

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Zürich

---

**Zur Kenntnis der Mitose XI.**  
**Ueber den Einfluß von**  
**Radium- und Röntgenstrahlen auf die**  
**Zellteilung in Gewebekulturen**

Von der Medizinischen Fakultät  
der Universität Zürich mit dem Hauptpreis  
ausgezeichnete Preisschrift

von  
**Paul Perk**  
von Zürich

---

Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH 1942

ISBN 978-3-662-27929-8  
DOI 10.1007/978-3-662-29437-6

ISBN 978-3-662-29437-6 (eBook)

(Aus dem Anatomischen Institut der Universität Zürich  
[Direktor: Prof. Dr. W. v. MÖLLENDORFF].)

## ZUR KENNTNIS DER MITOSE XI<sup>1</sup>

### ÜBER DEN EINFLUSS VON RADIUM- UND RÖNTGENSTRAHLEN AUF DIE ZELLTEILUNG IN GEWEBEKULTUREN.

Von  
PAUL PERK.

Mit 20 Textabbildungen (28 Einzelbildern).

(Eingegangen am 19. Juli 1941.)

#### I. Einleitung.

Die nachfolgenden Mitteilungen schließen sich der Reihe der Arbeiten über verschiedene Einflüsse auf die Zellteilung an (v. MÖLLENDORFF 1937, 1938, 1939, 1940; v. MÖLLENDORFF und LAQUEUR 1938; v. MÖLLENDORFF und OSTROUCH 1939; BUCHER 1939, 1940; KRANTZ 1938).

Die grundlegenden Arbeiten über die Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Mitose stammen von ALBERTI und POLITZER, die an der Cornea von Salamanderlarven arbeiteten. 1 Jahr vorher hatten aber schon LACASSAGNE und MONOD den Mitosenrhythmus nach Bestrahlung, allerdings an Krebsgewebe, untersucht. Diese Autoren fanden, daß die Mitosen nach der Bestrahlung verschwinden und nach einigen Stunden wieder auftreten. Durch die Arbeiten von ALBERTI und POLITZER wurde das Verschwinden, die mitosefreie Zwischenzeit und das Wiederauftreten bestätigt, ferner fanden sie verschiedene pathologische Veränderungen bei den Mitosen der verschiedenen Wellen. Auf Grund dieser Erkenntnisse wurde das Verschwinden Primäreffekt, das Wiederauftreten Sekundäreffekt genannt. Diese Mitosenwellen sind durch die mitosenfreie Zwischenzeit voneinander getrennt. Die Mitosen des Primäreffektes sind meist pyknotisch mit Chromosomenbrücken in den späteren Phasen, so daß sie als Pseudoamitosen bezeichnet wurden. Im Sekundäreffekt treten neben abgelenkten Chromosomen, die zu Teilkernen rekonstruiert werden, Fragmentation der Chromosomen und Brückenbildung in der Rekonstruktionsphase auf. Bei der von ALBERTI und POLITZER angewandten Dosis erfolgte der Absturz der Mitosenzahl zum Nullpunkt im Laufe eines Tages, die Zwischenzeit dauerte 2 Tage, dann trat der Wiederanstieg auf, der ein Maximum am 9. Tag erreichte. ALBERTI und POLITZER haben an normal wachsendem Gewebe nach der Bestrahlung außer dem Mitosenrhythmus einen synchron verlaufenden Empfindlichkeitsrhythmus gefunden, wobei bei starker Teilungstätigkeit eine hohe Empfindlichkeit auf Bestrahlung besteht.

STRANGEWAYS und OAKLEY zeigten diese Vorgänge auch an Gewebekulturen, von Hühnerembryonen (Chorioidea und Sklera), wobei sie vor allem die Veränderungen im Primäreffekt beschrieben. STRANGEWAYS und HOPWOOD fanden dann, daß die Abnahme der Mitosen nicht unmittelbar nach der Bestrahlung, sondern erst nach 80 Min. Bebrütung zu sehen war. Bei diesen Geweben war die normale Mitosedauer 40—50 Min. Den Mitosensturz erklären die Autoren dadurch,

<sup>1</sup> Unterstützt durch Mittel der Jubiläumsspende und der Stiftung für wissenschaftliche Forschung an der Universität Zürich.

daß keine neuen Zellen in die Mitose treten können. Untersuchungen an Hühnerembryonen in vivo und in vitro zeigten, nach den Mitteilungen von STRANGWAYS und WILSON, HUGHES, GLÜCKSMANN und SPEAR, einen starken Mitosenabfall, der von einer beträchtlichen Überkompensation gefolgt war. Dabei zeigte sich, daß der Vorgang in vivo und in vitro gleich ist, nur daß das Gewebe in vitro weniger empfindlich ist und langsamer reagiert. Trotz dieser Überkompensation, als Folge der Pause, die auch von SPEAR, sowie von LOVE beschrieben wird, lehnt STRANGWAYS und HOPWOOD, sowie CANTI und DONALDSON eine Stimulation durch die Bestrahlung ab.

Nach den Untersuchungen von JUUL und KEMP an embryonalen Hühnergewebe, verschwinden nach der Bestrahlung, wie genaue Zählungen ergaben, zuerst die Prophasen, dann die Meta- und Anaphasen. Der Mitosensturz erfolgte innerhalb der ersten Stunde, dann folgte der Wiederanstieg. Das Minimum nach einer Dosis von 200 r war 10%, das Maximum des Wiederanstieges, das nach 3 Stunden erreicht wurde, 100%. Nach 2000 r erreichte der Abfall Null, nach 16 Stunden stieg die Mitosenzahl wieder auf 10%. Auch JUUL und KEMP schließen aus ihren Untersuchungen, daß die Bestrahlung die Zellen am Eintritt in die Mitose hindert, wobei diese Wirkung sofort auftritt und in ihrer Dauer dosenabhängig ist. Diese Autoren stellen fest, daß die bestrahlten Mitosen ablaufen, und daß eine heredozyelluläre Schädigung der entstehenden Tochterzellen wahrscheinlich ist.

JUUL und KEMP, CANTI und DONALDSON, SPEAR u. a. machten Versuche mit Radium. Dabei sahen sie, daß die Wirkung der Strahlung gleichwertig ist derjenigen der Röntgenstrahlen. Die Wirkung der Strahlen ist nicht rein kumulativ, sondern es ist eine minimale Intensität nötig, um überhaupt einen bestimmten Effekt zu ermöglichen. Eine Dosis, verteilt auf längere Zeit, hat einen etwas kleineren Effekt, als wenn die gleiche Dosis schnell verabreicht wird. Durch GLOCKER, LANGENDORFF und REUSS wurden diese Ergebnisse mit Röntgenstrahlen ausgebaut. Danach ist das Resultat verschieden, je nachdem ob innerhalb der Bestrahlungszeit bereits Zustandsänderungen stattfinden oder nicht. Erreicht die Zustandsänderung während der Bestrahlung eine merkliche Größe, so ist die Reaktion individuell verschieden. Bei kurzzeitiger Bestrahlung gilt das SCHWARZSCHILDsche Gesetz:  $i \times tp = \text{konstant}$ , wobei  $i$  = Intensität,  $t$  = Zeit und  $p$  ein objektbezogener Faktor, der kleiner als 1 ist. Dieses Gesetz hat Gültigkeit für Änderungen bis zu 1:300. Der Faktor  $p$  ist z. B. für Bohnen 0,95, für Axolotleier 0,96.

Über die Empfindlichkeit der Zelle während der Mitose herrschen verschiedene Ansichten. JUUL und KEMP verneinen eine besondere Empfindlichkeit. LANGENDORFF zeigte an Seeigeleiern, daß die frühe Prophase am empfindlichsten ist, vielleicht auch wieder die Telophase. Aus Arbeiten von LOVE an explantierten Zellen des embryonalen Huhns geht hervor, daß die Zellen zwischen zwei Mitosen einen Empfindlichkeitswechsel durchmachen. Danach ist in der Zeit von 3 Stunden vor Mitosebeginn die Empfindlichkeit erhöht, die übrige Zeit herabgesetzt. Aus diesen Ergebnissen folgt, daß der Hauptangriffspunkt der Bestrahlung in der Prämitose zu suchen ist. Dies wird auch bestätigt durch die Feststellungen von LOVE, JÜNGLING und LANGENDORFF, LASER, POLITZER, COX u. a., daß bei erhöhter Teilungstätigkeit die Strahlenempfindlichkeit größer ist, als wenn sich wenige Zellen teilen. Nach LASER erholt sich das Gewebe aber auch nur, wenn Mitosen vorhanden sind. An Krebsgewebe zeigen Untersuchungen von JÜNGLING und LANGENDORFF, daß die Vorgänge dort prinzipiell gleich sind, nur die Geschwindigkeit der Reaktion und die Empfindlichkeit sind verschieden.

Den Mechanismus der Strahlenwirkung sehen JÜNGLING und LANGENDORFF in einer Hemmung des Aufbaustoffwechsels, die den Mitosenstopp erklären würde. GASSUL schließt aus seinen Beobachtungen an Kaltblütererythrocyten auf osmotische Veränderungen der Zellen, die auf Schädigungen der Zellmembrane hinweisen.

Die Frage nach dem Schicksal der Zellen nach der Bestrahlung wird verschieden beantwortet. COX sieht einen erhöhten Zelluntergang; JUUL und KEMP glauben, daß die Zellen, da sie sich während des Mitosenstoppes nicht mehr teilen können, infolge von Hypertrophie zugrunde gehen. Demgegenüber stellt HEIM fest, daß auch Bestrahlung mit 10 HED keinen Einfluß auf Fibroblastenkulturen habe. Auch STRANGWAYS und OAKLEY weisen darauf hin, daß sehr hohe Dosen keinen tödlichen Einfluß haben.

Wie bereits erwähnt, haben JUUL und KEMP, CANTI und DONALDSON, SPEAR u. a. die gleichartige Wirkung von Radium und Röntgenstrahlen festgestellt. Dieselben Resultate erreichten auch POLITZER und ZAWKOWSKY mit Grenzstrahlen, also sehr weichen Röntgenstrahlen.

Zusammenfassend können die hauptsächlichlichen Wirkungen der Bestrahlung wie folgt beschrieben werden:

1. Schwächste Dosen bewirken eine Beschleunigung des Kernteilungsrythmus an Objekten, die eine tagesperiodische Schwankung zeigen.

