

cis-Dichlorodiammineplatinum (II)이 흰쥐 경골의 골단연골판에 미치는 영향

김 종 관* · 김 원 규 · 정 호 삼
*마산삼성병원 정형외과, 한양대학교 의과대학 해부학교실

Effects of cis-Dichlorodiammineplatinum (II) on the Epiphyseal Plate of the Tibia in the Albino Rat

Jong-Kwan Kim*, Won-Kyu Kim, Ho-Sam Chung

*Dept. of Orthopedic Surgery, Masan-SamSung Hospital
Dept. of Anatomy, College of Medicine, Hanyang University

(Received March 22, 1996)

ABSTRACT

cis-Dichlorodiammineplatinum (II) (cis-Platin) inhibits the proliferation and growth of the tumor cells by way of inhibiting DNA and protein synthesis of the cancer cells. Although cis-Platin is very effective antitumor drug, it also produces many other side effects. Thus the author has studied the effects of cis-Platin on the proximal epiphyseal plate in the tibia of the rat.

The results were as follows:

In the chondrocyte of the proliferative zone, sacculated, and fragmented cisternae of rough endoplasmic reticulum, some mitochondria with disorganized mitochondrial cristae and distorted procollagens were observed, and in the matrix some large matrix granules and dispersed collagen fibrils were revealed on the 1st, 3rd day and 1st week group of cis-Platin treated rats. In the chondrocyte of the proliferative zone of cis-Platin treated rats on the 2nd and 3rd week group, parallelly arranged rough endoplasmic reticulum and many procollagens were shown, and in the matrix a number of large matrix granules and many small matrical granules as well as collagen fibrils were revealed.

Consequently it is suggested that though cis-Platin induces the degenerative changes of the chondrocyte resulting in components of the cartilagenous matrix, these toxic effects are regressed with time.

Key words : cis-Dichlorodiammineplatinum (II), Epiphyseal plate, Tibia, Albino Rat

서 론

cis-Dichlorodiammineplatinum (II)(cis-Platin)은 platinum 원소에 염소기와 암모니아기가 수평면의 cis 위치에 결합되어 있는 화학구조를 지닌 금속화합물로서 Rosenberg 등 (1965)이 cis-Platin에 의한 대장균의 세포분열억제효과를 발표한 이후 Schaeppi 등 (1973)과 Choie 등 (1980)은 cis-Platin이 인체의 충실성종양을 억제한다고 하였으며, 특히 정소암, 악성난소종양, 두경부의 악성상피종양, 방광암, 갑상선암, 골육종 및 자궁경부암 등에 높은 항암효과를 나타낸다고 하였고, Harder 및 Rosenberg (1969), Chun 등 (1969), Roberts 및 Pascoe (1970)와 Mansy 등 (1973)에 의하면 이러한 항암효과는 cis-Platin이 DNA의 합성을 억제하므로 발현된다고 하였다.

cis-Platin은 임상적으로 여러가지 종양의 치료에 사용되고 있으나 다른 항암제와 마찬가지로 비정상적인 세포에만 특이적으로 반응하지 않고 정상세포에도 영향을 미치므로 장관, 신장, 세포분열이 왕성한 조직과 골수 및 임파조직 등의 독성 (Schaeppi 등, 1973), 신장의 수질방대에 위치한 근위뇨세관 직부의 손상과 대형 낭포의 형성 (Dobyan 등, 1981), 내이에서 청각세포와 외유모세포의 손상 (Fleischman 등 (1975)과 Komune 등 (1981) 등 많은 부작용이 나타난다고 알려져 있다.

따라서 저자는 cis-Platin을 흰쥐에 투여하면 골의 활발한 성장에 관여하는 골단연골판내 증식대의 연골세포가 손상을 받고 연골세포에서 분비되는 기질의 조성에도 변화가 일어난다고 사료되어 본 실험을 시도하였다.

실험재료 및 방법

본 실험에 사용한 실험동물은 동일한 환경에서 사육한 체중 200 gm 내외의 Sprague-Dawley계 웅성흰쥐를 사용하였으며, 실험기간동안 먹이와 물은 충분히 공급하였다. 실험동물은 총 20마리를 대조군 5마리와 cis-Platin 투여군 15마리로 배정하였으며, cis-Platin 투여군 흰쥐에는 체중 kg당 1.5 mg의 cis-Platin (Abiplatin Abic Co. Ltd.)을 주사용 증류수 0.15 ml에 희석하여 주당 1회 총 3주간 복강내 주사하였고, 대조군

흰쥐에는 동량의 주사용 증류수를 동일한 방법으로 투여하였다.

