

DER CLASTOGENE EFFEKT VON TRENIMON[®] AUF DIE CHROMOSOMEN IN VITRO VON PHAENOTYPISCH GESUNDEN PERSONEN MIT MORPHOLOGISCH ANOMALEM KARYOTYP*

HANNES MEIST

Institut für Humangenetik und Anthropologie der Universität Erlangen-Nürnberg

Clastogenic Effect of Trenimon[®] on in Vitro Chromosomes of Phenotypically Healthy Subjects with Morphologically Abnormal Karyotype

The effect of a given concentration of Trenimon[®] (6×10^{-8} mol/l) on the lymphocytes of 11 healthy subjects with morphologically abnormal karyotype was analysed in vitro. The research included 6 subjects with balanced translocations, one of them with a centric fusion. Of the remaining 5 subjects, 2 had a duplication in the paracentric region, 1 showed an inversion, and 2 had a marker chromosome.

In the group with morphologically abnormal chromosomes a higher sensibility to the influence of Trenimon[®] was found as compared with a control group with morphologically normal karyotype. The subjects with an atypical karyotype had 36 to 65% aberrations, the control group 28%. A localization of the breaks showed no increased aberration rates in the morphologically abnormal chromosomes.

EINLEITUNG

Die Prüfung von mutagenen Agentien, insbesondere von Substanzen, die als Arzneimittel verwendet werden, ist in der humangenetischen Forschung bereits Routine.

Bevorzugtes Testsystem sind dabei die von Moorhead et al. (1960) entwickelten Lymphozytenkulturen, die sich für diesen Zweck als besonders günstig erwiesen haben (Hampel 1968, Gebhart 1968, Wissmüller 1974), so dass nur in Einzelfällen Knochenmarkzellen oder Fibroblasten als Untersuchungsmaterial herangezogen werden (z. Vause u. Mc Dougall 1970, B. Gebhart 1973). In der Regel wird dabei der clastogene Effekt der Agentien an Kulturmaterial von Probanden mit normalem weiblichen oder männlichen Karyotyp untersucht. Zellmaterial mit atypischem Chromosomensatz wurde kaum, bzw. nur unter sehr speziellen Gesichtspunkten berücksichtigt. So wurden mehrfach Zellen von Patienten mit Down-Syndrom hinsichtlich einer erhöhten Radiosensibilität untersucht (Dekaban et al. 1966, Chudina et al. 1966, Kucerova 1967, Sasaki u. Tonomura 1969). Sasaki et al. (1970) erweitern zwar den Probandenkreis auf andere Chromosomenstörungen (Trisomien und verschiedene morphologische Aberrationen) beziehen sich aber ebenfalls auf die Radiosensibilität.

* Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.

Untersuchungen mit einem chemischen Aberrationsinduktor (es wurde ein Anthracen verwendet) führte O'Brien et al. (1971) an Zellmaterial mit einer Trisomie 21 durch. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen haben ausserdem wertvolle Hinweise über einen Zusammenhang von Oncogenese und morphologischen Chromosomenanomalien erbracht, z. B. das gehäufte Auftreten von malignen Systemerkrankungen beim Down Syndrom (nach Sasaki u. Tonomura 1969).

Durch die Einbeziehung möglichst vieler verschiedener chromosomaler Anomalien in Kombination mit einem, bisher in diesem Zusammenhang noch nicht verwendeten Aberrationsinduktor bot sich uns jedoch die Möglichkeit, weitere wichtige Aufschlüsse über die Sensibilität von Zellmaterial mit anomalem Chromosomensatz gegenüber mutagenen Agentien zu erhalten.

Bedeutsam erschien hierbei besonders, dass die untersuchten phänotypisch gesunden Personen mit morphologisch verändertem Chromosomensatz insofern eine Zwischenstellung zwischen missgebildeten Personen mit unbalancierten Chromosomenaberrationen und sowohl phänotypisch als auch chromosomal unauffälligen Personen einnehmen, als sie eine Gruppe darstellen, deren genetisches Material zwar in normalem Umfang aber in veränderten Anordnung vorliegt. Diese Gruppe unterscheidet sich bisherigen Beobachtungen zufolge klinisch nicht von Personen mit normalem Karyotyp.

Zunächst sollte geklärt werden, ob eventuell eine erhöhte Sensibilität gegenüber chemischen Mutagenen besteht und falls ja, ob diese als Grund für die morphologische Anomalie angesehen werden kann. Ausserdem bestand die Möglichkeit, dass eine Erhöhung der Sensibilität durch die morphologisch abnormen Chromosomen bedingt sein könnte, etwa durch unvollständige Verschmelzung von Bruchstellen nach Translokationen.

MATERIAL UND METHODE

Kulturtechnik

Untersucht wurden Lymphozytenkulturen aus dem peripheren Blut mit der von Moorhead et al. (1960) angegebenen Methode bei geringfügiger Modifikation.

Eine Kultur bestand aus 20 Tropfen Vollblut, 2 ml fetalem Kälberserum, 0,2 ml Phytohämagglutinin, sowie 6 ml Medium (Difco TC 199). 24 Stunden vor dem Aufbereiten wurden dem Versuchsansatz 6 Tropfen einer frisch zubereiteten Trenimonlösung (2,3,5-Trisäthylenimino-benzo-chinon) zugegeben. Damit wurde in der Kultur eine Trenimonkonzentration von $6 \cdot 10^{-8}$ Mol/l erreicht. Die gesamte Kulturdauer betrug 72 Stunden. 2 Stunden vor dem Aufbereiten der Kulturen wurden zur Anreicherung mit Mitosen je 0,2 ml einer 0,02 %igen Colcemidlösung zugesetzt. Die Trenimonkonzentration wurde entsprechend einer Schwellenwertuntersuchung von Kaufmann (1972) festgelegt. In dieser Konzentration induziert die Substanz eine für die statistische Beurteilung ausreichende Zahl von Aberrationen. Eine höhere Konzentration hätte sicher die statistischen Bewertungsmöglichkeiten verfeinert, gleichzeitig jedoch, durch das Auftreten multipler Aberrationen in den einzelnen Metaphasenplatten, die mikroskopische Differenzierung dieser Aberrationen erschwert, bzw. unmöglich gemacht. Gefärbt wurden die untersuchten Präparate mit Orcein-Eisessig.

Auswertung

Die Auswertung erfolgte im Phasenkontrastmikroskop bei 1250 facher Vergrösserung. Dabei wurden nur gut ausgebreitete Metaphasenplatten ausgewertet, d. h. Metaphasen mit keiner oder geringer Ueberschneidung der Einzelchromosomen. Unterteilt wurden die beobachteten Aberrationen in üblicher Weise in Gaps, Brüche und Austauschfiguren (Gebhart 1970, Meist 1971).

