

Nachweis von Zellen des Walker-Karziomsarkoms 256 der Ratte in Lymphe und Blut

Autor(en): **Haemmerli, Gisela**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie Suisse des Sciences Medicales = Bollettino dell' Accademia Svizzera delle Scienze Mediche**

Band (Jahr): **20 (1964)**

PDF erstellt am: **28.04.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-307557>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Abteilung für Krebsforschung und experimentelle Pathologie des Pathologischen
Instituts der Universität Zürich – Leiter: Dr. Peter Sträuli

Nachweis von Zellen des Walker-Karzinoms 256 der Ratte in Lymphe und Blut¹

Von Gisela Haemmerli

Die Ausbreitung maligner Tumoren kann auf zwei Wegen erfolgen: hämatogen und lymphogen. Die Metastasierung auf hämatogenem Weg ist gründlich untersucht, während die Ausbreitung über das Lymphsystem, vor allem über die Lymphe des Ductus thoracicus, weniger genau bekannt ist. Erst während der letzten Jahre begann man den Ductus thoracicus systematisch auf seinen Anteil an der Disseminierung bösartiger Tumoren zu untersuchen. 1960 erschienen gleichzeitig von *Watne* u. Mitarb. in Amerika sowie von *Ottaviani* u. Mitarb. in Italien die ersten Berichte über den Nachweis freier Tumorzellen in der Lymphe krebserkrankter Patienten.

Während es sich bei diesen Untersuchungen um klinische Arbeiten handelte, wählten wir ein experimentelles System, um den Anteil des Ductus thoracicus an der Ausbreitung maligner Tumoren zu prüfen: die Katheterisierung des Ductus bei Ratten, die intraperitonäal mit der Ascitesform des Walker-Karzinoms 256 implantiert worden waren. Mit dieser Versuchsanordnung hofften wir zwei Fragen beantworten zu können:

1. In welchem Ausmaß ist der Ductus thoracicus an der Aussaat von Tumorzellen beteiligt?
2. Zu welchem Zeitpunkt nach Transplantation sind zum erstenmal Tumorzellen in der Lymphe nachweisbar?

Methode

Die Katheterisierung des Ductus wurde bei insgesamt 37 männlichen CFN Ratten im Gewicht von 200 g durchgeführt. 32 Tiere erhielten je

¹ Unterstützt vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.

1 ml Walker-Ascitestumor intraperitonäal implantiert; fünf normale Tiere dienten zur Kontrolle. Die Katheterisierung erfolgte bei den Ascitestieren 8, 16, 24 Stunden nach Implantation sowie am 2., 3., 4. und 5. Tag.

Die verwendete Technik basierte auf Angaben, die *Reinhardt* 1945 veröffentlichte. Sie wurde in der Abteilung für Krebsforschung des Pathologischen Instituts der Universität Zürich von *Azargoshasb* modifiziert und vereinfacht. Die Tiere erhalten 2–6 Stunden vor der Operation zur besseren Sichtbarmachung des Ductus 4 ml Öl durch eine Oesophagussonde. Der Ductus der anästhesierten Ratten wird vom Hals aus freigelegt und unmittelbar vor der Einmündungsstelle in den linken Venenwinkel ein heparinisierter Polyäthylenkatheter eingelegt. Der Katheter wird an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen, die Lymphe für eine halbe bis eine Stunde abgesaugt und in einem silikonisierten Glasgefäß gesammelt. Das auf diese Weise gewonnene Material wird bei 500 rpm für 10 Minuten zentrifugiert, das Überstehende abgegossen und das Zentrifugat teils auf Millipore Filtern (Porengröße $5,0\ \mu$) angereichert, teils auf Objektträgern ausgestrichen. Die Millipore Filter werden nach den Angaben von *Kistler* und *Bischoff* mit Methylenblau-Carbofuchsin gefärbt, die Ausstriche nach Pappenheim und Giemsa; einige wurden mit Akridin-Orange fluorochromiert.

Außer der Katheterisierung zur Gewinnung von Lymphe wurde bei einigen Tieren das periphere Blut auf Tumorzellen untersucht. Diese Untersuchungen stießen jedoch mit der bei uns verwendeten Methode der Buffy-Coat-Herstellung auf derart große technische Schwierigkeiten, daß wir dazu übergingen, eventuell vorhandene Tumorzellen mit einer indirekten Methode nachzuweisen. Herzblut und linke Lunge von 20 katheterisierten, tumortragenden Tieren wurden in je zwei normale CFN-Ratten implantiert: je 1 ml Herzblut intraperitoneal, je 1 ml Lungenbrei s.c.

