

their predominance in the cells is one of the chief causes of dwarfness of affected plants.

The addition of a suitable H-donor was favorable to mitosis in cells of orange roots which grew for 5 months

In the absence of both zinc and cystein, there was an average of three mitotic figures in each longitudinal section of the root tips. Roots from a parallel culture lacking zinc but receiving 5 p.p.m. cystein had an average of 16 mitotic figures per section. The greater number of mitoses in the latter sample is ascribed to the fact that cystein contains the group R-SH which can donate H, thereby enabling the cells to keep the di-hydroxy-phenols in a reduced state, whereas they would otherwise be oxidized to quinones by the polyphenol oxidase.

Normally, tissues would contain enough reducing substances to reduce quinones back to di-hydroxy-phenol derivatives. As fast as they tended to become dehydrogenated to diketones, they would be restored to the dienol stage and preserved from irreversible dehydrogenation.

HOWARD S. REED

College of Agriculture, University of California, Berkeley, Ca., February 10, 1949.

#### Zusammenfassung

Chinone, die durch Oxydation von Dihydroxyphenolen in durch Zinkmangel geschädigten Pflanzen entstehen, blockieren die Mitosen in jungen Geweben. Durch Cystein wird die Zahl der Mitosen erhöht. Phenanthraquinon hat einen ähnlichen antimitotischen Effekt. Wenn die Mitose gehemmt ist, dann erfolgt die Zellvergrößerung, soweit als möglich, ohne eine entsprechende Volumenzunahme des Kerns.

#### Action de l'arginase pure sur la croissance du cancer greffé de la Souris

L'arginase agit comme catalyseur dans l'hydrolyse de l'arginine en ornithine et urée. Dans les tumeurs, comme aussi dans les muscles de l'animal porteur de tumeur, on trouve environ 3 fois plus d'arginine libre que dans les muscles d'animaux sains<sup>1</sup>. Les déterminations du taux d'arginase dans les divers organes de la souris saine ont montré que le foie, la glande mammaire, le poumon et le rein contiennent les plus grandes quantités d'arginase, le foie étant de loin l'organe le plus riche en cette enzyme<sup>2</sup>. Dans les tumeurs du foie, le taux d'arginase est nettement diminué; par rapport au tissu normal, la tumeur ne contient plus que le 70% environ de l'activité de cet enzyme<sup>3</sup>. Dans des tumeurs de nature et d'origine très diverses, l'activité enzymatique oscille très peu autour d'une certaine valeur moyenne<sup>4</sup>. Chez la Souris porteuse de carcinome greffé, l'activité de l'arginase dans le foie et dans le rein diminue<sup>4</sup>. En somme, la transformation d'un tissu normal en tissu cancéreux s'accompagne d'une diminution d'activité de l'arginase dans ce même tissu et la greffe d'un cancer chez un animal sain entraîne une diminution d'activité enzymatique dans les organes sains de cet animal. Que la tumeur soit spontanée, provoquée ou greffée, elle exerce une action à distance, aussi bien sur un système enzymatique particulier tels que l'arginine-arginase-urée que sur les équilibres physico-chimiques plus généraux qui commandent la position des points isoélectriques par exemple<sup>5</sup>.

<sup>1</sup> G. KLEIN et W. ZIESE, Z. f. Krebsforsch. 37, 323 (1932).

<sup>2</sup> J. P. GREENSTEIN, W. V. JEURETTE, G. B. MIDER et J. WHITE, J. Nat. Cancer Inst. 1, 687 (1941). — J. P. GREENSTEIN et J. W. THOMPSON, ib. 4, 63, 271, 275 (1943).

<sup>3</sup> J. P. GREENSTEIN et F. M. LEUTHARDT, ib. 6, 197, 203, 211 (1946). — J. P. GREENSTEIN et H. W. CHALKLEY, ib. 6, 207 (1946).

<sup>4</sup> H. FUJIWARA, Z. physiol. Chem. 185, 1 (1929).

<sup>5</sup> F. VLÈS et A. DE COULON, Arch. Phys. Biol. 11, 1 (1933).

