

COMMUNICATIO BREVIS

Städtisches Krankenhaus-Poliklinik, Péterfy Strasse (Direktor : Gy. GÁLÓCSY), Pathologische Abteilung (Oberarzt : S. BRAUN), Budapest

WIRKUNG VON JANUSGRÜN B AUF AMYTALASCITES MÄUSETUMOREN IN VITRO UND IN VIVO

(Vorläufige Mitteilung)*

S. BRAUN, M. ERDÉLYI und Z. HARMATH

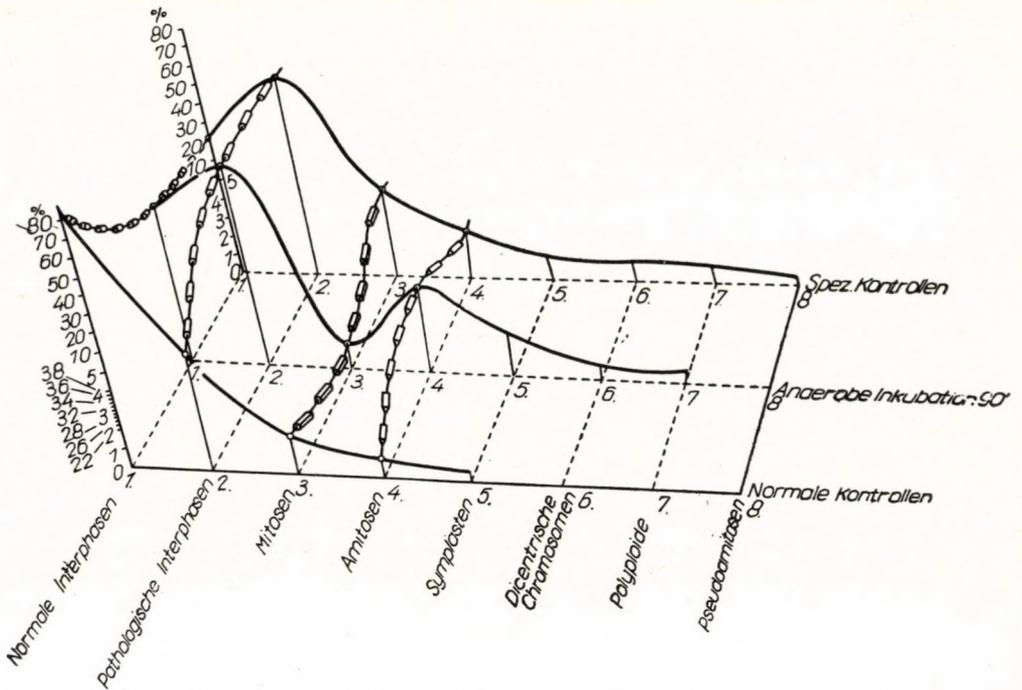
(Eingegangen am 4. März, 1958.)

Auf Grund von LAZAROW und COOPERSTEINS [4, 5, 6], SHOWACRE und DU BUYS [7], sowie BRAUNS früheren Studien [1, 2, 3] untersuchten wir den im lebenden Organismus zu beobachtenden dreistufigen Abbau von Janusgrün B (JgB) zu Leukobase an Amytalascites Mäusetumoren.

680 weisse Mäuse, von denen 190 Normalkontrollen und 158 spezifische Kontrollen waren, wurden mit einer Mischung geimpft, die aus 1 : 3200 mit phys. NaCl-Lösung verdünnten JgB und Ascites $\bar{a}a$ bestand und bei 38°C partial anaerob inkubiert wurde. Erst untersuchten wir die Mischungen nach 0,15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 150, 180 und 240 Minuten partial anaerober Inkubation; die farbigen Aufnahmen werteten wir in Diagrammen aus. Gleichzeitig untersuchten wir Ascites Ausstriche unter dem Phasenkontrastmikroskop, bzw. supravital gefärbte, sowie in Methanol fixierte und mit Hämatoxylin-Säurefuchsin-Tuchechtgelb gefärbte Präparate. Pro Ausstrich zählten wir wahllos 500 Zellen aus, wobei wir neben den Kernteilungsformen die normalen und pathologischen Interphasen besonders streng unterschieden. Wir fanden, dass Amytalascitestumor das JgB zu Leukodiäthylsafranin abbaut. Dieses geschieht in Glasröhren mit cca. 4 mm Lumenweite vom zellreicheren Gefässboden aus nach oben aufsteigend. Die Reaktion kommt schon bei Zimmertemperatur langsam in Gang, das Reaktionsoptimum liegt jedoch bei 38°C. Der Farbstoffabbau ist mit der Zellzahl direkt, mit der Farbstoffkonzentration, bzw. ihrer relativen Quantität jedoch umgekehrt proportional. Aus mit steigender Konzentration der Farbstofflösung ausgeführten Untersuchungen ging hervor, dass der Farbstoffabbau nicht in jeder Phase (1. violette : Leukojanusgrün I; 2. kirschrote : Diäthylsafranin; 3. farblose Phase : Leukodiäthylsafranin) mit gleicher Geschwindigkeit geschieht, aber in derselben Phase die gleiche bleibt. Für den Hauptversuch haben wir 1 : 3200 JgB mit Aszites $\bar{a}a$ unter partial anaeroben Bedingungen bei 38°C 15 Minuten (violett), 45 Min. (kirschrot), 90 Minuten (farblos) und 120 Minuten lang

