

des Bestrahlungsbereiches liegen, seine Werte sinken nach der Bestrahlung langsam ab (Kurve *a* der Fig. 1). Entsprechend dieser Verringerung des Verletzungspotentials nimmt auch die Potentialdifferenz zwischen der bestrahlten und der unbestrahlten Stelle nach Erreichen des Maximums langsam wieder ab (Kurve *d* der Fig. 1). Die nicht bestrahlte Stelle verändert sich also nach hochdosierter Bestrahlung einer getrennt von ihr liegenden Stelle ebenfalls. Es ist anzunehmen, daß ein langsames Hinwandern der an der bestrahlten Stelle aus der Faser austretenden Kaliumionen zur unbestrahlten Ableitungsstelle hin dabei eine Rolle spielt.

Höhere Strahlendosen ändern den beschriebenen Verlauf nicht nennenswert. Bei niedrigeren Dosen dagegen ist der zeitliche Ablauf langsamer und die Potentialänderung insgesamt geringer. 100 kr (Kurve *b* der Fig. 1) bedingen nach stärkerem Anfangsanstieg nur noch eine geringfügige Zunahme der Spannung zwischen bestrahlter und unbestrahlter Ableitungsstelle, während der Spannungsanstieg nach höheren Dosen über das Bestrahlungsende hinaus unverändert anhält. Auch nach 50 kr sind — allerdings mit anderer Methode — noch Änderungen des Ruhepotentials beschrieben worden<sup>1)</sup>. — Die bestrahlte Ableitungsstelle geht bei Dosen über 100 kr langsam in Kontraktur.

In mehr als der Hälfte der Versuche tritt in dem ansteigenden Schenkel der Kurve bei Dosen über 100 kr 2 bis 3 Std nach Bestrahlungsbeginn eine Stufe auf, d.h. eine etwa 10 bis 20 min dauernde Abflachung des Spannungsanstieges. Sie scheint besonders bei den Muskeln älterer und schwächerer Tiere vorhanden zu sein. Überhaupt zeigt die Potentialänderung nach Strahleneinwirkung eine gewisse Abhängigkeit von dem Zustand der Tiere, der Jahreszeit und der Muskelart. Die vorliegenden Angaben beziehen sich auf *Mm. sartorii* von Winterfröschen. Bei *Mm. gastrocnemii* beginnt der Spannungsanstieg zwischen bestrahlter und unbestrahlter Ableitungsstelle im allgemeinen später, ist dann aber steiler, so daß das Maximum früher erreicht ist.

Solche Potentialmessungen ermöglichen es, die Entstehung und den zeitlichen Ablauf einer der strahlenbedingten Schädigungen ohne weiteren Eingriff zu beobachten. Der Befund einer Änderung der Membranpolarisation durch hochdosierte Röntgenbestrahlung steht in grundsätzlicher Übereinstimmung mit den Befunden über Kaliumverluste bestrahlter Gewebe. Gerade an der isolierten Muskulatur, die für Potentialmessungen besonders günstige Bedingungen bietet, liegen Angaben über Kaliumverluste nach Strahleneinwirkung aber nicht vor. In einer weiteren Mitteilung wird über entsprechende Messungen unter Bedingungen, die mit denen der vorliegenden Untersuchung vergleichbar sind, berichtet werden. — Außer durch eine veränderte Elektrolytverteilung könnte das Auftreten einer Potentialdifferenz zwischen einer bestrahlten und einer unbestrahlten Ableitungsstelle auch durch eine Änderung der Membran in ihrer Eigenschaft als Ionenbarriere bedingt sein.

Institut für Röntgenforschung der Universität, Bonn

H. D. BERGEDER

Eingegangen am 13. November 1957

<sup>1)</sup> WALKER, V. N., u. J. W. WOODBURY: Fed. Proc. 12, 150 (1953).

