

teurs de synthèses de RNA ou de protéines par l'une d'entre nous<sup>7</sup> et permettent de conclure à la présence dans les myoblastes encore morphologiquement indifférenciés de RNA messagers de longue durée, qui dirigent la différenciation de ces cellules<sup>8</sup>.

d) Il est également important de souligner que par cette méthode il est encore possible de faire une distinction nette entre le comportement *in vitro* de myoblastes d'Oiseau (poulet)<sup>9</sup> ou de Mammifère (rat)<sup>10</sup>, qui ne synthétisent pas (ou synthétisent très peu) de myosine avant la fusion des myoblastes et d'Urodèles chez qui la

synthèse des protéines contractiles se déroule normalement dans les cellules pouvant rester isolées. e) Enfin, chez *Pleurodeles waltlii*, les deux protéines contractiles étudiées, myosine et actine, apparaissent simultanément dans les myoblastes et évoluent de façon analogue.

**Summary.** Myosin and actin, as studied by indirect immunofluorescence method, appear synchronously during morphological differentiation of embryonic cultivated myoblasts of *Pleurodeles waltlii*.

A. M. DUPRAT, A. ROMANOVSKÝ,  
D. HURICOVÁ et J. MÁCHA

Laboratoire de Biologie générale, U.P.S.,  
118, route de Narbonne, F-31077 Toulouse-Cedex (France),  
et Katedra Obecné Zoologie, Prirodovedecké fakulty,  
Vinična 7, Praha 2 (Ceskoslovensko), 27 septembre 1974.

- <sup>7</sup> A. M. DUPRAT, Annls. Embryol. Morph. 2, 179 (1969).  
<sup>8</sup> A. M. DUPRAT, A. ROMANOVSKÝ, D. HURICOVÁ et J. MÁCHA, J. Embryol. exp. Morph., sous presse.  
<sup>9</sup> J. R. COLEMAN et A. W. COLEMAN, J. Cell Biol., suppl. 1, 72, 19 (1968).  
<sup>10</sup> D. YAFFÉ et M. FELDMAN, Devel. Biol. 9, 347 (1964).

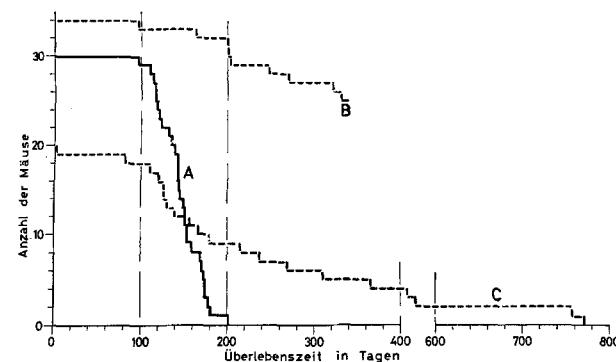
## Die Bedeutung der *cis*-Aconitsäure für die biologische Inaktivierung der 3,4-Benzopyren Kanzerogenese

### The Significance of the *cis*-Aconitic Acid for the Biological Inactivation of the 3,4-Benzopyrene Cancerogenesis

Experimentelle Untersuchungen über die Erzeugung von malignen Tumoren bei Tieren mit Hilfe des 3,4-Benzopyrens (3,4-BP) haben ergeben, dass die Tumorentwicklung bzw. das Tumorwachstum bei verschiedenen Tierarten sehr unterschiedlich sein kann. So zeigen junge Mäuse nach einer einmaligen s.c. Injektion von 2,52 mg 3,4-BP bereits einige Wochen danach an der Injektionsstelle kleine Verhärtungen, die später zu grösseren Tumoren wachsen (Sarkome und gelegentlich Karzinome) mit sämtlichen Malignitätsmerkmalen, wie Ulzerationen, Nekrosen, Tumormetastasen. Die Mäuse sterben zwischen 100–200 Tagen nach der 3,4-BP Injektion als Folge des malignen Prozesses. Im Gegensatz hierzu zeigen landwirtschaftliche Nutztiere wie Schweine und Rinder nach Behandlung mit höheren 3,4-BP Konzentrationen (bis 435 mg 3,4-BP) an der Injektionsstelle keinen Tumor<sup>1</sup>. Es wurde unter anderem vermutet, dass Grossiere unter Umständen einen Inaktivierungsmechanismus besitzen, eventuell durch