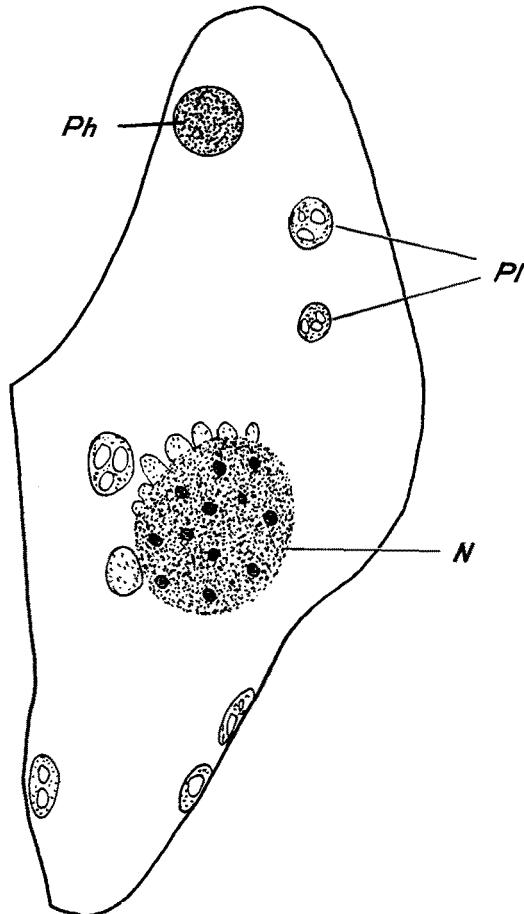


Fig. 3. — Hypertrophy and arrested mitosis of a mesophyll cell of a walnut leaf affected by zinc deficiency. N nucleus, Ph globule of phenolic material, Pl plastids. Iron alum-hematoxylin stain.

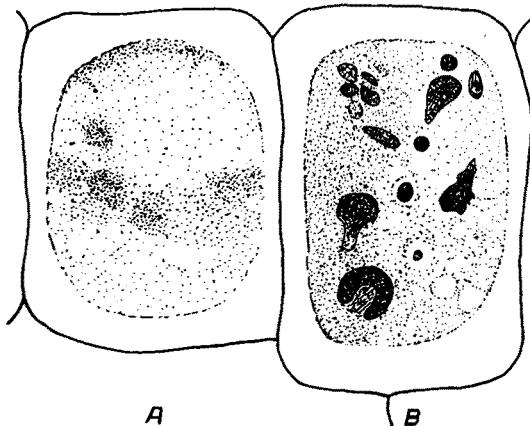


Fig. 4. — Effect of 1 p.p.m. phenanthraquinone on meristematic cells of a *Tradescantia* bud. A a cell which showed no conspicuous abnormality, B a cell in which there was distortion of chromosomes. Feulgen stain.

in nutrient solution lacking only zinc. Neutralized cystein hydrochloride (5 p.p.m.) was added to part of the cultures. Samples of roots from both series were removed 11 weeks later, sectioned, and stained for study.

L'un de nous ayant pu isoler et purifier l'arginase du foie de Mammifères<sup>1</sup>, il a paru intéressant de voir quelle serait l'action de cet enzyme sur la croissance du cancer greffé.

*Matériel et technique.* — 2 expériences successives ont été faites sur des lots de Souris mâles adultes, greffées avec l'adénocarcinome de la mammelle (souche Caspari). Les souris proviennent de notre élevage et peuvent être considérées comme génétiquement pures (croisements frères-soeurs pendant plus de 10 générations). Les injections sont faites dès le 1<sup>er</sup> jour après la greffe — sous la peau des flancs, à l'opposé du siège de la tumeur. Les témoins reçoivent au lieu de la solution d'arginase, une même quantité de solution physiologique (tableau I).

