

Miëlopoiëse — 'n Kinetiese Benadering

S. BRINK, J. G. STEYTLER

SUMMARY

The mechanisms of haemopoietic cellular proliferation are more clearly understood when the granulocytic, monocytic and macrophagic elements of the bone marrow are studied by means of *in vitro* cultures. Better physiological insight into stimulating and inhibitory factors is obtained in this way. These studies are of diagnostic, therapeutic and prognostic importance in the clinical handling of myeloid leukaemia and neutropenia. It can be accepted today that the concept of myeloid leukaemia as a neoplastic process with an increased production of autonomous cell populations is to a large extent outdated, and these cells can be induced *in vitro* to differentiate into mature polymorphs. In the past it has been demonstrated that *in vitro* successes are followed by *in vivo* results, and in particular it is hoped that with the development of techniques for concentration of colony-stimulating factor, that this might be of therapeutic advantage in selected leukaemia patients in the future.

S. Afr. Med. J., 49, 1605 (1975).

Daar is vandag nog baie feite ten gunste van die konsep dat leukemie 'n neoplastiese siekteproses is. Chromosoom-analise op akute leukemiesasiënte, waar abnormale kariatiepmerkers teenwoordig is, dui daarop dat leukemiese selbevolkings klonaal van aard kan wees.^{24,59} In teenstelling hiermee, dui sommige studies van die regulering van miëlopoiëse op 'n moontlike vermoë om die sisteem te manipuleer. Dit kan in siektetoestande soos leukemie 'n aanduiding van die aard en omvang van die letsel gee.

Dit kan vandag beweer word dat leukemieselle in akute of kroniese miëloïede leukemie nie outonome kancerselle is nie, en wel *in vitro* reël op reguleringskontrole en dat hulle geïnduseer kan word om nie-verdelende nakomelinge te verwek. Miëloïede leukemie is dus nie 'n enkel-stap transformasie-gebeurtenis nie.³¹ Tegnieke vir 'n *in vitro* kultuur van miëlopoiëtiese selle is onlangs ontwikkel, terwyl die verdere evaluering van die regulering van miëlopoiëse en die rol van sel-sel interaksie in hierdie verband nou moontlik is.

Die metode wat die deurslag gegee het vir die bestudering van die granulosisiet-monosiet kolonievormende kapasiteit van selle in sagte agar media *in vitro* is deur Bradley en Metcalf⁶ en Plutznik en Sachs⁸⁸ gerapporteer. Groei van miëloïede selle in agar is afhanklik van 'n induseringsubstans, naamlik kolonie-stimuleringsfaktor (KSF), 'n glikoproteïen wat moontlik dieselfde rol in miëlopoiëse speel as eritropoïëtien in eritropoïëse.

Departement Hematologie, Tygerberg-hospitaal en Universiteit van Stellenbosch, Parowvallei, KP

S. BRINK, M.B. CH.B., L.F.PAT. (S.A.)

J. G. STEYTLER, M.Sc., M.B. CH.B.,¹ M.MED. (PATH.), M.D.

Ontvangsdatum: 27 Maart 1975.

Hierdie tegniek is deur Pike en Robinson⁴⁷ verder ontwikkel, waar beenmurgselle gekweek word op agar-voedingsonderlae, verryk met normale perifere witbloedselle. Dit stel spesifieke beenmurg-voorgangerselle van granulosisiete en monosiete in staat om in agar te prolifereer om kolonies van dogterselle te vorm wat differensieer na volledige volwasse polimorfe, monosiete of makrofage. So 'n sisteem kan beskou word as 'n sisteem waar selle vanaf die beenmurg, milt of perifere bloed *in vitro* oorgeplant word na ongeveer dieselfde milieu soos in die liggaam aangetref, en het dus nie te doen met die langtermyn groei-eienskappe van die selle of met langdurige *in vitro* kwekings nie.