2. Bei höheren Dosen nimmt nach der Bestrahlung die Teilungstätigkeit sofort ab: Primäreffekt, und steigt dann nach einem mitosearmen oder -freien Intervall wieder an: Sekundäreffekt. Die Höhe des Absturzes, Länge des Intervalls, sowie Höhe des Wiederanstieges sind dosenabhängig. Die Mitosen nach der Bestrahlung weisen pathologische Veränderungen auf, welche ebenfalls dosenabhängig sind.

3. Die Empfindlichkeit der Gewebe steigt mit Zunahme der Teilungstätigkeit; das Stadium vor der Mitose scheint besonders empfindlich.

4. Die Wirkung der Grenz-, Röntgen- und Radiumstrahlen ist weitgehend gleichwertig, also unabhängig von der Wellenlänge oder der Natur der Strahlen.

Die im folgenden mitgeteilten Ergebnisse betreffen Untersuchungen über den Ablauf der Zellteilungen und ihren Rhythmus in Gewebekulturen von Kaninchenfibrocyten nach einzeitiger Röntgen- oder Radiumbestrahlung und die dabei auftretenden Veränderungen des Mitosenbildes.

## II. Untersuchungsmaterial und -verfahren.

Als Untersuchungsmaterial standen Deckglaskulturen von Kaninchenfibrocyten zur Verfügung. Es wurden meist Kulturen vom zweiten Tag nach der Umpflanzung herangezogen; außerdem gefütterte Kulturen, d. h. solche, welche anstatt umgepflanzt zu werden, nur einen neuen Plasmaextraktgemischtropfen erhalten hatten. Dadurch wurde es möglich, den relativ gewalttätigen und störenden Eingriff des Umpflanzens zu vermeiden. Dem Rat von Prof. H. R. SCHINZ folgend, machte ich die erste Hälfte der Versuche mit Radium, was für die Versuchsanordnung bei den schwachen Dosen eine bedeutende Erleichterung darstellte. Es wurde dabei in der Auswertung kein Unterschied der Strahlenart nach gemacht, was vielleicht als Fehler angesehen wird. Es hat sich aber gezeigt, daß in der Wirkungsweise der beiden Strahlenarten kein merklicher Unterschied auftrat. Um Vergleiche ziehen zu können, wurden

die Radiumdosen in Röntgeneinheiten umgerechnet. Die Art der Radiumbestrahlung war folgende:

Es wurden verwendet:

Radiumnadeln 1 mgr Ra. 0,5 mm Pt-Ir-Filter

Radiumröhrchen 13 mgr Ra. 0,5 mm Pt-Ir-Filter

Bei der Bestrahlung wurden die Radiumpräparate jeweils mit ihrer Mitte über das Mutterstück der Kultur, das etwa 1—2 mm Durchmesser hat, gelegt. So war der Abstand jeweils gleich der Deckglasdicke (0,18 bis 0,23 mm). Die Absorption durch das Deckglas wurde nicht berücksichtigt. Bei den Filmaufnahmen wurde es durch vorsichtiges Auflegen der Präparate möglich, die Unterbrechung der Aufnahme auf etwa 1 Min. zu beschränken, und dann wieder genau die gleiche Stelle weiter zu filmen. Die Nadeln wurden dabei so gelegt, daß sie gerade auf den Rand des gefilmten Ausschnittes zu liegen kamen.

Da eine Röntgenapparatur nicht in unser Laboratorium gebracht werden konnte, mußten die Kulturen in einem geheizten Kasten ins benachbarte Institut getragen werden, wo auf einem auf 39° C einregulierten Heitzisch die richtige Temperatur während der Bestrahlung innegehalten wurde. Zur Röntgenbestrahlung stand ein Nahbestrahlungsapparat nach CHAUL zur Verfügung, mit einer Leistung von 50 kV und 2 mA. Bestrahlt wurde im Abstand von 22 mm mit 1 mm Aluminiumfilter. Es wurde jeweils eine Kultur auf den Heitzisch gelegt und in den Abstand von 22 mm, durch Anschlag am Röhrenfenster, gebracht. Für 1000 r betrug die Bestrahlungszeit 40 Sek. Bei Filmversuchen wurde während der Bestrahlung die Filmapparatur abgestellt und die Kultur im Röntgeninstitut, wo vorher alles vorbereitet worden war, bestrahlt. Durch genaues Beobachten der gefilmten Stelle gelang es dann jeweils wieder, genau die gleiche Stelle in der gleichen Lage einzustellen. Durch die Bestrahlung wurde die Aufnahme meist nicht länger als 5 Min. unterbrochen. So war es möglich, direkt von der Bestrahlung getroffene Mitosen vor und nach der Bestrahlung zu beobachten. Der Freundlichkeit von Herrn Prof. H. R. SCHINZ vom Röntgeninstitut Zürich verdanke ich die Umrechnung der Radiumdosen in Röntgeneinheiten, sowie die Überlassung der Röntgenapparatur und der Radiumpräparate. Schließlich möchte ich an dieser Stelle Herrn Prof. v. MÖLLENDORFF, Chef des anatomischen Institutes, meinen herzlichen Dank aussprechen für die liebenswürdige Überlassung der Gewebekulturen und der Filmeinrichtung, wodurch es mir ermöglicht wurde, diese Untersuchungen zu machen.

Die Versuche wurden nach folgenden Methoden ausgewertet:

1. Filmanalyse. Aufgenommen wurden Zeitrafferfilme, bei welchen alle 15 Sek. ein Bild gemacht wurde. Gefilmt wurde als Übersichtsaufnahme mit 72facher Vergrößerung. Durch diese Filmaufnahmen wurde ein genaues zeitliches Ausmessen der Mitosen möglich.

2. Fixierung der Kulturen in verschiedenen Abständen nach der Bestrahlung und Färben nach PAPPENHEIM-CARDOSZ oder FEULGEN. Dann differenziertes Auszählen der Mitosen. Die Unterscheidung der verschiedenen Phasen erfolgte nach den Angaben von v. MÖLLEDNORFF 1937.

Zur Orientierung soll das wichtigste wiederholt werden. Es wurden unterschieden als:

- a* Prophase, alle nicht abgerundeten Spireme.
- b*<sub>1</sub> Abgerundete Metakinesisstadien.
- b*<sub>2</sub> Äquatorialplatten.
- c* Anaphasen, von der Äquatorialplatte bis zur beginnenden Zelldurchschnürung.
- d*<sub>1</sub> Stadien, bei denen die Durchschnürung noch nicht zu Ende ist.
- d*<sub>2</sub> Alle Telophasen vor Beginn der Ausbreitung.
- e* Rekonstruktionsphasen.
- b*<sub>1</sub> und *b*<sub>2</sub> Metaphase; *d*<sub>1</sub> und *d*<sub>2</sub> Telophase.

Die genauen Angaben sowohl über die Filmmethode als über die differenzierte Auszählung sind zu finden bei v. MÖLLEDNORFF und LAQUEUR 1938, „Zur Kenntnis der Mitose III.“

Diese Art der Auswertung ist sicher den einfachen Auszählversuchen, wie sie von allen früheren Autoren geübt wurden, hinsichtlich Objektivität und Genauigkeit überlegen. Vor allem die Filmmethode verschafft ein absolut genaues Bild über den Mitosenrhythmus in einer Zellgemeinschaft von 200—400 Zellen, denn es ist möglich, jede Zelle, während ihres ganzen Teilungsvorganges von den frühesten bis zu den letzten Bewegungen, genau zu verfolgen, indem man den Film vor- und rückwärts laufen läßt.

### III. Ergebnisse.

#### *A. Die Wirkung der Bestrahlung auf den Teilungsrythmus.*

##### Filmversuche.

a) Film 205/206 (Abb. 1). Am Anfang des Versuches sind im Bildfeld 500 Zellen. Bestrahlung mit 1 mg Radium während 83 Min. = 1,3 mgStd., in Röntgeneinheiten umgerechnet (bei meiner Versuchsanordnung) etwa 60 r. An Mitosen laufen ab: 120; davon vor der Bestrahlung 32. Die Kultur weist schon am Anfang eine mäßige Teilungstätigkeit auf. Während der Bestrahlung nimmt die Mitosenzahl erheblich ab. Es treten dann während etwas mehr als 2 Stunden nach der Bestrahlung nur sehr wenige Mitosen auf, ohne daß aber ein deutlich hervortretender absoluter Stopp zu beobachten wäre. Die Teilungsfolge ist sehr verlangsamt. Dann aber setzt die Teilungstätigkeit wieder mit ungefähr der gleichen Stärke wie vor der Bestrahlung ein. Nach weiteren 4 Stunden nehmen die Mitosen wieder etwas an Zahl ab. Der Ablauf der Einzelmitose ist nirgends auffällig verändert.

In den graphischen Darstellungen der Filme bedeuten die ganz oder nur in einem oberen Abschnitt schwarz gehaltenen Säulen die Bestrahlungszeit einschließlich der vor- und nachher eintretenden Pausen.

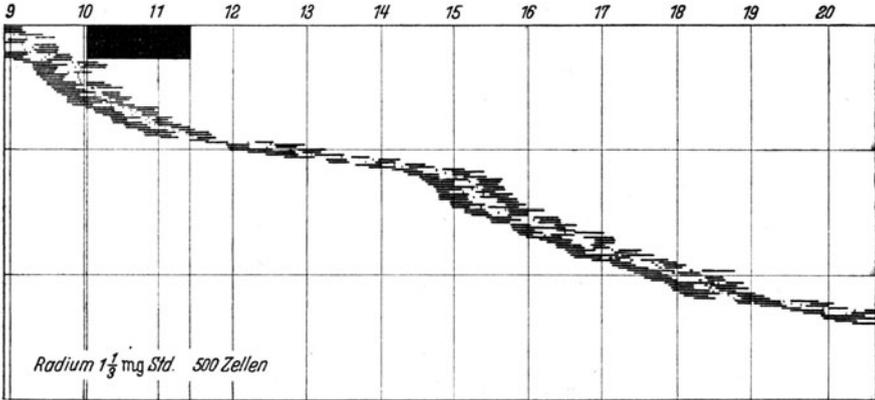


Abb. 1. Mit Radium bestrahlte Fibrocytenkultur im Film (205/206) aufgenommen von 8 Uhr 55 Min. bis 20 Uhr 40 Min. Jeder horizontale Strich entspricht einer Mitose. Von links nach rechts bedeuten: Der horizontale Strich  $a + b_1$ , die Lücke  $b_2 + c + d_1$ , der kleine senkrechte Strich den Moment der Durchschnürung, die Lücke  $d_2$ , der horizontale Strich rechts  $e$ .

Die Art der graphischen Darstellung des Mitosenrhythmus läßt die Wirkung der Bestrahlung, d. h. den Mitosensturz sehr schön erkennen.

