

brechen und nach ein bis einigen Sekunden absoluten, aktionsstromfreien Herzstillstandes den normalen Herzrhythmus wiederherzustellen. Voraussetzung einer solchen Wirkung ist, daß die blockerzeugende Substanz weder den nervösen noch den muskulären Apparat des Herzens irreversibel schädigt und daß die absolute Stilllegung des Herzens zeitlich auf wenige Sekunden begrenzt werden kann. Digitalisartig wirkende Blockgifte sind deshalb von vornherein als ungeeignet auszuschließen. Es wurden Stoffe gewählt, von denen erwartet werden konnte, daß sie nach Ausübung ihrer spezifischen Herzwirkung durch das lebende (überlebende) Gewebe rasch enzymatisch abgebaut und dadurch inaktiviert werden. Neben dem bereits als wirksam erwiesenen Azetylcholin wurde die *Adenosintriphosphorsäure* (ATP) als ausgesprochenes Blockgift geprüft, wobei erwartet werden konnte, daß ATP durch die Adenosintriphosphatase des Herzmuskels relativ rasch zu den weniger energiereichen Stufen der Di- und Monoadenosintriphosphorsäure abgebaut wird. Versuche mit intrakardialer Injektion von 0,25–5–20 mg ATP am isolierten Kaninchen-, Katzen- und Hundeherzen (nach modifizierter LAGENDORFF-Methode) führten in einer Versuchsserie von vorläufig gegen 100 Herzen zu einem vollen Erfolg (vgl. Abbildung). Es gelingt also, das so schwer zu behebende



Versuch Nr. 214b. Katze 3,2 kg.

a EKG des isolierten Herzens. Frequenz 120.

b EKG nach Elektrokution 25 V 5 sec 70 mA Kammerflimmern.

c EKG nach Injektion von 5 mg Adenosintriphosphorsäure. Übergang vom Herzkammerflimmern zur normalen Schlagfolge.

d EKG 5 min nach der Injektion. Frequenz 120.

Kammerflimmern mit ATP völlig rückgängig zu machen und den normalen Herzrhythmus mit voller hämodynamischer Leistungsfähigkeit des Herzens wiederherzustellen.

Diese Wirkung scheint wider Erwarten mit der energetischen Wirkung des ATP (SZENT-GYÖRGYI¹, DUBUISSON², BAILEY³ u. a.) nichts zu tun zu haben, sondern auf der typischen Herzwirkung der *Adenylverbindungen* zu beruhen, wie sie von DRURY und SZENT-GYÖRGYI⁴, GILLESPIE⁵ u. a. schon früher festgestellt wurde. Daß es sich bei dieser ATP-Wirkung primär nicht um eine den

Aktomyosinkomplex des Herzmuskels aktivierende (Muskel-)Wirkung, sondern um eine spezifische Wirkung auf die reizleitenden Elemente des Herzens handelt, geht daraus hervor, daß es auch mit der von Muskelphosphatasen nicht angegriffenen *Hefeadenylsäure* und ebenso mit dem phosphorsäurefreien *Adenosin* gelingt, das elektrisch erzeugte Kammerflimmern am isolierten Säugetierherzen zu beheben, wobei allerdings beträchtlich größere Dosen erforderlich sind als bei ATP, was mit der von DRURY, SZENT-GYÖRGYI, GILLESPIE u. a. festgestellten geringeren Herzaktivität des Adenosins und anderer Adenylverbindungen in Übereinstimmung steht. Ob sekundär bei der Wiederherstellung des normalen Herzschlages das mit der Infusionsflüssigkeit zugeführte oder intrakardial applizierte ATP energetisch eine gewisse Bedeutung besitzt, kann nicht sicher ausgeschlossen werden, erscheint aber nach den Erfahrungen mit Hefeadenylsäure und Adenosin unwahrscheinlich. Hingegen ist es durchaus denkbar, aber experimentell noch nicht sichergestellt, daß bei der Erholung des Herzens der koronarerweiternden Wirkung der Adenylverbindungen, die bei Adenosin am ausgesprochensten ist, eine gewisse Rolle zukommt.

Diese auch am Ganztier (mit eröffnetem Thorax) unter EKG-Kontrolle bestätigten Versuche lassen die Erwartung zu, daß es vielleicht auf diesem Wege gelingen wird, elektrisch Verunfallte durch intrakardiale Injektion von ATP (evtl. zusammen mit Azetylcholin) wieder ins Leben zurückzurufen. Durch Versuche am Ganztier soll diese Frage eingehender Prüfung unterworfen werden.