Tableau I

	Nb.	Animaux	Dose totale
I	10	Souris ♂	11,25 mg
	10	Souris ♂	26,50 mg
	10	Souris ♂	—
II	10	Souris ♂	26,00 mg
	10	Souris ♂	—

La croissance des tumeurs est appréciée par la mesure du plus grand et du plus petit diamètre de chaque tumeur; on peut alors calculer le volume de la tumeur en utilisant la formule de JOYET et MERCIER<sup>2</sup>.

$$V = K \pi a^2 b$$

où  $a$  représente le petit diamètre et  $b$  le grand diamètre. D'autre part, nous avons calculé le «diamètre moyen» des tumeurs en prenant la racine cubique du volume<sup>1</sup>. L'évolution du rapport

$$R = \frac{\sqrt[3]{V_A}}{\sqrt[3]{V_T}} \quad \begin{aligned} & V_A \text{ volume des tumeurs traitées} \\ & \text{par l'arginase} \\ & V_T \text{ volume des tumeurs témoins.} \end{aligned}$$

précise alors mieux que les courbes de croissance l'action de la substance utilisée. La variation de  $R$  indique la variation relative du diamètre moyen par rapport aux témoins. Indirectement, elle renseigne sur les modifications de l'activité des greffes.

Si l'arginase a une action stimulatrice sur la croissance la courbe d'accroissement du «diamètre moyen» ( $\sqrt[3]{V}$ ) aura une pente plus forte que celle des témoins et le rapport  $R$  ira en augmentant avec le temps. Dans le cas contraire, l'inhibition se traduira par une pente plus faible de la courbe d'accroissement du «diamètre moyen» et par une diminution progressive du rapport  $R$ . Si la substance étudiée n'a aucune action,  $R$  reste constant dans le temps. De plus, si les greffes ont en moyenne le même volume initial,  $R$  aura pour valeur 1,0 au début de l'expérience.

*Expériences et résultats.* — Les courbes de croissance des tumeurs des divers lots d'animaux résument une partie des observations (fig. 1). Les 2 lots de témoins ont évolué de la même manière. Dans la 1<sup>er</sup> expérience, les tumeurs du lot qui a reçu de faibles doses d'arginase avaient au début des mesures un volume moyen plus grand que les témoins. Leur croissance a été proportionnellement plus rapide que celle des témoins. Pour les animaux recevant de fortes doses d'enzyme, la croissance des greffes a été légèrement retardée, puis nettement inhibée.

Dans la seconde expérience, les greffes soumises à l'action de l'arginase ont de même été à la fois retardées et inhibées dans leur développement. On constate que

le retard est fonction du moment de l'arrêt des injections (tableau II).

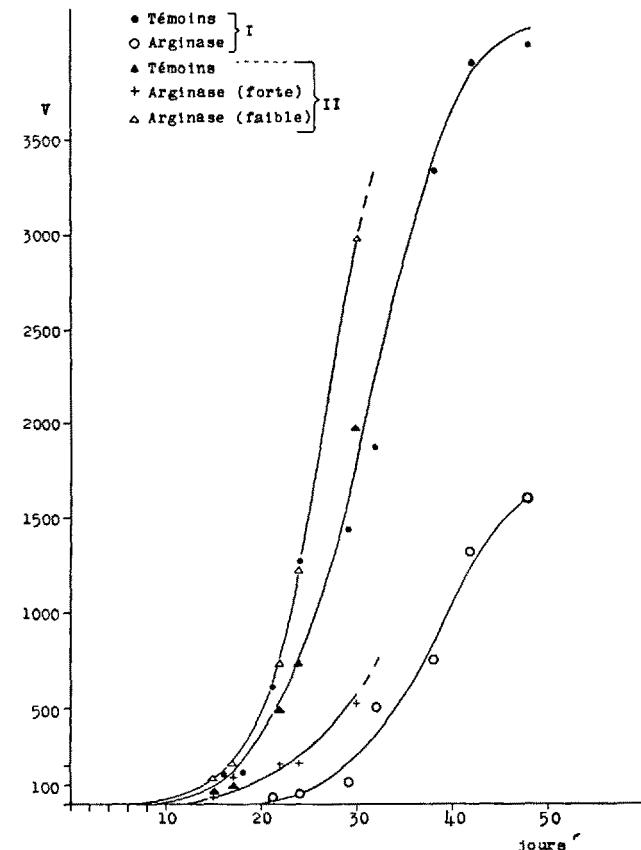


Fig. 1.

