

Proliferationen der Fischepidermis nach der Einwirkung von Inhibitoren des glykolytischen Energiestoffwechsels

Tierische Gewebe neigen bei Reizungen verschiedenster Art zur Zellvermehrung am Ort der Beeinträchtigung. Dies trifft insbesondere für Epithelien zu und wird ausserordentlich häufig an der Epidermis wie auch am Epithel von Kiemen und Mundhöhle der Fische beobachtet¹. So bilden sich z.B. immer wieder tumorartige Hyperplasien der Epidermis, wo Fischmarken mit Kunststoff- oder Metallband in Flossen oder in der Rückenmuskulatur befestigt sind. Bei subletaler Einwirkung von Chemikalien ebenso wie bei extrem niedrigen oder extrem hohen pH-Werten des Wassers kann sich das Epithel der Kiemenblättchen innerhalb kurzer Zeit so stark vermehren, dass die einzelnen Blättchen weitgehend miteinander verwachsen. Auf den Befall mit Ektoparasiten aus Gruppen wie Protozoen, Trematoden und Crustaceen reagieren Körper- und Kiemenoberfläche ebenfalls mit hyperplastischen Wucherungen. Obwohl die widrigen Einflüsse sehr vielfältig sind, antworten die Epithelien ständig in gleicher Weise, und obwohl es sich dabei fraglos um eine Schädigung des Gewebes handelt, kommt es bei niedriger Dosierung der Noxe zunächst zu einer geweblichen Vermehrung anstatt zu einer Destruktion, wie es mit weiterer Steigerung oder auch nur längerer Einwirkung des schädlichen Agens schliesslich der Fall ist.

In diesem Zusammenhang ist die Beobachtung interessant, dass die Fischepidermis mit auffälligen Prolifera-

tionen auf die Gegenwart von Inhibitoren des glykolytischen Stoffwechsels im Hälterungswasser reagiert. Dies wurde zuerst an wenige Tage alten Larven von *Rivulus cylindraceus* (Cyprinodontidae) entdeckt, die bei Konzentrationen von 1 mM/l Natriummonojodacetat und in gleicher Weise, wenn auch weniger regelmässig bei 10 bis 15 mM/l Fluorid (NaF) vor allem an den distalen Flossenrändern Gewebsproliferationen ausbilden. So entstehen besonders an Brust- und Schwanzflossen innerhalb von längstens 12 h klöppelartige Auswüchse von manchmal mehr als Flossenlänge (Figur 1). Bei der Verwendung von Natriummonojodacetat ist die Behandlung vielfach an (fast) 100% der Individuen erfolgreich, wobei die etwa 5 mm grossen Larven in Wasser von 0,5‰ Salzgehalt (verdünnte Van't-Hoff-Lösung, pH 5,4) gehältert werden.

Da die Larvenepidermis von *Rivulus cylindraceus* sehr dünn ist und die einzelnen Zellen ausserordentlich klein sind, lassen sich die geweblichen Veränderungen nur unbefriedigend histologisch untersuchen. Statt dessen haben wir adulte Exemplare von *Rivulus cylindraceus*, *Xipho-*

¹ W. SCHÄPERCLAUS, *Fischkrankheiten* (Akademie-Verlag, Berlin 1954).