#### Entstehung und Verhalten kernloser Zellfragmente in der Gewebekultur

LETRÉ<sup>1)</sup> hat gezeigt, daß Fibroblasten und andere Zelltypen in der Gewebekultur während der Mitose charakteristische Plasmabewegungen durchführen, die hauptsächlich in der Ausstülpung von Pseudopodien bestehen. Er zeigte ferner, daß ähnliche Vorgänge sich auch unabhängig von der Mitose durch Viktoriablau hervorrufen lassen, eine Substanz, die eine Affinität zu Nukleinsäuren und zu Mitochondrien habe<sup>1)</sup>. Interessanterweise kam dabei auch völlige Abschnürung von Zellfragmenten zustande, über deren weiteren Verbleib nichts bekannt ist.

Fixierte Präparate gut wachsender Gewebekulturen von Herzfibroblasten und Pigmentepithelzellen des Hühnerembryos (Züchtung nach MAXIMOW\*) enthalten zahlreiche Mitosen, die das von LETRÉ beschriebene Phänomen aufweisen. Außerdem findet man nicht selten, daß sich gegen Ende der Mitose Teile des Zytoplasmas total abschnüren (Fig. 1). Dieser Vorgang kann also auch ohne ein Agens wie Viktoriablau stattfinden, wenngleich nicht in demselben Ausmaße. Interessant ist das weitere Verhalten der so entstandenen Fragmente. Zwischen intakten Zellen findet man kernlose Zellfragmente, die offenbar bei der Mitose abgeschnürt

wurden, inzwischen aber ihre relative Lage zur Ursprungszelle weitgehend verloren haben. Ein Teil von ihnen wird möglicherweise durch Phagozytose verschwinden. Andere aber, die nicht phagozytiert werden, weisen ein Verhalten auf (Fig. 2a und b), das dem von Zellen in Mitose gleicht, allerdings im Hinblick auf das gesamte Stück weit dramatischer ist. Das Zellfragment zerfällt dabei schließlich unter Ausbildung

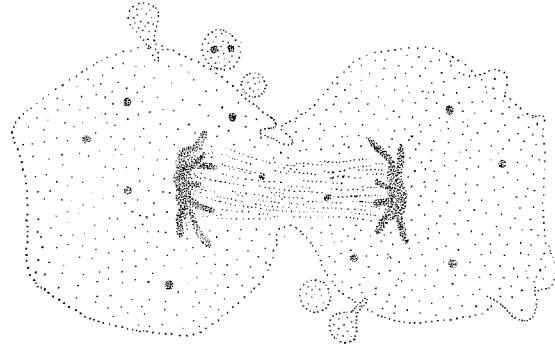


Fig. 1. Pigmentepithelzelle in Anaphase mit abgeschnürten Fragmenten. Vergr. 1660fach. Färbung: Ehrlichs Hämatoxylin

von Pseudopodien, die sich bis tief ins Zentrum hinein voneinander abschnüren. Der bei den intakten Zellen auf die Oberfläche beschränkte Prozeß setzt sich somit nach Abschnürung der Fragmente bei diesen intensiviert fort und führt durch weitere Zerklüftung zu ihrem Zerfall. LETRÉ<sup>2)</sup> und SIEBS haben kürzlich die Entstehung kernloser Fibroblasten in vitro nach 24stündiger Einwirkung von Diäthyl-