Für den Versuchsansatz bei Probanden mit morphologischer Chromosomenanomalie wurde

zusätzlich eine Zuordnung der Chromosomenaberrationen zu bestimmten Chromosomengruppen vorgenommen. Diese Einteilung erfolgte entsprechend der Chicago Conference (1966) in die Gruppen A-G. X-Chromosomen wurden in der Gruppe C + X aufgeführt, die Störungen an A-Chromosomen zusätzlich in A₁, A₂ und A₃ klassifiziert. Y-Chromosomen wurden tabellarisch nicht berücksichtigt.

Um die Kulturansätze gegen methodische Fehler abzusichern, wurden von jeder Blutprobe vier Kulturen angesetzt. Je zwei dienten als Kontrollen, zwei wurden mit Trenimon behandelt. Soweit möglich wurden dann aus jeder Kultur 50 Mitosen ausgewertet. Die tabellarischen Angaben beziehen sich daher immer auf 100 Mitosen pro Ansatz.

Probanden

Bei der Untersuchung wurden zwei Gruppen von Probanden verglichen. Die erste, die als Kontrolle diente, bestand aus phänotypisch normalen Personen mit unauffälligem Karyotyp (Studenten und Institutspersonal), die andere aus phänotypisch ebenfalls nicht auffälligen Personen mit morphologisch abnormem Karyotyp.

Die Personen der zweiten Gruppe waren im Rahmen von zytogenetischen Untersuchungen bei Familien von Kindern mit unbalancierten strukturellen Chromosomenaberrationen gefunden und analysiert worden.

Die dabei angewandte Technik der Chromosomenstrukturanalyse entsprach mit geringer Modifizierung der von Schnedl (1971) angegebenen Methode der Giemsa-Banden-Technik.

Dabei handelte es sich im einzelnen um fünf balancierte Translokationen (46, XX, t(2q+; 18q-); 46, XX, t(3p-; 22 p+); 46, XY, t(4p-; 22 p+); 46, XX, t(8q+; 9q-); 46, XX, t(13q-; 16 q+)), eine perizentrische Inversion (46, XY, inv (5p-; q+), zwei Verdoppelungen des centromernahen Abschnittes bei Chromosom 16 (46, XX, 16 q+ und 46, XY, 16 q+), zwei Markerchromosomen (46, XX, 17 ph+, 46, XY, 17ph+) und eine Translokation mit zentraler Fusion (45, XY, t(13 q; 14q).

ERGEBNISSE

Die Aberrationsraten der unbehandelten Kulturen waren sowohl für die Kontrollgruppe mit morphologisch unauffälligem Karyotyp als auch bei den Probanden mit anormalem Karyotyp im Bereich der Norm (Meist 1971). Allerdings lag der Mittelwert der Spontanaberrationen bei der Probandengruppe mit 5,5% (Tab. 1, Spalte a) höher, als bei der Kontrollgruppe (Tab. 1, Spalte a) mit 4,3% Aberrationen.

TABELLE 1
ABERRATIONEN IN DER KONTROLLGRUPPE
(10 Personen mit morphologisch unauffälligem Chromosomensatz)

Proband Nr.	G'		G''		B'		B''		E		Zellen mit Aberrationen in %		Differenz aus a - b
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	
	1	2	5	—	4	1	8	1	28	—	1	4	
2	1	—	1	1	—	4	—	28	—	7	2	28	26
3	1	9	—	7	2	6	6	14	—	2	8	28	20
4	2	5	—	16	3	7	1	18	—	1	6	35	29
5	—	1	2	1	3	6	1	36	—	—	6	36	30
6	1	8	1	4	2	5	—	26	—	4	4	36	32
7	5	6	—	6	—	19	1	65	—	8	5	58	53
8	1	7	—	5	2	16	3	44	—	3	6	50	44
9	—	3	—	4	—	10	1	25	—	3	1	36	35
10	—	5	1	2	—	11	—	34	—	—	1	36	35

a = Spontanaberrationen; b = durch Trenimon induzierte Aberrationen; G' = Chromatidgap; G'' = Isochromatidgap; B' = Chromatidbruch; B'' = Isochromatidbruch; E = Austauschfiguren.

KARYOGRAMME DER PROBANDEN MIT MORPHOLOGISCHER CHROMOSOMENANOMALIE

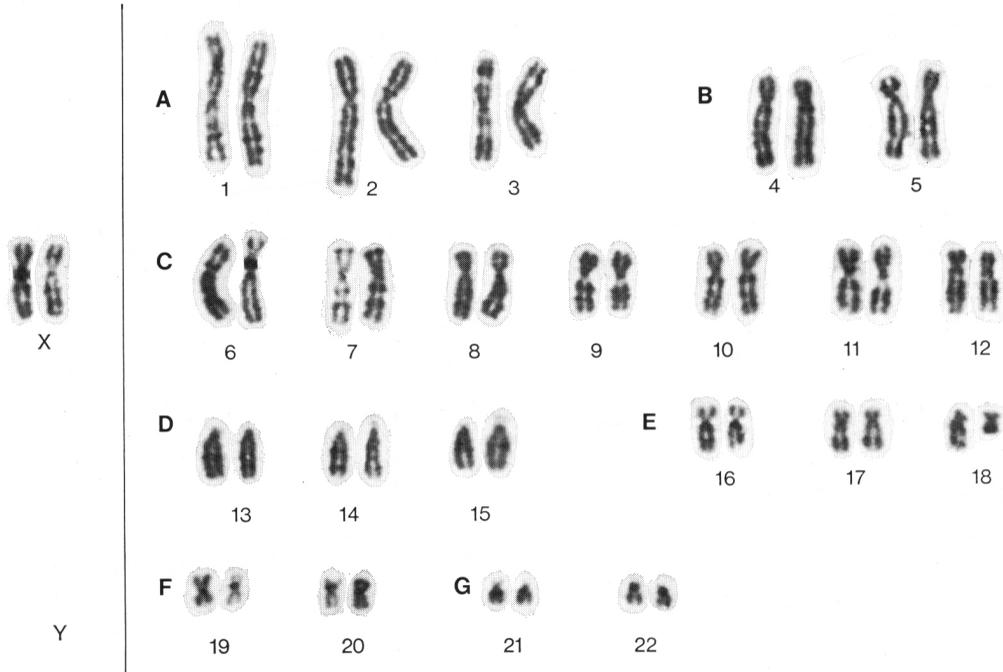


Abb. 1. Balancierte Translokation 2/18; Karyotyp: 46,XX, t(2q+; 18q—).



Abb. 2. Balancierte Translokation 3/22; Karyotyp: 46,XX, t(3q—; 22p+).