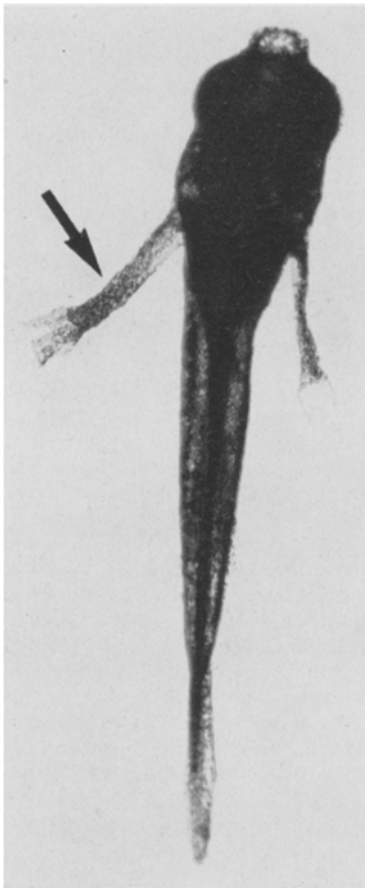


Fig. 1. Larve von *Rivulus cylindraceus* nach 12 stündiger Behandlung mit Natriummonojodacetat (1,0 mM/l) mit ausgeprägten Proliferationen der Brustflossen. Der Pfeil zeigt die Längenausdehnung der linken Brustflosse bei Beginn der Behandlung an.

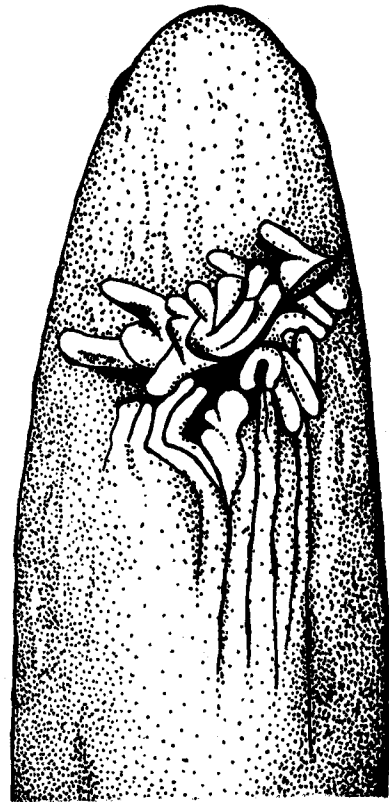


Fig. 2. Starke Epidermisproliferationen in der Kehlregion eines Jungaals nach 24stündiger Behandlung mit Natriummonojodacetat (1,25 mM/l).

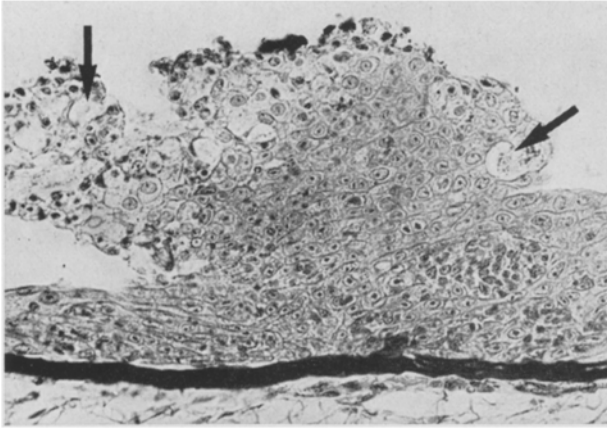


Fig. 3. Kleine solide Proliferation der Aalepidermis, am Rande mit Resten von Schleimzellen (Pfeile). Schnittdicke $5\mu\text{m}$, Färbung Azan. $\times 250$.

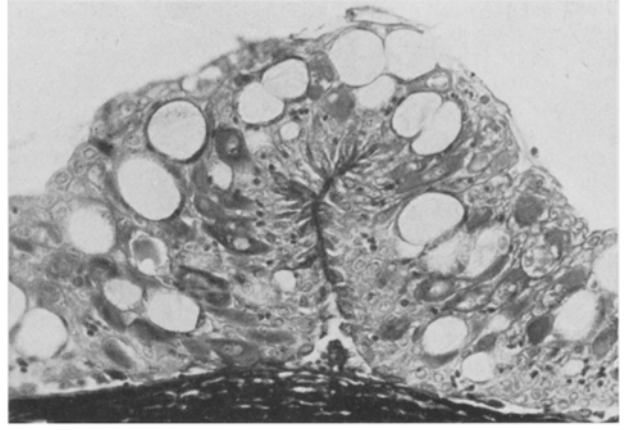


Fig. 4. Beginnende faltige Aufwerfung der Aalepidermis durch übermässiges Flächenwachstum. Schnittdicke $5\mu\text{m}$, Färbung Azan. $\times 280$.

