

Aus der Hämatologischen Abteilung der I. Medizinischen Klinik der Freien Universität Berlin  
 (Direktor: Prof. Dr. H. Frhr. v. Kreß)

## Zur Morphologie blockierter Mitosen der Hämopoese nach Vincaleukoblastin

Von K. E. Hampel und H. Gerhartz

In der Chemotherapie der Hämoblastosen, insbesondere der chronischen myeloischen Leukämien und Lymphogranulome, hat in den letzten beiden Jahren das Vincaleukoblastin, ein Indol-Indolin-Alkaloid aus der *Vinca rosea* Linn., zunehmende Beachtung gefunden [9,10,16]. Seine zytostatische Wirksamkeit beruht auf einer Blockierung der Zellmitose im Stadium der frühen Metaphase (»stathmokinischer Effekt«), wie dies *in vivo* am Knochenmark von Mäusen [3,4] und Ratten [3,5,6,9,10], von Hamstern [3,5] und Hunden [3], an experimentellen Mäuseleukämien [3,4] und Tumoren [7,15] sowie an menschlichem Knochenmark [9,10,16] und Tumorgewebe [16] und *in vitro* an Gewebekulturen von menschlichem Knochenmark [9,10] und Tumorzellen [17] nachgewiesen werden konnte. Unter intensiver Zunahme der Mitoserate hemmt Vincaleukoblastin das Zellwachstum nach Art eines Proliferationsgiftes vom Typ der Mitoseblocker.

Derartige Mitoseblocker führen zu morphologisch faßbaren Schädigungen sowohl am Zellkern als auch am Zellplasma und der Zellgranula [1,2,8]. Im zytostatischen Wirkungsbereich treten dabei isolierte, mehr oder minder charakteristische Veränderungen an bestimmten Zellteilen auf, während sich im zytotoxischen Wirkungsbereich das bunte Bild einer allgemeinen Zellschädigung mit nekrobiotischen Abbauformen bis zur Zytolyse erreichen läßt. Für Colchicin und seine Derivate sind die Strukturveränderungen an den blockierten Metaphasen als »Mitosepyknose« charakterisiert worden, wobei neben Verkürzungen und Verklumpungen, Abrundungen und Lückenbildungen an einzelnen Chromosomen Chromosomenfragmentationen und Versprengungen von Chromosomen-Bruchstücken aufzutreten pflegen, oft verbunden mit einer irregulären Chromosomenverteilung, einer gestörten Chromosomentrennung und einer Veränderung der Chromosomenzahl [1,2,8].

Die zytostatische Wirksamkeit des Vincaleukoblastin stimmt sowohl klinisch [9,10,16] als auch experimentell [3] mit der des Colchicins keineswegs völlig überein. Im Gegensatz zum Colchicin ist Vincaleukoblastin auch beim Hamster wirksam [3]; sein zytostatischer Effekt kann durch einige Aminosäuren teilweise aufgehoben werden [11]. Klinisch erwies es sich als geringer thromboplastisch und anhaltender wirksam als Colchicin [9,10]. Es erschien uns daher wichtig, den Einfluß von Vincaleukoblastin auf die Hämopoese zu prüfen.

Über die quantitativen Verschiebungen des Knochenmark-Zellgehaltes unter Vincaleukoblastin beim leukämischen Patienten wie auch bei der Ratte haben

Eingegangen am 21. November 1962.

wir bereits an anderer Stelle [9,10] berichtet. Unsere qualitativen Untersuchungen führten wir an nach Pappenheim gefärbten Ausstrichen des Knochenmarks weißer Inzuchtratten durch, die 6–12 Stunden nach einer einmaligen intraperitonealen Injektion von 1,5 mg/kg Vincalokoblastin getötet worden waren. Dabei fanden sich an den in der Metaphase blockierten Zellen mit großer Regelmäßigkeit grobe morphologische Veränderungen, auf die bereits verschiedentlich hingewiesen wurde [3,4,5,9,10,15,16].