HUIDIGE KONSEPTE VAN DIE REGULERING VAN MIËLOPOIËSE⁶¹

Pluripotente Kompartement

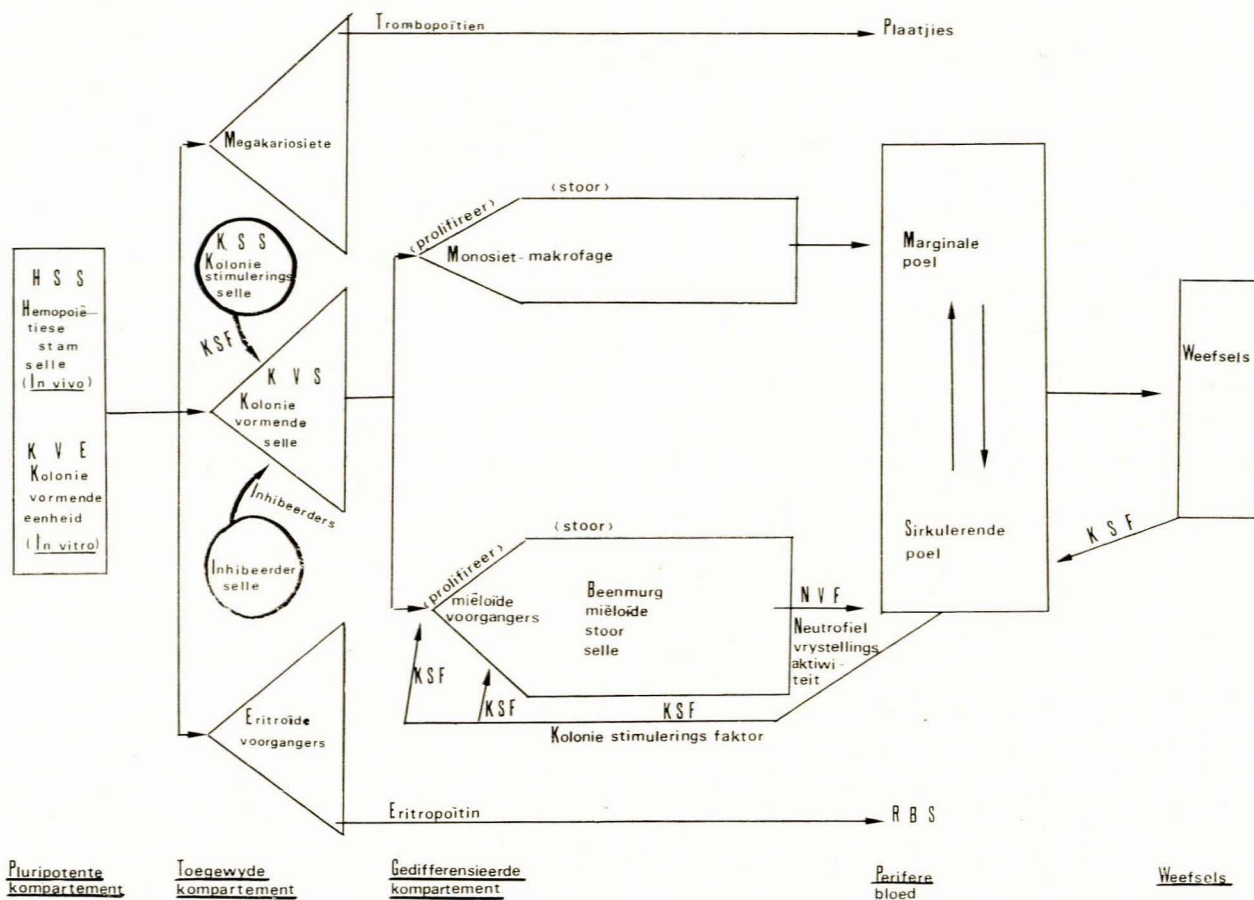
Miëloïede elemente van die beenmurg word aanhoudend versterk deur byvoeging vanaf 'n algemene voorgangersel-poel naamlik die hemopoïëtiese stamselle (HSS) (Afb. 1). Dat hierdie selle die algemene selvoorganger vir miëloïede, eritroïede en megakariositiese elemente is, word bewys deur (a) die Philadelphia-chromosoom van kroniese miëloïede leukemie (KML) wat in al drie selstipes voorkom,⁶⁴ en (b) die miltkolonies wat ontstaan in swaar bestraalde muise na beenmurgoorplanting,⁶¹ ontwikkel vanaf enkele selle as 'n kloonverskynsel, maar die kolonies kan of eritroïed of megakariosities of gemeng van aard wees. Verder, wanneer 'n suiwer enkel-tipe selkolonie herkoloniseer, kan gemengde kolonies voorkom.

Hierdie stamselle van *in vitro* eksperimente word die kolonievormende eenheid (KVE) genoem, waarvan die meeste onder normale omstandighede in die rustende of G₀ fase voorkom.

Toegewyde Selkompartement

Eritropoïëtiese selle is sensitief vir eritropoïëtien, trombopoïëtiese selle vir trombopoïëtien en miëlopoiëtiese selle vanaf die kolonievormende selstadium benodig KSF vir verdere differensiasie. Deur middel van radio-isotoopmetodes, byvoorbeeld *in vitro* selsiklusstudies, is daar verskille tussen KVE en kolonievormende selle (KVS) gevind waardeur hulle van mekaar onderskei kan word. KVS prolifereer onder die invloed van KSF na miëloïede of monosiet-voorgangers, byvoorbeeld blastselle.

Daar is egter nog twee ander tipe selle van belang in die toegewyde selkompartement, naamlik:



Afb. 1. Die kinetika van hemopoïese.

Kolonie-stimulerende selle (KSS) is verantwoordelik vir die produksie van KSF. Hierdie selle kan met behulp van fisiese prosesse van die KVS geskei word. Hoewel KSS se aktiwiteit deurgaans deur al die liggaamsweefsels ondervind word, word dit veral geassosieer met die monosiet-makrofage kompartemente.

KVS-inhibeerderselle skei inhibeerdermateriaal af in die vorm van lipoproteïene, wat vanweë sy groter molekule in die onderste agarlaag agterbly, terwyl die kleiner molekule van KSF boontoe na die kultuurselle diffundeer.

Gedifferensieerde Kompartement

KVS verkeer normaalweg in balans a.g.v. die invloed vanaf die een kant van KSS wat KSF afskei en vanaf die ander kant a.g.v. die invloed van inhibeerderselle wat beide die mieloïde en monosiet-makrofaag-kompartement versterk.