Ergebnisse

Die Resultate der cytologischen Untersuchung der Lymphe wurden in Tabelle 1 zusammengefaßt. Von 32 katheterisierten Ratten, die mit der Ascitesform des Walker-Tumors implantiert waren, fanden sich bei 12 Tieren freie Tumorzellen in der Lymphe. Das sind 37,5%. Der früheste von uns erfaßte Zeitpunkt ihres Erscheinens war 16 Stunden nach intraperitonäaler Transplantation.

Die cytologische Diagnose der Walker-Asciteszellen in der Lymphe wurde auf Grund der Größe dieser Zellen gestellt, auf Grund ihres großen Kerns mit den bizarren Nucleolen, die häufig durch Chromatinbrücken

Tabelle 1

Ergebnisse der Katheterisierung des Ductus thoracicus bei 32 CFN-Ratten, intraperitonäal implantiert mit der Ascitesform des Walker-Karzinoms 256

I.P. Implantation von Walker-Ascites	Katheterisierung des Ductus thoracicus		
	Gesamt	positiv	negativ
8 Stunden	2	0	2
16 Stunden	4	2	2
24 Stunden	6	2	4
2. Tag	6	2	4
3. Tag	6	1	5
4. Tag	4	3	1
5. Tag	4	2	2
Total	32	12	20

miteinander verbunden sind, sowie ihres, vor allem bei der Methylenblau-Carbolfuchsin-Färbung, tiefblauen Cytoplasmas (Bild 1 und 2). Nach Fluorochromierung mit Akridin-Orange zeigt ihr Plasma infolge seines reichen Gehaltes an RNS eine leuchtend rote Fluoreszenz.

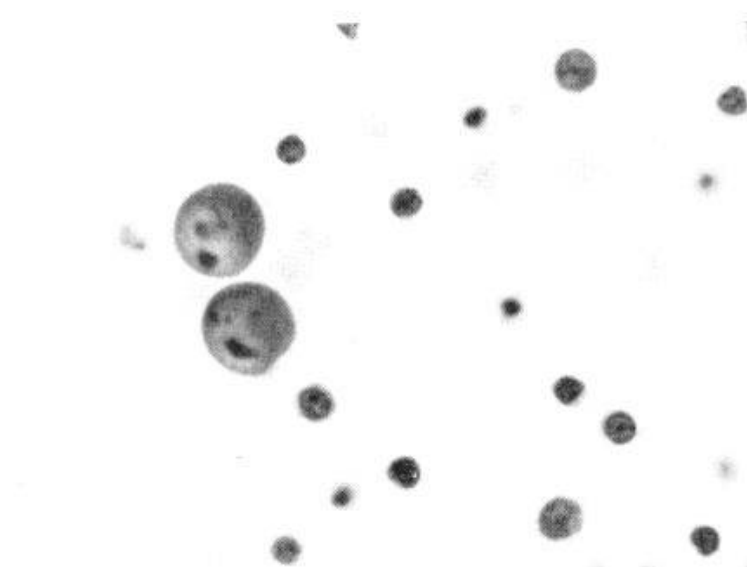


Abb. 1. Zellen in der Lymphe des Ductus thoracicus (zwei Tumorzellen) 24 Stunden nach i.p. Transplantation von Walker-Karzinom 256 Millipore Filter (5,0 μ)
Färbung: Methylenblau – Carbolfuchsin. Vergr.: 1:800.

Die Tumorzellen mußten von anderen großen Zellelementen abgegrenzt werden, die schon 8 Stunden nach Transplantation in großer Zahl in der Lymphe tumortragender Tiere auftraten, in der normalen Lymphe dagegen wesentlich seltener nachgewiesen werden konnten. Es handelte sich um verschiedene Formen unreifer Elemente der lymphatischen Reihe (Bild 3 und 4). Gleichzeitig entnommene Abdrücke