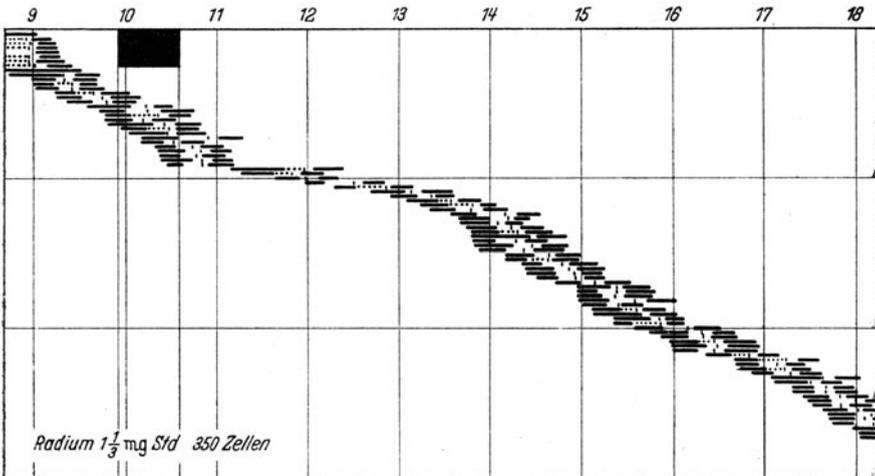


Abb. 2. Film 210/211. Kultur mit Radium bestrahlt. Aufnahme von 8 Uhr 40 Min. bis 18 Uhr 15 Min.

b) Film 210/211 (Abb. 2). Am Anfang des Versuches sind im Bildfeld 350 Zellen. Bestrahlung mit 2 mg Radium während 40 Min. = 1,3 mgStd. = etwa 60r. Dieser Versuch bringt dieselbe Dosis zur Wirkung

wie Film 205/206, aber in der halben Zeit. Es laufen ab 90 Mitosen, davon 21 vor Beginn der Bestrahlung. Hier ist ebenfalls die Teilungstätigkeit schon vor der Bestrahlung nicht besonders groß. Sie ist aber ungefähr gleich bis zum Ende der Bestrahlung. Dann tritt deutlich ein kurzer, aber doch typischer Stopp von etwa 40 Min. ein. Nach diesem Stopp ist die Teilungstätigkeit während etwa 2 Stunden stark herabgesetzt und steigert sich dann wieder in der nächsten Stunde fast zur ursprünglichen Höhe, wo sie für die restlichen 4 Stunden des Versuches verbleibt. Diese verlangsamte Teilungsfolge rührt offenbar davon her,

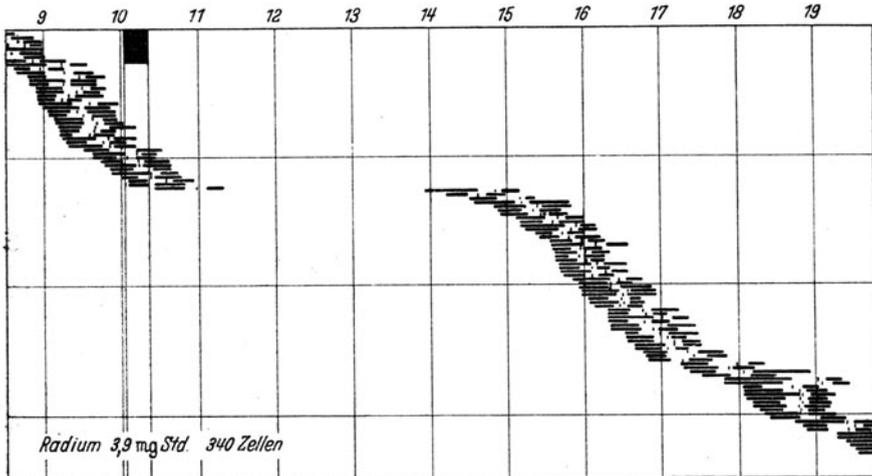


Abb. 3. Film 223/224. Kultur mit Radium bestrahlt. Aufnahme von 8 Uhr 30 Min. bis 19 Uhr 45 Min.

daß ein Teil der Zellen, die schwächeren, so stark geschädigt sind, daß sie eine gewisse Zeit nicht mehr zur Teilung schreiten können, während die resistenteren noch ihre Teilungsfähigkeit behalten haben. Die geschädigten Zellen erholen sich dann langsam, wodurch der frühere Teilungsrhythmus wieder erreicht wird. Die Einzelmitose ist auch hier in ihrem Ablauf nicht wesentlich verändert. Dieser Versuch zeigt, daß eine gleiche Dosis, gegeben in der halben Zeit, keine wesentlich andere Wirkung hat. Berücksichtigt man die immer vorhandene Schwankungsbreite der Empfindlichkeit bei den Kulturen, so kann gesagt werden, daß kein Unterschied nachweisbar ist.

c) Film 223/224 (Abb. 3). Zellenzahl am Anfang des Versuches 340. Bestrahlung mit 13 mg Radium während 18 Min. = 3,9 mgStd. = etwa 180 r. Zahl der gemessenen Teilungen 110., davon beginnen vor der Bestrahlung 38. Die Kultur weist eine gute Teilungstätigkeit auf; durch die Bestrahlung werden die Teilungen in weniger als  $\frac{1}{2}$  Stunde nach Beginn der Bestrahlung gestoppt. Das gesetzte Trauma ist offenbar

so stark, daß auch die resistenteren Zellen nicht mehr in die Teilung eintreten können, wie es bei den schwächeren Dosen (Film 205/206 und 210/211) der Fall gewesen war. Es gelingt solchen Zellen, welche schon ein gewisses, morphologisch nicht erfaßbares Stadium der Teilungsbereitschaft erreicht haben, sich noch zu teilen, vielleicht etwas später als es sonst dem Rhythmus entsprochen hätte.

Es tritt nun eine Pause ein von  $3\frac{1}{2}$  Stunden, nach der dann die Teilungstätigkeit nach kurzem Anlauf wieder auf die normale Höhe kommt, wo sie dann während den nächsten 2 Stunden verbleibt. Später

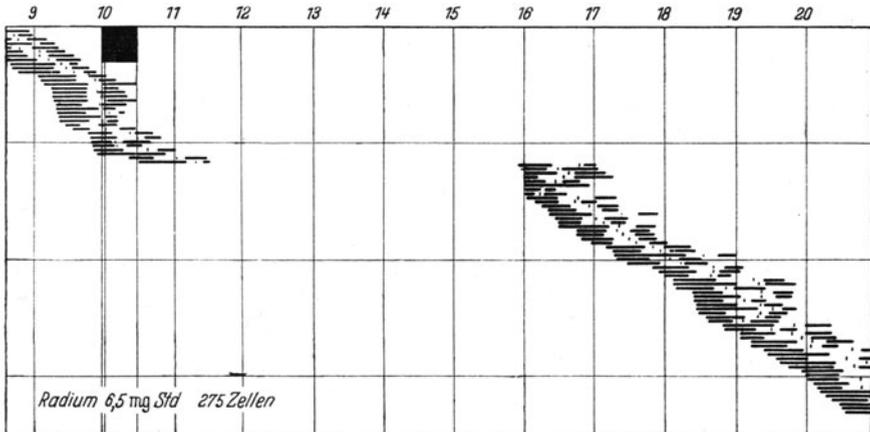


Abb. 4. Film 224/225. Kultur mit Radium bestrahlt. Aufnahme von 8 Uhr 35 Min. bis 20 Uhr 50 Min.

ist die Teilungsrate bis zum Schluß des Versuches wieder leicht herabgesetzt.

d) Film 224/225 (Abb. 4). Am Anfang des Versuches 275 Zellen. Bestrahlung mit 13 mg Radium während 30 Min. = 6,5 mgStd. = etwa 300 r. Die Teilungstätigkeit ist vor der Bestrahlung recht gut. Sie nimmt aber sofort mit Beginn der Bestrahlung ab, und fällt rasch auf Null. Während der Bestrahlung kommt nun noch eine, ganz kurz danach wieder eine Mitose in Gang. Dann tritt ein absoluter Stopp auf, der etwa  $5\frac{1}{2}$  Stunden dauert. Scheinbar mit einem Schlage setzt die Teilungstätigkeit wieder ein. Sie scheint zuerst für kurze Zeit etwas stärker als der normale Durchschnitt dieser Kultur. Dieses plötzliche Wiedereinsetzen der Mitosen und die momentan sehr hohe Teilungsrate sind sicher dadurch bedingt, daß die Aufnahme wegen Versagens der Zeitraffereinrichtung abgestellt werden mußte, und erst wieder weitergefilmt werden konnte, als die Mitosen schon begannen. So wurden offenbar die ersten Anfänge einiger Mitosen nicht genau erfaßt. Während der restlichen  $4\frac{1}{2}$  Stunden des Versuches ist dann die Teilungsrate gegen den Anfang etwas vermindert, aber doch gut. Der Stopp ist

entsprechend der stärkeren Bestrahlung auch länger als im vorhergehenden Versuch. Es läßt sich auch hier feststellen, daß der Stopp nicht plötzlich ist, sondern daß noch 2 Mitosen, im Rhythmus etwas verspätet, in Gang kommen.

e) Film 231/232/233 (Abb. 5). Radiumbestrahlung 26 mg Radium während  $\frac{1}{2}$  Stunde = 13 mgStd. = etwa 600 r. Zellenzahl 300. Es laufen 26 Mitosen ab, davon beginnen 5 während der Bestrahlung. Nach der Bestrahlung ist jede Teilungstätigkeit gestoppt. Während der ganzen weiteren Filmaufnahme zeigen sich keine neuen Mitosen mehr. Eine

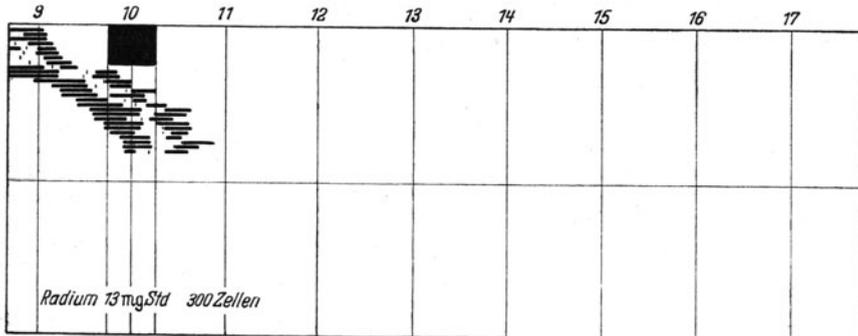


Abb. 5. Film 231/232/233. Kultur mit Radium bestrahlt. Aufnahme von 8 Uhr 40 Min. bis 17 Uhr 45 Min.

starke Veränderung im Teilungsablauf der Einzelzelle ist nicht festzustellen. Die Mitosen, welche von der Bestrahlung getroffen werden, laufen eher schneller ab als die vorherigen. Die Einwirkung ist hier schon so stark, daß es der Kultur, zumindest für lange Zeit unmöglich ist weiter zu wachsen. Sie erholt sich eventuell gar nicht mehr oder nur sehr schlecht, so daß später keine oder nur ganz selten eine Mitose auftritt.