Substanzen, die in ihrem Organismus physiologisch vorkommen und in der Lage sind, die kanzerogene Wirkung des 3,4-BP abzuschwächen oder ganz zu blockieren. Gezielte Untersuchungen auf diesem Gebiet haben gezeigt, dass das Putrescin (das durch die Bakterientätigkeit im Verdauungstrakt als Dekarboxylierungsprodukt des Ornithins entsteht) die 3,4-BP Kanzerogenese bei Mäusen hemmen kann<sup>2</sup>. Zusätzlich wurde die Möglichkeit geprüft, ob andere Substanzen, die als Stoffwechselprodukte im Körper höherer Organismen vorhanden sind, ähnlich wie Putrescin wirken. Bei dem Studium über die Bedeutung des Zitronensäure-Zyklus für die 3,4-BP Kanzerogenese wurde festgestellt, dass *cis*-Aconitsäure ebenfalls eine hemmende Wirkung auf die 3,4-BP Tumorentwicklung bei Mäusen aufweist.

**Material und Methode.** 30 junge weibliche Mäuse (IMRI-Stamm, 4–5 Wochen alt, 20–25 g Körpergewicht) wurden mit 2,52 mg 3,4-BP in 0,5 ml Tricaprylin gelöst, s.c. gespritzt (Gruppe A). Gruppe B: 34 Tiere wurden ähnlich wie A behandelt + 30 mg *cis*-Aconitsäure, (d.h. *cis*-Aconitsäure wurde lokal zusammen mit 3,4-BP s.c. appliziert). Um die Löslichkeit der Säure in Tricaprylin zu steigern, wurde etwas Äthanol zugesetzt. Bei einem Vorversuch (Gruppe C, 20 Mäuse) mit 10 mg *cis*-Aconitsäure bzw. (Gruppe D, 35 Mäuse) mit <10 mg *cis*-Aconitsäure konnte eine relative hemmende Wirkung der *cis*-Aconitsäure auf die 3,4-BP Kanzerogenese festgestellt werden (Figur). Durch die Verbesserung der Löslichkeit (Zusatz von Äthanol, Gruppe B und C) und durch erhöhte Konzentration (Gruppe B) konnte die anti-kanzerogene Wirkung von *cis*-Aconitsäure auf die 3,4-BP Kanzerogenese weiter verstärkt werden (Tabelle).



Wirkung von *cis*-Aconitsäure auf die 3,4-Benzopyren Kanzerogenese. Gruppe A nur mit 2,52 mg 3,4-BP behandelte Mäuse. Die Tiere starben innerhalb von 7 Monaten durch die Tumorentwicklung. Gruppe B und C nach Zusatz von 30 mg bzw. 10 mg *cis*-Aconitsäure. Deutliche Reduzierung der 3,4-BP Kanzerogenität und Verlängerung der Überlebenszeit.

<sup>1</sup> G. KALLISTRATOS und A. PFAU, Naturwissenschaften 58, 222 (1971).

<sup>2</sup> G. KALLISTRATOS und U. KALLISTRATOS, Naturwissenschaften 61, 459 (1974).

Anti-kanzerogene Wirkung von *cis*-Aconitsäure bei Mäusen

Substanz	Injizierte Menge in mg/ 0,5 ml Tricaprylin		Zahl der Tiere <sup>a</sup>	Zahl der Tiere gestorben inner- halb 7 Monaten nach 3,4-BP Injektion		Zahl der Tiere gestorben nach 7 Monaten		Zahl der noch lebenden Tiere <sup>b</sup>		3,4-Benzopyren Kanzerogenese (%)
	3,4-BP (mg)	Zusatz (mg)		Mit Tumor	Ohne Tumor	Mit Tumor	Ohne Tumor	Mit Tumor	Ohne Tumor	
Kontrolle (ohne Behandlung)	—	—	28 (2)	—	—	—	—	—	—	28 (340) 0
Nur 3,4-Benzopyren Gruppe A	2,52	—	30	30	—	—	—	—	—	100
3,4-BP + <i>cis</i> -Aconitsäure Gruppe D	2,52	< 10 (gesätt.)	35	23	—	4	8	—	—	77
3,4-BP + <i>cis</i> -Aconitsäure Gruppe C	2,52	10 (+ Äthan.)	19 (1)	10	—	2	7	—	—	63
3,4-BP + <i>cis</i> -Aconitsäure Gruppe B	2,52	30 (+ Äthan.)	34	3	2	3	1	—	25 (340)	18

Abnahme der 3,4-BP Kanzerogenese von 100% auf 18% bei steigender *cis*-Aconitsäure Konzentration 0–30 mg/2,52 mg 3,4-BP. <sup>a</sup>In Klammern Zahl der Mäuse gestorben unmittelbar nach der Behandlung durch Unfälle, Krankheiten, Kannibalismus, Toxizität. <sup>b</sup>Beobachtungszeit in Tagen.

