

Wirkung eines tumorhemmenden Stoffes, des Triäthylenmelamins, auf das Wachstum von Fremdkörpergranulom und Tumor

Für die Beurteilung der Spezifität chemotherapeutischer Hemmungen des Tumorwachstums ist die Bestimmung der Wirkung an bösartigem und schnell wachsendem nicht bösartigem Gewebe Voraussetzung. Hierfür ist der Vergleich der Wirkung am Fremdkörpergranulom nach MEIER, SCHULER und DESAULLES¹ und an Tumoren geeignet. Als tumorhemmender Stoff wurde Triäthylenmelamin gewählt. Die Versuche wurden unter vergleichbaren Bedingungen (Dosierung, Applikationsart, Versuchsdauer) durchgeführt.

Methodik

a) Wirkung am Granulom. Für die Granulomversuche wurden männliche Albinoratten mit einem Anfangsgewicht von 100 bis 120 g verwendet. Die Nahrung bestand aus vollwertigem Rattenkuchen (Allied Mills Chicago) und Wasser *ad libitum*. Die Tiere wurden in Metall- oder Plastikkäfigen bei konstanter Lufttemperatur und relativer Luftfeuchtigkeit gehalten. Den Ratten wurden am ersten Versuchstag dorsal zwei sterile, 50 mg schwere Rohwattepresslinge subkutan unter leichtem Ätherrausch (Wundschliessung durch Jodkollodium) implantiert. Während des ganzen Versuchs wurden täglich Gewichtskontrollen vorgenommen. 7 Tage nach Versuchsbeginn wurden entstandene Granulome herauspräpariert und gewogen. Triäthylenmelamin wurde, wie in Tabelle I angegeben, während 6 Tagen nacheinander täglich appliziert. Das Präparat wurde jeweils kurz vor Gebrauch in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und sofort den verschiedenen Tiergruppen verabreicht.

b) Wirkung an Tumoren. Männlichen 100–120 g schweren Shermanratten wurden in Gruppen von je 6–10 Tieren 3–5 Tage vor der ersten Applikation des Präparates in der rechten Achselhöhle wenige Kubikmillimeter des Walker-Carcinosarcoms 256, des Uterusepithelioms T-8 Guérin und des Flexner-Joblin-Carcinoms unter sterilen Kautelen subkutan implantiert. Die Tiere wurden unter gleichen Bedingungen wie die «Granulomratten» gehalten und wie in Tabelle II angegeben behandelt. Zwei Tage nach der letzten Applikation wurden zwei zueinander senkrechte Tumordurchmesser *in situ* gemessen.

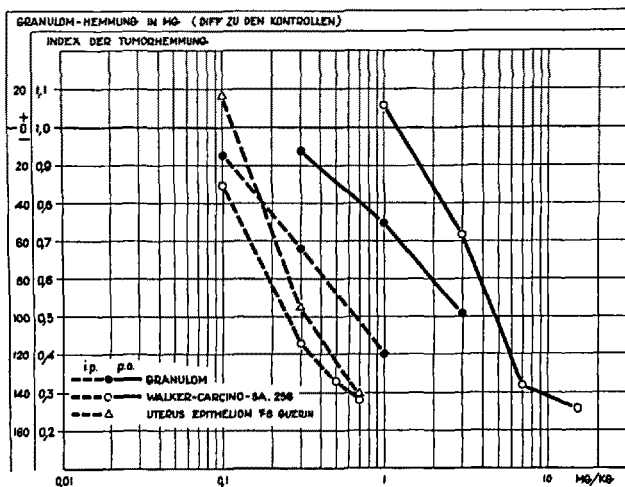
V Versuchsergebnisse

Die absoluten Hemmungswerte des Effektes von Triäthylenmelamin auf das Wachstum des Granuloms und dreier überimpfbarer Rattentumoren unter Angabe der Streuung wurden in Tabelle I und II dargestellt.

Um die Wirkung auf das Wachstum des Granuloms und der Tumoren zu vergleichen, wurde der Index der Tumorchemmung ermittelt (Abb. 1). Ein Indexwert von 1,0 bedeutet, dass der behandelte Tumor gleich gross ist wie der entsprechende Kontrolltumor; ein solcher von 0,5 entspricht der ED_{50} .