Es ist mit der auf dem Deckglas wachsenden Gewebekultur bei dieser hohen Dosis unmöglich den Wiederbeginn der Teilungstätigkeit im Film festzuhalten. Dieser Versuch wurde am anderen Tag weiter gefilmt, und zwar während mehreren Stunden, ohne daß sich eine Mitose einstellte. Die Gewebekultur auf dem Deckglas wird meist nur durch Umpflanzen oder mehrmaliges Füttern zum weiteren Wachstum, nach einem so langen Stopp, anzuregen sein, was aber auch nur bei stärkeren Kulturen wieder gelingt. Es wurde daher bei den weiteren Aufnahmen nur so lange gefilmt, bis die letzte Mitose vor dem Stopp sicher abgelaufen war. Die Kulturen wurden weiter beobachtet. Es zeigte sich dann auch, daß bei keiner der Kulturen ohne Füttern Teilungen einsetzen. Dies ist zu verstehen, da auch bei unbehandelten Kulturen das Wachstum abnimmt und schließlich ganz aufhört. Dies ist die Folge davon, daß sich Abbaustoffe im Medium mehr und mehr anhäufen.

Dabei ist die Dauer von einer Erneuerung des Mediums zur anderen selbstverständlich abhängig von der Größe des Mediumvolumens und der Kultur.

f) Film 236/237 (Abb. 6). Röntgenbestrahlung 250 r in 10 Sek. Im Bildfeld sind 275 Zellen. Es laufen 32 Mitosen ab, davon 14 vor der Be-

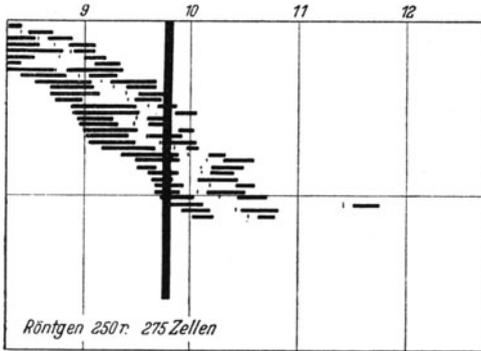


Abb. 6. Film 236/237. Röntgenbestrahlung. Aufnahme von 8 Uhr 15 Min. bis 12 Uhr 45 Min.

strahlung getroffen, 2 beginnen nachher. Die Teilungsrates der Kultur ist mäßig. Die Bestrahlung trifft gerade den Anfang eines Mitosenschubes, den sie abstoppt, so daß sich nur noch zwei Zellen teilen können. Nachher tritt eine sehr lange Pause ein. Die Dauer der Mitosen ist in dieser Kultur allgemein etwas lang, wird aber durch die Bestrahlung etwas ver-

kürzt. Nur eine Mitose ist bis auf 120 Min. verlängert. Die Verlängerung betrifft Äquatorialplatte und Anaphase, während die anderen Phasen unverändert sind. Die Veränderung betrifft auch die Form der Mitose. Die Teilung ist schief mit deutlicher Winkelstellung der Tochtersterne, welche sonst parallel liegen.

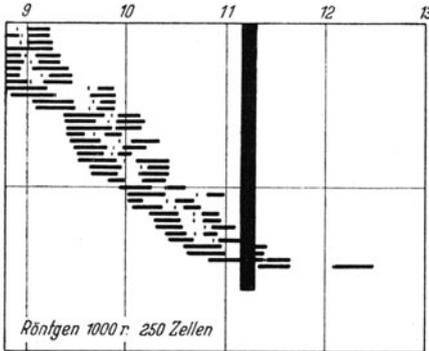


Abb. 7. Film 236. Röntgenbestrahlung. Aufnahme von 8 Uhr 47 Min bis 13 Uhr.

g) Film 236 (Abb. 7). Röntgenbestrahlung 1000 r in 40 Sek. Zellenzahl 250. Die Teilungstätigkeit ist normal stark. Es laufen 38 Mitosen ab, 37 beginnen vor der Bestrahlung, 1 nach ihr. Mit der Bestrahlung werden die Mitosen deutlich ge-

hemmt und gestoppt. Es werden nur wenige Mitosen direkt von der Bestrahlung getroffen. Sie sind in ihrem Ablauf gegen die Norm etwas verlängert. Die einzige Mitose, die nachher noch in Gang kommt, ist etwas verändert, aber nicht wesentlich. Sie ist allerdings die längste, von der Bestrahlung nicht getroffene. Sie ist etwa 30 Min. länger als es dem Durchschnitt der vorher ablaufenden Mitosen entspricht. Daß nach der Bestrahlung noch eine Mitose in Gang kommt, ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß die Bestrahlungsdauer sehr kurz ist, und die Zellen,

wenn sie ein gewisses Stadium erreicht haben, nicht mehr gestoppt werden können. Da nach dem Verlauf des Rhythmus zu schließen, ohne Bestrahlung gerade wieder ein Schub von Mitosen zu erwarten gewesen wäre, handelt es sich vielleicht um eine besonders kräftige Mitose.

h) Film 233/234 (Abb. 8). Röntgenbestrahlung 2000 r in 80 Sek. Zellenzahl 180. Kultur mit starker Teilungstätigkeit. Es laufen 25 Mitosen ab, davon werden 16 von der Bestrahlung direkt getroffen. Nach der Bestrahlung beginnen keine neuen Mitosen. Eine Anzahl von Mitosen scheinen gerade während der Bestrahlung zu beginnen. Dies ist aber sicher ein Artefakt, da diese Mitosen eben durch die Pause zurück nicht verfolgt werden können, weil sie in diesem Stadium schwierig zu sehen sind. Ich möchte eine Auslegung, daß durch die Bestrahlung Teilungen angeregt werden, vermeiden, da die Erfahrung der früheren Versuche dagegen spricht. Im Ablauf dieser Mitosen lassen sich nun ganz starke Veränderungen erkennen. Zeitlich sind die bestrahlten Mitosen länger als die ändern. Das im Film Auf-

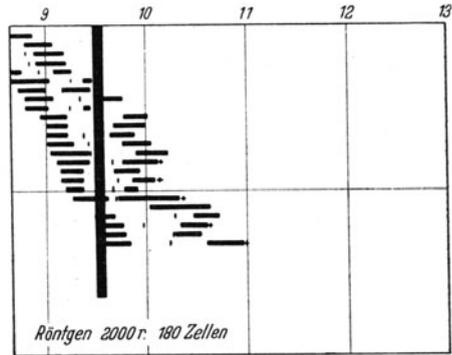


Abb. 8. Film 233/234. Röntgenbestrahlung. Aufnahme von 8 Uhr 40 Min. bis 13 Uhr.

fallendste sind die morphologischen Änderungen, die das Bild des Teilungsablaufes der ganzen Zellen, vor allem aber die Chromosomen betreffen. Während bei der normalen Mitose das Auseinanderweichen der Chromosomenhälften zu den Tochtersternen im Filmbild deutlich erkannt werden kann, sieht man hier lange die Äquatorialplatte bestehen, die mehrmals gedreht werden kann, derweil das Plasma meist die normalen Bewegungen macht, und sich immer stärker einzuschnüren beginnt. Die Einschnürung wird immer enger, so daß schließlich das Chromosomenpaket auch davon betroffen wird. Ob nun die Teilung der Chromosomen in 2 Teile durch Wirkung von Oberflächenkräften des Plasmas an der Einschnürungsstelle zustande kommt oder durch eine Zugwirkung, läßt sich nicht genau entscheiden. Das Auftreten von langen Verbindungsfäden aus Chromosomenmaterial spricht doch zumindest für eine teilweise Zugwirkung, zeigt aber vor allem die Elastizität der Chromosomensubstanz. Während dieses Vorganges kann die Mitose weite Strecken wandern, wobei die beiden Tochterzellen starke Formänderungen durchmachen. Die Rekonstruktion der beiden Tochterzellen geht normal vonstatten, sobald sie sich getrennt haben. Diese so beobachteten Mitosen, ohne Anaphase (c), sind in der graphischen Darstellung mit + bezeichnet.

i) Film 234 (Abb. 9). Röntgenbestrahlung 4000 r in 160 Sek. Zellenzahl 330. Es herrscht eine starke Teilungstätigkeit der Kultur bis zur Bestrahlung. Im ganzen laufen 45 Mitosen ab, davon werden 30 direkt von der Bestrahlung betroffen, von letzteren 17 vor der Durchschnürung.

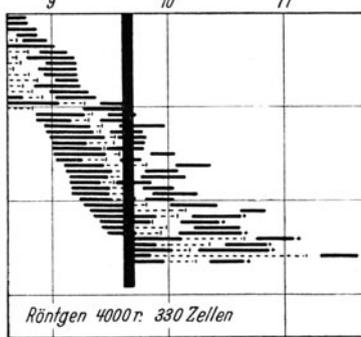


Abb. 9. Film 234. Röntgenbestrahlung. Aufnahme von 8 Uhr 37 Min. bis 11 Uhr 42 Min.

