

ÜBER BEEINFLUSSUNG DER ZELLPERMEABILITÄT DURCH MITOGENETISCHE BESTRAHLUNG

VON ANASTASIE POTOZKY

(Aus der Abteilung für experimentelle Biologie des Institutes für experimentelle Medizin, Leningrad)

Mit 5 Textfiguren

Eingegangen am 2. September 1935

Der erste Nachweis der Steigerung der Zellpermeabilität durch mitogenetische Bestrahlung wurde auf rein chemischem Wege durch I. R. Bachromeew erbracht¹⁾. Wird die überlebende, frei in Ringer aufgehängte Mäuseleber etwa 12 Minuten allseitig mit einer biologischen Strahlungsquelle (Hefegarkulturen) bestrahlt, so sind in der Ringerflüssigkeit mehrere Stoffe chemisch nachweisbar, die im Kontrollexperiment mit möglichst gleichen Lebern entweder vollständig fehlen, oder in viel geringeren Spuren vertreten sind. So wurde der Austritt von Zucker- (durchschnittlich 23 mg %, gegen etwa 2 mg % in der Kontrolle), einer P-haltigen Verbindung, einer Phosphatase, Katalase und Spuren von Eiweiß nachgewiesen.

Auf Anregung von Prof. Gurwitsch habe ich das gleiche Problem an verschiedenen pflanzlichen Zellen in Angriff genommen. Meine Untersuchungen beziehen sich auf zwei Gruppen von Objekten: dünne Scheiben aus roten Rüben und Blütenblätter verschiedener Arten.

A. Methodik

Als Strahlungsquellen wurden fast ausschließlich zwei chemische Oxydationsmodelle gebraucht, die nach den vorangehenden Untersuchungen von Braunstein und Potozky als konstante und wohl als kräftigste Strahlungsquellen gelten können. Es sind dies die Reaktionen $K_2Cr_2O_7 + FeSO_4$ und $H_2O_2 + KMnO_4$. Als Reaktionsgefäße werden kleine, etwa 10 ccm fassende zylindrische Glaskammern gebraucht, deren Boden aus einer Platte von kristallinischem auf mitogenetische Durchsichtigkeit geprüften Quarz besteht. Bei der Arbeit mit ersterem Modell ist die Kammer mit einem Ausguß versehen, und zwar mit der Berechnung, daß stets nur eine dünne Schicht des flüssigen Gemenges, die sich stets erneuert, am Boden der Kammer bleibt. Beide Komponenten werden in der Regel in $\frac{1}{10}$ n-Konzentration gebraucht und in einem ununterbrochenen Tropfenstrom in die Kammer von oben eingeführt. Das Eisensalz wird in Schwefelsäure in einem Verhältnis 1:6 gelöst, und wird zweckmäßigerweise in einem etwas stärkeren Strom, wie das Chromsalz gelassen. Die Reaktion ist an der grünlichen Färbung der abfließenden Flüssigkeit erkennbar. Bei der Arbeit mit dem zweiten Modell wird in die Kammer von einer etwa 0,3% H_2O_2 -Lösung etwa 2 cm hoch aufgefüllt und Permanganat (0,01 n) tropfenweise zugesetzt, bis eine merkliche Bräunung auftritt, woraufhin die Lösung erneuert wird. Es findet eine lebhafte Gasentwicklung statt.

¹⁾ Comptes rendus de la Societé de Biologie, 1935.

Die Kontrollobjekte werden in gleicher Weise mit einer Kammer mit Glasboden bestrahlt. In einer Reihe von Versuchen wurden, um jede Möglichkeit der Beeinflussung durch Wärmestrahlung der Reaktion (übrigens mit sehr geringer Wärmetönung — Temperaturerhöhung um etwa 3°) zu beseitigen, die Kammern mit einem doppelten Quarzboden versehen. In die Induktionskammer kommt zwischen die beiden Quarzplatten eine Wasserschicht, in die Kontrollkammer eine KJ-Lösung, die die Strahlung total absorbiert.

B. Versuche mit roter Rübe

Die Auswahl der Rüben muß in sehr sorgfältiger Weise vorgenommen werden. Es eignen sich nur mittelgroße, frische, ganz feste Rüben, von regelmäßiger, tief roter Färbung ohne weiße Flecke und sonstigen Unregelmäßigkeiten. Mittels eines Doppelmessers wird eine Querlamelle von etwa 2 mm Dicke herausgeschnitten und in vier gleich große Quadranten unterteilt. Die Stücke werden dann unter starkem Wasserstrahl in einer Petrischale tüchtig etwa 3—15 Minuten gewässert, bis der aus den beschädigten Zellen herausgetretene Zellsaft völlig weggewaschen wird. Die Stücke kommen darauf in kleine flache, etwa 10 ccm fassende Schalen, jedes Stück für sich, und indem 2—3 als Kontrollen dienen, wird die eine Lamelle in oben angegebener Weise etwa 15 Minuten bestrahlt. Der Effekt der Bestrahlung, der sich ganz regelmäßig (bei über 100 Versuchen) mehr oder weniger ausgesprochen einstellte, ist ein zweifacher:

1. Eine merkbare Beschleunigung des Austritts des Zellsaftes in das Wasser.

2. Eine intensivere Verfärbung des Wassers.

Der Effekt läßt sich in der Regel schon visuell beurteilen und kann vordemonstriert werden. In einer größeren Versuchsserie wurden aber die Farbenunterschiede auch kolorimetriert.