* Vorgetragen auf der II. Sitzung über Biologie der Geschwülste an der Polnischen Akademie der Wissenschaften, Warschau, am 4. Oktober, 1957.

inkubiert. Danach wurden je 5 gesunde Mäuse mit 0,1–0,1 ml des Gemisches i. p. geimpft. Während der folgenden 19 Passagen haben wir jede Gruppe mit einer entsprechend lange Zeit (15, bzw. 45, 90, 120 Min.) inkubierten Farbstoff-Ascites Mischung geimpft, wie beim Beginn des Versuches. Dadurch erhielten wir 4 Tumorstammlinien, dazu kam als fünfte eine spezifische Kontrollgruppe. Diese letztere Tiergruppe wurde mit 90 Minuten hindurch partial anaerob inkubierten Ascites geimpft; von dem Ascites wurde alle 10–12 Tage ohne nochmalige Inkubation weiter geimpft. Tumor entwickelte sich bei allen Tieren nach der Transplantation. Bei den 90 Minuten anaerob inkubierten Tumorzellen überwogen die pathologischen Interphasen: Zellgrösse unter 7μ oder über $12,6 \mu$, Kern-Plasmarelation unter 0,55 oder über 0,75, Plasma-pseudopodien, Kernsekretion.



Raumdiagramm: Normalkontrolle und mit 90 Min. bei 38°C anaerob inkubierten 1 : 3200 JgB plus Ascites aa Gemisch geimpfte Tiere, sowie daraus geimpfte spezifische Kontrolle

Die Mitosenzahl fiel auf die Hälfte ab und die Amitosen stiegen auf das $4\frac{1}{2}$ fache des Normalen. Innerhalb der verminderten Mitosenzahl stiegen die Prophasen relativ an (0,8%). Bei den *spezifischen Kontrollen* stiegen die pathologischen Interphasen weiter an. Die Mitosen- und Amitosenwerte stiegen auf das $2\frac{1}{2}$ fache des Normalen, dabei überwogen pathologische Formen, wie Polyplodie, mono- und dizentrische Chromosomen, unvollständige

Chromosomengarnituren. Die zahlenmässig vermehrten und staubartigen Mitochondrien lokalisierten sich in den Amitosen in der Konkavität des sich im Teilungsbeginn befindenden Kernes, bzw. in der Projektion der späteren Teilungslinie. In den Metaphasen ordneten sie sich den unvollständigen Chromosomensätzen entsprechend an, während sie sich in der Anaphase zwischen den Polen der Äquatorialplatten, etwa wie entlang einer Kraftlinie, lokalisierten. Bei den Teilungsformen folgten die Mitochondrien nicht passiv der Plasmaströmung, sondern lokalisierten sich immer dort, wo sich innerhalb der Zelle der grösste ATP-Bedarf zeigte. Aus dem gesetzmässigen Unterschied, der zwischen dem cytologischen Bild der 90 Minuten lang anaerob inkubierten Tumoren und dem der geimpften spezifischen Kontrollen bestand, kann geschlossen werden, dass in ihrem oxydativen Terminalabbau gehemmte Zellen über ein amitotisches Stadium in pathologische Mitoseformen übergehen. Obiges Verfahren halten wir zur Messung der oxydativen Dehydrogenaseaktivität, bzw. des Schädigungsgrades der Mitochondrien geeignet. (Eine ausführliche Arbeit folgt demnächst.).

LITERATUR

1. BRAUN, S. : (1952) Kísérletes adalékok a szövetnövekedés pathogenesiséhez. I. Januszöld B — 1—2 Benzpyren okozta generalisalt sarcoma vizsgálata ivarérett fehérpatkányokon. Kísérletes Orvostud. 4, 6. — 2. BRAUN, S. : (1954) Janus green B teratological action in embryonated hen's eggs and embryogenetic and carcinogenic bearings of its mechanism of action. Acta Morph. Hung. 4, 61. — 3. BRAUN, S., ERDÉLYI, M. u. HARMATH, Z. : (1958) Zusammenhang der karyoplastischen Wirkung der experimentellen Hypoxie mit morphologischen Veränderungen der Mitochondrien. Neoplasma (im Druck). — 4. COOPERSTEIN, S. J., LAZAROW, A. u. PATTERSON, J. W. : (1953) Studies on the mechanisms of Janus Green B staining of mitochondria. II. Reactions and properties of Janus Green B and its derivatives. Exp. Cell Res. 5, 1, 69. — 5. COOPERSTEIN, S. J., LAZAROW, A. : (1953) Studies on the mechanism of Janus Green B staining of mitochondria. III. Reduction of Janus Green B by isolated enzyme systems. Exp. Cell Res. 5, 82. — 6. LAZAROW, A. u. COOPERSTEIN, S. J. : (1953) Studies on the mechanism of Janus Green B staining of mitochondria. I. Review of the literature. Exptl. Cell Research 5, 56. — 7. SHOWACRE, J. L. u. DU BUY, H. G. : (1955) On the enzymic nature of mitochondrial characterization by Janus Green B and the detection of Krebs-cycle dehydrogenases with Janus Green B. J. Nat. Canc. Inst. 16, 173.