최종투여 후 시간경과에 따라 1일, 3일, 1주, 2주 및 3주 경과후에 실험동물을 경동맥사혈로 희생시키고 근위경골을 적출한 후 근위골단연골판내 증식대 연골세포의 미세구조의 변화를 관찰하기 위하여 1 mm³ 크기로 세절하고 Millonig's phosphate 완충용액 (pH 7.2)으로 완충된 2% glutaraldehyde -2.5% paraformaldehyde 용액에 4°C에서 2~4시간 전고정하고 동일 완충용액으로 제작한 1% osmium tetroxide로 2시간 후고정한 후 ethanol-acetone 농도순서에 따라 탈수하고 Epon 812에 포매하여 절편제작기로 두께 2~5 μm의 박절편을 제작하여 methylene blue로 임시 염색하여 적정부위를 확인한 후 600~800 Å 두께의 초박절편을 제작하여 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하고 Hitachi H-600형 투사전자현미경으로 관찰하였다.

실험 결과

1. 대조군 흰쥐 골단연골판내 증식대

대조군 흰쥐 경골의 근위골단연골판내 증식대 연골세포의 핵은 난원형을 띠고 있었고, 세포질내에는 소조가 서로 평행하게 분포되어 있는 무수한 조면내형질세망과, 사립체, Golgi 복합체 및 많은 교원섬유전구체가 관찰되었고, 연골기질내에는 세포표면에 인접하여 있는 많은 대형기질과립, 세사형의 전자밀도가 높은 기질과립, 교원섬유 및 교원섬유사이에 분포되어 있는 무수한 기질과립이 관찰되었다 (Fig. 1, 2).

2. cis-Platin 투여 후 1일 경과군 흰쥐 경골의 근위골단연골판내 증식대

cis-Platin 투여 후 1일 경과군 흰쥐 경골의 근위골단연골판내 증식대 연골세포의 핵은 핵막의 일부가 파괴되어 있었으며, 세포질내에는 조면내형질세망의 소조가 불규칙하게 배열되어 있었고, 일부의 조면내형질세망의 소조는 팽대되어 있었으며, 막이 파손된 교원섬유전구체가 관찰되었고, 연골기질에는 소수의 대형기질과립이 세포표면에 인접하여 있었으며, 기질내 교원섬유는 다소 산재되어 분포하고 있었다 (Fig. 3, 4).

3. cis-Platin 투여 후 3일 경과군 흰쥐 경골의 근 위골단연골판내 증식대

cis-Platin 투여 후 3일 경과군 흰쥐 경골의 근위골단연골판내 증식대 연골세포의 세포질내에는 조면내형질세망의 소조가 단절 및 확장되어 있었으며, Golgi 복합체의 소조가 위축되어 있었으며, 교원섬유전구체의 막이 파괴되어 있었고, 당원과립 및 지방소적이 관찰되었고, 연골기질에는 연골세포에 인접하여 전자밀도가 높은 소수의 대형기질과립이 분포하고 있었다 (Fig. 5, 6).

4. cis-Platin 투여 후 1주 경과군 흰쥐 경골의 근 위골단연골판내 증식대

cis-Platin 투여 후 1주 경과군 흰쥐 경골의 근위골단연골판내 증식대 연골세포에서 세포질내에는 일부의 소조만이 낭상화된 조면내형질세망이 관찰되었으며, 사립체릉이 용해된 사립체와, 교원섬유전구체, 지방소적 및 당원과립이 관찰되었고, 연골기질에는 세포표면에 인접해 있는 다수의 대형기질과립이 보였으며, 풍부한 교원섬유와 많은 기질과립이 관찰되었다 (Fig. 7, 8).

