

Brèves communications – Kurze Mitteilungen – Brevi comunicazioni – Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Ultrastrukturänderung leukämischer retikulärer Zellen nach Zusatz von RNS aus normaler Milz zum Kulturmedium

NIU et al.^{1,2} und RANZI et al.^{3,4} bewiesen die Möglichkeit der Umwandlung embryonaler Zelltypen in Gewebekultur bei Anwesenheit von RNS oder DNS.

Neuerdings hat NIU⁵ seine Forschungen an Embryonalzellen auf neoplastische Zellen ausgedehnt. Er inkubierte Zellen des Ascites-Tumor der Maus mit RNS aus normaler Mausleber und fand eine auffallende Abnahme der Fähigkeit dieser Zellen, bei weiterer Übertragung im Tier, den ursprünglichen Tumor zu erzeugen. Die Malignitätsabnahme war nicht auf das Absterben der Zellen oder die Abnahme ihrer Vitalität zurückzuführen, sondern war durch eine wirkliche Änderung der Zellen durch die inkubierte RNS bedingt: die Zellen hatten einige charakteristische Eigenschaften der Leberzellen erworben, wie z. B. die Fähigkeit Albumin, Tryptophan-pyrrolase und Glukose-6-phosphatase zu bilden⁶.

Diese Erscheinung wurde auch bei andern Arten von Tumoren beobachtet (Ehrlich-Ascites-Tumor, Rattenhepatom von Novikoff etc.)⁶. Die durch RNS bedingte Änderung ist endgültig, da die so behandelten Zellen langfristig den ursprünglichen Charakter der Krebszellen nicht wieder annehmen. Beweisend ist auch die Tatsache, dass eine Behandlung mit Ribonuklease jede Einwirkung der Leber-RNS auf die Tumorzellen auslöscht.

Bedeutungsvoll werden diese Ergebnisse, wenn man sie im Rahmen der Untersuchungen von DE CARVALHO⁷ und DE CARVALHO et al.⁸⁻¹⁰ betrachtet, die den Unterschied in der biologischen Aktivität von RNS aus leukämischen oder Tumorzellen und RNS aus homologen normalen Zellen feststellten. Insbesondere ist die den zwei RNS-Arten eigene 'proteinbildende Information' grundsätzlich verschieden.

Daraus folgen zwei Hauptergebnisse: (a) die RNS der leukämischen und Tumorzellen kann als pathologisch entartet angesehen werden⁷⁻¹⁰; (b) die RNS aus normalem Gewebe kann die Differenzierung der Zellen von tierexperimentellen Tumoren beeinflussen⁶.

Aufgrund dieser Feststellungen haben wir eine Reihe von Experimenten unternommen, um den Einfluss der RNS aus hämopoetischen Geweben auf leukämische Zellen zu beobachten.

Wir fanden zunächst einige morphologische Änderungen eines Teils der retikulären Zellen des hämopoetischen Knochenmarks bei einem Fall hochgradiger Leukämie. Das Zellmaterial war für Forschungen *in vitro* besonders geeignet, da das Knochenmark fast ausschliesslich aus morphologisch identischen retikulären Zellen bestand.

Die morphologischen Änderungen der hämopoetischen retikulären Zellen waren nur elektronenmikroskopisch deutlich zu erkennen.

Material und Methodik. Das zu untersuchende Material wurde durch Markpunktion gewonnen. Ein Teil der Markbrocken wurde sofort für die elektronenmikroskopische Untersuchung präpariert. Das übrige Material wurde zur Züchtung in einer Reihe von Erlenmeyerkolben in zwei verschiedenen Kulturmedien verwendet: sechs Erlenmeyerkolben mit 8 Teilen Basal-Medium und 2 Teilen

altem Pferdeserum, weitere sechs mit 8 Teilen Basal-Medium, 2 Teilen altem Pferdeserum und 0,5 mg/cm³ RNS aus Kalbsembryonenmilz. Die RNS wurde nach der Methodik von DE CARVALHO⁷ und DE CARVALHO et al.⁸ gewonnen. Nach 72 h wurde den Kulturen je eine Probe entnommen zur elektronenmikroskopischen Untersuchung.