Eine absolute Hemmung des Granulomgewichtes von 100 mg im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollen entspricht der ED_{50} . Auf dieser Basis ist es möglich, die Wirkung von Triäthylenmelamin auf das Wachstum des Granuloms und der Tumoren miteinander graphisch zu vergleichen.

Aus den Tabellen geht hervor, dass nach intraperitonealer Applikation (für das Granulom allein auch nach subkutaner Applikation) Triäthylenmelamin von 0,3 mg/kg an das Wachstum des Granuloms, des Walker-Carcinosarcoms 256 und des Uterusepithelioms T-8 Guérin signifikant hemmt. Das Wachstum des Flexner-Joblin-Carcinoms wird nur angedeutet gehemmt. Die Stärke der Hemmung ist dosisabhängig. Die Beziehung der Wirkung zur Dosis dürfte für Granulom- und Tumorchemmung ähnlich sein.



Index der Tumorchemmung im Vergleich zur Hemmung des Granulomwachstums, das in mg als Differenz zu den entsprechenden Kontrollen angegeben ist. Index von 0,5 und — 100 mg Granulomgewicht = ED_{50} .

Bei peroraler Applikation wird das Granulomwachstum von 1 mg/kg an, dasjenige des Walker-Carcinosarcoms 256 erst von Dosen von 7 mg/kg an, signifikant gehemmt. Uterusepitheliom T-8 Guérin und Flexner-Joblin-Carcinom werden in ihrem Wachstum nicht signifikant beeinflusst. Die Intensität der Wachstumshemmung ist auch nach peroraler Applikation dosisabhängig und verläuft für das Granulom und das Walker-Carcinosarcom 256 annähernd parallel.

Alle Dosen, die das Wachstum des Granuloms oder der Tumoren beeinträchtigen, hemmen auch die normale Körpergewichtszunahme (siehe Tabelle I und II).

Alle Unterschiede der beiden «Gewebe Neubildungen» hinsichtlich Mechanismus, Zusammensetzung, Wachstumsverlauf sollten den Versuch einer gemeinsamen Interpretation der Hemmungsphänomene nicht ausschliessen, da jedenfalls in beiden Fällen ein Teil des untersuchten Vorganges die rasche Zunahme einer Zellmasse darstellt.

Grundsätzlich ergeben sich folgende Möglichkeiten der Deutung:

1. Der Hemmeffekt greift in beiden Fällen an einem gleichartigen spezifischen Substrat an.
2. Der spezifische Effekt ist am Tumor von der Wirkung am Granulom in seinem Mechanismus verschieden.
3. Es greift in beiden Fällen ein Teil des Hemmeffektes oder im Falle des Granuloms der gesamte Hemmeffekt an einem allgemein gewebewachstumsanregenden Faktor, der auch für die Tumorentwicklung von Bedeutung ist, an.

Unabhängig davon, welche Deutung letztendlich zutrifft, ergeben die Befunde, dass für die Wirkung des

¹ R. MEIER, W. SCHULER und P. DESAULLES, Exper. 6, 469 (1950).
- P. DESAULLES, W. SCHULER und R. MEIER, Exper. 7, 188 (1951).

Tabelle I

Dosis in mg/kg	Perorale Behandlung						Subkutane Behandlung						Intraperitoneale Behandlung					
	Tierzahl	Gewichtszunahme in g		Granulomgewicht in mg		Tierzahl	Gewichtszunahme in g		Granulomgewicht in mg		Tierzahl	Gewichtszunahme in g		Granulomgewicht in mg				
		absolut	Diff.	absolut	Diff.		absolut	Diff.	absolut	Diff.		absolut	Diff.					
Kontrollen $6 \times 0,1 \text{ cm}^3$ physiol. NaCl	16	26		$420 \pm 26,8$		8	18		414 ± 24		8	20		422 ± 24				
$6 \times 0,1$																		
$6 \times 0,3$	8	20	- 6	$404 \pm 22,3$	-16	7	4	-14	397 ± 22	-17	8	5	-15	$403 \pm 20,6$	-19			
$6 \times 1,0$	14	14	-12	$371 \pm 17,4$	-49	6	0	-18	$358 \pm 19,4$	-56	6	- 1	-21	$355 \pm 23,1$	-65			
$6 \times 3,0$	12	12	-14	$322 \pm 18,6$	-98	4	-20	-38	$304 \pm 17,2$	-110	8	-14	-34	$302 \pm 19,6$	-120			