Tableau II

Exp. N°	Arrêt des injections	Début visible de la croissance	Retard
I	12 <sup>e</sup> jour	15 <sup>e</sup> jour	3 jours
II	17 <sup>e</sup> jour	21 <sup>e</sup> jour	4 jours

La survie des animaux est légèrement supérieure dans les lots qui ont reçu de fortes doses d'arginase (tableau III).

Tableau III

Injection	Dose	Survie	Poids moyen
Arginase	11,25 mg	57 jours	31,0 g
Arginase	26,50 mg	58 jours	28,6 g
Arginase	26,00 mg	60 jours	26,0 g
Solution physiologique		55 jours	29,9 g
		51 jours	33,0 g

Le poids moyen des animaux à la fin des expériences est donné dans le tableau III. Dans tous les lots, il y a eu augmentation du poids au cours de l'expérience.

Localement, l'injection répétée d'arginase aboutit à la formation d'une induration sous-cutanée, et quelques jours plus tard il apparaît une fistule. Cette induration se manifeste plus ou moins rapidement après la 5<sup>e</sup> injection quotidienne. La fistule se ferme en 5–6 jours,

<sup>1</sup> C. B. THOMPSON, Exper. 4, 432 (1948).

<sup>2</sup> G. JOYET et P. MERCIER, Bull. Soc. vaudoise Sci. nat. 61, 254 (1940).

lorsqu'on interrompt les injections. Ces manifestations ne se produisent pas avec la solution physiologique.

La variation relative des diamètres moyens des greffes soumises à l'action de l'arginase montre (fig. 2).

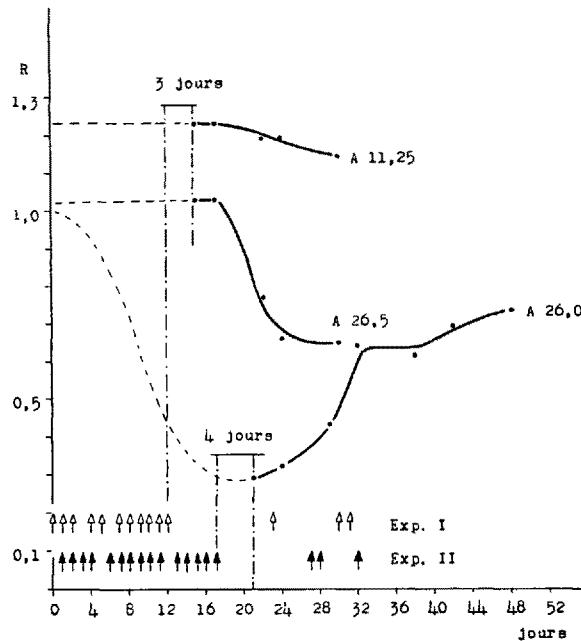


Fig. 2

1° Un ralentissement léger pour le lot qui a reçu une dose totale de 11,25 mg.

2° Un fort ralentissement pour le lot qui a reçu une dose totale de 26,5 mg.

3° Ce ralentissement est progressivement croissant, puis décroissant et ne se manifeste qu'assez tardivement. L'activité des greffes traitées avec de fortes doses est alors environ 35% plus faible que chez les témoins.

4° Un ralentissement précoce et considérable dans la 2<sup>e</sup> série d'expérience ayant pour effet un retard très marqué du développement des greffes par rapport aux témoins. Assez rapidement, l'activité augmente à nouveau et se stabilise à environ 65% de celle des témoins. Par la suite, elle tend à remonter vers des valeurs semblables à celles des témoins.

*Discussion et conclusions.* — L'arginase pure a une action inhibitrice certaine sur la croissance des greffes de l'adénocarcinome mammaire de la Souris. Cette action peut être plus ou moins rapide, plus ou moins profonde suivant la dose et le moment de l'interruption des injections. Elle n'est certainement pas immédiate, mais progressive et tend à stabiliser l'activité des greffes à une valeur bien déterminée. Toutefois, ce phénomène d'inhibition est réversible. Lorsque les animaux ne sont plus soumis à l'action de l'arginase, l'activité des greffes tend à remonter vers des valeurs semblables à celles des témoins.