5. cis-Platin 투여 후 2주 경과군 흰쥐 경골의 근 위골단연골판내 증식대

cis-Platin 투여 후 2주 경과군 흰쥐 경골의 근위골단연골판내 증식대 연골세포에서 난원형의 핵이 관찰되었고, 세포질내에는 잘 발달된 조면내형질세망과 교원섬유전구체가 관찰되었으며, 연골기질내에는 풍부한 대형기질과립이 세포표면에 인접하여 있었으며, 많은 교원섬유 및 기질과립이 관찰되었다 (Fig. 9, 10).

6. cis-Platin 투여 후 3주 경과군 흰쥐 경골의 근 위골단연골판내 증식대

cis-Platin 투여 후 3주 경과군 흰쥐 경골의 근위골단연골판내 증식대 연골세포의 핵은 난원형을 띠고 있었으며, 세포질내에는 조면내형질세망의 소조가 서로 평행하게 배열되어 있었고, 사립체, Golgi 복합체 및 용해소체가 세포질내에서 관찰되었고, 많은 교원섬유전구체가 핵에 인접한 세포질에 분포되어 있었으며, 연골기질에는 연골세포 주위에 무수한 대형기질과립 및 전자밀도가 높은 과립형의 기질과립이 존재하고 있었으며, 또한 풍부

한 교원섬유가 관찰되었다 (Fig. 11, 12).

고 찰

cis-Dichlorodiammineplatinum(II)(cis-Platin)은 금속화합물로 platinum원소에 염소기와 암모니아기가 cis 위치로 싸여있는 구조를 지니고 있으며, DNA 합성을 억제하여 종양세포의 증식을 억제하므로 암치료를 위한 화학요법제로 사용되고 있다. Rosenberg (1965)가 platinum 중금속 화합물이 *Escherichia coli*의 분열을 억제한다는 것을 최초로 증명한 이래, 많은 동물실험과 임상실험을 통하여 cis-Platin이 sarcoma 180, L1210 leukemia, Dunning ascitic leukemia, Walker 256 carcinosarcoma, DMBA mammary tumors 및 ascitic B16 melanosarcoma 등에 탁월한 항암효과를 나타내는 것으로 알려져 왔다 (Rosenweig, 1977). 그러나 cis-Platin의 투여는 암조직에만 특이하게 작용하는 것이 아니라 정상조직이나 세포에도 독성을 일으킨다고 알려져 있다. 실험동물에서 나타나는 cis-Platin의 독성으로는 출혈성장염, 임파조직과 골수의 세포감소증과 저질소혈증, 저염소혈증, 단백뇨, 저칼슘혈증 등을 동반한 신손상과 급성신부전증, 췌장염 및 심근염 등이 있다 (Kociba 및 Sleight, 1971; Schaeppi 등, 1973; Ward 및 Fauvie, 1976).

골단연골판은 연골세포와 연골기질로 구성되어 있으며, Copenhagen 등 (1978)은 연골세포의 미세구조를 전자현미경으로 관찰한 결과 연골세포는 섬유모세포와 거의 유사한 구조를 갖고 있다고 하였고, 세포질내에 사립체, 조면내형질세망, Golgi 복합체 등이 잘 발달되어 있으며 세포내 함유물로 지방소적, 당원과립 등을 관찰할 수 있다고 하였다. 한편 Ghadially 및 Roy (1969)와 Stockwell (1979)은 연골이 퇴행성 변화를 일으킬 때 연골세포의 핵이 분해됨과 동시에 연골세포의 세포막이 소실되고 연골기질내에 matrical lipidic debris, membranous debris, cytoplasmic fragments, osmophilic bodies, corona vesicles 및 extracellular lipid등이 연골세포 주위의 연골기질에서 관찰된다고 하였고, Barnett 등 (1963)은 토끼의 관절연골에서 전자밀도가 높은 과립과 유합된 myelin bodies가 기질내에 존재함을 관찰하고 이것은 연골세포의 괴사에 의해 형성

된다고 하였다. 또 기질내 lipid debris는 연골의 퇴화에 의해서 증가된다고 하였다. 그리고 Ghadially 및 Lalonde (1981)는 사람의 연골에서 연골내 기질의 lipidic debris는 연골세포의 세포돌기에서 절단되어 기질에 함유되는 경우도 있다고 하였다.