Perifere Bloedkompartement

Hierdie groep selle is verantwoordelik vir die normale vorming van KSF asook verdere ontwikkeling van die toegewyde selkompartement en proliferasie van die selle

om volwasse selle te word. Dit is nog nie duidelik of die sogenaamde neutrofiel-vrystellingsaktiwiteit dieselfde as KSF is nie.

Weefsels

In normale omstandighede is dit 'n baie ryk bron van KSF.

TEGNIEKE

Die mees algemeen aanvaarde tegniek vir hemopoïetiese sellulêre proliferasie *in vitro* is die dubbele agarlaagsisteen soos deur Pike en Robinson¹⁷ beskryf. Genukleêre beenmurgselle 2×10^5 word geplaas in 1-cm³ gedeeltes in 35×10 mm steriele Falcon Petribakkies in 0,3% agar, bo-op voedingslae van 1×10^6 genukleêre menslike perifere witbloedselle in 0,5% agar, en word geïnkubeer in 'n gehumidifiseerde broeikas teen 37°C met 'n konsentrasie van 5-10% CO₂. Teen die vyfde dag is kolonies op die plaatjies sigbaar wat 'n maksimum grootte (500-1500 selle) teen die 15de tot 20ste dag bereik. Normale menslike beenmurg lewer ongeveer 50-100 kolonies per

bakkie en hulle is feitlik uitsluitlik granulosisies van aard. Testa en Lord⁶² beskryf 'n tegniek om die morfologiese ondersoek van die kolonieselle te vergemaklik.

Party werkers gebruik monosiet-verrykte voedingslae, maar wanneer ander selkomponente totaal uitgeskakel word en monosiete as enkel-selipes voorkom, is hulle nie as sulks geskik vir gebruik in voedingslae nie.¹⁶ Heit *et al.*²¹ beskryf die belangrike rol van granulosisiete wat essensieel is vir die KSF-aktiwiteit van die monosiete. Rooibloedsel-hemolisate verhoog ook die kolonievormende aktiwiteite *in vitro*.²¹

Verskeie soorte voedingslae is al gebruik,⁵⁵ naamlik muis-embrioselle,⁴⁷ 8-dae-oud muis-nierselle,⁴ gekondisioneerde medium met bobbejaanlonge,³³ menslike milt,⁵⁴ gedeeltelik gesuiwerde menslike urinekonsentrate,²⁵ sera van muise behandel met endotoksien⁵¹ en menslike embrioniese nierselsupernatante.⁸ Normale perifere met monosiet-verrykte bloedleukosiete²³ is 'n goeie bron vir KSF en maklik bekombaar.

Kultuurmedia wat gebruik word is, onder andere, dié van Eagles,^{41,42} McCoy 5A,⁴⁷ Fischer en CMRL 1066,⁶¹ met verskillende byvoegings⁶⁴ soos fetale kalfserum, perde-serum, DEAE dextran, triptikase soja-ekstrak, vitamine en aminosure.⁴⁷ In plaas van agar gebruik sommige metiel-sellulose.^{7,11,18}

Timidien (³H-TdR) gemerkte selle staan bekend as 'selfmoord'-selle en word gebruik^{30,40,63} vir die ondersoek van selsiklus-aktiwiteite van die verskillende kompartemente. Beenmurg KVS het byvoorbeeld 'n baie aktiewe selsiklus, terwyl milt KVS 'n langer siklus het, omdat van die selle in 'n G₀ fase verkeer.³⁹

Fisiese prosesse word vir die skeiding van KVS en KSS gebruik, byvoorbeeld drywende digtheid, sentrifugasie in geïnduseerde konsentrasies van beesserum-albumien, asook glas- of plastiek-vaskleefkolomme.^{20,38} Die hoogste konsentrasies KSF word aangetref in 'n abnormaal lae drywende digtheidsfraksie en in die klewerige monosiet-limfosietfraksies. Kombinasies van drywende digtheid, sentrifugasie en vaskleefkolomme word gebruik om KSS te konsentreer.

Selle vir die groei van kolonies word verkry vanaf die lae digtheidsfraksies omdat hulle ryk is aan KVS met die inhibeerders verwyder. 'n Mengsel van middel en lae digtheidsfraksies werk stimulerend, terwyl met die vermenging van hoë en lae digtheidsfraksies inhibisie van koloniegrootte opgelet word.²⁰

Die nie-klewerige selbevolking²⁷ is meer afhanklik van KSF en word dus gebruik vir kolonie-stimuleringsaktiwiteit (KSA) essay.

Sitogenetiese analise, e.g. chromosoomstudies^{2,14,23,37} speel 'n uiters belangrike rol in die *in vitro* kultuursisteme.

KSF en KSV-inhibeerder-aktiwiteite kan gekwantiteer word met behulp van spesifieke essay.^{9,35}

Vloeibare medium-kulture¹⁷ word gebruik vir korttermyn beenmurgkulture. Veral in mielomatose is die kwantitering van die produksiespoed van die abnormale immunoglobulienfraksies van groot belang in sowel die hantering van pasiënte as vir prognostiese doeleindes.⁶

IN VITRO KOLONIEFORMASIE VAN LEUKEMIESELLE

Die blokkasie in die differensiasie van die primitiewe selipes na normale polimorfe wat in pasiënte met akute miëlöiede leukemie (AML) *in vivo* gevind word, word in hierdie *in vitro* sisteem oorkom met behulp van die induseerders of KSF van die voedingslae. Sonder voedingslae word daar met AML-selle 'n gebrek aan kloning of klein trosformasie gevind.⁴² KML toon weer 'n verhoogde aantal KVS.