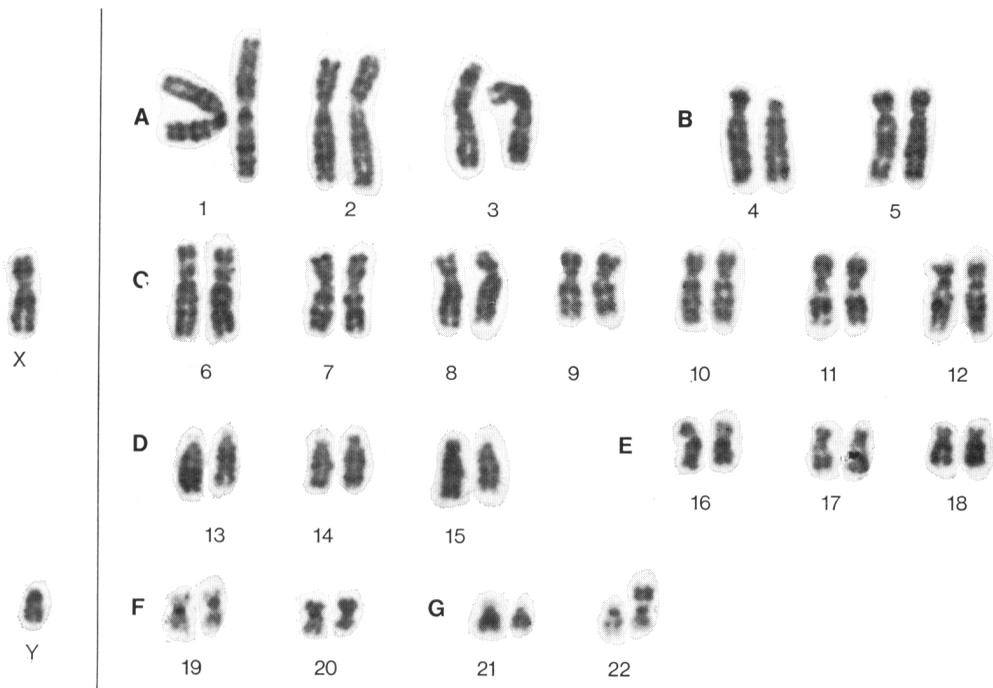


Abb. 3. Balancierte Translokation 4/22; Karyotyp: 46,XY, t(4p—; 22 p+).

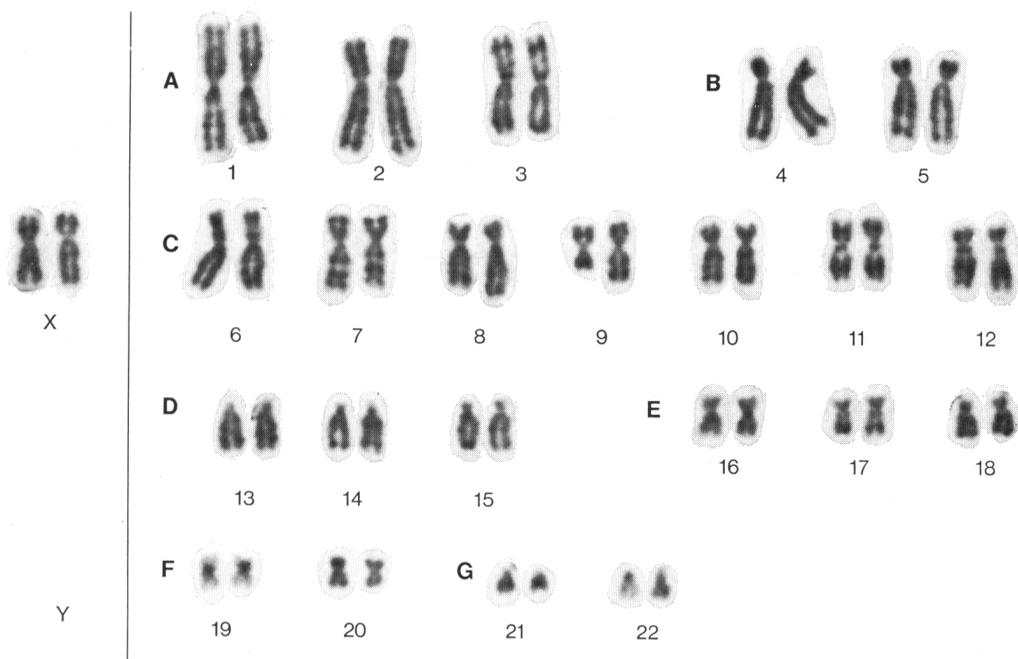


Abb. 4. Balancierte Translokation 8/9; Karyotyp: 46,XX, t(8q+; 9q—).

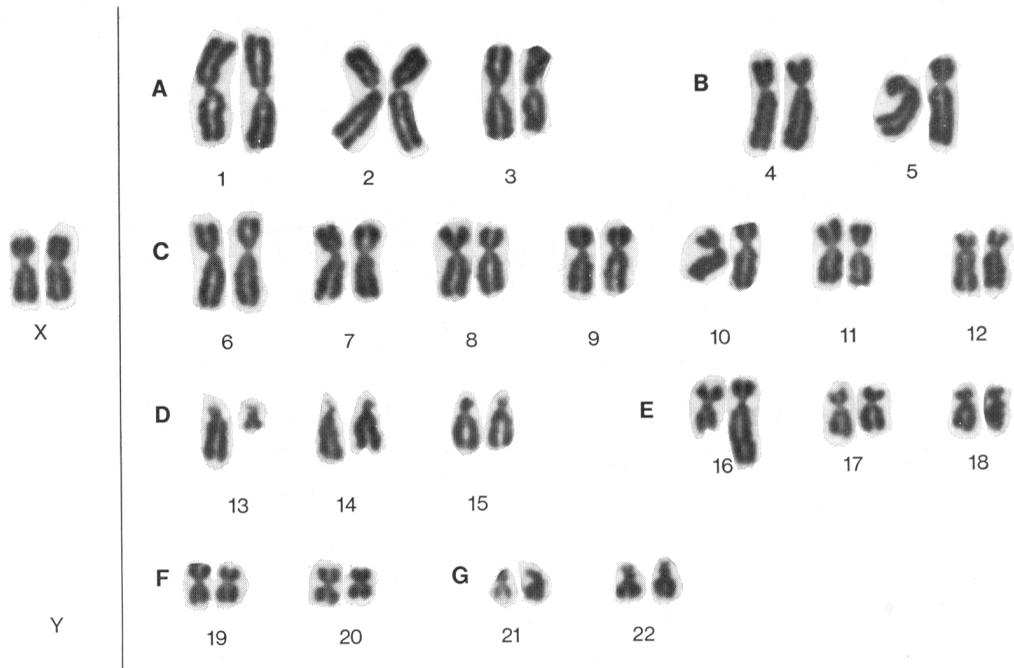


Abb. 5. Balancierte Translokation 13/16; Karyotyp: 46,XX, t(13q—; 16q+).