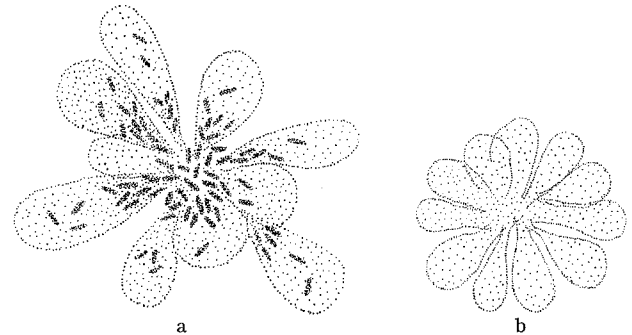


Fig. 2a u. b. Kernlose Zellfragmente. a) Extrem großes Fragment aus einer Pigmentzelle. b) Kleines, unpigmentiertes Fragment. Vergr.: a 1660fach, b 2900fach. Färbung: Ehrlichs Hämatoxylin

stilböstrol und Testosteron beschrieben. Dabei trat das hier für kleinere kernlose Fragmente beschriebene Verhalten zwar nicht ein, allerdings zerfiel ein Teil der Zellen schon während dieses Zeitraumes.

Der Unterschied zwischen der intakten Zelle nach der Mitose und den abgeschnürten Fragmenten bezüglich der Einstellung oder der Persistenz der Zytoplasmabewegungen läßt sich dahingehend interpretieren, daß der intrazelluläre Zustand, der sich in der pseudopodialen Bewegung der kugelig abgerundeten Zelloberfläche äußert, durch die Mitose — sei es durch deren Ablauf, sei es durch die daraus resultierende funktionelle Verdoppelung der Chromosomen — beseitigt wird.

McArdle Memorial Laboratory, University of Wisconsin, Madison/Wis. USA

EDMUND GÜTTES

Eingegangen am 9. November 1957

\*) Embryoextrakt und Blutplasma wurden von den Difco Laboratories, Detroit/Mich. USA, bezogen.

<sup>1)</sup> LETRÉ, H.: Naturwiss. 38, 490 (1951). — <sup>2)</sup> LETRÉ, H., u. W. SIEBS: Protoplasma 46, 523 (1956).

#### Treatment of Experimental Tumours by Thiocetic Acid

The importance of cellular thiols in the pathogenesis of malignant tumours, as well as the pharmacological and therapeutical interest of substances carriers of —SH groups in the field of experimental and human neoplastic diseases, are evidenced by the works of several authors. A review of the literature on this subject has been performed by one of us<sup>1)</sup>. If this is considered, it appears interesting to investigate the

action on experimental tumours of a new compound like thioctic acid (lipoic acid) — which in the organism is easily reduced to a dithiol<sup>2)</sup> — particularly as one of us demonstrated that it is endowed with a clear antimetabolic action<sup>3)</sup>.

The aim of this note is to report as briefly as possible our research on the action of thioctic acid (T. A.) on two types of experimental tumours: 3,4-benzopyrene sarcoma of the rat and Ehrlich carcinoma-ascites of the mouse. T. A. was employed as sodium salt in aqueous solution and was kindly supplied by "Istituto Sieroterapico Italiano" of Naples. The animals (albino rats aged 3 to 4 months and weighing 190 to 250 g, white mice of Morini strain aged 3 months and weighing 18 to 25 g), were all male and came from the breeding of one of our institutes; they were labeled and individually followed.

**Action on 3,4-benzopyrene sarcoma from injection of the carcinogen.** 30 rats were injected subcutaneously in the right inguinoabdominal region by 1 ml of 1% solution of 3,4-benzopyrene in olive oil (and this injection was repeated again three times at intervals of twenty days). They were divided into 3 groups of 10 animals; the first group did not receive any additional treatment, whilst the second and the third groups were given by subcutaneous route a daily dose of T. A., respectively of 1,5 and 15 mg/kg; the administration of the drug was begun the day before the first injection of 3,4-benzopyrene and was continued up to the end of the experiment.

After six months, only one rat of the third group had not shown any neoplastic sign, whilst a conspicuous or a nodular tumour had taken place at the site of the injection in all the other 29 animals. In short, no significant differences were observed between the control group and the groups treated by A. T., though, on the basis of a detailed discussion of our findings, we were induced rather to think that T. A. exerts a slight inhibiting action on the development of 3,4-benzopyrene tumours, than to consider the drug absolutely devoid of activity.