Leukemieselle reageer egter in die teenwoordigheid van KSF.⁴⁶ Dit kan aangetoon word met KSF-indusering van perifere bloedselle dat die selle van AML-pasiënte in relaps sal verdeel en baie groter aantalle kolonies vorm as perifere bloed- of beenmurgselle van normale persone, terwyl pasiënte met akute limfatiese leukemie (ALL) geen kolonievormende potensiaal het nie.⁵⁴ Hierdie selle gaan blykbaar deur 'n soortgelyke proses van morfologiese maturasie na gesegmenteerde granulosisietvorms soos in normale beenmurg aangetref word.

Dit is eienaardig dat leukemiese witbloedselle nie oor die algemeen gebruik kan word as voedingslae in hierdie sisteem nie. Tydens die leukemiese prosesse is daar dus 'n afbraak van die normale groeikontrolle-meganismes — 'n kontrole wat heel waarskynlik normaalweg binne-in die miëlöiede selle self bestaan. Die selle reageer egter op induksie *in vitro*.

As hierdie sisteem as 'n prognostiese hulpmiddel in leukemie gebruik word, is reekse *in vitro* kultuurondersoeke aangedui. Bull *et al.*⁸ postuleer dat 'n groot aantal blastelle die kolonievormende aktiwiteite van die granulosisiese voorgangers versteur en dat die patroon tydens 'n stabiele remissie na normaal terugkeer.¹³ Dieselfde patroon is gevind met ALL-pasiënte. 'n Vloeibare kultuursisteem met menslike embrioniese nierselsupernatant as bron van KSF word gebruik. In die blastfase toon die meeste AML-pasiënte min kolonievorming, terwyl die vermoë tot kolonievorming tydens 'n remissie na normaal terugkeer. Wanneer die abnormale kultuurpatroon behou word na terapie het die pasiënte gou insinking getoon — daar kan dus onderskei word tussen 'n stabiele remissie en een wat vinnig sal terugval.

Moore *et al.*³⁸ gebruik die agar-Eagles medium met normale perifere bloedselle as bron van KSF in die onderlaag en stel 'n herklassifikasie van AML voor. Hulle onderskei 4 tipes: (a) kolonievormend; (b) groot trosvormend; (c) klein trosvormend; en (d) geen groeiselle. Hierdie tegniek is van groot prognostiese waarde, aangesien hoë *in vitro* groeivermoë op 'n swak remissieoortiktheid dui. Hoogs betekenisvolle verskille in spoed van remissies word in die verskillende groeitypes waargeneem. 'n Verdere kriterium word ook gebruik, naamlik die aantal KVS in die ligte drywende digtheidsfraksie na sentrifugasie in beesserum-albumien. Vermeerdering in die KVS in hierdie fraksies gaan gepaard met 'n swakker prognose.

Aye *et al.*² het 3 uitsonderlike pasiënte beskryf waarvan 1 AML en 2 KML tydens die blastkrisis onder lede gehad het. 'n Dubbele kultuurlaagsisteem is gebruik, naamlik onder 'n agarlaag en bo 'n vloeibare medium.

Sellulariteit in die bolaag is verhoog wanneer leukemieselle in die onderlaag gebruik is as voedingsmedium, terwyl geen groeisel gevind is met normale perifere bloedselle in die onderlaag nie. 'n Moontlike verklaring is dat groei en differensiasie in 'n agarsisteam vanaf die KVS verkry word, terwyl die groei in 'n vloeibare medium beperk is tot verdeling en geen noemenswaardige differensiasie nie.

Aye *et al.*¹ het in 1974 'n suspensie-kultuurtegniek beskryf waarvolgens selle geneem tydens 'n insinking gevries word teen -70°C en dan later vir kultuurstudies gebruik word. Hierdie selle groei slegs in die teenwoordigheid van fito-heemagglutiniene of van gekondisioneerde medium. Twee bevolkings word in die leukemiese selle beskryf, naamlik KSS wat KSF afskei, en KVS.

Daar is dus 'n gebrek aan kloning of klein trosformasie tydens AML, terwyl KML vermeerderde getalle KVS het, naamlik die miëlblast-tipe. Leukemieselle reageer egter in die teenwoordigheid van KSF, veral vanaf perifere bloed witselle, en veral wanneer dit verryk is met monosiete. Leukemie KVS kom veral voor in die lae 'drywende digtheidsfraksie en het lae $^3\text{H-TdR}$ 'selfmoord'-waardes, dit wil sê 'n laer selsiklus-aktiwiteit as normaal.

Remissie gaan gepaard met terugkeer na 'n normale distribusie, voorkoms van kolonies en aantal KVS teenwoordig in die ligte drywende digtheidsfraksie na sentrifugasie in beesserum-albumien, en normale $^3\text{H-TdR}$ 'selfmoord'-aktiwiteite van die KVS wat dui op normale selsikluspatrone.