phorus helleri (Poeciliidae), *Astyanax mexicanus* (Characidae) sowie Glas- und Satzaale (*Anguilla anguilla*) mit Natriummonojodacetat behandelt. Alle Formen reagierten deutlich bei Konzentrationen zwischen 1,0 und 1,75 mM/l. Mit besonders auffälligen Proliferationen antwortet die starke Epidermis des Aals auf die Behandlung. Bei einer Konzentration von 1,5 mM/l entwickeln nahezu 50% der Glasaale (TL ca. 10 cm), bei 1,75 mM/l etwa 70% der Satzaale (TL 20–30 cm) innerhalb von 24 h an einer oder mehreren Stellen der Körperoberfläche faltige bis papillöse Proliferationen (Hälterung in Süßwasser von ca. 14°dGH und pH 7,3) (Figur 2). Davon entfallen etwa 25% auf die Brustflossen, 20% auf die Oberkieferregion, 18% auf die Schwanzflosse, 16% auf den Vorderrumpf und die restlichen 21% verteilen sich auf die übrigen Körperregionen.

Das histologische Bild lässt klar erkennen, dass die Proliferationen hyperplastische Wucherungen darstellen. Zum einen kommen diese durch vorwiegend lokale Vermehrung der indifferenten Epidermiszellen zustande (Figur 3), zum andern führt flächenhaftes Gewebswachstum zur Aufwerfung von Epidermisfalten (Figur 4). Die Mitoserate in der proliferierenden Epidermis scheint durchschnittlich um das Sechsfache erhöht, gemessen an der Zahl von Anaphasen und Telophasen im behandelten und unbehandelten Gewebe (Prophasen und Metaphasen sind nicht eindeutig zu identifizieren). Die Teilungsebene steht vorwiegend in einem Winkel von $45\text{--}90^\circ$ zur Basalmembran. Mitosen finden sich in allen Schichten der Epidermis.

Meist sind die indifferenten Epidermiszellen ohne auffällige pathologische Veränderungen, doch kann es zur Abrundung der Zellen, Lockerung des Gewebverbandes und zur stellenweisen Ablösung der Epidermis vom Corium kommen. Auch die hochdifferenzierten Schleim- und Kolbenzellen der Aalhaut scheinen mancherorts unbeeinträchtigt, sind aber an anderen Stellen aufgequollen, teilweise zerstört oder fehlen völlig. Mit fortgeschrittener Proliferation geht offensichtlich eine periphere Auflösung des epidermalen Gewebes einher. Dieses Stadium ist durch Nekrosen gekennzeichnet.

Bei andauernder Behandlung gehen die Aale unter Auflösung ihrer Epidermis nach 36 bis 48 h zugrunde. Werden sie aber nach 24stündiger Einwirkung von Monojodacetat in reines Wasser übertragen, so kommt es bald zur Abstossung der prominenten Gewebswucherun-

gen und darauffolgender Regeneration der betreffenden Epidermisregionen.

Keine Proliferationen entwickeln sich bei Larven und Satzaalen, wenn gleichzeitig mit dem Inhibitor energiereiches anorganisches Diphosphat in einer Konzentration von 1 mM/l ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$) verabreicht wird. Ebenso unterbleibt eine Reaktion bei verdoppeltem O_2 -Partialdruck von ca. 320 mm Hg oder bei Zugabe von 5 bis 20 mM/l Natriumpyruvat (nur an Larven getestet). Ein erhöhter O_2 -Partialdruck wie auch hohe Dosen von Pyruvat stimulieren bekanntlich die oxydative Zellatmung. Künstliche Gaben von Pyruvat machen ausserdem die oxydative Atmung von der Glykolyse unabhängig. Können diese Beobachtungen und Überlegungen zu einem anderen Schluss führen, als dass eine Minderleistung des energiegewinnenden Apparates der Auslöser der beschriebenen epidermalen Proliferationen ist? Wie sollte man sonst erklären, dass zwei so verschiedene Stoffe wie Natriummonojodessigsäure und Natriumfluorid, die verschiedene Enzyme des glykolytischen Stoffwechsels hemmen, den gleichen Effekt auf die Teilungsaktivität der Zellen haben?