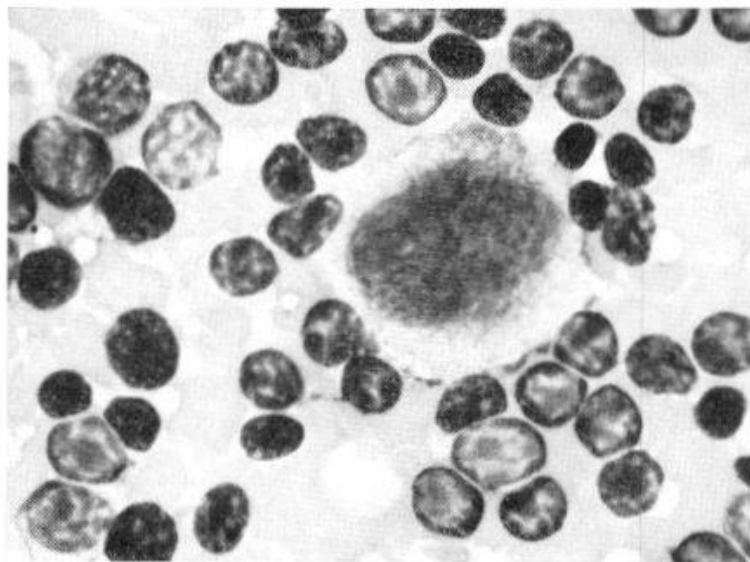


Abb. 2. Zellen in der Lymphe des Ductus thoracicus (eine Tumorzelle) 24 Stunden nach i.p. Transplantation von Walker-Karzinom 256. Ausstrich Präparat. Färbung: Giemsa. Vergr.: 1:900.

paratrachealer Lymphknoten ließen erkennen, daß diese Zellen vermehrt im lymphatischen Gewebe gebildet wurden.

Tabelle 2 faßt die Resultate der Versuche zusammen, Tumorzellen des peripheren Blutes indirekt bei 20 katheterisierten Tieren nachzuweisen. Die intraperitonäale Implantation von Herzblut ergab in 6 Fällen einen Ascitestumor. Die subcutane Lungentransplantation hatte bei 12 Tieren solides Tumorstadium zur Folge. Ein zahlenmäßiger Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Tumorzellen in der Lymphe und der Entstehung von Tumoren nach Transplantation von Herzblut und Lunge war nicht zu erkennen.

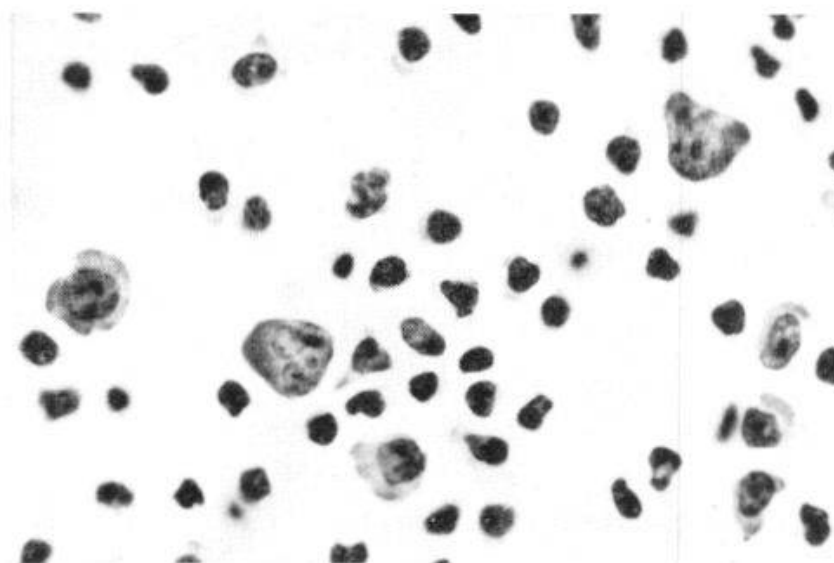


Abb. 3. Unreife lymphatische Elemente in der Lymphe des Ductus thoracicus 8 Stunden nach i.p. Transplantation von Walker-Karzinom 256 Millipore Filter (5,0 my). Färbung: Methylenblau – Carbolfuchsin. Vergr.: 1:780.