KSF EN INHIBEERDERVLAKKE

Biochemie⁶¹

KSF is 'n glikoproteïen wat geïnaktiveer word by 60°C , nie dialiseerbaar is nie en 'n molekulêre gewig van 190 000 het, soos bepaal deur gelfiltrasie. Met sone-sedimentasie of sukrose-gradiënte word 'n molekulêre gewig van 45 000 gevind. Daar is ook 'n lae molekulêre gewig KSF beskrywe⁴⁹ (< vitamien B₁₂ molekule, naamlik 1 330) met behulp van Sephadex G25 gelfiltrasie-metodiek. Hierdie klein molekule KSF is in staat om formasie van granulotiese kolonies deur beenmurgselle te stimuleer in kulture, en is spesies-spesifiek vir die mens (m.a.w. dit is nie aktief op muis-beenmurgselle nie).

Fisiologie⁶¹

KSF word gevind in die meeste weefsels van die liggaam en kom heelwaarskynlik vanaf die monosiet-makrofaag selkompartement. Dit word benodig vir oorlewing van kolonievormende selle en hul proliferasie, dit verkort die vertragingsperiode voor die sel begin proliferer, en dit vermeerder die spoed van ontwikkeling van die individuele selgroepe en kolonies. Die spoed van kolonievorming is afhanklik van die konsentrasie, en nie van die totale hoeveelheid KSF nie. Uitputting van KSF kan aangetoon word tydens die groeiperiode.²³

Essai. Serum is ryk aan KSF, maar voor demonstrasie van die aktiwiteit moet die inhibeerders verwyder word.

Die proliferasie van muis-beenmurgselle is absoluut afhanklik van die aanhoudende teenwoordigheid van KSF, en word dus vir essaidoeleindes gebruik.⁹

Bron van KSF

Selle wat stewig heg aan die wand van die beenmurg-holtes het veral goeie kapasiteit vir produksie en vrystelling van KSF en dié selle kan dus makrofage of fibroblaste of 'stroma' selle wees. Dit word deesdae aanvaar dat plaaslike produksie van KSF deur nie-hemopoïëtiese selle in die beenmurg 'n belangrike faktor is in die regulering van granulopoiëse en monosietformasie.

Mintz en Sachs²⁵ beskryf die essai vir KSF: onbehandelde AML het normale indusering met lae serumkonsentrasie, maar laer induseringsaktiwiteit met hoë serumkonsentrasie. Inhibeerders se rol is dus hier belangrik.

Dit is ook interessant dat daar 'n duidelike verskil bestaan tussen mans en vrouens se kolonievormende kapasiteit.^{26,26,27} Mans produseer 'n betekenisvolle hoër aantal kolonies as vrouens. Daar is ook 'n verskil in die helling van die dosis-responskurwe en in die ekstrapoleerde selkonsentrasie met geen koloniegroei. Dus is daar 'n verskil tussen mans en vrouens in die meganisme van balans by die regulering van die rustende murg.

KSF in Leukemiesasiënte

Metcalf *et al.*²² het in 1971 'n reeks pasiënte met AML en akute miëlomonositiese leukemie (AMMoL) ondersoek en oor die algemeen hoë KSF en lae inhibeerdervlakke gevind in die serum en urine tydens AML, veral in die blastfase waar daar 'n onvermoë is om tot infeksies te reageer. Golde *et al.*¹⁸ beskryf weer 'n reeks van AML- en KML-pasiënte waarvan die leukemiese selle nie KSF afskei nie. KSF is egter gedokumenteer in KML en vanaf sommige AML-leukemieselle. Dit word vandag aanvaar dat KSF-produksie goed korreleer met morfologiese en funksionele maturasie langs die monosiet-makrofaag-sellyne. Die klewerige sel binne die leukemiese selbevolking is daarvoor verantwoordelik. Dus, KSF-produksie deur neoplastiese hemopoïëtiese selle is in verhouding tot die kapasiteit vir mononukleêre differensiasie.

Die Invloed van Endotoksien op KSF^{29,50}

Endotoksientoediening word gevolg deur 'n neutropenie en later deur granulotose en verhoogde KSF-vlakke. KVS in die beenmurg is verlaag ± 20 minute na endotoksientoediening, terwyl die miëlblast-promiëlösietkompartement, en later die miëlösiete en polimorfe in die beenmurg en uiteindelik in die perifere bloed vermeerder. KSF-produksie is egter nie van die teenwoordigheid van granulotiese selle in die perifere bloed afhanklik nie.^{43,50}

Daar is dus die hipotese⁵² dat differensiasie na neutrofiel gereguleer word deur middel van intermitterende endotoksemie wat die KSF-produksie kontroleer en KSV verder sal laat ontwikkel. Die rol van die neutrofiel-vrystellings-

aktiwiteit vanaf die beenmurg is nog onseker en sommige postuleer dat KSF ook daarvoor verantwoordelik is.