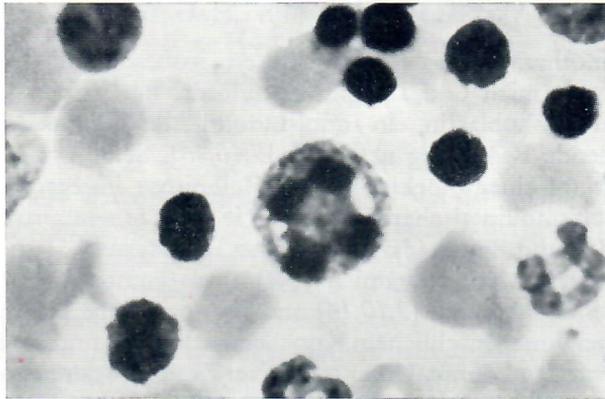


Abb. 1: Erythropoese: polyzentrische Schrumpfform.  
Knochenmark der Ratte, 2200  $\times$

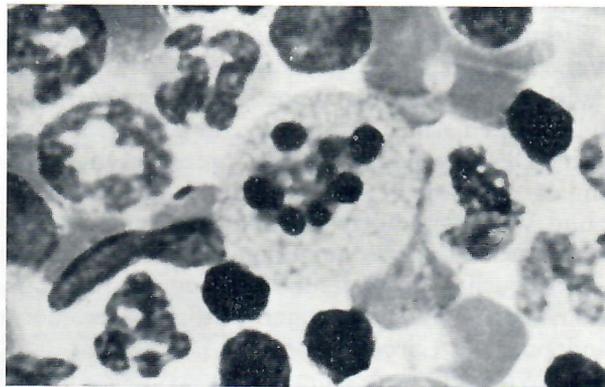


Abb. 2: Granulopoese: polyzentrische Schrumpfform.  
Knochenmark der Ratte, 2000  $\times$

Zumeist war die Chromosomenmasse zu einer Vielzahl grober, hyperchromatischer Klumpen geschrumpft, die in kranzförmiger Anordnung mehr oder minder symmetrisch ein wenig angefärbtes, scheinbar strukturloses Zentrum umgaben, in dem sich zuweilen noch Chromosomenschleifen nachweisen ließen. Diese pyknotische Schrumpfung der Chromosomen zu mehreren Klumpen um einen Zentralpunkt bezeichneten wir als »polyzentrische Schrumpfform«. Sie war für die erythropoetische und granulopoetische Entwicklungsreihe

unterschiedlich ausgebildet: Während die Kerne der Proerythroblasten und Makroblasten meist nur 3–5 derartige hyperchromatische Klumpen aufwiesen (Abb. 1), zeigten die Kerne der Myeloblasten, Promyelozyten und Myelozyten oft 6–9, gelegentlich auch 1–14 Klumpenbildungen (Abb. 2, 3, 4):

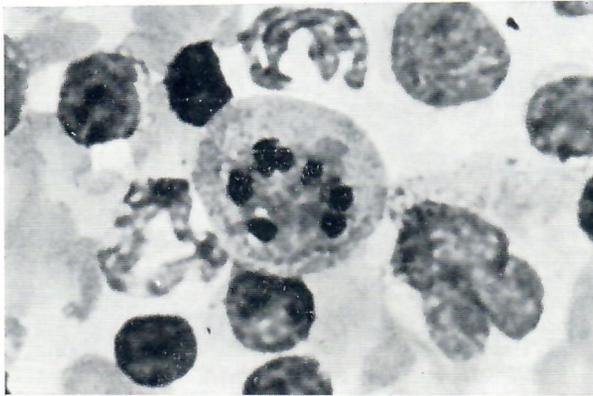


Abb. 3: Eosinophiler Myelozyt: polyzentrische Schrumpfform. Knochenmark der Ratte, 2000  $\times$ .