**Action on transplanted 3,4-benzopyrene tumours.** 27 rats received a subcutaneous graft in the right axillary region of a 3,4-benzopyrene sarcoma at its fifth transplantation in animals of the same strain. After 13 days, 20 animals were chosen among those in which the tumour had taken root and were divided into 4 groups of 5 animals: the first group was given no treatment, the other three groups were treated by subcutaneous route with a daily dose of T. A., respectively of 1,5, 15 and 75 mg/kg. The administration was continued up to the end of the experiment.

The development of the tumour was controlled by repeated measurements by Lutz's technique<sup>4)</sup>, which had proved to be satisfactory in previous works of one among us<sup>5)</sup>. The curves of the growing of the tumours, obtained plotting the volumes against the times, did not show any evident action of T. A. on transplanted 3,4-benzopyrene tumours. Also the direct treatment by intratumoral injection of the drug (a daily dose of 5 mg, in 6 animals, since the 18th day after the transplantation and for 10 days) did not appear to exert a significant inhibition on the growth of the sarcoma.

**Action on Ehrlich carcinoma-ascites.** 30 mice received an intraperitoneal injection of 0,3 ml of ascitic fluid withdrawn (and pooled) from two mice transplanted with Ehrlich carcinoma-ascites at its seventh graft in our strain; they were then divided into 5 groups: the first group, of 10 animals, received no additional treatment, whilst the other groups were treated since the day following the transplantation by a daily dose of T. A., respectively of 15 mg/kg by intraperitoneal route, of 15 mg/kg by subcutaneous route, of 45 mg/kg by intraperitoneal route, of 45 mg/kg by subcutaneous route.

The treatment by both routes and by both doses did not exert an evident influence on the development of carcinoma-ascites. The volume of ascitic fluid and the mortality did not show significant differences among the various groups of treated and not treated animals. Also the autopsy and histologic findings of the large invasion by the neoplastic process of the abdominal viscera in some treated mice confirmed that T. A. seems unable to hinder the progress of the experimental disease. The only difference that was found between the control group and the treated groups consists of a higher cellular content of the ascitic fluid in the latter ones, as counts by a Thoma-Zeiss chamber allowed to remark.

So, our conclusions about an inhibiting action on an experimental sarcoma and an experimental carcinoma of T. A., administered by various routes and at different doses, are essentially negative. Only in the case of tumours from in-

jections of 3,4-benzopyrene, a very slight influence of the drug may be suspected, but has been by no means evidenced.

Various hypotheses may be advanced to explain the lack of antitumoral activity of T. A. in our experimental conditions. Further research is needed to demonstrate which of these hypotheses is the nearest to the truth.

*Istituto di Farmacologia e Tossicologia dell'Università di Napoli (Direttore: Prof. LEONARDO DONATELLI) and Istituto per lo Studio e la Cura dei Tumori "Fondazione Pascale", Napoli (Direttore: Prof. PIETRO VERGA)*

VINCENZO DI CARLO, GIUSEPPE MAIMONE  
and GIACOMO GIORDANO

Eingegangen am 6. November 1957

<sup>1)</sup> DI CARLO, V.: In press. — <sup>2)</sup> BONI, P., F. REDUZZI, G. BILE and V. GALLORO: Clin. Terap. 9, 129 (1955). — <sup>3)</sup> DI CARLO, V.: Arzneimittel-Forsch. 1957 (in press). — <sup>4)</sup> LUTZ, B. R., G. P. FULTON, D. I. PATT, A. H. HANDLER and D. F. STEVENS: Cancer Res. 11, 64 (1951). — <sup>5)</sup> MAIMONE, G.: Boll. Fondaz. Pascale 2, 40 (1955).