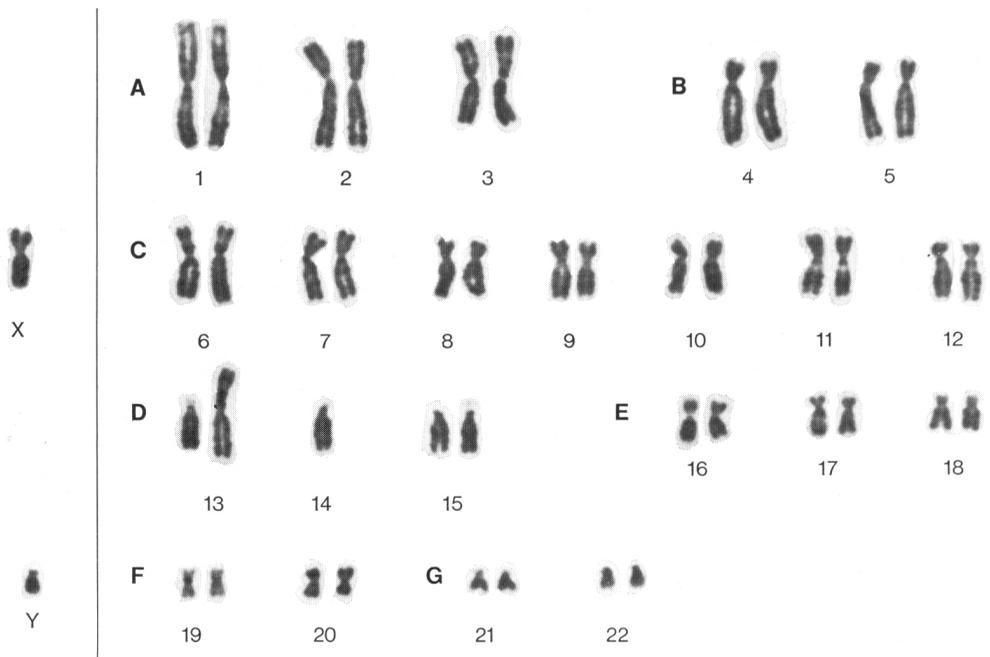


Abb. 6. Balancierte Translokation 13/14 mit zentraler Fusion; Karyotyp: 45,XY, t(13q; 14q).

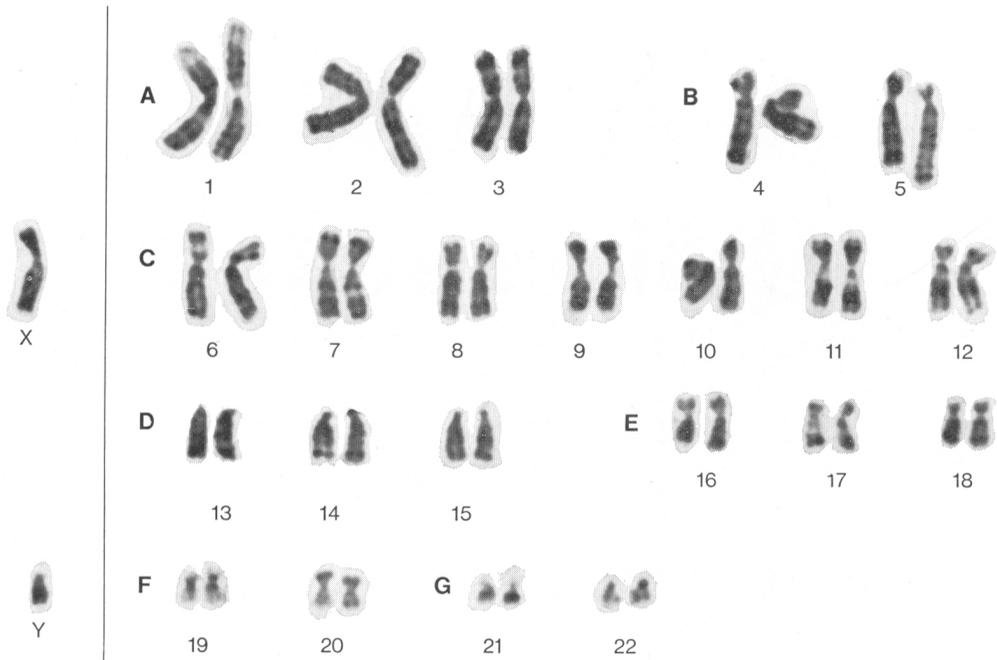


Abb. 7. Perizentrische Inversion 5; Karyotyp: 46,XY, inv (5p—; q+).

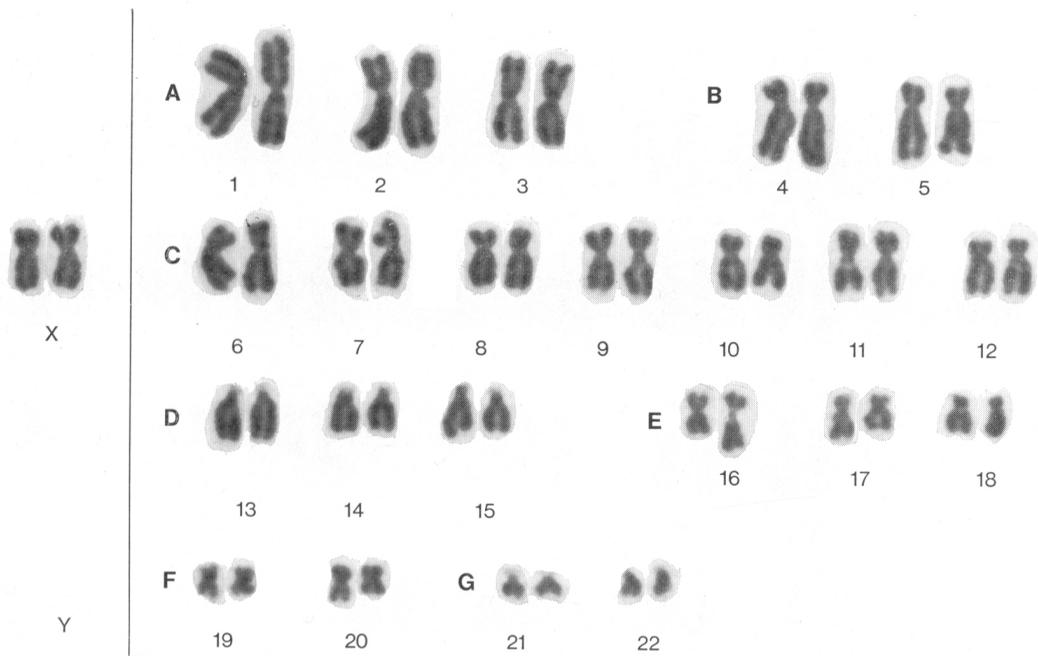


Abb. 8. Verdoppelung des zentromernahen Abschnittes bei Chromosom 16; Karyotyp: 46,XX, 16 q+.