Il n'est pas possible d'affirmer que l'arginase injectée a agi sur la tumeur de façon spécifique, puisque dans l'organisme porteur de tumeur greffée le taux de l'enzyme dans les organes sains est aussi diminué<sup>1</sup>. Tout semble se passer comme si le ferment surajouté rétablissait, pour un temps relativement limité, un certain équilibre du système arginine-arginase-urée, rompu dans tout l'organisme par la présence de la tumeur. Le ré-

tablissement de cet équilibre aurait donc pour conséquence indirecte un abaissement du taux de la prolifération et de la croissance cancéreuses.

S. NEUKOMM, C. B. THOMPSON et M<sup>le</sup> A. BOISSONNAZ

Laboratoires de recherches du centre anticancéreux romand et Policlinique médicale universitaire, Lausanne, le 10 décembre 1948.

### Summary

Pure arginase injected to mice grafted with adenocarcinoma (strain Caspary) has modified the rate of tumor growth (inhibition). It is difficult to conclude if this inhibition results from a local action on the tumor tissue or from a general modification in the tissues of the host.

### Spermienzahl und Hyaluronidasegehalt menschlicher Samen

KURZROK<sup>1</sup> und Mitarbeiter sind bei ihren systematischen Samenuntersuchungen wiederholt auf Samen gestoßen, die bei normaler Spermienzahl keine Hyaluronidaseaktivität zeigten. Sie hielten diese Spermata infolge Hyaluronidasemangel nicht für befruchtungsfähig. Schon bei unserer ersten Versuchsreihe aus den Jahren 1945/46 haben wir unter 76 Spermata von 53 Männern keinen entsprechenden Fall gefunden. Eine in letzter Zeit durchgeföhrte Nachkontrolle an 80 Spermata von 75 Männern hat zum gleichen Resultat geführt (s. Abbildung). Es besteht bei einer erheblichen

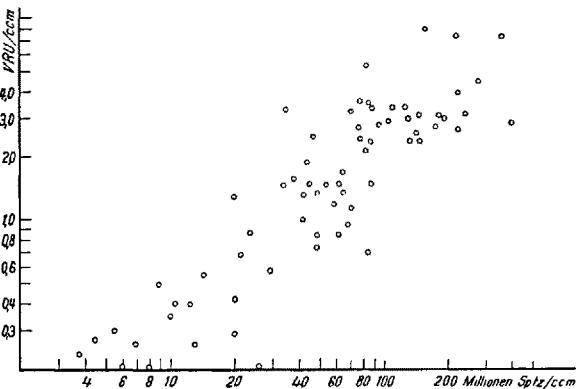


Abb. I. Spermienkonzentration in Millionen/cm<sup>3</sup>. Hyaluronidasegehalt in Viscosity Reducing Units (VRU). 1 VRU = diejenige Fermentmenge, die in dem angewandten System die Viskosität unseres Substrats in 30 Min. auf den Halbwert senkt.

Streuung doch eine ganz deutliche Korrelation zwischen Spermienzahl und Hyaluronidasegehalt des Samens.

Diese Abweichung unserer Untersuchungsergebnisse von denjenigen KURZROKS<sup>2</sup> und Mitarbeiter kann kaum zufällig sein. Möglicherweise ist die Verschiedenheit des Hyaluronidasenachweises dafür verantwortlich zu machen. Wir haben uns stets der Viskosimetrie (M/15 Phosphatpuffer pH 7,2, 30°C) bedient, die wir für zuverlässiger halten als den von den amerikanischen Autoren benützten Mucin Clot Prevention Test oder die turbidimetrische Methode. Ferner ist zu bedenken, daß

<sup>1</sup> E. EICHENBERGER, Gynaecologia 121, 288 (1946).

<sup>2</sup> R. KURZROK, S. L. LEONARD und H. CONRAD, Amer. J. Med. 1, 491 (1946). — P. L. PERLMAN, S. L. LEONARD und R. KURZROK, Endocrinology 42, 26 (1948). — D. A. SHERBER, CH. H. BIRNBERG und R. KURZROK, Endocrinology 42, 20 (1948).

<sup>1</sup> H. FUJIWARA, Z. physiol. Chem. 185, 1 (1929).