Ergebnisse. Zusammensetzung des nichtkultivierten Knochenmarkmaterials: 95% indifferenzierte retikuläre Zellen, 2% Granuloblasten und 3% Erythroblasten. Alle retikulären Zellen waren morphologisch identisch (Prüfung von 750 Zellen mit dem Elektronenmikroskop), alle wiesen Fehlbildungen im Nucleus und Nucleolus auf, ihre

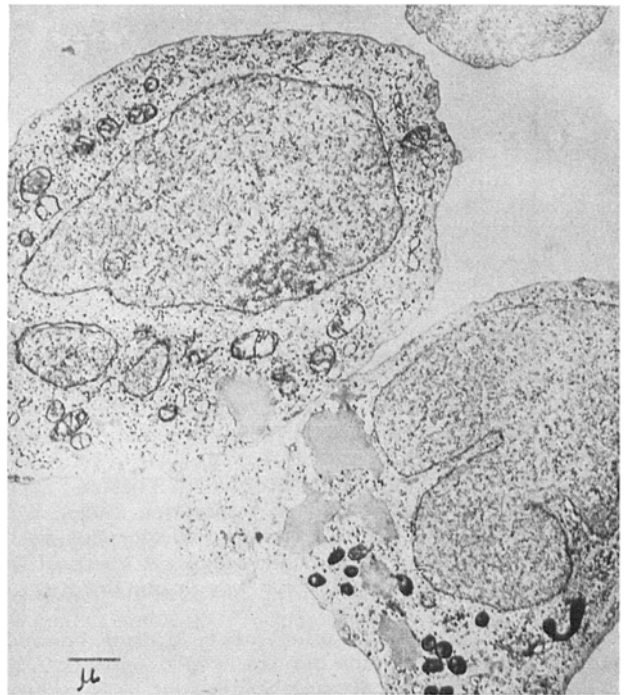


Fig. 1. Retikuläre Zellen des hämopoetischen Knochenmarks bei einem Fall von Histioleukämie. Solche Zellen, morphologisch untereinander identisch, stellten 95% des Zellmaterials dar.

¹ M. C. NIU, Proc. Nat. Acad. Sci. **44**, 1264 (1958).

² M. C. NIU, C. C. CORDOVA und L. C. NIU, Proc. Nat. Acad. Sci. **47**, 1689 (1961).

³ S. RANZI, G. GAVAROSI und P. CITTERIO, Ist. Lombardo (Rend. Sci.), **B 94**, 254 (1960).

⁴ S. RANZI, G. GAVAROSI und P. CITTERIO, Exper. **17**, 395 (1961).

⁵ M. C. NIU, Cancer Res. **21**, 126 (1961).

⁶ M. C. NIU, C. C. CORDOVA, L. C. NIU und C. L. RADBILL, Proc. Nat. Acad. Sci. **48**, 1964 (1962).

⁷ S. DE CARVALHO, Proc. VII^o Congr. Soc. Int. Hematol., Roma (1958), p. 522.

⁸ S. DE CARVALHO, H. J. RAND und D. P. MEYER, J. lab. clin. Med. **55**, 694 (1960).

⁹ S. DE CARVALHO, H. J. RAND und J. R. UHRICK, Exp. molec. Path. **1**, 96 (1962).

¹⁰ S. DE CARVALHO und H. J. RAND, Exp. molec. Path. **2**, 32 (1963).

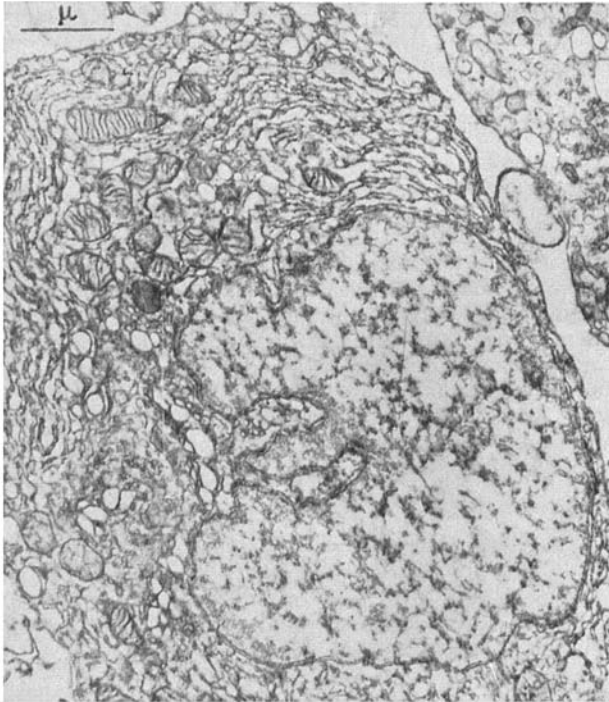


Fig. 2. Retikuläre Zellen nach Inkubation mit RNS aus Kalbsmilz. 40% der retikulären Zellen wiesen am Ende der Inkubationszeit ein solches morphologisches Bild auf.