Die Teilungstätigkeit sinkt mit der Bestrahlung sofort auf Null. Ähnlich wie im vorherigen Film scheinen auch hier Mitosen gehäuft während der Bestrahlung zu beginnen. Der Durchschnitt der Mitosedauer nimmt durch die Bestrahlung dauernd zu. Sie ist am Schluß des Versuches etwa 160% derjenigen vor der Bestrahlung. Das Fehlen der Anaphase (c) tritt hier in

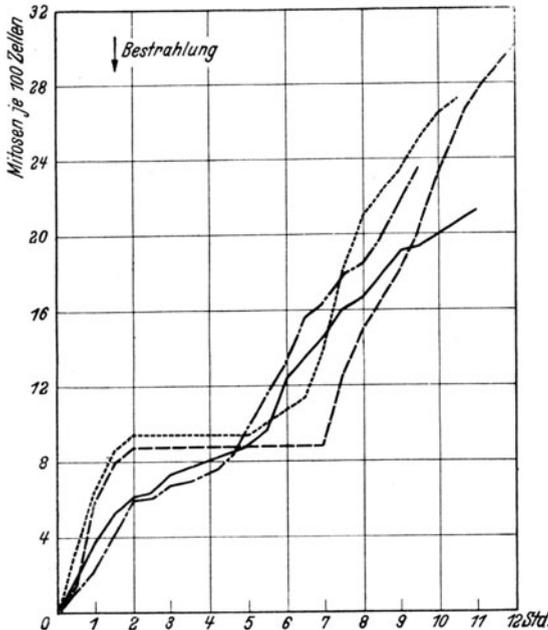


Abb. 10. Zuwachskurve von 4 mit Radium (60 r, 60 r, 180 r, 300 r) bestrahlten Kulturen. Film 205/206: 60 r —; Film 210/211: 60 r - - -; Film 223/224: 180 r - · - ·; Film 224/225: 300 r ·····

verstärktem Maße auf und mit den gleichen Erscheinungen wie nach der Bestrahlung mit 2000 r (Film 233/234).

Die Filmversuche, die einen guten Einblick in das Mitosengeschehen gewähren, bestätigen die Vorstellungen, die andere Autoren, an ihren verschiedenen Objekten mit anderen Methoden, gewonnen haben. Die Zuwachskurven (Abb. 10) lassen Vergleiche mit anderen Darstellungsmethoden zu, und zeigen sehr schön den Mitosenstopp und das nachher wieder fast unveränderte Wachstum.

#### B. Die Wirkung der Bestrahlung auf den Ablauf der Einzelmitose.

Die Erfahrung zeigt, daß der größte Teil der Einflüsse, die den Teilungsrythmus verändern, auch am Ablauf der Einzelmitose Veränderungen hervorrufen. Während frühere Autoren meist nur unsicher

die Länge der Mitosen zu bestimmen in der Lage waren, — bei Untersuchungen an tierischen und pflanzlichen Organen, wo die Lebendbeobachtung fast ausgeschlossen ist, kann die Mitosenlänge nur annähernd vermutet werden, — konnten zeitliche Änderungen im Mitosenablauf kaum mit Sicherheit festgestellt werden. Durch das Mittel des Films ist es möglich geworden, solche Änderungen direkt zu messen, sogar in ihrer Verteilung auf die einzelnen Phasen.

Im folgenden sollen zuerst die vier Versuche besprochen werden, bei denen sich die Filmaufnahme sowohl über die Zeit des Primäreffektes wie über die des Sekundäreffektes erstreckt.

Bei der Betrachtung der graphischen Darstellung dieser vier Filmversuche zeigt sich, daß vor allem bei den schwächsten Dosen, an Stelle der von ALBERTI und POLITZER gemachten Zweiteilung der Mitosen, nämlich in solche des Primäreffektes und solche des Sekundäreffektes, eine Dreiteilung nötig ist. Danach unterscheiden wir:

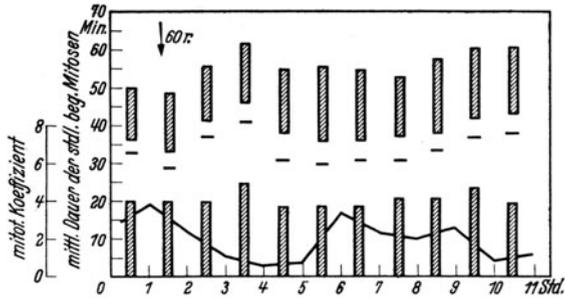


Abb. 11. Film 205/206. Radiumbestrahlung 60 r. Zusammenstellung des mitotischen Koeffizienten und der mittleren Dauer der stündlich beginnenden Mitosen. Schraffierte Säule unten  $a + b_1$ , oben  $e$ . Horizontaler Strich Moment der Durchschnürung. Leer darunter  $b_2 + c + d_1$ , darüber  $d_2$ .

1. Mitosen des Primäreffektes: Diejenigen, die von der Bestrahlung direkt getroffen werden.

2. In der Zeit nach dem eigentlichen Mitosensturz und vor dem Wiederanstieg der Mitosen, laufen noch Zellteilungen ab: Mitosen des mitosenarmen Intervalles. Bei meinen Versuchen ist nur bei der schwächsten Dosis ein mitosenarmes Intervall vorhanden. Es wird bei Erhöhung der Dosis zu einem mitosenfreien Intervall.

3. Mitosen des Sekundäreffektes: Alle, die vom Beginn des Wiederanstieges an auftreten, bis zur völligen Erholung.

Von ALBERTI und POLITZER ist die Scheidung im Primär- und Sekundäreffekt gemacht worden, da zwischen beiden ein mitosenfreies Intervall liegt, und da die Störungen in den pathologisch veränderten Mitosen verschieden sind.

Im Film 205/206 (60 r) beträgt die Mitosendauer vor der Bestrahlung 55 Min. Sie nimmt während der Bestrahlung ab bis auf 48 Min., und zwar ist die durchschnittliche Dauer bei Mitosen, deren  $b_2$  vor der Bestrahlung liegt, 51 Min., deren  $b_2$  in der Bestrahlung liegt 50 Min. Die Länge der Mitosen, die in der Bestrahlung beginnen, beträgt 48 Min., ebenso eine Mitose, die nach der Bestrahlung beginnt, aber vor der

Pause liegt. Die durchschnittliche Dauer der Mitosen des mitosenarmen Intervalles beträgt 59 Min., derjenigen der ersten Stunde des Wiederanstieges 56 Min. (Abb. 11).

Im Film 210/211 (Abb. 12) (60 r) geht die Mitosendauer von 47 Min. vor der Bestrahlung auf 49 Min. bei Mitosen, deren  $b_2$  vor der Bestrahlung

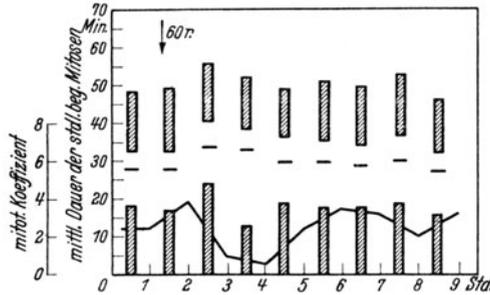


Abb. 12. Film 210/211. Radiumbestrahlung 60 r. Bezeichnung wie bei 205/206.

und auf 53 Min. bei Mitosen, deren  $b_2$  in der Bestrahlung liegt. Dann sinkt sie wieder auf 48 Min. bei Mitosen, die in der Bestrahlung beginnen. Auch bei diesem Versuch konnten Mitosen des mitosenarmen Intervalles beobachtet werden. Ihre durchschnittliche Dauer beträgt 52 Min. Die ersten Mitosen des Wiederanstieges haben eine durchschnittliche

Dauer von 49 Min. Bei den nächsten Filmen, wo die Dosis jeweils höher war, wurde nach der Bestrahlung ein sofortiger

Abfall auf Null beobachtet, also kein mitosenarmes Intervall.

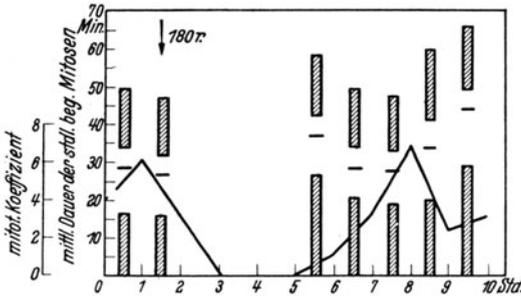


Abb. 13. Film 223/224. Radiumbestrahlung 180 r. Bezeichnung wie bei 205/206.

Im Film 223/224 (Abbildung 13) (180 r) steigt die durchschnittliche Mitosendauer von 49 Min. vor der Bestrahlung auf 52 Min. bei solchen Mitosen, deren  $b_2$  vor der Bestrahlung liegt. Dann nimmt sie wieder ab und

beträgt bei Mitosen, die in der Bestrahlung beginnen, 46 Min. In der ersten Stunde des Wiederanstieges ist die Länge einer Mitose im Durchschnitt 57 Min.

Im Film 224/225 (Abb. 14) (300 r) nimmt die Länge der Mitosen von 61 Min. vor der Bestrahlung ab auf 55 Min. bei Mitosen, deren  $b_2$  in der Bestrahlung liegt, und steigt bei den Mitosen, die in der Bestrahlung beginnen, auf 62 Min. In der ersten Stunde des Wiederanstieges beträgt die durchschnittliche Mitosendauer 65 Min. Das Ergebnis dieser vier Filme ist in Tabelle I zusammengestellt. Diese zeigt beim Film 205/206 eine deutliche Abnahme der Mitosendauer bis am Schluß des Mitosensturzes. Dann steigt sie, so daß die Mitosen der Zwischenzeit eine etwa 10 Min. längere Ablaufzeit aufweisen. Bei den übrigen drei Filmen besteht zum Teil eine Verlängerung der Mitosen während des Mitosen-

sturztes, zum Teil eine Verkürzung. Nach dem Mitosensturz ist die Teilungsdauer einheitlich verlängert.

Da die Kulturen im Sekundäreffekt schon bei mittleren Dosen nur sehr geringe mitotische Koeffizienten aufweisen, war es nicht möglich, diesen mit Aussicht auf Erfolg zu filmen. Die Auswertung der fixierten Präparate durch differenziertes Auszählen der Mitosen und Verwendung der Ergebnisse zum Zwecke der relativen Bestimmung der Phasendauer leidet ebenfalls an der Mitosenarmut der Kulturen, so daß für die Dosen, die durch die Filmanalyse nicht erfaßt werden konnten, auch durch die Mitosenzählung keine befriedigende Ergebnisse zu erzielen waren.

Die Kenntnis über den Ablauf der Einzelmitose im Sekundäreffekt aus den vier Filmversuchen mit Radiumbestrahlung von 60 r, 180 r und 300 r dehnt sich auf etwa 4—5 Stunden nach dem Wiederansteigen der mitotischen Koeffizienten aus.

Die vier Filmversuche zeigen im Sekundäreffekt ein Längerwerden der Mitosen (Tabelle 1). Bei den beiden Filmen mit 180 r und 300 r ist die Zunahme recht deutlich, vor allem die Metaphase bleibt länger

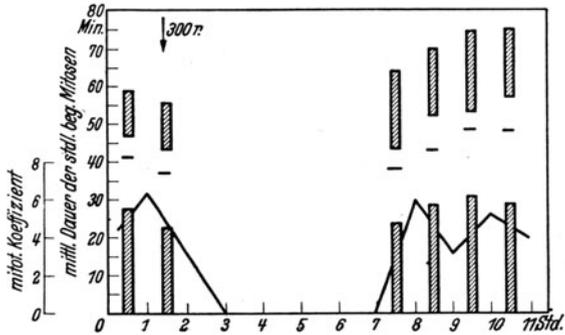


Abb. 14. Film 224/225. Radiumbestrahlung 300 r. Bezeichnung wie bei 205/206.