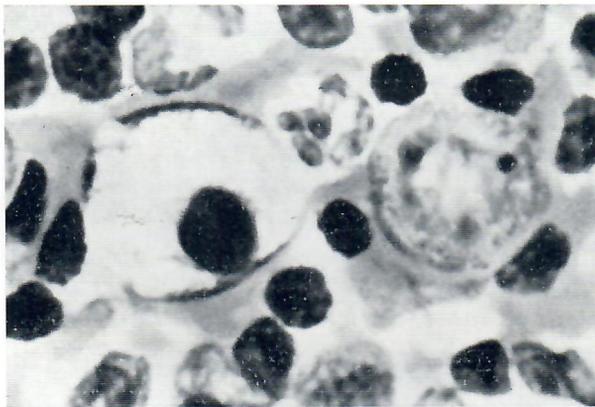


Abb. 4: rechts: polyzentrische Schrumpfform der Granulopoese, links konzentrische Schrumpfform der Granulopoese. Knochenmark der Ratte, 2000  $\times$ .

Nicht selten fanden sich die Chromosomen auch zu einer einzigen pyknotischen, hyperchromatischen Masse geschrumpft («ball-metaphase»), teilweise umgeben von einer perinuklären, granulafreien Aufhellung im Zytoplasma. Zugleich war die Kern-Plasma-Relation deutlich zugunsten des Plasmas verschoben. Mit fortschreitender Schrumpfung zeigte sich eine homogene Hyalinisation der Chromosomen. Derartige Zellbilder bezeichneten wir als «*konzentrische Schrumpfform*» (Abb. 4). Sie wies zuweilen mehrere, aus der Chromosomenmasse dornartig hervorragende Bruchstücke auf. Daneben fanden sich oft auch einzelne Chromosomen-Bruchstücke verstreut im Plasma, die nur

noch durch eine schmale Brückenbildung mit der pyknotischen Chromosomenmasse verbunden war oder auch völlig isoliert von der Hauptmasse der Chromosomen im Plasma schwammen »*aberrierende Form*« (Abb. 5).

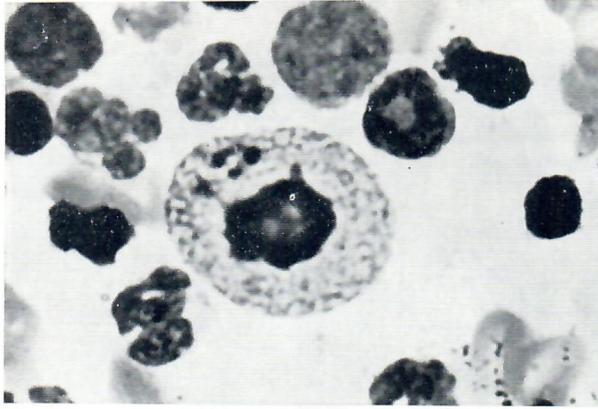


Abb. 5: aberrierende Form. Knochenmark der Ratte, 2000  $\times$ .

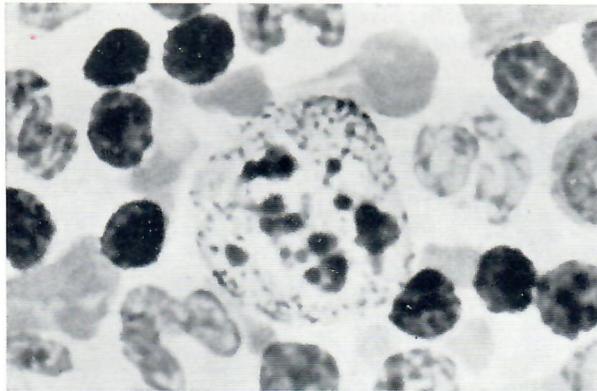


Abb. 6: Zerstreuungsform. Knochenmark der Ratte, 2000  $\times$ .