이상과 같이 많은 학자들은 연골기질은 연골세포에서 분비되고 있다고 밝혔으며 연골기질의 주요성분의 합성은 연골세포의 조면내형질세망과 Golgi 복합체가 관여하고 있다는 것을 전자현미경적 연구로 밝혔다. Ali 등 (1970)과 Ali 및 Evans (1973)는 연골기질에서 관찰되는 기질과립의 성분은 골단연골판에서는 alkaline phosphatase, ATPase 및 pyrophosphatase 등을 함유하고 있다고 주장하였으며, Press 등 (1971)과 Wuthier (1973)는 고립된 기질과립은 지방, cholesterol, phospholipid 및 glycolipid 등을 함유한다고 하였고, 이것들이 calcium에 친화성이 높아 연골의 석회화의 시초로 사료된다고 하였다.

본 실험에서 cis-Platin에 노출된 흰쥐 경골의 근위골 단연골판내 연골세포를 전자현미경으로 관찰한 결과 cis-Platin 투여 후 1일 경과군에서는 조면내형질세망의 소조가 낭상화되어 있었고, 교원섬유전구체의 막도 파괴되어 있었으며, 연골세포표면에 인접하여 있는 대형기질과립이 대조군에 비하여 감소되어 있었고 기질내 교원섬유가 다소 산재되어 분포하고 있었다. cis-Platin 투여 후 3일 경과군에서는 조면내형질세망의 소조가 단절 및 확장되어 있었으며, 교원섬유전구체의 막이 파손되어 있었고, Golgi 복합체는 위축되어 있었으며, 연골기질에는 일부 대형기질과립이 연골세포표면에 위치하고 있었다. cis-Platin 투여 후 1주 경과군에서는 조면내형질세망의 소조의 일부만이 낭상화되어 있었고, cis-Platin 투여 후 2주 및 3주 경과군에서는 조면내형질세망의 소조가 서로 평행하게 배열되어 있었고, 핵에 인접한 세포질에 많은 교원섬유전구체가 관찰되었으며, 사립체, 용해소체 및 Golgi 복합체도 세포질내에 있었고, 연골기질에는 연골세포 주위에 무수한 대형기질과립 및 전자밀도가 높은 과립형의 기질과립이 존재하고 있었으며, 또한 풍부한 교원섬유와 기질과립이 관찰되어 그 양태가 대조군의 그것과 대동소이하므로 cis-Platin에 의해 손상받은 연골세포 및 연골기질의 조성은 시간이 경과함에 따라 회복되는 것으로 사료된다.

이상의 결과를 종합하면 cis-Platin은 흰쥐경골의 근위골단연골판내 연골세포에 독성으로 작용하여 연골세포내 소기관의 변성을 야기하며 이에따라 연골기질의 조성도 변화되나 이러한 손상은 시간이 경과함에 따라 회복되는 것으로 사료된다.

결론

cis-Platin이 흰쥐경골의 근위골단연골판내 증식대에 존재하는 연골세포에 미치는 영향과 이로인한 연골기질 조성의 변화를 관찰하기 위하여 본 실험을 시도하고, 전자현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

흰쥐경골의 근위골단연골판내 증식대의 전자현미경 소견에서 cis-Platin 투여 후 1일, 3일 및 1주 경과군 연골세포에서는 조면내형질세망의 소조가 낭상화 및 단절되어 있었고, 일부의 사립체의 사립체용이 용해되어 있었으며, 교원섬유전구체의 막이 파손되어 있었고, 연골기질에는 소수의 대형기질과립이 연골세포의 표면에 인접하여 있었다. cis-Platin 투여 후 2주 및 3주 경과군 연골세포에서는 조면내형질세망의 소조가 서로 평행하게 배열되어 있었고, 한층의 단일막으로 잘 보존되어 있는 많은 교원섬유전구체가 분포되어 있었으며, 연골기질에는 다수의 대형기질과립이 연골세포표면에 인접하여 존재하고 있었고, 또한 풍부한 교원섬유와 교원섬유사이에 많은 기질과립이 분포되어 있었다.

이상의 결과를 종합하면 cis-Platin을 흰쥐에 투여하면 경골의 근위골단연골판내 연골세포에 독성으로 작용하여 연골세포내 소기관의 변성을 야기하며 이에따라 연골기질의 조성도 변화되나 이러한 손상은 시간이 경과함에 따라 회복되는 것으로 사료된다.