Tabelle 1. Zusammenstellung der Mitosendauer der Filme 205/206, 210/211, 223/224, 224/225. Sonderung der Mitosen nach ihrer Lage zur Bestrahlung.

Mitosendauer	Mitosen, die vor Bestrahlungsbeginn zu Ende gehen	Primäreffekt			Mitosen des mitosenarmen Intervalls	Sekundäreffekt				
		Mitosen, deren $b_2$ vor Bestrahlungsbeginn liegt	Mitosen, deren $b_2$ in der Bestrahlung liegt	Mitosen, die in der Bestrahlung beginnen		Mitosen des Wiederanstiegs der Teilungstätigkeit				
						1. Stunde	2. Stunde	3. Stunde	4. Stunde	5. Stunde
Min.	Min.	Min.	Min.	Min.	Min.	Min.	Min.	Min.	Min.	Min.
Film 205/206 60 r	55	51	50	48	59	56	55	53	59	62
Film 210/211 60 r	47	49	53	48	52	48	51	50	53	46
Film 223/224 180 r	49	52	48	46	—	57	49	47	60	65
Film 224/225 300 r	61	60	55	62	—	65	70	74	75	—

bestehen. Die Auswertung der fixierten Filmkulturen durch differenziertes Auszählen der Mitosen (Abb. 15) zeigt eine deutliche Zunahme der  $b_1$ - und  $b_2$ -Stadien in den stärker bestrahlten Kulturen, bei welchen eine längere mitosenfreie Pause aufgetreten war. Wieweit diese Verlängerung wirklich als Folge der Bestrahlung aufzufassen ist, und wieweit sie den normalen Schwankungen angehört, die auch in unbehandelten Kulturen auftreten, nach der Feststellung von v. MÖLLENDORFF, daß zu einem kleinen mitotischen Koeffizienten eine längere Dauer der Einzelmitose gehört, läßt sich nicht entscheiden. Da aber auch bei einem Teil der Filme, dort wo der mitotische Koeffizient steigt, eine Zunahme



Abb. 15. Phasenprozentage der Filmkulturen (von oben nach unten 205/206, 210/211, 223/224, 224/225.) Sekundäreffekt s. Text. In diesen Darstellungen bedeuten:  $\blacksquare$  links  $a$ ,  $\square$  links  $b_1$ ,  $\boxplus$   $b_2$ ,  $\boxminus$   $c$ ,  $\boxtimes$   $d_1$ ,  $\blacksquare$  rechts  $d_2$ ,  $\square$  rechts  $e$ . Die schwarzen Streifen in den verschiedenen Phasen bedeuten die pathologischen Formen.

der Mitosendauer zu konstatieren ist, scheint doch die Verlängerung der Zellteilungen bei den Dosen, die einen Stopp hervorriefen, eine Wirkung der Bestrahlung zu sein. Die Filme mit 60 r zeigen Schwankungen, wie sie für Kontrollversuche angegeben wurden.

Die folgenden Filmaufnahmen, bei denen die Kulturen mit höheren Dosen bestrahlt wurden, erfassen nur den Primäreffekt, da die Pause bis zum Sekundäreffekt zu lange dauerte, oder der Wiederanstieg überhaupt nicht mehr auftrat. Zur Auswertung wurden die Mitosen gesondert in:

1. Mitosen, die vor der Bestrahlung zu Ende laufen oder nur noch unwesentlich am Schluß der Rekonstruktionsphase getroffen wurden.
2. Mitosen, die von der Bestrahlung getroffen wurden, wobei die Zellendurchschnürung a) vor, b) nach dem Bestrahlungsbeginn liegt.
3. Mitosen, die in der Bestrahlung beginnen, aber nur noch unwesentlich von ihr getroffen werden, und Mitosen, die noch in die Zeit des Mitosensturzes gehören, aber nach dem Bestrahlungsende beginnen.

Auf Grund dieser Einteilung wurde Tabelle 2 zusammengestellt.

Die Gesamtdauer bei den Versuchen mit 13 mgStd. Radium (600 r) und mit 250 r nimmt nach der Bestrahlung ab. Bei 250 r ist allerdings eine Mitose, deren  $a$  in der Bestrahlungspause liegt, sehr verlängert. Diese Mitose teilt sich deutlich schief.

Tabelle 2. Zusammenstellung der einzelnen Phasen der Mitosen des Primäreffektes gemessen aus den Filmversuchen.

	Mitosen, die vor der Bestrah- lung ablaufen	$d_1$	$d_1$	$a$ von der Bestrah- lung getroffen oder kurz nach ihr	Zunahme (+) oder Abnahme (-)	
		vor	nach			
		Beginn der Bestrahlung				
	Min.	Min.	Min.	Min.	Min.	
Film 231/232/233 13 mg Std. (etwa 600 r)	$g.D.$ . . . .	—	61	53	50	—
	$a+b_1$ . . . .	—	28	25	17	—
	$b_2+c$ . . . .	—	8	6	12	+
	$d_1$ . . . .	—	4	3	3	—
	$d_2$ . . . .	—	6	6	7	+
	$e$ . . . .	—	15	13	11	—
Zahl der Mitosen	0	4	8	5		
Film 236/237 250 r	$g.D.$ . . . .	62	56	55	50	—
	$a+b_1$ . . . .	25	28	18	14	—
	$b_2+c$ . . . .	8	8	10	14	+
	$d_1$ . . . .	5	4	4	4	—
	$d_2$ . . . .	6	6	8	5	—
	$e$ . . . .	18	10	15	15	—
Zahl der Mitosen	5	7	9	2		
Film 236 1000 r	$g.D.$ . . . .	44	47	48	74	+
	$a+b_1$ . . . .	17	21	33	19	+
	$b_2+c$ . . . .	7	8		26	+
	$d_1$ . . . .	3	3	5	+	
	$d_2$ . . . .	5	5	7	+	
	$e$ . . . .	12	10	10	17	+
Zahl der Mitosen	23	2	1	1		
Film 233/234 2000 r	$g.D.$ . . . .	51	62	56	70	+
	$a+b_1$ . . . .	15	15	14	14	—
	$b_2+c+d_1$ . . . .	12	16	18	23	+
	$d_2$ . . . .	9	15	11	15	+
	$e$ . . . .	15	15	13	18	+
	Zahl der Mitosen	2	6	6	3	
Film 234 4000 r	$g.D.$ . . . .	—	51	67	80	+
	$a+b_1$ . . . .	—	22	23	18	—
	$b_2+c+d_1$ . . . .	—	9	15	33	+
	$d_2$ . . . .	—	6	8	6	±
	$e$ . . . .	—	14	21	23	+
	Zahl der Mitosen	0	9	12	5	

$g.D.$  = mittlere Gesamtdauer der Mitosen jeder Kategorie.

Bei den Versuchen mit 1000 r, 2000 r und 4000 r, nimmt aber nun die Gesamtdauer deutlich zu. Bei diesen Veränderungen der mittleren Teilungsdauer, werden die einzelnen Phasen verschieden verlängert oder verkürzt. Einheitlich nehmen die Phasen  $b_2+c$  an Länge zu. Bei den mittleren Bestrahlungen nehmen sämtliche Phasen außer  $b_2+c$  ab.

Bei den stärkeren Dosen wird die Mehrheit der Phasen länger. Das Bild ist jedoch nicht einheitlich. Während  $a$  bei 1000 r 12% länger dauert, wird es bei 2000 r und 4000 r eher etwas kürzer.  $d_2$  weist bei 1000 r und 2000 r eine Verlängerung auf, bei 4000 r dagegen bleibt es

ungefähr auf dem gleichen Stand. Vor allem fällt es doch auf, daß Äquatorialplatte und Anaphase ( $b_2+c$ ) den Hauptteil der Verlängerung erleiden, die bis 370% (4000 r) des Anfangswertes betragen kann. Wie die fixierten Präparate zeigen, werden diese Phasen am meisten pathologisch verändert. In den Filmen mit 2000 r und 4000 r konnten die Phasen  $b_2+c+d_1$  bei der Ausmessung nicht voneinander getrennt werden, so daß nicht entschieden werden kann, welche von den Phasen am stärksten die Verlängerung bedingt.

Wie aus den obigen Beschreibungen hervorgeht, ist die Veränderung der Mitosendauer im Primäreffekt keine einheitliche. Bei den Dosen bis zu 600 r ist zum Teil eine deutliche Beschleunigung des Mitosenablaufes zu sehen. Doch treten bei verschiedenen Versuchen unregelmäßig verteilt Verlängerungen auf, ohne daß eine Gesetzmäßigkeit zu sehen wäre. Eine Verkürzung der Mitosendauer im Primäreffekt bei schwacher und mittlerer Bestrahlung kann also nicht mit Sicherheit festgestellt werden, zumal die zeitlichen Änderungen nicht so bedeutend sind, wie sie bei anderen Einwirkungen festgestellt wurden. Bei stärkerer Bestrahlung (1000 r und mehr) scheint aber die Verlängerung der Mitosen gesichert zu sein. Schon andere Autoren haben darauf hingewiesen, daß wahrscheinlich eine Verlängerung der Mitosen im Primäreffekt auftritt. POLTZER sah, daß der Primäreffekt bei bestrahlten Hornhäuten von Salamanderlarven etwa doppelt solange dauerte, wie der normale Ablauf eine Mitose in Anspruch nahm. Diese Erscheinung führte er darauf zurück, daß entweder die Mitosen doppelt solange zu ihrem Ablauf brauchten, oder daß der Mitosensturz erst nach der halben Ablaufzeit des Primäreffektes auftrat. Wie unsere Versuche zeigen, ist ersteres anzunehmen.

### *C. Differenzierte Mitosenauszählung fixierter Präparate.*

Durch die differenzierte Mitosenauszählung ist es möglich den Wirkungsgrad an einem bestimmten Zeitpunkt nach der Bestrahlung zu vergleichen.