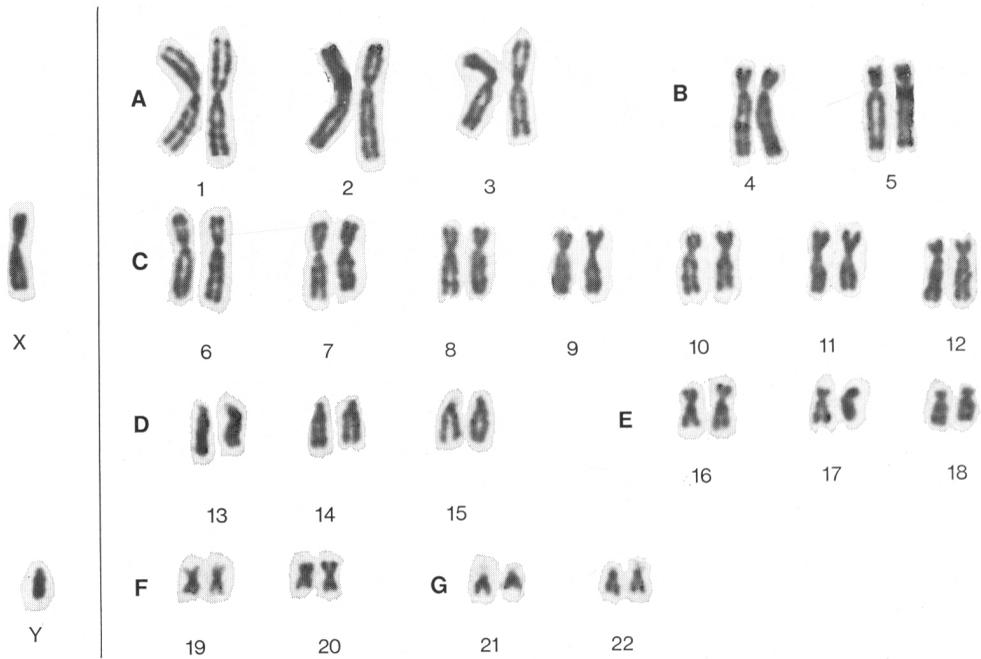


Abb. 9. Verdoppelung des zentromernahen Abschnittes bei Chromosom 16; Karyotyp: 46,XY, 16 q+.

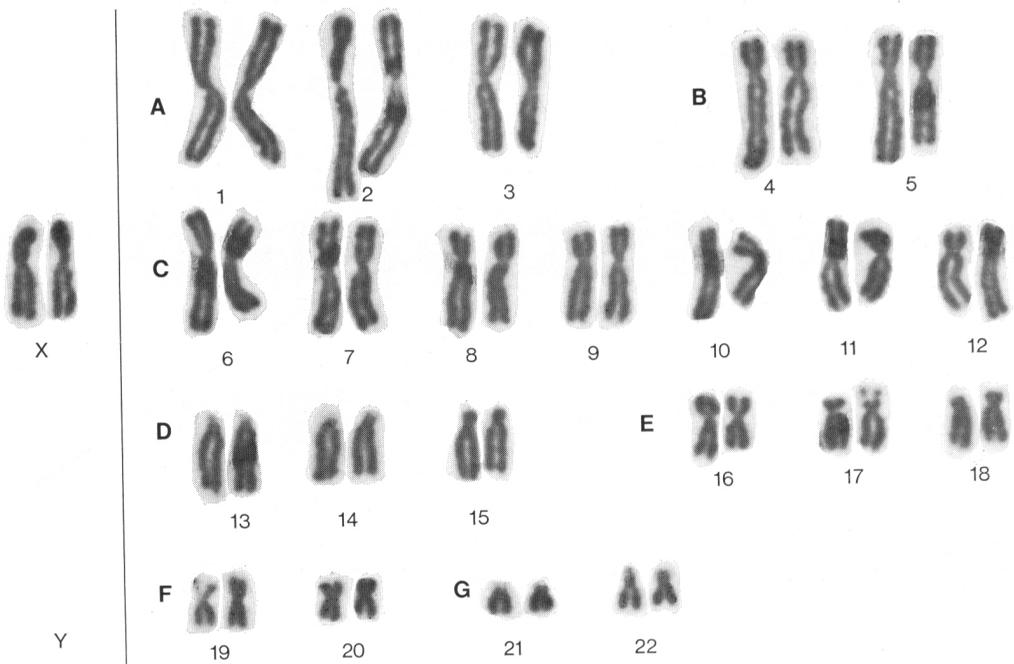


Abb. 10. Markerchromosom 17; Karyotyp: 46,XX, 17 ph+.

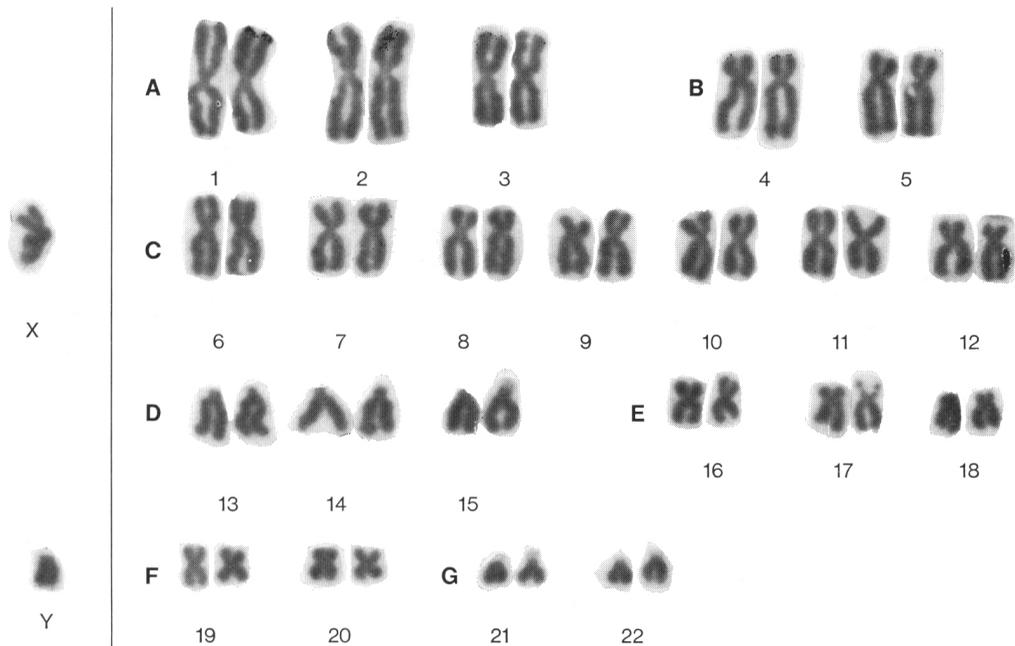


Abb. 11. Markerchromosom 17; Karyotyp: 46,XY, 17 ph+.