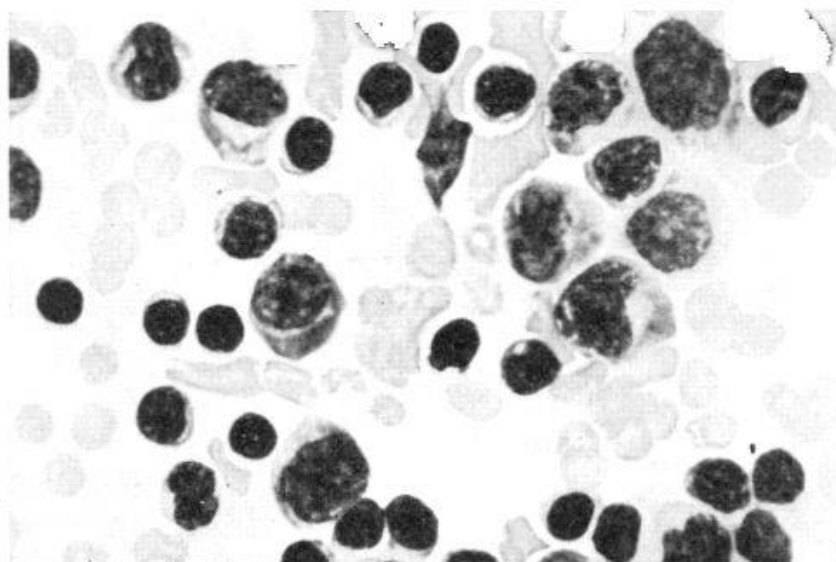


Abb. 4. Unreife lymphatische Elemente in der Lymphe des Ductus thoracicus 8 Stunden nach i.p. Transplantation von Walker-Karzinom 256. Ausstrich Präparat. Färbung: Giemsa. Vergr.: 1:780.

Tabelle 2

Ergebnisse der Versuche des indirekten Nachweises von Tumorzellen im zirkulierenden Blut von CFN-Ratten, intraperitonäal implantiert mit der Ascitesform des Walker-Karzinom 256

I.P. Implantation von Walker-Ascites	Implantation in normale CFN-Ratten				
	Gesamt	Herzblut i.p.		Lunge s.c.	
		positiv	negativ	positiv	negativ
8 Stunden	1	0	1	0	1
16 Stunden	3	1	2	1	2
24 Stunden	3	1	2	2	1
2. Tag	5	2	3	3	2
3. Tag	3	1	2	2	1
4. Tag	3	1	2	3	0
5. Tag	2	0	2	1	1
Total	20	6	14	12	8

Diskussion

In der beschriebenen Versuchsordnung konnten bei 37,5% der insgesamt 32 verwendeten Ratten mit Walker-Ascitestumor freie Tumorzellen in der Lymphe nachgewiesen werden. Diese Zellen fanden sich zum erstenmal 16 Stunden nach intraperitonäaler Transplantation. Wir nehmen an, daß sie durch direkte lymphatische Verbindungen und nicht über Lymphknotenstationen in den Ductus gelangten. Die Überschreitung einer Lymphknotenbarriere innerhalb 16 Stunden halten

wir für unwahrscheinlich. Die Untersuchung der Ductus thoracicus-Lymphe von Ratten mit Ascitestumoren erlaubt somit eine Früherfassung der lymphogenen Metastasierung. Die Frage nach einer gleichzeitigen Aussaat über das hämatogene System kann nicht beantwortet werden. Tumorzellen gelangen von der Bauchhöhle sehr rasch in die Lymphe des Ductus thoracicus. Von dort werden sie weiter in den Blutstrom transplantiert. Das bedeutet, daß ein direkter oder indirekter Nachweis von Tumorzellen im peripheren Blut nicht beweisend sein muß für eine ausschließlich hämatogene Streuung.

Das gehäufte Auftreten der unreifen lymphatischen Elemente in der Lymphe halten wir für das Ergebnis einer Reaktion des Wirtes auf die intraperitonäale Implantation. Die zeitliche Abhängigkeit des Erscheinens dieser Zellen von der Transplantation, sowie ihre Bedeutung im Rahmen des Tumor-Wirt-Problems wollen wir zum Gegenstand weiterer Untersuchungen machen.

Zusammenfassung

Die Disseminierung bösartiger Tumoren kann auf zwei Wegen erfolgen: hämatogen und lymphogen. Die Bedeutung des lymphatischen Systems, vor allem der Lymphe des Ductus thoracicus, wird durch die Nachweisbarkeit von Tumorzellen in der Lymphe bewiesen. Katheterisierung des Ductus thoracicus bei 32 CFN-Ratten, die mit der Ascitesform des Walker-Karzinoms 256 intraperitonäal implantiert waren, ergab bei 12 Tieren freie Tumorzellen in der Lymphe. Ihr frühestes Auftreten erfolgte in unserer Versuchsanordnung 8 Stunden nach Implantation.