KSF is 'n belangrike reguleerder van miëlopoiëse.⁶¹ Behandeling met endotoksien of anti-neutrofiëlserum lei na verhoogde KSF-vlakke en korreleer goed met verlaagde KVS en verhoogde differensiasie in die miëloïede kompartement.⁶¹

DIE HEMOPOIËTIESE STAMSEL (HSS)

KVE in die kultuursisteem word erken as verteenwoordigend van die HSS.¹² Dicke het stamselkonsentrate berei vanaf bobbejaan- en mens-beenmurg met behulp van herhaalde drywende digtheid-sentrifugasie. Die aantal KVE is tot 70 maal of 100 maal verryk, en 'n sel (muis-stamselagtige sel of MSSAS) is herhaaldelik gesien. MSSAS is heelwaarskynlik HSS. Met gewone May-Grünwald-Giemsa kleuring en ligmikroskopie is die selle nie van die gewone klein limfosiet te onderskei nie. 'n Spesiale polichroomkleuring en elektronmikroskopiese studies het egter duidelike verskille getoon.

Gidali *et al.*¹⁵ beskryf die eienskappe van HSS in die perifere bloed van normale muis, en kom tot die gevolgtrekking dat die perifere KVS 'n sub-bevolking van 'n heterogene beenmurg KVS is.

Knudtzen²⁶ het in 1974 die verskille in volwassenes se perifere bloed en naelstringbloed in *in vitro* kulture bespreek. Daar is 'n aansienlik hoër getal KVS in naelstringbloed, naamlik 17-385 kolonies/plaatjie teenoor 0-11 kolonies/plaatjie in perifere volwasse bloed. Die gemiddelde aantal selle was ook baie meer vanaf die naelstringbloed. Sy gevolgtrekking was dat die KVS aan 'n 'oorgangs'-limfosietgroep behoort.

In vitro kultuurstudies op Yemenite Jode met 'n eenaardige oorerflike neutropenie (maar met goeie weerstand teen infeksies) het aangetoon dat die toestand nie die gevolg van 'n defek aan KVS is nie, maar die gevolg van 'n gebrek aan die normale vrystellingsmeganisme van volwasse granuloseite vanaf die beenmurgstoorselle na die perifere bloed.³⁴

KLINIESE TOEPASSINGS

KVS-aktiwiteit is geëvalueer in akute neutropenie, AML en KML en is van waarde op diagnostiese, prognostiese en terapeutiese vlakke. Beenmurg *in vitro* kultuurstudies het waarde in die evaluering van beenmurgoorplantings.⁶¹ Dit is ook van waarde in die ondersoek van 'n kroniese neutropenie,⁴⁴ byvoorbeeld in die algemene tipe aangebore oorerflike kroniese neutropenie van die suigeling is daar 'n blokkasie in die differensiasie na volwasse granuloseite wat *in vitro* oorkom word in teenwoordigheid van KSF. In die neutropenie van Yemenite Jode is daar 'n blokkasie in vrystelling van volwasse granuloseite vanaf die beenmurg, terwyl daar normale KVS-aktiwiteit is.³⁵

Die herklassifikasie van akute miëloïede leukemie is voorgestel met behulp van *in vitro* tegnieke, en dit is van prognostiese waarde.³⁸ Toestande van pre-leukemie is alreeds aangedui met abnormale KVS-aktiwiteit jare voor

die ontwikkeling van blatante akute leukemietoestande.^{19,60} Reekse *in vitro* murgkulture in AML⁸ en ALL¹³ met essai van KSF word as 'n prognostiese hulpmiddel gebruik. 'n Verhoogde aantal sirkulerende stamselle word aangetref in pasiënte met miëlofibrose.¹⁰

RESPONS TOT MIDDELS

Ratzan *et al.*⁵³ beskryf die effek van chlooramfenikol en tiamfenikol op die *in vitro* KVS in agar. Rozenszajn en Radnay⁵⁸ beskryf die invloed van metotreksaat op transformasie en mitose van normale limfosietkulture. Die antimitiese invloed is afhanklik van konsentrasie sowel as van die duur van kontak met die limfosiete, en van die ontwikkelings stadium van die limfosiete ten tye van die blootstelling.

In 1973 beskryf Knock *et al.*⁵⁵ sensitiviteitstoetse op menslike kankers om aktiewe middels te selekteer vir kliniese kankerterapie. Ogawa *et al.*⁵⁶ dui op die belangrikheid van muis-beenmurgpreparate *in vitro* vir die sensitiviteit van mens- en muis- hemoïetiese voorgangerselle vir 4 anti-miëloommiddels. Die hematologiese toksisiteit kan nie direk geëkstrapoleer word vanaf muis na mens nie. Horoszewicz *et al.*²² beskryf die effek van streptovaricin en rifamycin. *In vitro* kultuurstudies is egter nog in die ontwikkelings stadium en respons tot middel-evaluering is nog nie volledig geëvalueer nie.

SITOGENETIESE ANALISE VAN DIE KOLONIES

Moore en Metcalf³⁷ beskryf die kariotiep-analise op agar-kulture van bloed of beenmurg van 12 pasiënte met AML of KML of AMMoL waar merkers teenwoordig was. Die granuloseitkolonies of selgroepe wat op kulture ontwikkel, is aangetoon as afkomstig van verteenwoordigende selle van die leukemiebevolking. Duttera *et al.*³⁴ het tot dieselfde gevolgtrekking gekom.