Wir haben in anderem Zusammenhang bereits die Hypothese vertreten, dass ein Energiedefizit die Zelle zwingt, sich teilweise zu dedifferenzieren, um zu überleben². Paradoxiertweise geht mit zunehmender Dedifferenzierung eine gesteigerte Teilungsaktivität und damit auch ein vermehrtes Zellwachstum einher, was zweifellos energieaufwendig ist. Möglicherweise aber übertrifft die Einsparung an Energie durch Dedifferenzierung den Energieaufwand für ein entsprechend gesteigertes gewebliches Wachstum. Hyperplastisches Wachstum bei physikalischer, chemischer oder auch parasitärer Beeinträchtigung des Gewebes hätte man sich dann so zu erklären, dass der energieproduzierende Apparat der Zelle nicht genügend Reserven zur Verfügung hat, um eine komplette Reparatoren der Schäden zu gewährleisten, was dann Dedifferenzierung und damit gekoppelt auch erhöhte mitotische Aktivität mit sich bringt. Gestützt wird diese Annahme durch den vielfachen Nachweis, dass die verschiedensten morphologischen Schädigungen des (embryonalen) Organismus sich abschwächen oder sogar auf-

² N. PETERS und G. Peters, Arch. Fischereiwiss. 27, 238 (1970).

heben lassen, wenn energiereiche Metabolite zugeführt werden oder wenn energieliefernde Stoffwechselprozesse künstlich stimuliert werden³.

Summary. When fluoride-ions or monoiodoacetate is added to the ambient medium, there occur in fish larvae after 12 h, and in eels after 24 h, in some places, solid

epidermal proliferations. The effect of glycolysis inhibitors on epidermal mitotic activity might be due to an impairment of energy metabolism as it is nullified by a simultaneous application of inorganic diphosphate or by doubled O₂ partial pressure of 320 mm Hg.

N. PETERS und H. WILKE

*Institut für Hydrobiologie und Fischereiwissenschaft
der Universität Hamburg,
Olbersweg 24, D-2 Hamburg-Altona (Deutschland),
25 August 1971*

³ W. LANDAUER und D. SÖPHER, *J. Embryol. exp. Morph.* 24, 187–202 (1970).

Paired Cisternae, the Characteristic Feature of Foetal Cells

The cells in the various organs of fetuses are generally more prominent in mitotic activities and less differentiated in specific character than those of adults. The present paper concerns a particular membranous intracytoplasmic structure, which has only infrequently been observed in cultured tumor cells^{1–3} but never found in normal adult cells. The finding will be described as a feature characteristic of immature fetal cells.

Materials and methods. Materials used were the tissues of various endocrine and hematopoietic organs of 10 human fetuses, obtained by spontaneous or legal abortion, in 20–30 weeks of gestation. The youngest fetus was 350 g in weight, 20 cm in crown to heel length, and the oldest 1,100 g and 35 cm. Small tissue specimens of the pituitary gland, thyroid gland, adrenal gland, kidney, testis, liver, spleen and bone marrow, taken within 15 minutes post-mortem, were fixed in a mixture of 2% glutaraldehyde and 2% formaldehyde and then in 1% osmium tetroxide with

sucrose added. They were embedded in Epon 812 after Luft's technique. Ultrathin sections cut by a Porter-Blum ultramicrotome were doubly stained with uranyl acetate and Reynold's lead. Photographs were taken with a JEM-100 B electron microscope.