Die Wirkung des Primäreffektes kommt deutlich in der Zusammenstellung der Abb. 16 zum Ausdruck. Neben einem starken Zurücktreten der Anfangsphasen, macht sich deutlich das immer stärkere Auftreten pathologischer Formen bemerkbar. Die Schädigung wird zuerst in der Anaphase und der Telophase I ( $c$  und  $d_1$ ) sichtbar, so daß bei den starken Bestrahlungen fast alle Mitosen in diesen Phasen betroffen sind. Deutlich wird auch bei den stärksten Dosen die Störung der Äquatorialplatte. Das Ergebnis wird natürlich stark von der Schnelligkeit, mit der die Mitosen der betreffenden Kulturen ablaufen, beeinflußt; bei gleichbleibendem Fixierungszeitpunkt und langsamerem Ablauf der Mitosen werden prozentual mehr unbestrahlte Mitosen vorhanden sein.

In den Versuchen mit 4000 r ist deutlich die Zunahme der Äquatorialplatten festzustellen, entsprechend der Beobachtung in den Filmversuchen, daß im Primäreffekt diese Phase verlängert wird.

Wurden die Kulturen in einem späteren Zeitpunkt fixiert, so waren die Mitosen natürlich schon fast ganz verschwunden. Abb. 17 zeigt das Phasenbild einer Kultur, die 50 Min. nach der Bestrahlung mit

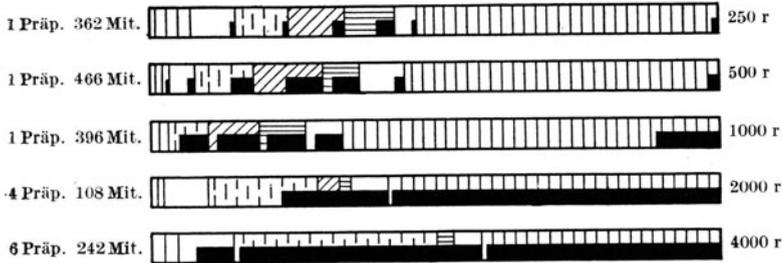


Abb. 16. Phasenprozent bestrahlter Kulturen, die 30 Min. nach der Bestrahlung fixiert wurden.

2000 r fixiert worden war. Es wurden dabei die rekonstruierten Pseudoamitosen (Abb. 19e, f) mit in das Phasenbild aufgenommen. Die Zahl der Mitosen beträgt noch 22, die Zahl der rekonstruierten Pseudoamitosen



Abb. 17. Phasenprozent bestrahlter Kulturen, die 50 Min. nach der Bestrahlung fixiert wurden. In der ganzen Höhe schwarzes Band: Rekonstruierte Hantelkerne (Pseudoamitosen).

100. *a* und *c* fehlen völlig. Im Vergleich mit den Kulturen, die 30 Min. nach der Bestrahlung fixiert wurden, ist die Abnahme der Anfangsphasen viel stärker. Es sind in 5 fixierten Präparaten noch 2 *b*<sub>1</sub> und 2 *b*<sub>2</sub> zu sehen. *d*<sub>1</sub> ist ebenfalls mit 2 Formen vertreten, *d*<sub>2</sub> und *e* noch mit je 8.

Während beim Primäreffekt infolge des Mitosenstoppes eine ständige Änderung in der prozentualen Häufigkeit der verschiedenen Phasen bei den fixierten Versuchskulturen zu beobachten ist, besteht nach dem Wiederanstieg der Teilungstätigkeit, d. h. zur Zeit des Sekundäreffektes, ein gewisses Gleichgewicht, ein stationärer Zustand. So wird man hier aus der prozentualen Verteilung der Phasen in fixierten Präparaten Rückschlüsse ziehen dürfen auf den zeitlichen Ablauf der einzelnen Phasen. Doch sind die Mitosenzahlen nicht so groß, daß man ein sehr zuverlässiges Ergebnis erwarten darf (Abb. 18).

Es zeigt sich bei den stärkeren Dosen eine Zunahme der Metaphasen gegenüber den anderen Dosen. Im Zusammenhang mit den Ergebnissen der Filme kann dies als eine Verlängerung der Metaphase angesprochen werden. Wie später beschrieben wird, beobachtet man in der Metaphase

die Chromosomenablenkungen, was auf gewisse abnormale Vorgänge in der dieser Phase vorangehenden Vorgängen hinweist. In diesem Zusammenhang muß darauf hingewiesen werden, daß bei anderen Einwirkungen, bei welchen eine Mitosenabsprengung beobachtet wurde, ebenfalls die Metaphasen verlängert waren; zum Teil wurden sie sogar blockiert (s. W. v. MÖLLENDORFF, 1939).

Durch die Auszählung der Phasenprozente ist es ferner möglich, den Verlauf der Störung im Sekundäreffekt zu erkennen. So zeigt sich eine



Abb. 18. Phasenprozente bestrahlter Kulturen im Sekundäreffekt. Angegeben sind die Tage Abstand von der Bestrahlung.

prozentuale Zunahme der pathologischen Mitosen mit Erhöhung der Dosis, und eine Abnahme mit der Entfernung vom Bestrahlungszeitpunkt, d. h. eine Erholung.

#### D. Mitosenstörungen.

Die Störungen der Mitosen, welche im Primäreffekt auftreten, hat POLITZER Pyknose der Chromosomen genannt. Darunter versteht er ein Verkleben der normalerweise voneinander getrennten Chromosomen. Die Verklebung führt er auf eine abnorme Beschaffenheit des Chromosomenmantels zurück. Bei stark ausgebildeter Pyknose sind die Chromosomen zu unförmigen Klumpen zusammengebacken. Als Folge der Pyknose entstehen in der Ana-, Telo- und Rekonstruktionsphase Chromatinbrücken zwischen den Tochtersternen bzw. Tochterkernen, welche bei exzentrischer Lage zu einer Deviation führen.

Bei Kulturen, die 30 Min. nach der Bestrahlung fixiert wurden, fallen schon bei 250 r Anaphasen auf, bei denen in vermehrtem Maße die Tochtersterne durch Chromatinbrücken verbunden sind (Abb. 19a, b). Bei dieser Dosis sind die Brücken meist nur dünn, und zerreißen oft in der späteren Telophase. Vielfach ist keine Chromatinbrücke mehr zu sehen, nur die Deviation der Tochterkerne oder Auswüchse an ihnen, welche gegeneinander gerichtet sind, lassen noch auf vorher vorhandene Brücken schließen. Bei stärkeren Dosen treten diese Ana- und Telo-

phasen nach der Bestrahlung stark in den Vordergrund. Die Brücken werden sehr viel dicker (Abb. 19c, d), es können eventuell alle Chromosomen einbezogen werden. So entstehen Bilder von Pseudoamitosen (Abb. 19e, f). Bei diesen Dosen werden nun auch Veränderungen der Meta- und Prophasen sichtbar. Die Chromosomen sind nicht mehr als einzelne Individuen zu erkennen, sondern sie bilden eine zackige zusammengesinterte Masse, aus welcher einzelne Schleifen und Spitzen

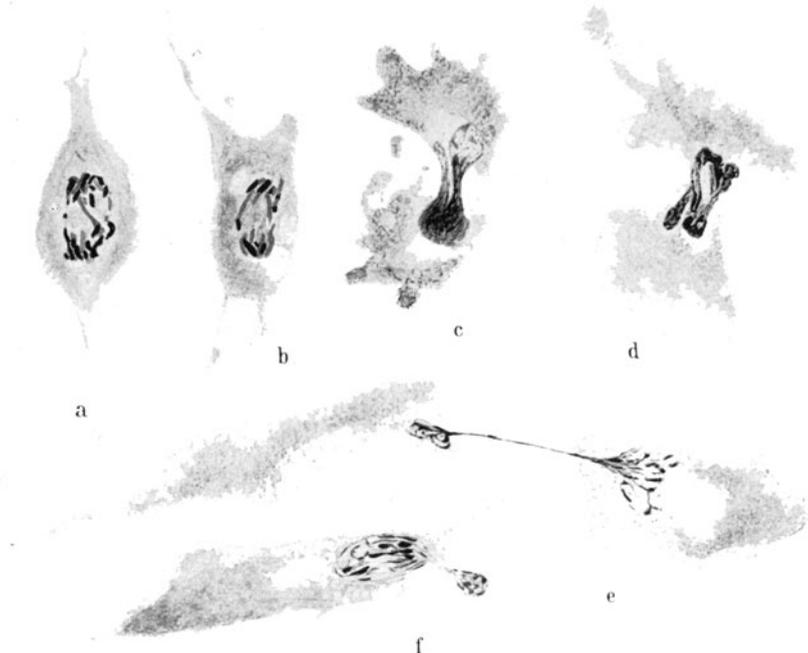


Abb. 19a—f. Gestörte Mitosen des Primäreffektes. 30 Min. nach Bestrahlungsbeginn fixiert. a, b Gestörte Anaphasen, Brückenbildung, 250 r. c, d Pyknotische Telophasen, typische Pseudoamitosen, 4000 r. e, f Rekonstruktionsphasen, hervorgegangen aus pyknotischen Telophasen, Hantelkernbildung, 4000 r. Sämtliche Abbildungen von Mitosen sind gezeichnet, nach Präparaten, die nach CARNOY fixiert und nach PAPPENHEIM-CARDOSZ gefärbt wurden. Zeichnungen bei 1000facher Vergrößerung von P. PERK.

hervorragan können. Die FEULGENsche Nuklealreaktion, mit der sich die chromatischen Bestandteile der Zellen sehr fein darstellen lassen, zeigt in den pyknotischen Metaphasen ein Netzwerk von Chromatinbändern, mit Auftreibungen und Einkerbungen. In diesen Bändern vermutet man die Chromosomen, ohne sie aber unterscheiden zu können, da ihre Oberfläche stark verändert ist, sowie ihre Länge nicht abgegrenzt werden kann. Diese Veränderungen, welche schon in der frühen Metaphase zu sehen sind, hindern aber die Entstehung einer Äquatorialplatte nicht. Aus dem Zustand des Chromatins in der Metaphase, d. h. dem Fehlen wohlausgebildeter Chromosomen, erklärt sich die Brückenbildung

in der Ana- und Telophase. Die Pyknose der Chromosomen, welche in ihrer Stärke von der Dosis abhängig ist, ist bei 2000 r und 4000 r so stark, daß eigentliche Tochtersterne nicht mehr auftreten, sondern das Chromosomenpaket durch die beginnende Zelleinschnürung in zwei oft sehr ungleich große Teile geteilt wird. Es entstehen so Tochterkerne mit sehr ungleichem Chromatinanteil (Abb. 19e, f). Die Ungleichheit kann so weit gehen, daß die eine Zelle alles bekommt, die andere nichts, wie dies auch schon von ALBERTI und POLITZER beschrieben wurde. Bei der Rekonstruktion der Zellen bilden sich oft bei starker Pyknose der Chromosomen sog. Hantelkerne (Abb. 19c—f). Das Schicksal der Tochterzellen, welche aus solchen Mitosen hervorgegangen sind, ist nicht bekannt. Die Verbindungsfäden der einzelnen Tochterkerne reißen sicher nach einer gewissen Zeit infolge der Verschiebung der Zellen gegeneinander entzwei. Über die Frage der Wertigkeit der aus solchen gestörten Teilungen hervorgegangenen Zellen ist, entgegen der von anderen Autoren vertretenen Ansicht, zu sagen, daß sie sicher ungleich ist. Selbst wenn man annimmt, daß noch eine Längsspaltung der Chromosomen zustandekommt, so ist doch aus dem Umstand, daß durch die Brückenbildung offensichtlich eine gleichmäßige Verteilung des Chromatinsmaterials und somit des Erbgutes nicht möglich ist, eine absolute Gleichwertigkeit der Tochterzellen unwahrscheinlich. In den Pseudoamitosen, wo die Teilung des Chromosomenmaterials völlig willkürlich erscheint, wird man wohl kaum noch eine Gleichwertigkeit der Tochterzellen annehmen wollen. Das Resultat dieser pathologischen Teilungen des Primäreffektes sind also zum Teil hyper- und hypochromatische Zellen. Ebenso wie die Störungen der Mitosen des Primäreffektes, hat POLITZER die des Sekundäreffektes eingehend beschrieben. Danach treten im Sekundäreffekt Rhexis und Ablenkung der Chromosomen und Teilkernbildung auf.