In den unbehandelten Kulturen wurden Chromatid- und Isochromatid-gaps, Chromatid- und Isochromatidbrüche beobachtet. Austauschfiguren kamen nur in den mit Trenimon behandelten Kulturen (Tab. 1 + 2, Spalte b) vor und zwar bei beiden untersuchten Gruppen. Der Anteil an Austauschfiguren belief sich dabei für die Probandengruppe im Mittel auf 4,8%, bei der Kontrollgruppe auf 2,9%. In beiden Gruppen gab es jedoch auch Kulturen ohne Austauschfiguren. Der Prozentsatz der Zellen mit Aberrationen lag bei der Gruppe mit normalem Karyotyp zwischen 28 und 58 Prozent, bei der Gruppe mit atypischem Chromosomensatz zwischen 36 und 65 Prozent.

Für den statistischen Vergleich wurde in beiden Gruppen für jede Person die Differenz der Aberrationsraten zwischen behandelten und unbehandelten Kulturen gebildet (jeweils vorletzte Spalte in Tab. 1 und 2) und die Mittelwerte der so entstandenen Reihen im t-Test verglichen. X betrug für die Kontrollgruppe 33,2, für die Probanden 43,6. Dabei ergab sich für die Probandengruppe mit atypischem Chromosomensatz eine signifikante Erhöhung der Sensibilität gegenüber der Kontrolle auf dem 1%-Niveau.

Für die Gruppe mit morphologisch atypischem Chromosomensatz wurde die Zuordnung der unter Trenimonwirkung entstandenen Aberrationen zu den in Tab. 3 aufgeführten Chromosomengruppen A bis G vorgenommen. Dabei fand sich kein Zusammenhang zwischen den atypischen Chromosomen der einzelnen Probanden und bevorzugt betroffenen Chromosomengruppen. So sind z. B. bei dem Probanden mit dem Karyotyp 46, XX, t(13q —; 16q +) (Tab. 3, Prob. 5) die Chromosomengruppen D und E mit 7,9% und 5,7% der Gesamt-aberrationen des Probanden sogar unterproportional betroffen. Der Mittelwert dieser Gruppen beträgt 8,5 und 7,4%. Die Aberrationen/Chromosomengruppe in Prozent der Gesamt-

TABELLE 2
 ABERRATIONEN IN DER PROBANDENGRUPPE
 (11 Personen mit morphologisch atypischem Chromosomensatz)

Prob. Nr.	Karyotyp	G'		G''		B'		B''		E		Zellen mit Aberrationen in %		Differenz aus a - b
		a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	
		1	46,XX,t(2q+;18q-)	3	15	—	9	2	10	3	103	—	8	
2	46,XX,t(3q-;22p+)	1	16	—	9	2	8	3	27	—	4	6	40	34
3	46,XY,t(4p-;22p+)	1	12	2	6	—	8	2	54	—	4	5	58	53
4	46,XX,t(8q+;9q-)	1	13	1	2	2	4	1	29	—	4	5	36	31
5	46,XX,t(13q-;16q+)	2	26	—	9	2	13	2	34	—	—	6	51	45
6	45,XY,t(13q;14q)	2	8	—	10	—	15	—	68	—	6	2	54	52
7	46,XY,inv(5p-;q+)	7	22	3	25	—	16	1	60	—	10	10	63	53
8	46,XX,16q+	2	9	—	5	3	10	1	29	—	6	6	42	36
9	46,XY,16q+	5	20	—	11	—	9	2	47	—	3	5	55	50
10	46,XX,17ph+	1	17	1	3	—	10	—	46	—	3	2	47	45
11	46,XY,17ph+	4	16	—	2	—	14	4	37	—	5	7	55	38

a = Spontanaberrationen; b = durch Trenimon induzierte Aberrationen; G' = Cromatidgap; G'' = Isochromatidgap; B' = Chromatidbruch; B'' = Isochromatidbruch; E = Austauschfiguren.

aberrationen weichen auch im Mittel von einem Erwartungswert, der sich aus den von der Paris Conference (1971) angegebenen relativen Chromosomenlängen ergibt, erheblich ab. In der G-Gruppe z. B. um 42 Prozent.

DISKUSSION

Nach den hier vorliegenden Ergebnissen ist die Aberrationsrate von Personen mit morphologisch atypischem Chromosomensatz unter der Einwirkung von Trenimon gegenüber einer morphologisch unauffälligen Kontrollgruppe mit gleicher Behandlung auf dem 1%-Niveau signifikant erhöht.

Diese Erhöhung ist, wie aus der interchromosomalen Verteilung (Tab. 3) hervorgeht, nicht durch eine überproportionale Beteiligung der atypischen Chromosomen verursacht.

Damit ist die Sensibilitätssteigerung gegenüber Trenimon nur durch einen allgemeinen Faktor zu erklären; genauer: es handelt sich um eine Eigenschaft der untersuchten Zellen und nicht der einzelnen Chromosomen. Dies spräche dafür, dass die atypischen Chromosomensätze als Folge einer erhöhten Sensibilität gegenüber mutagenen Einflüssen entstanden sind. Das Primäre wäre dann nicht der anormale Karyotyp, sondern die erhöhte Sensibilität der Zelle insgesamt. Für diese Interpretation der Ergebnisse spricht auch, dass bei der mikroskopischen Auswertung lediglich in einem Fall ein Bruch einer Reunionsstelle beobachtet wurde und zwar bei einem der Chromosomen Nr. 17ph, also in einem Bereich, der optisch bereits nachweisbar verändert ist (Reeves u. Lawler 1972).

Da bei dem untersuchten Personenkreis bereits eine Veränderung des Chromosomentyps eingetreten ist, wäre demzufolge eine Erhöhung der Sensibilität gegenüber mutagenen Agentien als bereits bei der Elterngeneration vorhanden anzunehmen.