H. FISCHER und R. FRÖHLICHER

Pharmakologisches Institut der Universität Zürich, den 28. Januar 1948.

Summary

(1) In the isolated mammalian heart (rabbit, cat, dog) electrically induced ventricular fibrillation is stopped in practically 100 % of the cases by adenosin-triphosphoric acid (ATP) in doses of 0.25–20 mg, and the normal rhythm of the heart is permanently restored (as far as the experiment extends).

(2) This effect of ATP follows from a primary blocking, which leads to a complete cessation of the activity of the ventricles with diastolic dilatation of the heart.

(3) In as much as adenyl acid from yeast and adenosin (in large doses) also stop ventricular fibrillation, the energetic effect of ATP seems to be of no importance in stopping it; it is a specific effect of the adenyl compounds on the bundle of His.

Lo sviluppo dei tumori da benzopirene nel ratto, studiato nella struttura dei nuclei cellulari

Le recenti ricerche di CUSMANO (1947)¹ hanno provato nel carcinoma dell'utero umano che i nuclei delle cellule neoplastiche assumono aspetti tipici, in accordo con le precedenti osservazioni di CASPERSSON e SANTESSON (1942)² e di KOLLER (1943)³. In particolare risulta che cellule ipercromatiche proliferanti (dette A) sono variamente miste a cellule in condizioni subletali ipocromatiche (dette B).

¹ A. SZENT-GYÖRGYI, Chemistry of muscular contraction (New York, 1947).

² M. DUBUISSON, Exper. 3, 213 (1947).

³ KENNETH BAILEY, The proteins of skeletal muscle in: Advances in protein chemistry 1, 289 (1944).

⁴ A. N. DRURY and A. SZENT-GYÖRGYI, J. Physiol. 68, 213 (1929); 72, 288 (1931); 74, 147 (1932).

⁵ J. H. GILLESPIE, J. Physiol. 80, 345 (1934).

¹ L. CUSMANO, Tumori 33, 10 (1947); ib. 33, 107 (1947); ib. 33, 178 (1947).

² T. CASPERSSON e L. SANTESSON, Acta Radiologica, Suppl. 46, 17 (1942).

³ P. C. KOLLER, Nature 151, 144 (1943).

Ricerche analoghe non sembrano ancora estese ai tumori sperimentali, dove pure i caratteri delle mitosi sono già noti (WINGER, 1930¹, LEVINE, 1931²). Questi tumori possono offrire presumibilmente la possibilità di seguire le varie tappe della produzione delle cellule neoplastiche, come nei tumori umani non è realizzabile.

Scopo di questa nota è appunto l'analisi cariologica del tumore da benzopirene del ratto, dove già uno di noi (CASABONA, in stampa)³ ha osservato imponenti fenomeni di poliploidizzazione.

Furono trattati 45 ratti albini adulti con benzopirene in sol. oleosa all'1% sottocute alla dose di 1 cm³ e ripetendo l'iniezione nello stesso punto alla distanza di otto giorni. I tumori si svilupparono dal 75° al 180° giorno. Solo in 4 casi non si ebbe risultato.

I prelievi furono fatti alla comparsa del primo nodulo tumorale. Frammenti di pochi decimi di millimetro cubo furono fissati in alcool acetico (2 parti di alcool a 95°, 1 parte ac. acetico glaciale) e schiacciati poche ore dopo con la tecnica in uso (CUSMANO, 1947).

La colorazione seguì col carminio acetico e colla reazione di Feulgen. Furono eseguiti anche preparati di controllo con elementi del connettivo sottocutaneo e dello strato germinativo dell'epidermide di ratti sani giovani.

I preparati istologici per la diagnosi anatomopatologica furono eseguiti su fette colorate coi metodi usuali.

Possiamo distinguere due fasi essenziali nello sviluppo del tessuto sarcomatoso, visto come fenomeno nucleare: la prima (fase α), precocissima, quando il tumore è appena percettibile come una massa inferiore al grano di riso; la seconda (fase β), quando le dimensioni sono maggiori (dal grano di riso all'uovo di piccione) fino alla fine delle osservazioni, che corrisponde più o meno a profonde ulcerazioni e alla morte dell'animale.

I limiti fra le due fasi sono indicati da fenomeni nucleari che ora descriviamo.

Fase α : Il quadro che si presenta è definibile nel modo seguente: i nuclei sono uniformemente sferoidali e singolarmente cromatici. Mediante la reazione di Feulgen è evidente una massa centrale di cromatina dall'aspetto tipico di cromocentro, cui si aggiungono poche zolle addossate alla membrana nucleare: è assai difficile scorgere un nucleolo.