참고문헌

- 김수연, 권홍식, 1985. 흰쥐 각종 연골의 조직학적 구조와 5-FU의 영향. 카톨릭의대의학부 논문집 98(2), 481-499.
- 김식, 백태경, 정호삼, 이규식, 1987. Dactinomycin이 흰쥐 경골 골단연골판의 기질합성에 미치는 영향, 대한해부학회지 20, 45-55.
- 김현식, 1989. 백서 늑골 골절후 형성되는 연골성 가골의 조직화학적 및 전자현미경적 연구, 한양대학교 대학원

- 박사학위논문
- 안덕균, 백두진, 정호삼, 이규식, 1987. Vincristine이 mouse 간세포의 미세구조에 미치는 영향, 한양의대학술지 7(1), 27-43.
- 오정일, 정호삼, 이규식, 1984. 백서의 경골 골단연골판의 분화에 관한 연구, 한양의대학술지 4, 1-21.
- 유신철, 이동준, 정호삼, 이규식, 1987. *cis-Dichlorodiammineplatinum*이 mouse 간장의 인산염분해효소활성에 미치는 영향, 환경과학논문집 8, 159-171.
- 이춘용, 김동환, 이규식, 1987. Prospidin이 mouse 신근위요세관 상피세포의 미세구조에 미치는 영향, 한양의대학술지 7(1), 45-62.
- 최충식, 김광희, 이규식, 1986. Dactinomycin이 흰쥐 요골의 골단연골판의 기질합성에 미치는 영향, 한양의대학술지 6, 1-19.
- Ali SY, Evans L, 1973. The uptake of (⁴⁵Ca) calcium ions by matrix vesicles isolated from calcifying cartilage, *Biochem. J.* 134, 647.
- Ali SY, Sajdera SW, Anderson HC, 1970. Isolation and characterization of calcifying matrix vesicles from epiphyseal cartilage, *Proc. Natl. Acad. Sci, USA.* 67, 1513.
- Barnett CH, Cochrane W, Palfrey AJ, 1963. Age changes in articular cartilage of rabbits, *Ann. Rheum. Dis.* 22, 389.
- Blisard KS, Harrington DA, 1989. Cisplatin-induced neurotoxicity with seizures in frogs, *Ann. Neurol.* 26, 336-341.
- Bloom W, Fawcett DW, 1975. A textbook of histology, 10th Ed, W.B. Saunders Co, Philadelphia, London, pp.234-238.
- Brighton CT, Yoichi S, Hung RH, 1973. Cytoplasmic structures of epiphyseal plate chondrocytes, *J. Bone. Joint. Surg.* 55, 771-784.
- Cameron DA, Robinson RL, 1958. Electron microscopy of epiphyseal and articular cartilage matrix in the femur of the newborn infant, *J. Bone. Joint. Surg.* 40, 163-170.
- Choi DD, del Campo AA, Guarino AM, 1980. Subcellular localization of *cis-Dichlorodiammineplatinum(II)* in rat kidney and liver, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 55, 245-252.
- Chun EHL, Gonzales L, Lewis FS, Jones J, Rutman RJ, 1969. Differences in the in vitro alkylation and crosslinking of nitrogen mustard-sensitive and -resistant lines of Lettrec-Chrlich Ascites tumors, *Cancer Res.* 29, 1184-1194.
- Conklin JL, 1963. Staining properties of hyaline cartilage, *Am. J. Anat.* 112, 259-269.
- Copenhaver WM, Kelly DE, Wood RL, 1978. Bailey's textbook of Histology, 17th Ed. Williams and Wilkins Co, Baltimore, pp.171-205.
- DeConti RC, Toftness BR, Lange RC, et al., 1973. Clinical and pharmacological studies with *cis-Diamminedichloroplatinum(II)*, *Cancer Res.* 33, 1310-1315.
- Dixon R, Cooney D, Davis R, Heyman I, Schaeppi U, Fleischman R, 1971. R×Preclinical toxicologic studies of *cis-Dichlorodiammineplatinum(II)*, Abstracts of the 7th International Congress of Chemotherapy, Prague, 2(B), 14-56.
- Dobyan DC, Hill D, Lewis T, Bulger RE, 1981. Cyst formation in rat kidney induced by *cis-Platin* administration, *Lab. Invest.* 45, 260-268.
- Ernst SG, Oleinick NL, 1977. Actinomycin D in tetrahymena, nonspecific inhibition of RNA synthesis and primary and secondary effect on protein synthesis, *Exp. Cell. Res.* 110, 363-373.
- Fleischman RW, Stadnicki SW and Ethier MF, 1975. Ototoxicity of *cis-Dichlorodiammineplatinum (II)* in the guinea pig, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 33, 320-332.
- Gergory JD, Roder L, 1961. Isolation of kerato-sulfate from chondromucoprotein of bovine nasal septa, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 5, 430-434.
- Ghadially FN, Lalonde JMA, 1981. Intrametrical lipidic debris and calcified bodies in human semilunar cartilage, *J. Anat.* 132, 481.
- Ghadially FN, Lock CJL, Yang-Steppuhn SE, Lalonde JMA, 1981a. Platinosomes produced in cultured cells by platinum coordination complexes, *J. Submicr. Cytol.* 13, 223.
- Ghadially FN, Lock CJL, Lalonde JMA, Ghadially R, 1981b. Platinosomes produced in synovial membrane by platinum coordination complexes,