TABELLE 3
 ABERRATIONEN/CHROMOSOMENGRUPPE AUSGEDRÜCKT IN % DER GESAMTABERRATIONS RATEN
 (Probanden mit morphologisch atypischem Chromosomensatz)

Prob. Nr.	Karyotyp	Chromosomengruppen								
		A1	A2	A3	B	C+X	D	E	F	G
1	46,XX,t(2q+;18q-)	8,3	8,3	3,6	6,0	51,1	6,0	7,1	6,0	—
2	46,XX,t(3q-;22p+)	7,8	6,5	5,2	10,4	50,6	6,0	11,0	1,3	0,6
3	46,XY,t(4p-;22p+)	5,6	12,5	—	8,9	44,0	10,7	5,4	5,4	7,1
4	46,XX,t(8q+;9q-)	7,4	9,2	6,5	10,1	46,3	13,8	4,6	2,7	1,8
5	46,XX,t(13q-;16q+)	9,0	12,5	7,9	11,4	36,3	7,9	5,7	1,1	10,2
6	45,XY,t(13q;14q)	10,1	4,3	10,1	8,6	46,4	11,6	2,9	2,9	2,9
7	46,XY,inv(5p-;q+)	10,7	4,6	3,0	6,1	44,6	9,7	10,8	10,8	—
8	46,XX,16q+	8,8	2,9	2,9	14,7	44,1	10,2	7,3	7,3	1,5
9	46,XY,16q+	7,5	14,0	5,4	8,6	50,5	2,1	7,5	2,1	2,1
10	46,XX,17ph+	12,6	7,0	10,5	8,3	41,2	9,8	8,3	2,0	—
11	46,XY,17ph+	7,3	12,1	6,1	11,0	45,1	6,1	11,0	1,2	—
Mittelwert der Chromosomen- gruppen		8,6	8,5	6,1	9,4	45,5	8,5	7,4	3,8	2,3
Erwartungswerte entsprechend der relativen Chromosomen- länge		8,4	8,2	6,8	12,3	40,0	10,8	9,5	5,2	4,0

Die hier vorgetragene Hypothese darf jedoch keinesfalls in der Weise umgekehrt werden, dass grundsätzlich eine erhöhte Sensibilität gegenüber mutagenen Agentien als Voraussetzung für das Auftreten von atypischen Chromosomen verantwortlich gemacht werden kann. Vielmehr ist einfach der Schluss zu ziehen, dass bei Personen mit erhöhter Sensibilität häufiger in der Folgegeneration atypische Chromosomensätze zu erwarten sind, als bei Personen mit geringer oder durchschnittlicher Sensibilität.

Für Trenimon zeigt sich in der vorliegenden Untersuchung eine erhebliche individuelle Schwankungsbreite. Wie aus Tab. 1 hervorgeht, differiert der Prozentsatz der von Aberrationen betroffenen Zellen in der mit Trenimon behandelten Kontrollgruppe zwischen 28 und 58 Prozent. Ein Befund, der mutatis mutandis mit den Beobachtungen von Van Zyl und Wissmüller (1974) bei der Untersuchung des clastogenen Effektes von Azathioprin übereinstimmt. Eine Erhärtung der oben angeführten Schlussfolgerungen ist angesichts des Mangels an verwandten Untersuchungen natürlich schwierig. Sasaki et al. haben 1970 bei ihrer Untersuchung der Radiosensibilität bei verschiedenen Chromosomenkonstitutionen eine erhöhte Empfindlichkeit für Patienten mit Trisomien und für Translokationsträger gefunden. Als Erklärung wird auf den erhöhten Enzymspiegel und den damit verbundenen DNS-Umsatz bei Patienten mit Trisomie 18, Trisomie 21 und bei Klinefelter Syndrom hingewiesen (Rosner et al. 1965, Nadler et al. 1966, Bartels u. Kruse 1968, Baughen et al. 1969). Für Patienten mit balancierten Translokationen sind derartige Untersuchungen bisher noch nicht durchgeführt worden. Betrachtungen über die Gründe für eine erhöhte Sensibilität gegenüber mutagenen Einflüssen sind daher im Augenblick rein spekulativ. Einen weiteren Hinweis liefern jedoch Reeves u. Lawler (1972) in ihrer Untersuchung über bevorzugte Bruchstellen bei menschlichen Chromosomen. Sie weisen auf eine erhöhte normalverteilte Bruch-

frequenz bei nahen Verwandten von Personen hin, die eine spezielle Chromosomenregion mit gehäufte Bruchfrequenz besitzen. Insgesamt sind jedoch Untersuchungen über den Zusammenhang von chromosomalen Atypien mit der allgemeinen Aberrationsrate nur vereinzelt veröffentlicht und zudem, da fast ausschliesslich auf das Down-Syndrom bezogen, zu speziell, um einen echten Einblick in die Gründe für dieses Phänomen zu gewähren. Immerhin scheint beim Down-Syndrom der Zusammenhang von abnormen Karyotyp, erhöhter Aberrationsrate unter mutagener Einwirkung und der Neigung zu malignen Erkrankungen erwiesen (Sasaki u. Tonomura 1969, Holland et al. 1962). Die vorliegenden Befunde könnten daher Anlass sein, die Untersuchungen des Zusammenhangs Karyotyp-erhöhte mutagene Sensibilität-maligne Erkrankungen unter umgekehrten Vorzeichen anzugehen und unter diesem Aspekt allgemein Carcinompatienten hinsichtlich der Empfindlichkeit gegenüber mutagenen Agentien zu überprüfen.

