (1955).
 Halpert, B. és Erickson, E. E.: Cancer **8**, 992 (1955).

- Hamperl, H.: The classification of liver tumors. (Eds.: Pack, G. T. és Islami, A. H.) Tumors of the liver. Recent Results in Cancer Research, Vol. 26 Springer Verl. New York, Heidelberg, Berlin (1970).
- Heine, U., Langlois, A. J., Riman, J. és Beard, J. W.: Cancer Res. **29**, 442 (1969).
- Heine, U. I., Mladenov, Z., Beard, D. és Beard, J. W.: Morphology of hepatoma induced by strain MC29 avian leukosis virus. Program of the 24th Ann. Meeting of the Electron Microscopy Society of America. B-21 (1966).
- Herxheimer, G.: Lebergewächse. Henke-Lubarsch Handbuch d. spez. path. Anat. V/1, 797 (1930).
- Higgins, G. K.: The pathologic anatomy of primary hepatic tumors. (Eds.: Pack, G. T. és Islami, A. H.) Tumors of the liver. Recent results in cancer Research, Vol 26. Springer Verl. New York, Heidelberg, Berlin (1970).
- Higginson, J.: Schweiz. Z. Path. Bakt. **18**, 625 (1955).
- Higginson, J.: Brit. J. Cancer **10**, 609 (1956).
- Hollmann, K.-H.: Dtsch. med. Wschr. **97**, 620 (1972).
- Ivanov, X., Mladenov, Z., Nedyalkov, S., Todorov, T. G. és Yakimov, M.: Bull. Inst. Path. Comp. Animaux Domest. Acad. Sci. Bulg. **10**, 5 (1964).
- Ivanov, X., Mladenov, Z., Nedyalkov, S. és Bozhkov, B.: C. R. Acad. Sci. Bulg. **18**, 593 (1965).
- Kelly, M. G., O'Gara, R. W., Adamson, R. H., Gadekar, K., Botkin, C. C., Reese, W. H. és Kerber, W. T.: J. Nat. Cancer Inst. **36**, 323 (1966).
- Kelsch, A. és Kiener, P. L.: Arch. Physiol. **3**, 622 (1876).
- Kendrey, G.: Beitr. path. Anat. **120**, 1 (1959).
- Kendrey, G.: Elsődleges májdaganatok időszerű kérdései. Kandidátusi értekezés. Budapest (1965).
- Kendrey, G. és Besznyák, I.: Magy. Radiol. **11**, 21 (1959).
- Kendrey, G. és Németh, K.: Arch. Geschwulstforsch. **26**, 1 (1965).
- Kinosita, R.: Tr. Soc. path. jap. **27**, 665 (1937).
- Kinosita, R.: J. Nat. Cancer Inst. **15**, 1443 (1955).
- Klavins, J. V., Kinney, T. D. és Kaufman, N.: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **89**, 540 (1955).
- Korpássy, B., Kovács, K. és Tiboldi, T.: Acta Morph. Acad. Sci. hung. **4**, 271 (1954).
- Korpássy, B. és Solyom, A.: Orv. Hetil. **102**, 2353 (1961).
- Korpássy, B., Szőnyi, F. és Baradnay, Gy.: Z. Krebsforsch. **62**, 370 (1958).
- Köhn, K.: Der primäre Leberkrebs. Springer Verl. Berlin, Göttingen, Heidelberg (1955).
- Laird, A. K. és Barton, A. D.: J. Nat. Cancer Inst. **27**, 827 (1961).
- Langlois A. J., Beard, D. és Beard, J. W.: Strain MC29, and avian leukosis virus of unique properties (Ed.: Dutcher, R. M.) Comparative leukemia research 1969. Bibl. heamat. No. 36. Karger Verl. Basel, München, Paris, New York 96 (1970).
- Langlois, A. J. és Beard, J. W.: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **126**, 718 (1967).
- Langlois, A. J., Bolognesi, D. P., Fritz, R. B. és Beard, J. W.: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **131**, 138 (1969).
- Langlois, A. J., Sankaran, S., Hsiung, P. L. és Beard, J. W.: J. Virol. **1**, 1082 (1967).