- Virchows Arch. B. Cell. Path. 35, 123.
- Ghadially FN, Roy S, 1969. Ultrastructure of synovial joints in health and disease, London Butterworths.
- Greco V, Lauro G, Fabrini A, Torsoll A, 1967. Histochemistry of colonic epithelial mucus in normal subjects and in patients with ulcerative colitis, Gut. 8, 491.
- Gregg RW, Molepo JM, Monpetit VJ, Mikael NZ, Redmond D, Gadia M, Stewart DJ, 1992. Cisplatin neurotoxicity : The relationship between dosage, time and platinum concentration in neurologic tissues, and morphologic evidence of toxicity, J. Clin. Oncol. 10, 795-803.
- Harder HC, Rosenberg B, 1969. Inhibition of DNA polymerase in vitro and DNA synthesis in vivo in human amnionic AV3 cell treated with tumor inhibiting platinum compounds, Third International Biophysics Congress of the International Union for Pure and Applied Biophysics. Cambridge, Mass. Usa. Aug. 29-Sep. 3, p.31.
- Heinen E, 1978a. Effects of antimetabolic agents either free or bound to DNA on mouse peritoneal macrophages cultivated in vitro, Virchows Arch. B. Cell Path. 27, 79.
- Heinen E, 1978b. D tectio n de platine l'aide d'une microsonde lectronique dans des macrophages p rito n aux de Souris cultiv s en pr sence de cis-dochloro-diammine platine(II) li de l'ADN, Biologie. Cellulaire, 31, 211.
- Hoeschell JD, Johnson NP, Ralm RQ, Brown DH, 1978. Comparative distribution binding studies of 195m Pt-labeled dichlorodiammineplatinum, DDP in the rat with emphasis on the localization in DNA, Biochem. 60, 1054.
- Howle JA, Gale GR, 1970. cis-Dichlorodiammineplatinum(II), Persistent and selective inhibition of deoxyribonucleic acid synthesis in vivo, Biochem. Pharmacol. 19, 2757-2762.
- Keller KA, Aggarwal SK, 1983. Embryotoxicity to cisplatin in rats and mice, Toxicol. Appl. Pharmacol. 69, 245-256.
- Kociba RJ, Sleight SD, 1971. Acute toxicologic and pathologic effects of cis-Dichlorodiammineplatinum(II)(NSC-119875) in male rat, Cancer Chem. Rep. 55, 1-8.
- Komune S, Asakuma S, Snow JB, 1981. Pathophysiology of the ototoxicity of cis-Dichlorodiammineplatinum(II), Otolaryngol Head Neck Surgery, 89, 275-282.
- Lange RC, Spencer RP, Harder HC, 1972. Synthesis and distribution of radiolabeled antitumor agent: cis-Dichlorodiammineplatinum(II), J. Nucl. Med. 13, 329-330.
- Littrest CL, Gram TE, Didrick RL, et al., 1976. Distribution and disposition of platinum following intravenous administration cis-Diamminechloroplatinum(II) (NSC-119875) to dog, Cancer Res. 36, 2340-2344.
- Mansy S, Rosenberg B, Thomson JA, 1973. Binding of cis- and trans-Dichlorodiammineplatinum(II) to nucleosides. I. Location of the binding sites, J. Am. Chem. Soc. 95, 1633-1640.
- Mowry RW, Winkler CH, 1956. The coloration of acidic carbohydrates of bacteria and fungi in tissue sections with special reference to capsules of cryptococcus neoformans, pneumococci and staphylococci, Am. J. Pathol. 36, 628-629.
- Murie H, Hardingham TE, 1975. Structure of proteoglycans. In biochemistry of carbohydrates, Ed, Kornberg, H.L. Philips, D.C., Vol 5, pp.153-222, London, Butterworths.
- Patridge SM, Elsdon DF, 1961. The chemistry of connective tissues. 6. The constitution of chondroitin sulfate-protein complex in cartilage, Biochem. J. 79, 15-76.
- Press NS, Anderson HC, Sajdera SW, 1971. The lipids analysis of vesicles isolated from the matrix of calcifying cartilages, Fed. Proc. 30, 1244.
- Revel JP, Hay ED, 1963. An autoradiographic and electron microscopic study of collagen synthesis in differentiating cartilage, Z. Zellforsch. 61, 110-114.
- Roberts JJ, Pascoe JM, 1972. Cross-linking of complementary platinum compounds, Nature (London) 235, 282-284.