LITERATUR

- Bartels H., Kruse K. 1968. Enzymbestimmungen in Erythrozyten bei Kindern mit Down Syndrom. *Humangenetik*, 5: 305-309.
- Baughen M.A., Sparkes R.S., Paglia D.E., Wilson M.G. 1969. Blood cell enzyme in trisomy E(18) syndrome. *J. Med. Genet.*, 6: 42-47.
- Chicago Conference 1966. Standardisation in Human Cytogenetics. *Birth Defects*, 2.
- Chudina A.P., Malyutina T.C., Pogosyane E.E. 1966. Sravneniye radiochustvitel'nosti kromosom v kultiviruyemikh leukocitakh perifericheskoy v norme i pri sindrome Downa. *Genetika*, 4: 51-63.
- Dekaban A.S., Thron R., Steuring I.K. 1966. Chromosomal aberrations in irradiated blood and blood cultures of normal subjects and of selected patients with chromosomal abnormality. *Radiation Res.*, 27: 50-63.
- Gebhart E. 1970. The treatment of human chromosomes in vitro: results. In F. Vogel and G. Röhrborn: *Chemical Mutagenesis in Mammals and Man*. Berlin-Heidelberg-New York: Springer.
- Hampel K.E. 1968. Ueber die Wirkung von Cytostatika auf die Chromosomen des Menschen. *Int. Z. Klin. Pharmakol. Ther. Toxikol.*, 4: 322-371.
- Holland W.W., Dolland R., Carter C.O. 1962. The mortality from leukaemia and other cancers among patients with Down's syndrome and among their parents. *Br. J. Cancer*, 16: 177-186.
- Kaufmann W. 1972. Bestimmung des Schwellenbereiches der cytogenetischen Wirkung von Trenimon. Diplomarbeit der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg.
- Kucerova M. 1967. Comparison of radiation effects in vitro upon chromosomes of human subjects. *Acta Radiol.*, 6: 441-448.
- Meist H. 1971. Strukturelle Chromosomenaberrationen in den Lymphozyten gesunder Probanden unter dem Einfluss verschiedener Kulturbedingungen. *Acta Genet. Med. Gemellol. (Roma)*, 20: 174-188.
- Moorhead P.S., Nowell P.C., Mellman W.J., Bat-tips D.M., Hungerford D.A. 1960. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell Res.*, 20: 613-616.
- Nadler H.L., Inouye T., Hsia D.Y. 1966. Enzyme in trisomy-18-syndrome. *Lancet*, 1: 1270.
- O'Brien R.L., Poon P., Kline E., Parker J.W. 1971. Susceptibility of chromosomes from patients with Down's syndrome to 7,12-dimethyl-benzanthracene induced aberrations in vitro. *Int. J. Cancer*, 8: 202-210.
- Reeves R., Lawler S.D. 1972. Preferential breakage of sensitive regions of human chromosomes. *Humangenetik*, 16: 159-169.
- Röhrborn G. 1960. Chemische Konstitution und mutagene Wirkung. *Klassifizierungsversuche chemischer Mutagenese*. *Experientia*, 16: 523-529.
- Rosner F., Ong B.H., Paine R.S., Mahanand D. 1965. Biochemical differentiation of trisomic Down's syndrome from that due to translokation. *N. Engl. J. Med.*, 273: 1356-1361.
- Sasaki M.S., Tonomura A. 1969. Chromosomal radiosensitivity in Down's syndrome. *Jap. J. Hum. Genet.*, 14: 81-92.
- Sasaki M.S., Tonomura A., Matsubara S. 1970. Chromosomal constitution and its bearing on the chromosomal radiosensitivity in man. *Mutat. Res.*, 10: 617-633.
- Schnedl W. 1971. Analysis of the human karyotype using a reassociative technique. *Chromosoma*, 34: 448-454.
- Vause K.E., McDougall J.K. 1970. Identification of group "E" chromosome abnormalities in human cells. *J. Med. Genet.*, 10: 70-73.
- Wissmüller W.F. 1972. Die cytogenetische Wirksamkeit des Butazolindin[®] im Lymphozytentest in Abhängigkeit von der Proteinkonzentration des Kulturmediums. *Mutation Res.*, 14: 83-94.
- Zyl J. van, Wissmüller H.F. 1974. The clastogenic effect of azathioprine on human chromosomes in vitro. Unveröffentlicht.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Effekt einer ausgewählten Konzentration von Trenimon^R (6×10^{-8} Mol/l) auf die Lymphozyten von 1 gesunden Personen mit morphologisch abnormem Karyotyp wurde *in vitro* untersucht. Einbezogen waren sechs Personen mit balancierten Translokationen, davon eine zentrische Fusion, zwei Personen mit Verdopplung des centromernahen Abschnittes, eine Person mit einer Inversion und zwei Träger von Markerchromosomen. Es fand sich eine erhöhte Sensibilität der Gruppe mit morphologischen Chromosomenveränderungen gegenüber der Einwirkung von Trenimon im Vergleich zu einer Kontrollgruppe mit morphologisch unauffälligem Karyotyp. Der Prozentsatz der Zellen mit Aberrationen lag dabei bei den Probanden mit atypischem Karyogramm zwischen 36 und 65%, bei den Kontrollpersonen zwischen 28 und 58%. Die gleichfalls durchgeführte Bruchlokalisation zeigte keine erhöhte Beteiligung der morphologisch veränderten Chromosomen an den Aberrationsraten.

RIASSUNTO

Effetto Clastogenico del Trenimon^R sui Cromosomi in Vitro di Soggetti Fenotipicamente Sani con Cariotipo Morfologicamente Anormale

È stato studiato l'effetto *in vitro* di una data concentrazione di Trenimon^R (6×10^{-8} mol/l) sui linfociti di 11 soggetti con cariotipo morfologicamente anormale. Si è osservata una traslocazione bilanciata in 6 soggetti (di cui uno con fusione centrica), una duplicazione della regione paracentrica in 2 soggetti, un'inversione in 1 soggetto, ed un cromosoma marcatore in 2 soggetti. Si è inoltre osservato che il gruppo a cariotipo morfologicamente anormale si dimostrava più sensibile all'azione del Trenimon rispetto al gruppo di controllo. Nei soggetti a cariotipo anormale la percentuale di cellule con aberrazioni oscillava tra il 36 e il 65%, contro il 28-58% dei soggetti di controllo. La contemporanea localizzazione di rotture non presentava alcun aumento del tasso di aberrazione nei cromosomi morfologicamente anormali.

RÉSUMÉ

L'Effet Clastogénique du Trenimon^R sur les Chromosomes in Vitro de Sujets Phénotypiquement Sains avec Karyotype Morphologiquement Anormal

L'effet d'une concentration déterminée de Trenimon^R (6×10^{-8} mol/l) dans les lymphocytes de 11 sujets sains avec karyotype morphologiquement anormal fut analysé "in vitro". On observa une translocation balancée chez 6 sujets (dont un comprenant une fusion centrique), une duplication de la région paracentrique chez 2 sujets, une inversion chez 1 sujet, et un chromosome marqueur chez 2 sujets. On observa de plus que le groupe à karyotype morphologiquement anormal montrait une plus grande sensibilité à l'action du Trenimon que le groupe de contrôle à karyotype morphologiquement normal. Chez les sujets à karyotype anormal, le pourcentage de cellules avec aberrations oscillait entre 36 et 65%, et entre 28 et 58% chez les sujets de contrôle. La localisation contemporaine de ruptures ne montra aucune augmentation des taux d'aberration dans les chromosomes morphologiquement anormaux.

Dr. med. H. Meist, Institut für Humangenetik und Anthropologie der Universität Erlangen-Nürnberg, Bismarckstrasse 10, 8520 Erlangen, GFR.