- Lapis, K.: A lymphogen áttétképzés morfológiája. Kandidátusi értekezés. Budapest (1956).
- Lapis, K., Beard, D. és Beard, J. W.: (közlés alatt. a.)
- Lapis, K., Langlois, A. J. és Beard, J. W.: (közlés alatt. b.)
- Latarjet, R.: Bull. Cancer **58**, 277 (1971).
- Leduc, E. H.: J. Histochem. **7**, 253 (1959).
- Lesch, R., Meinhardt, K. és Oehlert, W.: Z. Krebsforsch. **70**, 267 (1968).
- Lichtman, S. S.: Diseases of the liver, gallbladder and bile ducts. Lea and Febiger Co., Philadelphia (1953).
- Lunzenauer, K.: Krebsforsch. **60**, 630 (1955).
- MacDonald, R. A.: N. Engl. J. Med. **255**, 1179 (1956).
- MacDonald, R. A.: Amer. J. Path. **39**, 209 (1961).
- Magee, P. N. és Barnes, J. M.: Brit. J. Cancer **10**, 114 (1956).
- Magyar, I.: Erkrankungen der Leber und der Gallenwege. Verlag d. Ung. Akad. d. Wiss. Budapest, Akademie-Verlag. Berlin (1961).
- Maisin, J., Maldague, P. és Deckers-Passau, L.: Precancerous lesions of the rat liver. Proc. Int. Congr. Perugia, p. 167 (1962).
- Marckwald, E.: Virchows Arch. path. Anat. **144**, 29 (1896).
- Maruya, H.: Gann **33**, 203 (1939).
- Mensh, M. és Hanno, H. A.: Gastroenterology **3**, 206 (1944).
- Merkow, L. P., Epstein, S. M. és Caito, B. J.: Cancer Res. **27**, 1712 (1967).
- Merkow, L. P., Epstein, S. M., Farber, E., Pardo, M. és Bartus, B.: J. Nat. Cancer Inst. **43**, 33 (1969).

- Merkow, L. P., Epstein, S. M., Slifkin, M., Farber, E. és Pardo, M.: *Cancer Res.* **31**, 174 (1971).
- Miller, E. C., Juhl, U. és Miller, J. A.: *Science* **153**, 1125 (1966).
- Miller, J. A. és Miller, E. C.: The carcinogenic aminoazo dyes. (Ed.: Greenstein, J. P. és Haddow, A.) *Advances in cancer research*. I. Academic Press Inc. publishers, New York p. 339 (1953).
- Miller, E. C. és Miller, J. A.: *Pharmacol. Rev.* **18**, 805 (1966a).
- Miller, J. A. és Miller, E. C.: *Lab. Invest.* **15**, 217 (1966b).
- Misugi, K., Okajima, H., Misugi, N. és Newton, W. A.: *Cancer* **20**, 1760 (1967).
- Mladenov, Z., Heine, U., Beard, D. és Beard, J. W.: *J. Nat. Cancer Inst.* **38**, 251 (1967).
- Morris, H. P., Wagner, B. P. és Velat, C. A.: *J. Nat. Cancer Inst.* **16**, 489 (1956).
- Mulay, A. S. és Congdon, C. C.: *J. Nat. Cancer Inst.* **14**, 571 (1953).
- Mulay, A. S. és Firminger, H. I.: *J. Nat. Cancer Inst.* **13**, 35 (1952).
- Opie, E. L.: *J. exp. Med.* **80**, 231 (1944).
- Orcel, L. és Roland, J.: *Arch. ital. Mal. Appar. dig.* **52**, 1295 (1963).
- Orcel, L., Roland, J. és Feignoux, G.: *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **157**, 243 (1963).
- Orr, J. W.: *J. Path. Bact.* **50**, 393 (1940).
- Orsós, F.: *Beitr. path. Anat.* **84**, 33 (1930).
- Palade, G. E.: *J. exp. Med.* **95**, 285 (1952).
- Pitot, H. C.: Recent advances in the mechanism of hepatic carcinogenesis (Ed.: Popper, H. és Schaffner, F.) *Progress in liver diseases*. Vol. 3. Grune and Stratton, New York — London p. 77 (1970).