Die agarkultuurtegniek is blykbaar ideaal vir die opvolg van ontwikkeling en verdwyning van leukemiese en normale granuloseitese bevolkings in pasiënte met leukemie en abnormale kariotiep.³⁷

VERWYSINGS

1. Aye, M. T., Niho, Y., Till, J. E. en McCulloch, E. A. (1974): *Blood*, **44**, 205.
2. Aye, M. T., Till, J. E. en McCulloch, E. A. (1972): *Ibid.*, **40**, 806.
3. Becker, A. J., McCulloch, E. A. en Till, J. E. (1963): *Nature (Lond.)*, **197**, 452.
4. Bradley, T. R. (1968): *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, **46**, 335.
5. Bradley, T. R. en Metcalf, D. (1966): *Ibid.*, **44**, 287.
6. Brink, S. (1974): *Medicine (SA)*, **24**, 1332.
7. Brown, C. H. en Carbone, P. P. (1971): *J. Nat. Cancer Inst.*, **46**, 989.
8. Bull, J. M., Duttera, M. J., Stashick, E. D., Northup, J., Henderson, E. en Carbone, P. P. (1973): *Blood*, **42**, 679.
9. Chan, S. H. en Metcalf, D. (1972): *Ibid.*, **40**, 646.
10. Chervenick, P. (1973): *Ibid.*, **41**, 67.
11. Craddock, C. G., Hays, E. F., Forsen, N. R. en Rodensky, D. (1973): *Ibid.*, **42**, 711.
12. Dicke, K. A., Van Noord, M. J., Maat, B., Schaefer, U. W. en Van Bekkum, D. W. (1973): *Ibid.*, **42**, 195.
13. Duttera, M. J., Bull, J. M., Northup, J. D., Henderson, E. S., Stashick, E. D. en Carbone, P. P. (1973): *Ibid.*, **42**, 687.
14. Duttera, M. J., Whang-Peng, J., Bull, J. M. C. en Carbone, P. P. (1972): *Lancet*, **1**, 715.
15. Gidali, J., Fehér, I. en Antal, S. (1974): *Blood*, **43**, 573.
16. Goldman, J. M., Th'ng, K. H. en Lowenthal, R. M. (1974): *Brit. J. Cancer*, **30**, 1.
17. Golde, D. W. en Cline, M. J. (1973): *Blood*, **41**, 45.