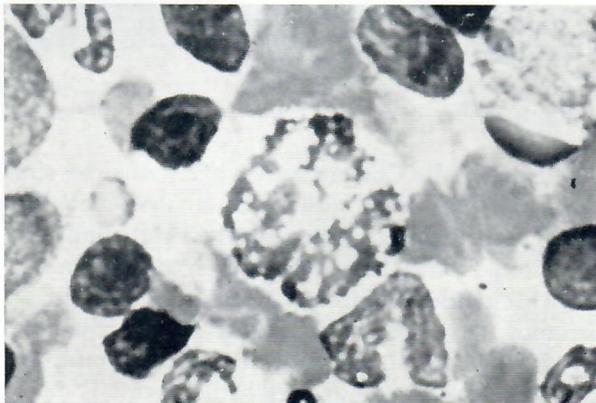


Abb. 7: Degenerationsform. Knochenmark der Ratte, 2000  $\times$ .

Dieser Abbröckelungsprozeß war wiederum in anderen Zellen weiter fortgeschritten: Eine Vielzahl verklumpeter und chromatinreicher, stark unterschiedlich großer Chromosomen-Bruchstücke lagen nun völlig unregelmäßig im Zytoplasma verstreut: »Zerstreuungsform« (»exploded metaphase«) (Abb. 6). Vereinzelt ließen sich auch Übergangsformen von der polyzentrischen Schrumpfform zur Zerstreuungsform beobachten, indem mit fortschreitender Auflösung der zentralen homogenen Kerne die kranzförmige Lagerung verloren gegangen war.

Schließlich fanden wir eine Anzahl von Degenerationsformen, wobei die Zellen nach Abblassung der Kernmasse unter fortschreitender Vakuolisierung stärkere autolytische Veränderungen aufwiesen (Abb. 7).

Um Aussagen über die Häufigkeit der verschiedenen zytostatischen Zellveränderungen unter Vincalokoblastin machen zu können, durchmusterten wir 300 blockierte Metaphasen, und zwar 200 Metaphasen der Granulopoese und 100 Metaphasen der Erythropoese (Tab. 1). Dabei ließen nur 2 von 300 Metaphasen gröbere morphologische Abweichungen von der Norm vermissen. Etwa  $\frac{2}{3}$  aller Anomalien ließen sich der polyzentrischen Schrumpfform zuordnen. 10–20% entfielen auf die konzentrische Schrumpfform. Nicht sicher auszumachen waren die sog. »distorted star metaphase« [4], deren Beurteilung in Ausstrichpräparaten allerdings problematisch erscheint.

	<i>Granulopoese</i> n = 200	<i>Erythropoese</i> n = 100
1. polyzentrische Schrumpfform	63 %	70%
2. konzentrische Schrumpfform	10,5%	18%
3. Aberrationsform	1,5%	5%
4. Zerstreuungsform	7,5%	0%
5. Degenerationsform	17,5%	7%

Tab. 1: Verteilung der Anomalieformen in den durch Vincalokoblastin blockierten Metaphasen

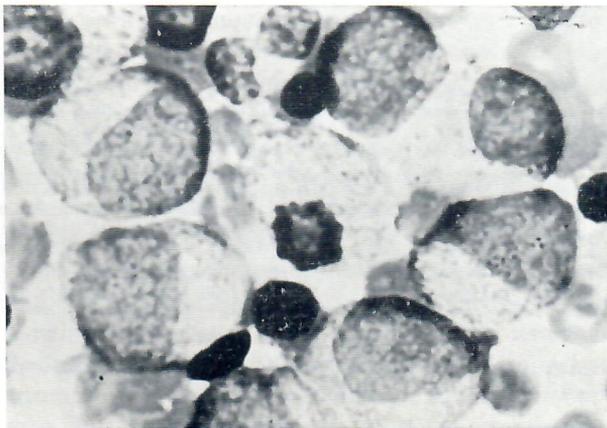


Abb. 8: Chronische Myelose. Konzentrische Schrumpfform eines Myelozyten. Menschliches Knochenmark, 2000 ×.