- Popper, H., Kent, G. és Stein, R.: *J. Mt. Sinai Hosp.* **24**, 551 (1957).
- Popper, H. és Schaffner, F.: *Liver: Structure and function*. The Blakiston Division M. C. Grow Hill Book Co. Inc. New York, Toronto, London (1957).
- Price, J. M., Harman, J. W., Miller, E. C. és Miller, J. A.: *Cancer Res.* **12**, 192 (1952).
- Rathmell, T. K. és Mains, M. P.: *Pediatrics* **3**, 508 (1949).
- Reuber, M. D. és Glover, E. L.: *J. Nat. Cancer Inst.* **38**, 891 (1967a).
- Reuber, M. D. és Glover, E. L.: *Brit. J. exp. Path.* **48**, 319 (1967b).
- Reynolds, E. S.: *J. Cell Biol.* **17**, 208 (1963).
- Ribbert, H. és Hamperl, H.: *Lehrbuch der pathologischen Anatomie*. 18., 19. Auf. Springer Verlag, Berlin (1950).
- Richardson, H. L. és Borsos-Nachtnabel, E.: *Cancer Res.* **11**, 398 (1951).
- Roulet, F. C.: *Acta Un. int. Cancer.* **13**, 623 (1957).
- Rubin, E., Masuko, K., Goldfarb, S. és Zak, F. G.: *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **115**, 381 (1964).
- Rubin, H.: *J. cell comp. Physiol.* **64**, 173 (1964) Suppl.
- Rüttner, J. R. és Rondez, R.: *Path. et Microbiol. (Basel)* **23**, 113 (1960).
- Sabatini, D. D., Bensch, K. és Barnett, R. J.: *J. Cell. Biol.* **17**, 19 (1963).
- Sabin, A. B.: *Cancer Res.* **28**, 1849 (1968).
- Sabourin, C.: Contribution à l'étude des lésions du parenchyme hépatique dans la cirrhose. Essai sur l'adenome du foie. Thèse, Paris (1881).
- Sagebiel, R. W., McFarland, R. B. és Taft, E. B.: *Amer. J. Clin. Path.* **40**, 516 (1963).
- Sarkar, N. H. és Moore, D. H.: *Nature* **236**, 103 (1972).
- Sasaki, T. és Yoshida, T.: *Virchows Arch. path. Anat.* **95**, 175 (1935).
- Schaffner, F. és Popper, H.: *Amer. J. Path.* **38**, 393 (1961).
- Schmähel, D., Preussmann, R. és Hamperl, H.: *Naturwissenschaften* **47**, 89 (1966).
- Sharp, D. G. és Beard, J. W.: *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **81**, 75 (1952).
- Shear, M. J.: *Amer. J. Cancer* **29**, 269 (1937).
- Sheinin, R.: *Sci Forum* **24**, 9 (1971).
- Sheldon, W. H. és James, D. F.: *Arch. int. Med.* **81**, 666 (1948).
- Steiner, P. E.: *Cancer: Race and Geography*. Williams and Wilkins, Baltimore (1954).
- Steiner, P. E.: *Cancer* **13**, 1085 (1960).
- Stewart, H. L. és Snell, K. C.: *Acta Un. int. Cancer.* **13**, 770 (1957).
- Stewart, H. L. és Snell, K. C.: The histopathology of experimental tumors of the rat. (Ed.: Homburger, F. és Fischman, W. H.) *The physiopathology of cancer*, Second ed. New York p. 85 (1959).
- Ungar, H. és Goldberg, M. G.: *Lab. Invest.* **8**, 1523 (1959).
- Walther, H. E.: *Krebsmetastasen*. Vorwort von H. von Meyenburg. Schwabe, Basel (1948).
- Wegelin, K.: *Virchows Arch. path. Anat.* **179**, 95 (1905).
- Wilson, J. W. és Leduc, E. H.: *J. Path. Bact.* **76**, 441 (1958).
- Yoshida, T.: *Tr. Path. soc. jap.* **24**, 523 (1934).