Tumorzellen im Blut wurden auf indirekte Weise nachgewiesen, d.h. durch erfolgreiche Transplantation von Herzblut und Lungen tumortragender Tiere in normale CFN-Ratten.

Das relativ frühe Erscheinen von Tumorzellen in der Lymphe des Ductus thoracicus bedeutet, daß der Nachweis von Tumorzellen im peripheren Blut nicht beweisend sein muß für eine ausschließlich hämatogene Streuung.

Résumé

La dissémination des tumeurs malignes peut se faire de deux façons: par voie hématogène ou par voie lymphatique. L'importance du système lymphatique, et surtout de la lymphe du conduit thoracique, est confirmée par la mise en évidence de cellules tumorales dans la lymphe. Le cathétérisme du conduit thoracique chez 32 rats CFN auxquels la forme ascitique du carcinosarcome 256 de Walker avait été implantée par voie

intrapéritonéale a permis de déceler chez 12 de ces animaux des cellules tumorales en suspension dans la lymphe. Leur apparition s'est faite au plus tôt 8 heures après l'implantation.

Des cellules tumorales dans le sang ont été démontrées d'une façon indirecte, en transplantant du sang cardiaque et du tissu pulmonaire d'animaux porteurs de tumeurs dans des rats normaux CFN.

L'apparition relativement rapide de cellules tumorales dans la lymphe du conduit thoracique signifie que la mise en évidence de cellules tumorales dans le sang périphérique n'est pas une preuve de dissémination uniquement par voie hématogène.

Riassunto

La disseminazione di tumori maligni può avvenire attraverso due vie: sanguigna e linfatica. L'importanza del sistema linfatico, specialmente della linfa del condotto toracico è provata per la possibilità di determinare cellule tumorali nella linfa.

La caratterizzazione del condotto toracico di 32 ratti CFN ai quali la forma ascitica del carcinosarcoma 256 di Walker era stata impiantata per via intraperitoneale rivelò la presenza di cellule tumorali libere nella linfa di 12 animali. La loro prima apparizione ebbe luogo nel nostro esperimento 8 ore dopo l'innesto.

Nel sangue, le cellule tumorali furono identificate in modo indiretto, vale a dire con un trapianto di sangue cardiaco e di polmoni d'animali portatori di tumori su ratti CFN normali.

L'apparizione relativamente rapida di cellule tumorali nella linfa del condotto toracico significa che la determinazione di cellule tumorali nel sangue periferico non deve essere prova di una disseminazione esclusivamente per via sanguigna.

Summary

The dissemination of malignant tumours occurs either by the haematogenous or the lymphogenous route or both of them. The importance of the lymphatic system is emphasized by the occurrence of free tumour cells in the lymph of the thoracic duct. Thoracic duct cannulation was performed in 32 CFN rats, intraperitoneally implanted with the ascitic form of Walker carcinosarcoma 256. Tumour cells were present in 12 animals, the earliest appearance being eight hours after transplantation.

The presence of tumour cells in the blood was demonstrated by successful subcutaneous implantation of heart blood and lungs from tumour-bearing animals into healthy CFN rats.

The relatively early appearance of tumour cells in the thoracic-duct-lymph clearly indicates the presence of tumour cells in the blood not being exclusively due to hematogenous dissemination.

1. *Azargoshasb K.*: Ductus thoracicus und Ductus thoracicus – Lymphe der Ratte. Diss. Zürich 1963.
2. *Burns J. I., Watne A. L. und Moore G. E.*: The role of the thoracic duct in cancer dissemination. *Brit. J. Cancer* **16**, 608–615 (1962).
3. *Kistler G. S. und Bischoff A.*: Zur exfoliativen Cytologie kleiner Flüssigkeitsmengen. *Schweiz. med. Wschr.* **92**, 863 (1962).
4. *Ottaviani G., Satta M., Goffrini P. und Zanella E.*: Osservazioni supravitali sulla linfa del dotto toracico in pazienti portatori di carcinomi dell'apparato digerente. *Ateneo parmense* **31**, 239–253 (1960).
5. *Reinhardt William O.*: Rate of flow and cell count of rat thoracic duct lymph. *Proc. Soc. exp. Biol. (NY)* **58**, 123–124 (1945).
6. *Watne A. L., Hatiboglu I. und Moore G. E.*: A clinical and autopsy study of tumor cells in the thoracic duct lymph. *Surg. Gynec. Obstet.* **110**, 339–345 (1960).