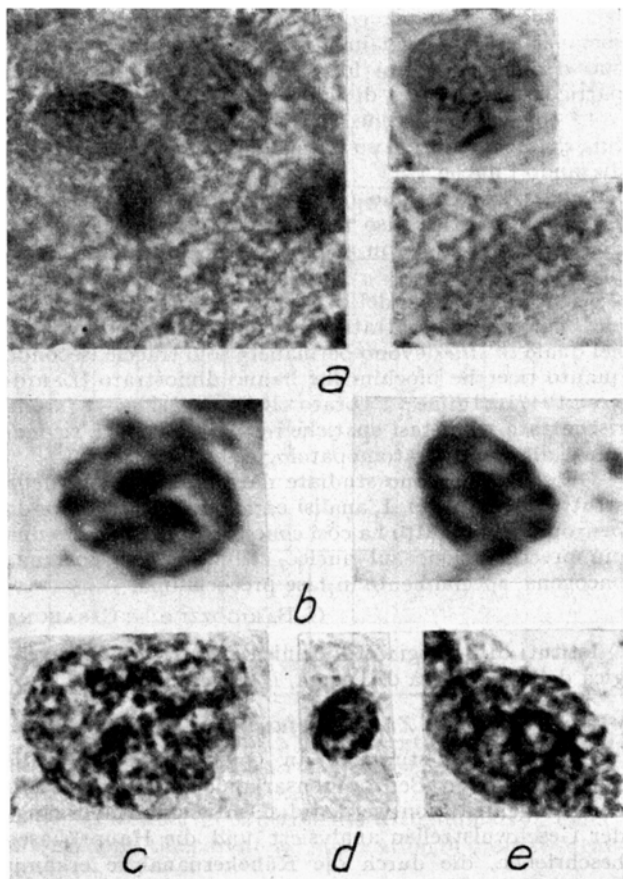
Frammiste a queste in proporzione di 8,6% (media calcolata su 250 cellule circa per ciascuno di due campioni) si presentano nuclei maggiori, elissoidali, pallidi con sottilissimi cromonemi, uno o due piccoli cromocentri e voluminoso nucleolo. Fra il primo e secondo tipo di nuclei si notano facilmente fasi di passaggio. Rarissimi sono i granulociti polinucleati.

Le mitosi, in generale non frequenti, sono in parte normali, in parte anormale per frammentazioni di cromosomi e appiccicosità (STICKING) delle loro terminazioni. Non si riscontrano mai numeri cromosomici iperploidi.

Fase β : Questa fase comincia quando compaiono i nuclei iper- o poliploidi. Di solito questi si osservano dopo circa 8 giorni dal prelievo che ha dato la fase α . Gli elementi iperploidi sono commisti a quelli primitivi diploidi, tanto ipercromatici quanto ipocromatici. Il loro numero tende ad aumentare gradatamente, e la loro frequenza è variabilissima nei diversi campioni.

Si può dunque affermare che la distribuzione dei diversi tipi nucleari è assai eterogenea.

La natura poliploide o iperploide di questi elementi è comprovata da conteggi delle mitosi e dall'aspetto e



a) Nuclei dell'epidermide (strato germinativo), del derma e del connettivo sottocutaneo normali ($\times 1650$ ca.).
b) Nuclei di cellule diploidi di tumore in fase precoce (α) ($\times 2475$ ca.).
c ed e) Nuclei iperploidi (fase tardiva β) di tipo A ($\times 1420$ ca.).
d) Nucleo diploide, come in b, ingrandito come c (fissazione in alcool acetico e colorazione con reazione di Feulgen).

dalle dimensioni dei nuclei in riposo: questi, elissoidali, si presentano o ricchi di cromocentri piccoli, o pallidi e con 2 o più grandi nucleoli. Essi ripetono così la struttura dei nuclei diploidi primitivi. La genesi degli elementi poliploidi o iperploidi è individuabile forse in stadi di tipo endomitotico, piuttosto incerti però da identificare. Le mitosi sono normali - tanto con 42 quanto con 84 o altri numeri cromosomici - oppure anormale, per rotture, espulsione di cromosomi, non disgiunzione appaiamenti omologhi (piastre con 21 cromosomi) e fusi multipolari (rari). Le divisioni sembrano essere limitate ai nuclei ipercromatici. Dove subentrano fatti ulcerativi, sono frequenti infiltrazioni di elementi parvicellulari.