- Rosenberg B, 1975. Possible mechanisms for the antitumor activity of platinum coordination complexes, *Cancer Chem. Rep.* 59, 589-598.
- Rosenberg B, VanCamp L, Krigas, T, 1965. Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from a platinum electrode, *Nature.* 205, 698-699.
- Rosenberg B, VanCamp L, Trosko J, Manseur VH, 1969. Platinum compounds; a new class of potent antitumor agents, *Nature.* 222, 385-386.
- Rosenweig M, Von Hoff DD, Slarik M, Muggia FM, 1977. *cis*-Dichlorodiammineplatinum(II). A new anticancer drug, *Ann. Intl. Med.* 86, 803-812.
- Schaeppli U, Heyman IA, Fleischman RW, Rosenkrantz H, Illievski V, Phelan R, Cooney DA, Divis RD, 1973. *cis*-Dichlorodiammineplatinum(II)(NSC-119875): preclinical toxicologic evaluation of intravenous injection in dogs, monkeys and mice, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 25, 230-241.
- Scott BL, Pease DC, 1956. Electron microscopy of the epiphyseal apparatus, *Anat. Rec.* 126, 465-495.
- Stockwell RA, 1979. *Biologie cartilage cells*, Cambridge University Press.
- Ward JM, Fauvie KA, 1976. The nephrotoxic effects of *cis*-Diamminedichloro- platinum(II) (NSC-119875) in male F344 rats, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 38, 535-547.
- Wuthier RE, 1973. Enzymatic, lipid and electrolyte composition of epiphyseal cartilage sub-cellular fractions, *J. Dent. Res.* 52, 175.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** An electron micrograph of the proliferative zone of the proximal tibial epiphyseal plate of the control rat. Cisternae of rough endoplasmic reticulum (RER) and numerous procollagens (PC) are observed. In the matrix collagen fiber bundles are well preserved, and many large matrix granules (arrow) adjacent to the chondrocyte are shown. Uranyl acetate and lead citrate stain, $\times 9,000$.
- Fig. 2.** An electron micrograph of the chondrocyte in the proliferative zone of the proximal tibial epiphyseal plate of the control rat. Rough endoplasmic reticulum (RER), mitochondria (M), procollagen (PC) and Golgi complex (Go) are shown. In the matrix large matrix granules (arrow) adjacent to the chondrocyte and numerous small matrix granules are observed. Uranyl acetate and lead citrate stain, $\times 27,000$.
- Fig. 3.** An electron micrograph of the proliferative zone of the proximal tibial epiphyseal plate of the *cis*-Platin treated rat at the 1st day after the final administration. Irregularly arranged rough endoplasmic reticulum (RER), procollagens (PC) and vacuole are shown. In the matrix some large matrix granules (arrow) lie adjacent to the chondrocyte surface. Uranyl acetate and lead citrate stain, $\times 10,800$.
- Fig. 4.** An electron micrograph of the chondrocyte in the proliferative zone of the proximal tibial epiphyseal plate of the *cis*-Platin treated rat at the 1st day after the final administration. Some of the cisternae of rough endoplasmic reticulum (RER) are dilated, and membrane disrupted procollagen granules are observed. In the matrix electron-dense large matrix granules (arrow) are located adjacent to the chondrocyte, and numerous small matrix granules and collagen fibrils are observed. Uranyl acetate and lead citrate stain, $\times 45,000$.
- Fig. 5.** An electron micrograph of the proliferative zone of the proximal tibial epiphyseal plate of the *cis*-Platin treated rat at the 3rd day after the final administration. Dilated and fragmented rough endoplasmic reticulum (RER), procollagens (PC), Golgi complex (Go) and lipid droplet (L) as well as