Tabelle II

Dosis in mg/kg	Walker-Carcinosarcom 256				Uterusepitheliom T-8 Guérin				Flexner-Joblin-Carcinom						
	Tier- zahl	Gewichts- zunahme in g		Tumordurchmesser in mm		Tier- zahl	Gewichts- zunahme in g		Tumordurchmesser in mm		Tier- zahl	Gewichts- zunahme in g		Tumordurchmesser in mm	
		absolut	Diff.	absolut	Diff.		absolut	Diff.	absolut	Diff.		absolut	Diff.	absolut	Diff.
Kontrollen intraperitoneal	58	+ 22		26,1 ± 8,6		14	+ 39		18,1 ± 4,3		18	+ 30		14,7 ± 6,9	
6 × 0,07														8,8 ± 2,2	-5,9
6 × 0,1	8	+ 20	- 2	22,2 ± 7,8	- 3,9	6	+ 16	- 23	19,8 ± 5,3	+ 1,7	6	+ 25	- 5	8,1 ± 1,6	- 6,6
6 × 0,3	44	- 3	- 25	11,1 ± 4,0	- 15,0	6	- 9	- 48	9,6 ± 2,1	- 8,5	18	- 4	- 34	5,8 ± 2,5	- 8,9
6 × 0,5	44	- 18	- 40	8,5 ± 4,6	- 17,6						6	- 35	- 65	5,3 ± 5,4	- 9,4
6 × 0,7	45	- 35	- 57	7,2 ± 3,4	- 18,9	14	- 28	- 67	5,4 ± 2,3	- 12,7					
Kontrollen peroral	18	+ 36		32,5 ± 9,5		14	+ 39		18,1 ± 4,3		12	+ 28		14,6 ± 6,6	
6 × 1,0	10	+ 30	- 6	34,4 ± 10,7	+ 1,9										
6 × 3,0	18	+ 21	- 15	23,4 ± 6,1	- 9,1						12	+ 21	- 7	9,3 ± 7,0	- 5,3
6 × 7,0	7	+ 21	- 15	10,5 ± 3,6	- 22,0	14	+ 22	- 17	18,2 ± 4,4	+ 0,1	6	+ 31	+ 3	6,8 ± 5,5	- 7,8
6 × 10,0						6	+ 11	- 28	15,6 ± 7,4	- 2,5	6	+ 21	- 7	5,1 ± 7,7	- 9,5
6 × 15,0	8	- 16	- 52	8,6 ± 2,9	- 23,9	8	- 6	- 45	9,0 ± 5,1	- 9,1					

geprüften tumorhemmenden Stoffes Faktoren wichtig sind, die nicht tumorspezifisch sein können.

Es ist deshalb die Bedeutung allgemeiner Gewebewirkungen und Gewebewachstumsfaktoren für die Wirkung von tumorhemmenden Stoffen näher abzuklären. Wir werden auf analoge Befunde mit anderen tumorhemmenden Stoffen zurückkommen.

R. MEIER, P. A. DESAULLES und
P. LOUSTALOT

Wissenschaftliche Laboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, den 15. Dezember 1955.

Summary

The action of Triethylenmelamine, an anti-tumour substance, was investigated on tumourgrowth and on development of the foreign body granuloma comparatively.

It was found that this substance induces in both cases a similar dosis-dependent inhibition of growth.

As the inhibiting action of Triethylenmelamine can even be demonstrated on rapidly growing normal tissues, it is questionable whether the antagonistic action against tumour can be designed as tumour-specific.

Observations on the 5-Hydroxytryptamine (Enteramine) Release Caused by Reserpine in the Rat

SHORE *et al.*¹ and PLETSCHER *et al.*² have recently shown that reserpine given intraperitoneally causes in the dog a marked increase in the rate of urinary excretion of 5-hydroxyindoleacetic acid-like material (5-HIAA), and in the rabbit a conspicuous, progressive reduction in the 5-hydroxytryptamine (5-HT) content of the gastrointestinal tract.

The experiments described in this preliminary communication confirm and extend the findings of the above investigators.

(a) 14 groups of 4 rats each, weighing 130–200 g, were injected intraperitoneally with distilled water (controls) or with 5 mg/kg reserpine. The animals were killed by decapitation at varying intervals after the injection and acetone extracts of serum, gastrointestinal tract, spleen and brain were prepared according to our usual procedure³. The 5-HT content of this material was assayed on the rat uterus preparation⁴.