Ähnliche Beobachtungen machten wir an Knochenmarkausstrichen eines Patienten mit einer chronischen myeloischen Leukämie: Trotz der – im Vergleich zum Tierexperiment – niedrigen Dosierung von 5 mg Vincaläuboblastin intravenös (entsprechend 0,08 mg/kg) waren 6 Stunden nach der Injektion pathologische Mitoseformen nachweisbar, zumeist von der Art der aberrierenden, seltener von der konzentrischen (Abb. 8) Schrumpfform. Dem entgegen waren polyzentrische Schrumpfformen äußerst selten.

Der Einfluß von Vincaläuboblastin auf die Mitosen der Hämopoese unterscheidet sich somit zumindest morphologisch qualitativ nicht von der des Colchicins. Zur Erklärung der zytostatischen Unterschiede in Klinik und Experiment wird es weiterer Untersuchungen bedürfen.

### Zusammenfassung

Die zytostatische Wirksamkeit des Alkaloids Vincaläuboblastin ist morphologisch in ähnlicher Weise wie beim Colchicin durch eine Blockierung der Zellmitose im Stadium der frühen Metaphase charakterisiert, obgleich klinisch und experimentell Unterschiede deutlich sind. Qualitativ zeigten die blockierten Mitosen polyzentrische und konzentrische Schrumpfformen sowie Aberrations-, Zerstreungs- und Degenerationsformen, über deren Häufigkeit auf Grund von 300 Mitosedifferenzierungen berichtet wird.

### Summary

The cytostatic effect of the alkaloid, Vincaläuboblastin, is morphologically similar to that of colchicin in that it causes blocking of mitosis in early metaphase, but there are clinical and experimental differences between the two substances. The blocked mitoses show qualitative alterations in the form of polycentric and shrunken types as well as abnormalities, scattered and degenerated forms, the frequency of which has been recorded on the basis of 300 differentiation of mitoses.

*Literatur:* 1 Albrecht M.: Acta haemat. 13, 8 (1955). — 2 Albrecht M. und I. Boll: Ärztl. Wschr. 1950, 485. — 3 Cardinali G., G. Cardinali und M. Aboul Enein: Verh. VIII. Kongr. Europ. Ges. Hämat.: I, 146 (1961). — 4 Cardinali G., G. Cardinali und J. Blair: Cancer Res. 21, 1542 (1961). — 5 Cardinali G., G. Cardinali, A. H. Handler und M. F. Agrifoglio: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 107, 891 (1961). — 6 Cutts J. H.: Cancer Res. 21, 168 (1961). — 7 Cutts J. H., C. T. Beer and R. L. Noble: Cancer Res. 20, 1023 (1960). — 8 Gerhartz H.: Cytostatica und ihre Wirkung auf Hämopoese, Hämoblastosen und Geschwülste. Habil. Schrift, Berlin 1958. — 9 Hampel K. E. und H. Gerhartz: Verh. dtsh. Ges. Inn. Med. 68, 256 (1962). — 10 Hampel K. E. und H. Gerhartz: Proc. VIII. Intern. Cancer Congr., Moskau 1962. — 11 Johnson J. S., H. F. Wright and G. H. Svoboda: J. Lab. Clin. Med. 54, 830 (1959). — 12 Koller P. C.: Progr. Biophys. 4, 195 (1954). — 13 Noble R. L., C. T. Beer and J. H. Cutts: Biochem. Pharm. 1, 347 (1958). — 14 Palmer C. G., D. Livengood, A. Warren, P. J. Simpson and J. S. Johnson: Exper. Cell Res. 20, 198 (1960). — 15 Soldati M. i M. Gaetani: Tumori 47, 87 (1961). — 16 Vaitkevicius V. K., R. W. Talley, J. L. Tucker and M. J. Breman: Cancer 15, 294 (1962). — 17 Walker D. G. and J. C. Wright: Cancer Chemother. Rep. 14, 139 (1961). —

Ansch. d. Verf.: Privatdozent Dr. H. Gerhartz und Dr. K. E. Hampel, 1 Berlin-Charlottenburg 9, I. Med. Klinik der Freien Universität, Spandauer Damm 130.