**Resultate und Diskussion.** Bei Mäusen die nur mit 2,52 mg 3,4-BP behandelt wurden, war die Tumorentwicklung 100%. Eine Abnahme der Tumorbildung bis 18% wurde in Abhängigkeit von der steigenden *cis*-Aconitsäure Konzentration festgestellt. Es ist noch die Frage zu klären, ob eine vollständige Hemmung der 3,4-BP Kanzerogenese durch noch höhere *cis*-Aconitsäure-Konzentrationen möglich wäre. Es wurde außerdem zum Teil eine Verzögerung der Tumorbildung durch *cis*-Aconitsäure beobachtet.

Die bisher durchgeföhrten Untersuchungen deuten darauf hin, dass ein biologischer Inaktivierungsmechanismus der kanzerogenen Wirkung von 3,4-Benzopyren (und eventuell anderen kanzerogenen Stoffen) unter anderem durch Stoffwechselprodukte, die in einigen Organismen physiologisch vorkommen, wie z.B. *cis*-Aconitsäure oder durch Substanzen, die in ihrem Verdauungstrakt durch Bakterien gebildet sind, z.B. Putrescin, theoretisch denkbar wäre.

**Summary.** The cancerogenic action of 3,4-Benzopyrene (3,4-BP) can be reduced by several natural and synthetic compounds. The addition of 10–30 mg of *cis*-aconitic acid to 2,52 mg 3,4-BP can considerably decrease the incidence of tumor development. Since *cis*-aconitic acid is a metabolic product of the citric acid cycle, its significance for the biological inactivation of the cancerogenic action of 3,4-BP is theoretically possible.

G. KALLISTRATOS<sup>3</sup>

mit technischer Mitarbeit von U. KALLISTRATOS

Forschungsinstitut Borstel, Institut für experimentelle Biologie und Medizin, D-2061 Borstel (Bundesrepublik Deutschland, BRD), 25. November 1974.

<sup>a</sup> Herrn Dr. E. FASSKE danke ich für die histologische Untersuchung der Tumoren.

### Inhibition of Mucous Metaplasia in the Skin Tumor Keratoacanthoma by Continual Applications of Puromycin

The keratoacanthoma is a rapidly growing, dry skin tumor which undergoes excessive keratinization and can be found in man<sup>1</sup> and can be produced in laboratory animals<sup>2–8</sup>. Previous studies have demonstrated that when the experimental keratotic tumor is treated with topical applications of vitamin A acid, a change in the epithelial product of tonofibrils to mucus results<sup>4</sup>.

The purpose of the present investigation was to observe, at macroscopical and ultramicroscopical levels, the effect of puromycin on the action of vitamin A acid and the absence or presence of a mucous metaplasia. Puromycin is an antibiotic known to interfere with the translation mechanism.

**Materials and methods.** 29 male rabbits (average weight, 1 kg) had the inner surface of their right ear auricles painted twice weekly with 1% 7,12-dimethylbenzanthra-

cene (DMBA) in equal parts of lanolin and mineral oil. After 6 weeks, all the rabbits had developed 6–7 keratoacanthomas per ear (0.5–1 cm in diameter). The animals were divided into several groups. The protocol of the materials and experimental methods employed in the study are summarized in the Table. The corresponding left ears of all the rabbits served as controls.

<sup>1</sup> F. N. GHADIALY, J. Path. Bact. 75, 441 (1958).

<sup>2</sup> F. N. GHADIALY, J. Path. Bact. 77, 277 (1959).

<sup>3</sup> L. PRUTKIN, J. Invest. Dermat. 48, 326 (1967).

<sup>4</sup> L. PRUTKIN, J. Invest. Dermat. 49, 165 (1967).

<sup>5</sup> L. PRUTKIN, Cancer Res. 28, 1021 (1968).

<sup>6</sup> L. PRUTKIN and B. BOGART, J. Invest. Dermat. 55, 249 (1970).

<sup>7</sup> L. PRUTKIN, Cancer Res. 31, 1080 (1971).

<sup>8</sup> L. PRUTKIN, J. Invest. Dermat. 57, 323 (1971).