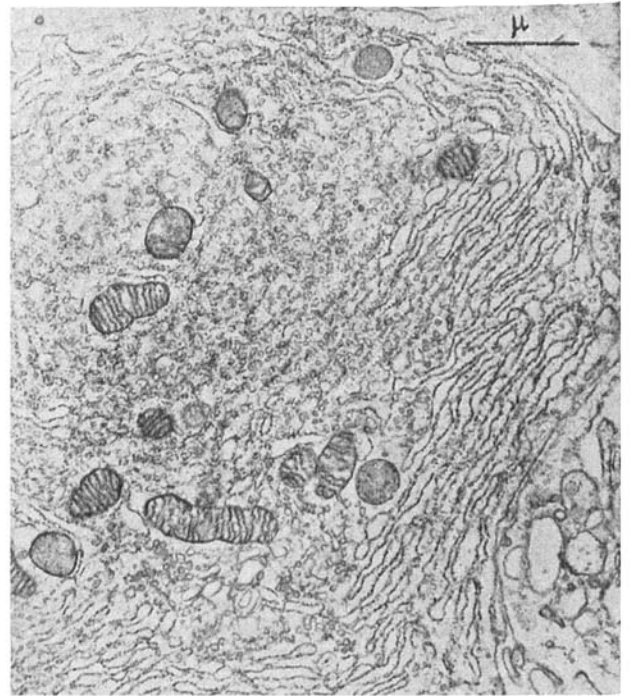


Fig. 3. Bild des endoplasmatischen Retikulums und der Mitochondrien in einer retikulären Zelle am Ende der Inkubationszeit in Anwesenheit von RNS.

Mitochondrien hatten unausgebildete Cristae, viele Ribosomen erschienen unregelmässig im Cytoplasma verstreut, das endoplasmatische Retikulum fehlte fast vollständig, und schliesslich fanden sich im Cytoplasma grössere Abschnitte von homogenem Material, oft von gut sichtbarer Membran umgeben (Figur 1).

Das Zellmaterial aus Kulturen ohne RNS bestand nach 72 h aus 93% indifferenzierten retikulären Zellen, 6% Granuloblasten und 1% Erythroblasten. Morphologisch stimmten die 750 elektronenmikroskopisch überprüften retikulären Zellen völlig mit denen vor Beginn der Kultur überein.

Nach Kultur in RNS enthaltendem Medium bestand das Zellmaterial am Ende der Inkubationszeit aus 97% retikulären Zellen, 2% Granuloblasten und 1% Erythroblasten. Von den 750 überprüften retikulären Zellen erschienen 28% identisch mit denen vor Anlage der Kultur, 32% zeigten unbedeutende Änderungen, während die restlichen 40% klare morphologische Abänderungen vom Ausgangsstadium aufwiesen. In diesen Zellen waren stark ausgebildete ergastoplasmatische Bildungen vorhanden

(Figur 2). Die Mitochondrien waren in zwei Hauptformen vertreten: einige von ihnen hatten regelmässige und deutlich ausgebildete Cristae, die bei anderen kaum angedeutet waren (Figur 3).

Die in RNS-freiem Medium kultivierten leukämischen retikulären Zellen zeigten somit keine Fähigkeit zu einer Umwandlung oder Entdifferenzierung. Bei einem Teil der in Anwesenheit von RNS aus Kalbsembryonenmilz kultivierten Zellen wurden morphologische Aspekte festgestellt, die, wenn auch nicht identisch, so doch dem Bild der retikulären Zellen des normalen hämopoetischen Gewebes sehr ähnlich waren.

Riassunto. Vengono descritte le modificazioni morfologiche, rilevate al microscopio elettronico, delle cellule reticolari leucemiche coltivate in presenza di ARN estratto dalla milza di embrioni di vitello.

S. ESPOSITO

*Clinica Medica dell'Università, Pavia (Italia),
10 ottobre 1963.*

Does Nitrogen Mustard Mimic the X-Ray Effects in any Case?

The effects of mustard gas on mammalian embryogenesis has been described many times¹⁻⁴ and attention has been called, especially, to malformations of the feet. As far as other animals are concerned, BODENSTEIN⁵ has made a detailed analysis of its effects on amphibian⁶ and insect development. Since this compound is often called radiomimetic and 'mimics malformations produced by radiation', we thought it useful to analyse its effect on

brain development in rats and to compare with the data of HICKS⁸ following X-ray irradiation. According to HICKS⁸, the precursors of the neurons seem to be very radiosensitive, while the neurons and cells that are actually in mitotic stages are selectively spared. Therefore the so-called rosettes of the mitotic cells start to form rapidly after radiation. The same regenerative process, whereby rosettes were formed, was observed by one of us ((N.Š.) after heat shock in rat embryos⁹. Most attention will be given to histological analysis of the brain development in experiments to be reported here.