Il confronto fra questi risultati, quelli ottenuti da CASPERSSON e SANTESSON (1942), KOLLER (1943) e CUSMANO sulla specie umana (1947) e meno recentemente, da WINGE (1930) e LEVINE (1931) ambedue su tumori da idrocarburi ciclici, il primo sul topo, il secondo sul ratto, permettono di stabilire quanto segue:

1.° che il sarcoma sperimentale del ratto non differisce come quadro cariologico dalle neoplasie maligne dell'uomo;

2.° che i nuclei ipercromatici corrispondono a quelli denominati di tipo A primitivamente da CASPERSSON e SANTESSON e quelli ipocromatici con grandi nucleoli a quelli di tipo B degli stessi AA.;

¹ Ö. WINGER, Z. Zellf. 10, 683 (1930).

² M. LEVINE, Ann. J. Cancer 15, 1010 (1931).

³ U. CASABONA, Boll. Soc. it. Biol. sperim. (in stampa).

3.^o che la fase precocissima è caratterizzata da un sostanziale rimaneggiamento della sostanza cromatica che si addensa, quasi fosse eterocromatina, e sembra particolarmente ricca di ac. timonucleinico;

4.^o che il benzopirene, oltre a rimaneggiare la cromatina del nucleo in riposo normale blocca il fuso, poliploidizzando i nuclei.

Quest'ultima azione (già comunicata da CASABONA, 1947) è riferita al fuso in via ipotetica, perché le fasi di poliploidizzazione in atto appaiono difficili da interpretare.

Riguardo l'azione del benzopirene è notevole il fatto che i fenomeni riscontrati corrispondono ad un momento nel quale *in situ* devono permanere solo tracce, secondo quanto ricerche biochimiche hanno dimostrato (LARIONOV, 1947¹). Infine va notato che in 4 casi su 41 furono riscontrate metastasi epatiche renali, polmonari, riconosciute all'esame anatomopatologico.

Queste non furono studiate dal punto di vista della struttura dei nuclei. L'analisi citologica del tumore da benzopirene nel ratto ha così concesso di riconoscere una più precisa azione sul nucleo cellulare della sostanza oncogenica, specialmente in fase precocissima.

C. BARIGOZZI e U. CASABONA

Istituti di Zoologia e di Clinica Ostetrica e Ginecologica dell'Università di Parma, il 20 gennaio 1948.

Zusammenfassung

Die Verfasser studieren an Quetschpräparaten die Kernstruktur in Benzopyrensarkomen der Ratte. Mit der Feulgenreaktion werden die Entwicklungsvorgänge der Geschwulstzellen analysiert und die Hauptphasen beschrieben, die durch die Ruhekernanalyse erkannt werden können.

Die Kernphänomene in Benzopyrensarkomen entsprechen weitgehend denjenigen, die in spontanen Karzinomen des Menschen beobachtet werden.

¹ L. TH. LARIONOV, Cancer Research 7, 230 (1947).

Experimentelle Untersuchungen über die Therapie der Tuberkulose durch Kombination von Streptomycin mit PAS oder Sulfon-N-azetat

Auf Grund der von LEHMANN¹ entdeckten bakterio-statischen Wirkung der Paraaminosalizylsäure (PAS) auf die Tuberkelbazillen *in vitro* und der nachgewiesenen deutlichen Hemmung der experimentellen Tuberkulose (Meerschweinchen), die von YOUNG² (Mäuseversuche) bestätigt wurden, erschien es uns von Interesse, tierexperimentell zu untersuchen, ob sich durch eine Kombination von Streptomycin mit PAS³ und vielleicht auch

¹ J. LEHMANN, Lancet No. 6384, 15 (1946); Svenska Läkartidningen n:r 33 (1946).

² G. P. YOUNG, Quart. Bull., Chicago 20, 420 (1946).