Results. Cells in active proliferation, e.g., immature erythroblasts⁴ had peculiar intracytoplasmic structures composed of 4 closely spaced parallel membranes (Figures 1A, 2A).

The inner 2 membranes were arranged face to face with a space of constant width of 100 Å–300 Å and of high electron density between them and had no ribosomes on

¹ M. A. EPSTEIN, *J. biophys. biochem. Cytol.* 10, 153 (1961).

² M. KUMEGAWA, M. CATTONI and G. G. ROSE, *J. Cell Biol.* 36, 443 (1968).

³ T. FUKUDA and M. SEIJI, in preparation.

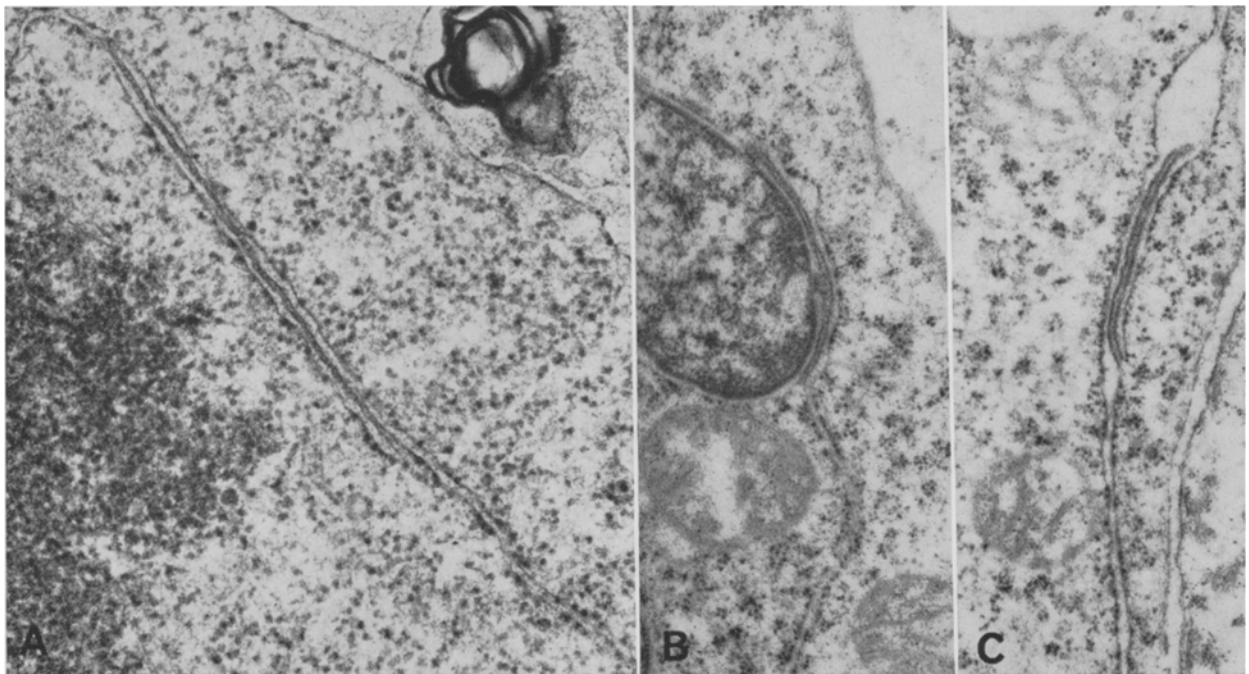


Fig. 1. Paired cisternae in foetal erythroblasts. A) A typical paired cisternae in the mitotic cells. The inner 2 membranes were agranular and arranged face to face with a space of constant width of 100 Å and of high electron density. B) Similar feature between the nuclear envelop and an endoplasmic reticulum. C) Invagination of inner agranular membrane into a cisterna of rough surfaced endoplasmic reticulum.