#### Ein Schnelltest zur Identifizierung von *Merulius*-Arten

Die sichere Bestimmung des echten Hausschwammes [*Merulius lacrymans* (WULF.) SCHUM., var. *domesticus* (PERS.) FALCK] und seine Unterscheidung von anderen häufigen Holzzerstörern ist beim Fehlen von Fruchtkörpern keine leichte Aufgabe. Die mikroskopisch feststellbaren Eigentümlichkeiten des Luftmyzels sind nicht in allen Fällen zur überzeugenden Diagnose ausreichend<sup>1)</sup>. Da sich aber der echte Hausschwamm in seiner Vitalität und Zerstörungs-kapazität von den übrigen holzzerstörenden Pilzen unterscheidet, ist eine Sicherung der Bestimmung in jedem Falle wünschenswert, zumal da der Entscheid meist weitreichende rechtliche und wirtschaftliche Folgen hat.

Wir konnten nun feststellen, daß die auf Malzagar gezogenen Myzelien der beiden geprüften *Merulius*-Arten (je sechs verschiedene Stämme von *M. lacrymans* und von *M. silvester*

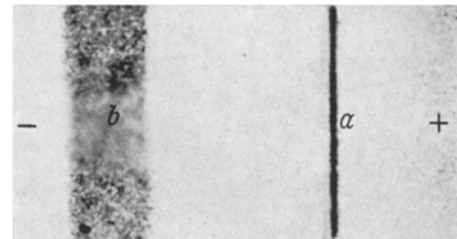


Fig. 1. UV-Photoprint-Reproduktion des Elektrophorese-Streifens nach fünfständiger Trennung eines wäßrigen Extraktes von *Merulius silvester*. (Phosphatpuffer  $pH$  8,0; 110 V.) a Startfront; b fluoreszierende Zone

FALCK) ebenso wie lebendes Myzel aus befallenen Häusern bei beiden Arten stets je einen charakteristischen, wasserlöslichen, nach der Isolierung farblosen, im UV-Licht einer Quarzlampe (Stabanalysenlampe Hanau) aber grünblau (*M. lacrymans*) bzw. blau (*M. silvester*) fluoreszierenden Stoff enthalten. Beide Substanzen haben bei der papierchromatographischen Trennung des wäßrigen Myzelextraktes (auf Whatman Nr. 1 mit Butanol-Eisessig-Wasser) denselben  $R_F$ -Wert (0,41) und wandern bei der Papierelektrophorese (im Phosphatpuffer  $pH$  8,0) kathodisch mit derselben Geschwindigkeit (Fig. 1). Wie die Absorptionsspektren erkennen lassen, sind die beiden Substanzen nicht identisch. Speziell die elektrophoretische Methode gestattet mit wenig Material (Mindestmenge etwa 10 mg Frischgewicht) in kurzer Zeit (etwa 2 Std bei 110 V Spannung) die sichere Trennung dieser Stoffe von anderen, ebenfalls im UV-Licht fluoreszierenden Substanzen, etwa verschiedenen Aminosäuren (denen sie nicht zugehören).

Wäßrige Auszüge aus längere Zeit abgestorbenen Myzelproben von *M. lacrymans* zeigen statt des beschriebenen Stoffes einen anderen von ähnlicher Fluoreszenzfarbe, der aber mit Butanol-Eisessig-Wasser einen  $R_F$ -Wert von 0,85 hat und bei der Elektrophorese (unter den angegebenen Bedingungen) anodisch wandert, sich auch im Absorptionsspektrum deutlich unterscheidet. Wahrscheinlich entsteht diese zweite Substanz nach dem Absterben des Myzels allmählich aus der ersten; möglicherweise läßt sich daraus die (Mindest-) Zeitspanne seit dem Tode einer Probe ermitteln.

Da entsprechende Verbindungen den Myzelien von *Coniophora cerebella* (PERS.) DUBY, *Poria Vaillantii* (D. C.) FR., *Poria vaporaria* PERS., *Stereum hirsutum* (WILLD.) PERS.,