³ Nachtrag: Nach Abschluß dieser Untersuchungen, die im Sommer 1947 durchgeführt wurden, stießen wir in einer neuen Arbeit von YOUNG, J. Bact. (Am.) 54, 409 (Oktoberheft 1947), in der er seine *in-vitro*-Versuche mit PAS und weitere *in-vivo*-Versuche mit PAS in verschiedenen Dosierungen von 1–4% Futterzusatz bei Mäusen mitteilt, auf eine vorläufige Notiz, daß auch er *in vivo* bei einer Kombination von PAS mit Streptomycin einen günstigeren therapeutischen Effekt beobachtete als bei der alleinigen Anwendung der beiden Stoffe. Seine genaueren Versuchsergebnisse liegen aber im Moment noch nicht vor. — DEMPSEY und LOGG berichten neuerdings über günstige, aber nicht überzeugende klinische Resultate mit PAS bei Lungentuberkulose. Lancet Dec. 13, p. 871 (1947).

mit neuen *parenteral* verabreichbaren Sulfonderivaten, da ja die perorale Promintherapie für den Menschen zufolge schwerer Nebenwirkungen nicht in Frage kommt, eine Verstärkung des therapeutischen Effektes erzielen ließe. Die chemische Synthese wurde durch die Laboratorien der «Cilag» durchgeführt, mit denen wir seit zwei Jahren diese Probleme verfolgen.

Technik

Für die Versuche verwendeten wir die von YOUNG angegebene Technik der experimentellen Mäusetuberkulose. Die Infektion der Tiere erfolgte intravenös durch Injektion von 0,1 mg einer Aufschwemmung von Tbc-Bazillen des virulenten humanen Stammes H 37 Rv¹. Die Behandlung der Tiere setzte 2–4 Tage nach der Infektion ein. Je nach der Gruppe erhielten die Tiere zweimal täglich ½ mg Streptomycin oder zweimal 5 mg Sulfon-N-azetat sc. injiziert. Die PAS wurde in einer Dosis von 2% dem abgewogenen Futter zugesetzt (2 g Körnerfutter pro Tag und Maus). Nach sechs Wochen wurden alle noch überlebenden Tiere getötet und die Lunge, Leber, Milz und Nieren histologisch untersucht. Bei allen Tieren wurden Ausstriche von den Lungen auf Tbc-Bazillen untersucht und zum Teil kulturell verifiziert. Bei dieser hämatogen gesetzten Infektion kommt es vor allem zur Entwicklung einer schweren Lungentuberkulose.

Ergebnisse

Die Versuchsergebnisse sind in der folgenden Tabelle je nach der histologischen Ausdehnung der Tbc-Herde in der Lunge mit 1 bis maximal 4 bezeichnet worden. Die Versuchstiere, die vor Abschluß des Versuches *ad exitum* kamen, sind eingeklammert. Für die Berechnung des durchschnittlichen Schweregrades der Tuberkulose der verschiedenen Versuchsgruppen wurden diese Tiere, sofern sie vor dem 30. Tage *ad exitum* kamen, nicht mitgerechnet. Die Ergebnisse lassen sich folgendermaßen zusammenstellen:

1. Die Ergebnisse von LEHMANN² und YOUNG³, daß der PAS bei der tierexperimentellen Tuberkulose ein deutlicher therapeutischer Effekt zukommt, können voll bestätigt werden. Wie aus der obigen Tabelle hervorgeht, beträgt der durchschnittliche Schweregrad der Lungentuberkulose bei den Kontrolltieren 3,6, während derselbe bei den PAS-Tieren nur 2,3–2,4 erreicht. Die Wirkung der PAS bleibt aber dabei noch deutlich hinter der Wirkung des Streptomycins (zweimal täglich ½ mg sc.) zurück, wo wir aus dem histologischen Bild nur auf einen durchschnittlichen Schweregrad von 1,6 kommen.

2. Die PAS verstärkte den therapeutischen Effekt des Streptomycins, indem in der Kombinationsgruppe der durchschnittliche Schweregrad nur 1,0 erreichte.

3. Unter *parenteral* injizierbaren neuen Sulfonderivaten erwies sich erstmals im Gegensatz zu den früheren negativen Ergebnissen mit Sulfonzuckerverbindungen (FELDMANN und HINSHAW⁴, ACKLIN, ROSSI und SCHMID⁵, MOESCHLIN und STOLLER⁶) ein Diamino-diphenyl-Sulfon-N-azetat («Cilag») bei *parenteraler* Injektion von

¹ Prof. LEHMANN sei an dieser Stelle für die freundliche Überlassung einer Versuchsmenge von PAS und des Tbc-Stammes unser bester Dank ausgesprochen!

² J. LEHMANN, Svenska Läkartidningen, n:r 33 (1946).

³ G. P. YOUNG, Quart. Bull., Chicago 20, 420 (1946).

⁴ Cf. Brit. med. J. 278 (1946, I).

⁵ ACKLIN, ROSSI und SCHMID, Helv. paed. acta, Suppl. III zu Vol. I/1946.

⁶ S. MOESCHLIN und CH. STOLLER, Schweiz. med. Wschr. 77, 1176 (1947).