glycogen particles are shown. In the matrix a few large matrix granules (arrow) adjacent to the chondrocyte are observed. Uranyl acetate and lead citrate stain, $\times 7,200$.

- Fig. 6.** An electron micrograph of the chondrocyte in the proliferative zone of the proximal tibial epiphyseal plate of the cis-Platin treated rat at the 3rd day after the final administration. Cisternae of rough endoplasmic reticulum (RER) are fragmented and dilated, and membrane of procollagens (PC) are disrupted. And Golgi complex (Go) is atrophied. In the matrix electron-dense large matrix granules (arrow) lie adjacent to the chondrocyte and numerous small matrix granules are observed. Uranyl acetate and lead citrate stain, $\times 45,000$.
- Fig. 7.** An electron micrograph of the proliferative zone of the proximal tibial epiphyseal plate of the cis-Platin treated rat at the 1st week after the final administration. Rough endoplasmic reticulum (RER), mitochondria (M), procollagens (PC), lipid droplet and glycogen particles are shown. In the matrix many large matrix granules (arrow) adjacent to the chondrocyte and numerous small matrix granules between the collagen fibrils are observed. Uranyl acetate and lead citrate stain, $\times 7,200$.
- Fig. 8.** An electron micrograph of the chondrocyte in the proliferative zone of the proximal tibial epiphyseal plate of the cis-Platin treated rat at the 1st week after the final administration. Part of the cisternae of rough endoplasmic reticulum (RER) are sacculated. In the matrix a number of large matrix granules (arrow) are located adjacent to the chondrocyte and numerous small matrix granules between collagen fibrils are observed. Uranyl acetate and lead citrate stain, $\times 36,000$.
- Fig. 9.** An electron micrograph of the proliferative zone of the proximal tibial epiphyseal plate of the cis-Platin treated rat at the 2nd week after the final administration. Parallely arranged rough endoplasmic reticulum (RER), procollagens (PC) are observed. In the matrix great number of large matrix granules (arrow) adjacent to the chondrocyte surface and numerous small matrix granules between collagen fibrils are observed. Uranyl acetate and lead citrate stain, $\times 7,200$.
- Fig. 10.** An electron micrograph of the chondrocyte in the proliferative zone of the proximal tibial epiphyseal plate of the cis-Platin treated rat at the 2nd week after the final administration. Rough endoplasmic reticulum (RER) and procollagens (PC) are shown. In the matrix large matrix granules (arrow) adjacent to the chondrocyte and numerous small matrix granules are observed. Uranyl acetate and lead citrate stain, $\times 21,600$.
- Fig. 11.** An electron micrograph of the proliferative zone of the proximal tibial epiphyseal plate of the cis-Platin treated rat at the 3rd week after the final administration. Oval-shaped nucleus, regularly arranged rough endoplasmic reticulum (RER), mitochondria (M), procollagens (PC) and Golgi complex (Go) are observed. In the matrix many electron-dense large matrix granules (arrow) adjacent to the chondrocyte and numerous small matrix granules between collagen fibrils are shown. Uranyl acetate and lead citrate stain, $\times 10,800$.
- Fig. 12.** An electron micrograph of the chondrocyte in the proliferative zone of the proximal tibial epiphyseal plate of the cis-Platin treated rat at the 3rd week after the final administration. Oval-shaped nucleus, regularly arranged rough endoplasmic reticulum (RER), mitochondria (M), procollagens (PC) and Golgi complex (Go) are observed. In the matrix many electron-dense large matrix granules (arrow) adjacent to the chondrocyte and numerous small matrix granules between collagen fibrils are shown. Uranyl acetate and lead citrate stain, $\times 18,000$.