Die Beschleunigung des Farbstoffaustrittes, die zuweilen auch ausbleibt, ist für eine Reihe von Versuchen zahlenmäßig zusammengestellt (Tab. 1).

Tabelle 1. Merkbare Verfärbung des Wassers

Vorherige Spülung: 3—5 Minuten		Vorherige Spülung: 10—15 Minuten	
Induktion	Kontrolle (Zeit in Min.)	Induktion	Kontrolle (Zeit in Min.)
1	5	15	19
1, 2, 1	5, 4, 5	10	17
5	6, 7, 6, 8	8	11, 13, 12, 13
11	15, 14, 17, 14	17	21, 20, 22, 19
9	10, 9, 11, 9	18	22
3	7	15	17
3	5	16	20, 21, 19, 20
12, 15, 15, 15	16, 17, 17	18, 18, 20	22, 20, 24, 24
		16, 18, 16, 17	16, 20, 22, 21
		16, 17, 18, 16	20, 20, 22, 20, 23
		20, 18, 18, 21	25, 21, 21, 26

(Die in einer Zeile angeführten Zahlen beziehen sich auf Versuche mit einer Rübe.)

Viel ausgesprochener, als der Beschleunigungseffekt, sind die Unterschiede in der Farbensättigung des Wassers, die sich nach einiger Zeit einstellen. Abgesehen von den zahlreichen Fällen, die nur visuell beurteilt wurden, sind in der Tabelle 2 von 34 Versuchen kolorimetrische Protokolle angeführt.

Tabelle 2

Übergewicht zugunsten der Induktion in %	Schwankungen zwischen 2—3 Kontrollen eines Versuches	Zeitpunkt des Ausgleiches der Unterschiede zwischen Kontrolle und Induktion
32,3	3,1	29'
48,0	4,5	32'
28,2	3,2	44'
42,4	4,0	23'
41,3	3,8 5,0 4,2	34'
21,8	2,7 3,9 6,0	27'
37,4	3,8 5,0 3,0	41'
24,2	3,0 5,0 4,2	35'
37,4	5,2 4,8 5,7	54'
27,2	2,4 3,1	48'
33,6	5,2 4,8	37'
40,2	3,7 3,2	41'
27,4 33,7	4,8 5,2	40'
27,4 30,1	3,7	40'
18,7 22,3	4,2 4,0	54'
26,1 20,1	3,8	60'
24,3 21,7	2,4 4,5	70'
37,2 23,1	3,8 4,2	Ohne Ausgleich, 75'
41,6 28,2	4,2 2,7	25', 35', 25'
40,3	3,0	80', 60'
31,6 20,7		Kein Ausgleich, 60'
24,8		
34,0 23,4		
24,5 40,2		
Mittel 30,1	Mittel 4	

C. Versuche mit Blütenblättern

Blütenblätter, die an ihrer Basis abgelöst wurden, kamen in kleine Wasserschalen, ein Teil als Kontrollen, die anderen zur Induktion. Die Bestrahlung wurde bis auf einen Fall, der mit defibriniertem Blut bestrahlt wurde, mit dem Modell $H_2O_2 + KMnO_4$ vorgenommen. Es eignen sich zarte, relativ gut benetzbare Blüten, und zwar möglichst frisch.

1. Weiße Blüten

Einige Stunden (6—8) nach Bestrahlung traten auf den bestrahlten Blättern kleine durchsichtige Flecke auf, die ziemlich schnell an Ausdehnung



Fig. 1. Weiße Paeonie. Bestrahlung 20 Minuten. Aufnahme 24 Stunden nach Bestrahlung. Erstes und drittes Blatt bestrahlt, zweites und viertes Blatt Kontrollen.



Fig. 2. Weiße Heidenrose. Oben Kontrolle, unten zwei bestrahlte Blätter. Bestrahlung 20 Minuten. Aufnahme 6 Stunden nach Bestrahlung.

zunahmen und je nach der Blütenart eine Scheckung oder eine ganz gleichmäßige glasartige Durchsichtigkeit des Blattes bewirkten, wobei die Nervatur außerordentlich deutlich auf einem schwarzen Hintergrunde hervortrat. Es wurde mit folgenden Blüten experimentiert: Apfelblüten (*Pyrus malus*), weiße Heidenrosen (*Rosa canina*), Paeonien, Jasmin (*Philadelphus coronarius*) und Narzisse (*Narcissus poeticus*). Der Effekt ist verschieden im Sinne des Zeitpunktes des Auftretens und der Ausdehnung je nach der Blütenart.