3 groups of 4 rats each were injected intraperitoneally with 1 mg, 0.3 mg and 0.1 mg/kg of reserpine, respectively, and killed after 16 h. The material was treated and studied as above.

The results are shown in Table I.

Two interesting facts emerge from the tabulated data: the first is that the decrease in the 5-HT content of serum (= blood platelets) and spleen is much more conspicuous, and considerably more durable than that

Table I

Treatment and time of survival	5-HT content, in µg of free base, per g of fresh material			
	Serum	Spleen	Gastro-intest. tract	Brain*
Distilled water 6 h	0.60	1.61	2.07	0.23
Distilled water 40 h	0.65	1.71	2.15	0.28
Reserpine 5 mg 1 h	0.43	2.15	1.50	0.16
Reserpine 5 mg 2 h	0.19	1.03	2.02	0.10
Reserpine 5 mg 4 h	0.07	0.57	1.59	0.18
Reserpine 5 mg 6 h	0.06	0.27	1.30	0.16
Reserpine 5 mg 10 h	0.03	0.15	1.59	0.13
Reserpine 5 mg 20 h	0.02	0.09	1.60	0.20
Reserpine 5 mg 40 h	0.06	0.13	1.50	0.12
Reserpine 5 mg 3 days	0.12	0.38	1.38	0.30
Reserpine 5 mg 4 days	0.19	0.53	2.02	0.40
Reserpine 5 mg 6 days	0.34	0.86	1.42	0.32
Reserpine 1 mg 16 h	0.05	0.12	1.42	0.22
Reserpine 0.3 mg 16 h	0.17	0.58	2.15	0.30
Reserpine 0.1 mg 16 h	0.38	1.03	1.45	0.40

* The data concerning the brain have been obtained by P. CORREALE (forthcoming publication).

in the 5-HT content of the gastrointestinal tract and brain; the second that a single dose of 0.1 mg/kg of reserpine is sufficient to cause the release of more than 30% of the normal 5-HT from the platelets and the spleen.

(b) To investigate whether exogenous 5-HT is capable of preventing the 5-HT release caused by reserpine, a high dose of 5-HT was given subcutaneously to 3 groups of 4 rats each, contemporaneously with an intraperitoneal dose of 2 mg, 1 mg, and 0.5 mg/kg of reserpine, respectively. All the animals of the group treated with 2 mg of reserpine died after 8–14 h; the others were killed after 24 h.

The results are summarized in Table II.

Table II

Treatment	5-HT content (µg/g)			
	Serum	Spleen	Gastro-intest. tract	Brain
Distilled water	0.68	1.42	2.30	0.44
Reserpine 1 mg + 5-HT 25 mg	0.57	2.58	1.96	0.20
Reserpine 0.5 mg + 5-HT 25 mg	0.74	3.62	2.25	0.40
5-HT 25 mg	1.23	2.65	—	—

It appears evident that pretreatment with massive doses of exogenous 5-HT is capable of maintaining high 5-HT levels especially in serum and spleen, in spite of the simultaneous administration of doses of reserpine which are very effective in reducing these levels. Further experiments are needed to elucidate the mechanism of this apparent competition between reserpine and 5-HT.

(c) 5 groups of 16 rats each, weighing 200–400 g, were distributed into 20 diuresis cages. After normal urine had been collected over a 3 h control period, 4 groups of rats were injected intraperitoneally with 5 mg/kg of reserpine and 1 group with distilled water (0.5 ml/100 g). Urine collection was then continued for 4 successive periods, each of 3 h. The 5-HIAA content of the different urine

¹ P. A. SHORE, S. L. SILVER, and B. B. BRODIE, *Science* 122, 284 (1955).

² A. PLETSCHER, P. A. SHORE, and B. B. BRODIE, *Science* 122, 374 (1955).

³ V. ERSPAMER, *Arch. exper. Pathol. u. Pharmacol.* 196, 343 (1940); *J. Physiol.* (in press).

⁴ V. ERSPAMER, *Arch. exper. Pathol. u. Pharmacol.* 196, 343 (1940); *J. Physiol.* (in press); *Rendiconti scient. Farmitalia* 1, 1 (1954).