18. Golde, D. W., Rothman, B. en Cline, M. J. (1974): *Ibid.*, **43**, 749.
19. Greenberg, P. L., Nichols, W. C. en Schrier, S. L. (1971): *New Engl. J. Med.*, **284**, 1225.
20. Haskill, J. S., McKnight, R. D. en Galbraith, P. R. (1972): *Blood*, **40**, 394.
21. Heit, W., Kern, P., Kubanek, B. en Heimpel, H. (1974): *Ibid.*, **44**, 511.
22. Horoszewicz, J. S., Byrd, D. M., Sokal, J. E. en Carter, W. A. (1974): *J. Nat. Cancer Inst.*, **52**, 649.
23. Iscove, N. N., Senn, J. S., Till, J. E. en McCulloch, E. A. (1971): *Blood*, **37**, 1.
24. Jensen, M. K. (1967): *Acta med. scand.*, **182**, 629.
25. Knock, F. E., Galt, R. M., Oester, Y. T. en Sylvester, R. (1973): *S. Afr. J. Med. Sci.*, **38**, 43.
26. Knudtzen, S. (1974): *Blood*, **43**, 357.
27. Messner, H. A., Till, J. E. en McCulloch, E. A. (1973): *Ibid.*, **42**, 701.
28. Metcalf, D. (1970): *J. Cell. Physiol.*, **76**, 89.
29. *Idem* (1971): *J. Immunol.*, **21**, 427.
30. *Idem* (1972): *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, **139**, 511.
31. *Idem* (1973): *Brit. J. Cancer*, **27**, 191.
32. Metcalf, D., Chan, S. H., Gunz, F. W., Vincent, P. en Ravich, R. B. M. (1971): *Blood*, **38**, 143.
33. Metcalf, D., Moore, M. A. S., Sheridan, J. W. en Spitzer, G. (1974): *Ibid.*, **43**, 847.
34. Mintz, U. en Sachs, L. (1973): *Ibid.*, **41**, 745.
35. *Idem* (1973): *Ibid.*, **42**, 331.
36. Moore, M. A. S., Ekert, H., Fitzgerald, M. G. en Carmichael, A. (1974): *Ibid.*, **43**, 15.
37. Moore, M. A. S. en Metcalf, D. (1973): *Int. J. Cancer*, **11**, 143.
38. Moore, M. A. S., Spitzer, G., Williams, D., Metcalf, D. en Buckley, J. (1974): *Blood*, **44**, 1.
39. Moore, M. A. S. en Williams, N. (1972): *J. Cell. Physiol.*, **80**, 195.
40. Moore, M. A. S., Williams, N. en Metcalf, D. (1972): *Ibid.*, **79**, 283.
41. *Idem* (1973): *J. Nat. Cancer Inst.*, **50**, 591.
42. *Idem* (1973): *Ibid.*, **50**, 603.
43. Morley, A., Rickardt, K. A., Howard, D. en Stohlman, F. (1971): *Blood*, **37**, 14.
44. Niskanen, E., Tyler, W. S., Symann, M., Stohlman, F. en Howard, D. (1974): *Ibid.*, **43**, 23.
45. Ogawa, M., Bergsagel, D. E. en McCulloch, E. A. (1973): *Ibid.*, **42**, 851.
46. Paran, M., Sachs, L., Barak, Y. en Resnitzky, P. (1970): *Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.)*, **67**, 1542.
47. Pike, B. L. en Robinson, W. A. (1970): *J. Cell. Physiol.*, **76**, 77.
48. Plutznik, D. H. en Sachs, J. (1965): *J. Cell. Physiol.*, **66**, 319.
49. Price, G. B., McCulloch, E. A. en Till, J. E. (1973): *Blood*, **42**, 341.
50. Quesenberry, P. J., Halperin, J., Ryan, M. en Stohlman, F. (1972): *Ibid.*, **40**, 949.
51. Quesenberry, P. J., Morley, A., Miller, M., Rickard, K., Howard, D. en Stohlman, F. (1973): *Ibid.*, **41**, 391.
52. Quesenberry, P. J., Morley, A., Stohlman, F. en Smith, M. (1972): *New Engl. J. Med.*, **286**, 227.
53. Ratzan, R. J., Moore, M. A. S. en Yunis, A. A. (1974): *Blood*, **43**, 363.
54. Robinson, W. A., Kurnick, J. E. en Pike, B. L. (1974): *Ibid.*, **38**, 500.
55. Robinson, W. A. en Pike, B. L. (1970): *Symposium on Hemopoietic Cellular Proliferation*, p. 249. New York: Grune & Stratton.
56. Rosenblum, A. L., Bull, J. M. en Carbone, P. P. (1974): *Blood*, **43**, 841.
57. Rosenblum, A. L. en Carbone, P. P. (1974): *Ibid.*, **43**, 351.
58. Rosenszajn, L. A. en Radnay, J. (1974): *Ibid.*, **43**, 401.
59. Sandberg, A. A., Ishihara, T., Kikuchi, Y. en Crosswhite, L. H. (1964): *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **113**, 663.
60. Senn, J. S. en Pinkerton, D. H. (1972): *Brit. J. Haem.*, **23**, 277.
61. Stohlman, F., Quesenberry, P. J. en Tyler, W. S. (1973): *Progress in Hematology*, vol. VIII, p. 259. New York: Grune & Stratton.
62. Testa, N. G. en Lord, B. I. (1970): *Blood*, **36**, 586.
63. Vassort, F., Winterholer, M., Frindel, E. en Tubiana, M. (1973): *Ibid.*, **41**, 789.
64. Whang-Peng, J., Frei, E., Tijo, J. H., Carbone, P. P. en Brecher, G. (1963): *Ibid.*, **22**, 664.

Books Received : Boeke Ontvang

- An Introduction to Medical Physics.** By E. G. A. Aird, M.Sc. Pp. viii + 293. Illustrated. £4.95. London: William Heinemann Medical Books. 1975.
- Orthopaedic Surgery in Infancy and Childhood.** 4th ed. By A. B. Ferguson, jnr, B.A. M.D. Pp. xix + 791. Illustrated. \$48.50. Baltimore, Maryland: Williams & Wilkins. 1975.
- Nutrition and Our Overpopulated Planet.** By S. L. Manocha. Pp. xiii + 472. \$24.50 cloth; \$16.75 paper. Springfield, Illinois: Charles C. Thomas. 1975.
- Medical Embryology.** Human development — normal and abnormal. 3rd ed. By J. Langman, M.D., Ph.D. Pp. xii + 421. Illustrated. \$12.50. Baltimore, Maryland: Williams & Wilkins. 1975.
- The Normal Child.** Some problems of the early years and their treatment. 6th ed. By R. S. Illingworth, M.D. (Leeds). F.R.C.P. (Lond.), D.P.H., D.C.H. Pp. x + 326. Illustrated. £5.50. Edinburgh and London: Churchill Livingstone. 1975.
- Pädiatrische Fortbildungskurse für die Praxis/Cours de Perfectionnement en Pédiatrie pour le Practicien.** No. 4: Perinatologie. Ed. by E. Bossi. Pp. vi + 376. Illustrated. DM 90.-. Basle and New York: S. Karger. 1975.
- Joint Disease: All the Arthropathies.** 2nd ed. By E. C. Huskisson and F. Dudley Hart. Pp. xiii + 152. £3.25. Bristol: John Wright & Sons. 1975.
- Progressive Exercise Therapy.** In rehabilitation and physical education. 3rd ed. By J. H. C. Colson, F.C.S.P., F.S.R.G., M.B.A.O.T. Pp. x + 260. Illustrated. £3.30. Bristol: John Wright & Sons. 1975.
- Electrocardiography for Intensive-Care Units.** By F. L. Meijler, M.D., F.A.C.C., E. O. R. de Medina, M.D. and A. N. E. Zimmerman, M.D. Pp. ix + 150. Illustrated. Dfl. 34.50. Amsterdam: Excerpta Medica. 1975.