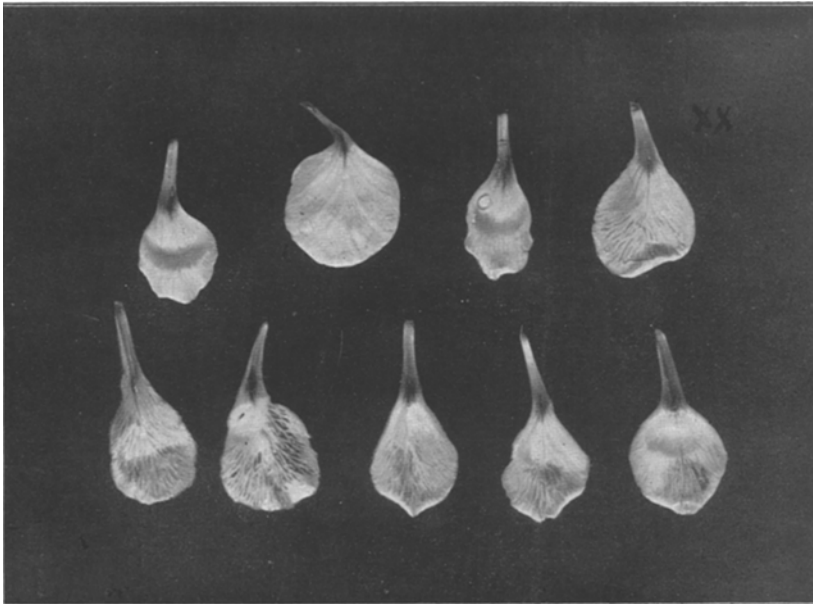


Fig. 3. Weiße Levkoje. Obere Reihe — Kontrollen. Das mit ++ bezeichnete Blatt (rechts) zeigt das Bild des normalen Verwelkens nach 4 tägigem Aufenthalt in Wasser. In der unteren Reihe — zwei Blätter links — 24 Stunden nach Bestrahlung, drei Blätter rechts — 8 Stunden nach Bestrahlung.

2. Pigmentierte Blumen

Die besten Resultate wurden erzielt mit Mohn (*Papaver rhoeas*), wohlriechender Erbse (*Lathyrus odoratus*), Veilchen und lila gefärbter Levkoje (*Matthiola fragrans*). Das Verhalten ist wiederum verschieden, je nach Blütenart. Bei sehr zarten Blüten (Veilchen und namentlich Mohn) ist der erste Erfolg der Bestrahlung schon nach etwa 6—8 Stunden merkbar und nimmt im Laufe des 1. Tages an Umfang stark zu: es erscheinen kleine, rasch zunehmende vollständig helle, beim Veilchen vielfach gelb umrandete Flecke. Die Blütenblätter des Mohns sehen wie ausgestanzt aus, da die Flecke ganz wasserklar sind.

Ganz eigenartig sind die Verhältnisse mit rötlich bis lila gefärbten Blättern der wohlriechenden Erbse und der großen Viola. Der erste Effekt äußert

sich in einem deutlichen Umschlag der rötlichen Farbe in reines Blau, was, namentlich an der Erbse, besonders deutlich an den Blatträndern auftritt.

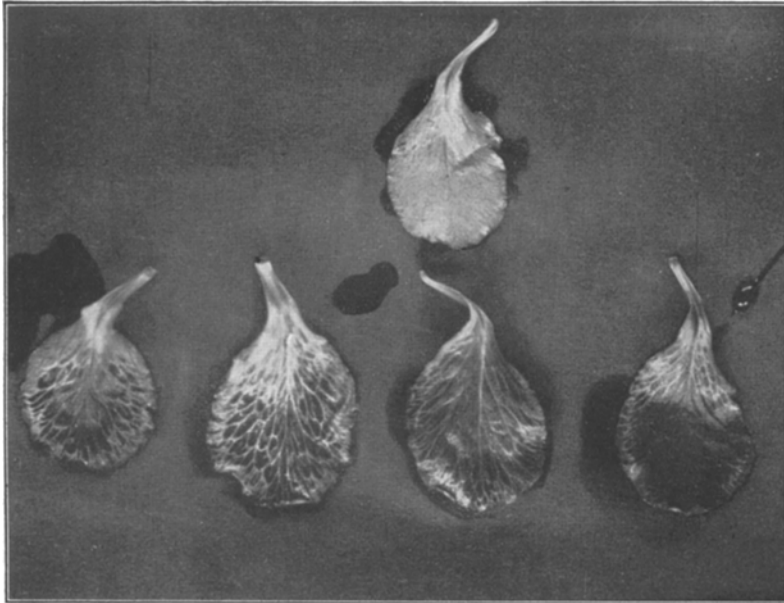


Fig. 4. Lila Levkoje. Die ersten Erscheinungen des Durchsichtigwerdens traten nach etwa 6 Stunden auf. Das Photo stellt den Zustand nach 3 Tagen dar. Das Kontrollblatt behält seine ursprüngliche elastische Konsistenz und normale Lila-Farbe. Die induzierten ganz welk, durchsichtig, stellenweise gelb gescheckt.

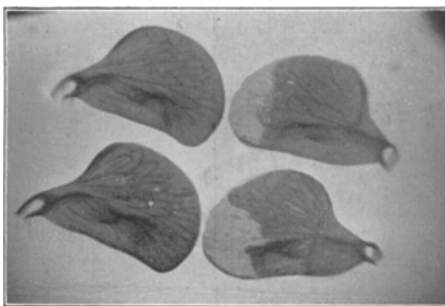


Fig. 5. Wohlriechende Erbse. Links zwei Kontrollen, rechts zwei bestrahlte Blätter. Etwa 6 Stunden nach Bestrahlung deutlich blaue Verfärbung der distalen Bezirke der bestrahlten Blätter (aus dem ursprünglichen rötlichen Lila-Ton). Nach etwa 20 Stunden wurden die verfärbten Ränder ganz durchsichtig. Aufnahme nach 36 Stunden. Die Kontrollen zeigten die ersten Andeutungen des gleichen Phänomens nach weiteren 24 Stunden.

An der Viola muß, um einen Effekt zu erzielen, die Epidermis abgetragen werden. Man kann dann den Austritt eines blauen Pigments der bestrahlten Blüten ins Wasser wahrnehmen. Die Verfärbung der Blätter ist als erste Etappe der Bestrahlung aufzufassen, es tritt allmählich an diesen Stellen eine völlige Depigmentierung auf, bis die Bezirke ganz wasserklar werden und etwa wie Libellenflügel aussehen.

D. Diskussion der Ergebnisse

Eine vollständig befriedigende Deutung der an den Blüten erhobenen Befunde ist nicht leicht zu geben.

Es muß indessen berücksichtigt werden, daß die durch Induktion bewirkten Phänomene nur Beschleunigungen (und z. T. auch Intensitätssteigerungen) der normalen Erscheinungen des Verwelkens in Wasser aufgehobener Blütenblätter sind. Es handelt sich allerdings bei manchen Blütenarten, wie z. B. bei der wohlriechenden Erbse und beim Mohn um ganz gewaltige Zeitdifferenzen — Induktionseffekte schon binnen 6—8 Stunden und erste Anzeichen gleicher Art bei den Kontrollblättern erst nach 3—5 Tagen!

Das Phänomen des Durchsichtigwerdens dürfte unschwer erklärbar sein. Infolge gesteigerter Permeabilität wird der Zellsaft offenbar in die Interzellularen herausgepreßt und verdrängt aus denselben die Luft.

Das scheckige Auftreten des Effektes kann nur auf örtliche Schwankungen der Resistenzfähigkeit der Gewebe zurückgeführt werden. Auch die normalen Verwelkungserscheinungen treten zunächst in Flecken auf.

Ungeklärt bleiben zunächst zwei Erscheinungen: 1. die schnelle Ausbreitung des Primäreffektes von einem lokalen Herde aus; 2. der Farbumschlag gewisser Pigmente nach der alkalischen Seite. Es dürfte sich hier weniger um direkte Einwirkung der Strahlung auf die Pigmente, als um einen mittelbaren Einfluß der gesteigerten Permeabilität handeln, was auch daraus gefolgert werden kann, daß der Umschlag auch beim normalen Verwelken zu beobachten ist.

Was die Deutung des Grundphänomens — die Beeinflussung der Permeabilität durch sehr schwaches Ultraviolett betrifft, so sind wir vorderhand auf bloße Vermutungen angewiesen. Einige hinzugehörige Erfahrungen aus unserem Laboratorium über leichte Zerstörbarkeit monomolekulärer Filme durch mitogenetische Bestrahlung dürften vielleicht später in Erwägung kommen. Das Problem wird Gegenstand weiterer Untersuchungen werden. Anm. bei der Korrektur. Weitere Versuche mit Herbstexemplaren mancher Arten (*Lathyrus*) gaben keine befriedigenden Resultate. Es bewährten sich dagegen Nelke und Gladiolus. Es wurde auch die direkte Beeinflußbarkeit des herausgetretenen Pigmentes durch Bestrahlung nachgewiesen.