Im allgemeinen scheinen die Mitosen, die nach dem mitosenfreien Intervall bei Anwendung schwächerer Dosen auftreten, normal zu sein. Erst bei stärkeren Dosen treten in vermehrtem Maße pathologische Formen auf. Es soll auch hier hervorgehoben werden, daß ein pathologischer Sekundäreffekt nur bei Dosen zu beobachten ist, bei welchen ein sehr offensichtlicher Primäreffekt aufgetreten war, womit aber nicht behauptet werden soll, die gestörten Mitosen des Sekundäreffektes betreffen Zellen, welche aus gestörten Mitosen des Primäreffektes hervorgegangen sind.

Bei den Dosen, die einen Sekundäreffekt hervorbringen, zeigen die Mitosen allgemein eine gewisse Kleinheit der Chromosomen, wobei ihre Zahl oft erhöht, aber auch hier und da erniedrigt zu sein scheint. Oft scheinen gerade sehr große Zellen relativ wenige Chromosomen zu besitzen. In der Prophase sind meist keine Störungen zu beobachten. In der frühen Metaphase fallen dann aber bereits abseitsliegende

Chromosomen auf (Abb. 20a), die sich an Stellen des Zellkörpers befinden, wo normalerweise keine Chromosomen hingelangen. Diese Absprengung von Chromosomen oder vielleicht auch nur von Chromosomenteilen ist in allen Stadien der Mitose zu sehen (Abb. 20a bis d) von der frühen Metaphase an. Meist sind davon nur kleine Chromosomen betroffen. Vor allem bei einem stärkeren Grade dieser Störung können aber auch große Chromosomen davon betroffen sein. Typisch für diese abgesprengten Chromosomen ist ein heller Hof, welcher sie umgibt, vor allem, wenn sie am Rande des Zellkörpers liegen. Dieser Hof tritt besonders bei den stärkeren Dosen auf. Die Ablenkung der Chromosomen scheint in der frühen Metaphase zustande zu kommen. Ein gewisser Prozentsatz dieser Stadien, bei denen normalerweise schon ein hellerer Teilungsraum gegen das übrige Plasma abgegrenzt ist, zeigt ein ganz homogenes Plasma (Abb. 20a), in dem die Chromosomen wahllos zerstreut sind. Dies gibt vielleicht einen Hinweis, wo die Ursache der Ablenkung zu suchen ist. Im Stadium der Äquatorialplatte sind keine Störungen zu beobachten außer den abseitsliegenden Chromosomen. In der Anaphase und den folgenden Phasen tritt jedoch wieder eine Brückenbildung (Abb. 20d) zwischen den Chromosomen auf, ähnlich derjenigem im Primäreffekt. Doch ist keinerlei Pyknose der Chromosomen zu beobachten.

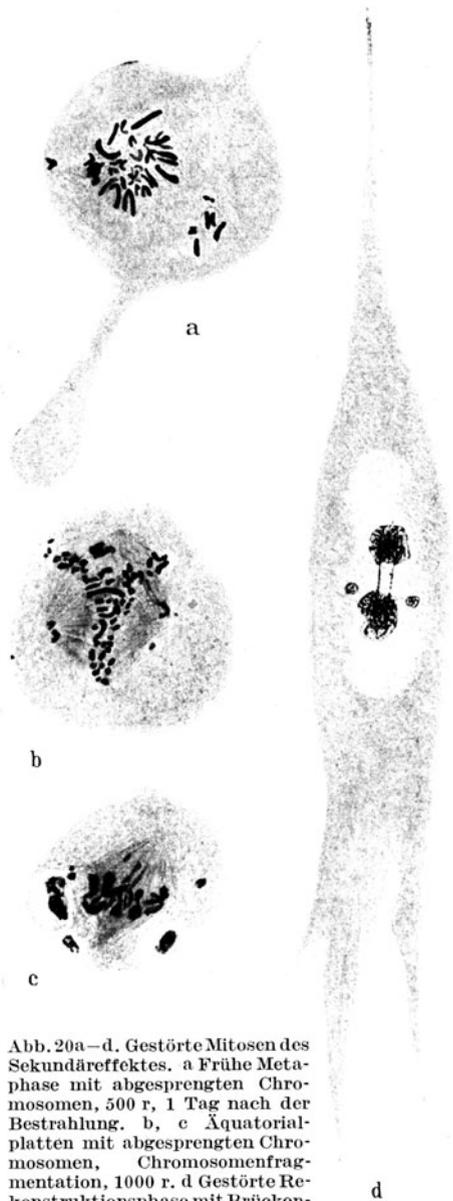


Abb. 20a—d. Gestörte Mitosen des Sekundäreffektes. a Frühe Metaphase mit abgesprengten Chromosomen, 500 r, 1 Tag nach der Bestrahlung. b, c Äquatorialplatten mit abgesprengten Chromosomen, Chromosomenfragmentation, 1000 r. d Gestörte Rekonstruktionsphase mit Brückenbildung zwischen den Tochterkernen sowie Teilernbildung, Durchschnürungshemmung, 500 r.

Aus diesen Brücken, die niemals solche Ausmaße annehmen, wie es im Primäreffekt der Fall ist, sondern sich nur auf vereinzelte Chromosomen beschränken, kann eine Deviation der Tochtersterne resultieren. Diese Brücken bleiben meist bis zur Rekonstruktion der Tochterzellen bestehen. Eine Bildung von Hantelkernen wurde beobachtet. Das Schicksal der abgelenkten Chromosomen kann verschieden sein. Bei der Kernrekonstruktion können sich diese Chromosomen zu selbständigen kleinen Kernen rekonstruieren (Abb. 20d), so daß neben dem Hauptkern oft mehrere kleine Nebenkerne zu sehen sind. Es bestehen aber auch Anzeichen dafür, daß solche Chromosomen, die besonders nahe an der Zelloberfläche liegen, ausgestoßen wurden.

Von Interesse ist auch das Verhältnis zwischen Bestrahlungsdosis und Auftreten der pathologischen Mitosenformen. Einen deutlichen Primäreffekt erhält man schon bei einer Bestrahlung von 250 r. Da sind schon von allen  $c$  20% pathologisch, bei  $d_1$  etwa 30% und bei  $d_2$  etwa 14%. Nach einer Bestrahlung von 4000r kann man nur noch ungefähr 10% aller Mitosen als normal ansprechen.

Das Auftreten des Sekundäreffektes ist weitgehend vom Zustand der Gewebekultur abhängig, da sich die Kulturen sehr verschieden gut von der mitosenfreien Pause erholen. Bei gut wachsenden Kulturen sind nach 250 r Bestrahlung etwa 30% der  $b_2$ , 20% der  $c$  und 10% der  $d_1$  pathologisch verändert.

#### *E. Besprechung der Befunde.*

Die vorliegenden Ergebnisse erlauben einen Einblick vor allem in das Mitosengeschehen direkt nach der Bestrahlung, also im Primäreffekt. Die Gewebekultur hat gegenüber anderen Versuchsobjekten neben der besseren Beobachtbarkeit auch den Vorteil, daß die Mitosenzahl für längere Zeit bei guten Wachstumsbedingungen von „inneren“ Faktoren nicht wesentlich beeinflußt wird, d. h. die Teilungsrate hält sich immer auf einer gewissen Höhe, welche sozusagen eine maximale Teilungstätigkeit ist. Dadurch wird es vielleicht schwierig sein, fördernde Einflüsse zu erkennen. Im Gegensatz z. B. zu pflanzlichen Objekten, wo tagesperiodische Schwankungen auftreten, ist also die Teilungstätigkeit praktisch konstant. Übereinstimmend mit den Ergebnissen der meisten Autoren wurde nach der Bestrahlung ein Mitosensturz beobachtet, welcher ohne Latenz auftrat. Das Mitosenminimum war immer etwa eine Mitosenlänge nach Ende der Bestrahlung erreicht, d. h. praktisch ist der Beginn neuer Teilungen spätestens mit Schluß der Bestrahlung aufgehoben. Diese Zeit, die bei unseren Versuchen in der Größenordnung von 1 Stunde liegt, ist für andere Objekte sehr verschieden. Bei der Hornhaut der *Salamanderlarve* (POLITZER) beträgt sie etwa 10 Std., bei Wurzelspitzen von *Vicia faba* (JÜNGLING und LANGENDORFF) etwa 15 Stunden. Auch bei Carcinomen wird das Mitosen-

minimum in sehr verschieden langer Zeit erreicht. So beträgt diese Zeit z. B. beim Teerkrebs der Mäusehaut (STOEL) etwa 15 Stunden, bei einem Adenocarcinoma mammae (DUSTIN) bis zu 13 Tagen. Bei meinen Versuchen hat sich gezeigt, daß die Hemmung des Teilungsrythmus sofort mit der Bestrahlung einsetzt. Die letzte Mitose muß also nach der Zeit, die ungefähr eine Mitose zum Ablauf braucht, verschwunden sein, wobei aber eine Verlängerung, durch die Bestrahlung bedingt, in Betracht gezogen werden muß. Vergleicht man dieses Ergebnis mit denen anderer Autoren, so muß man feststellen, daß dort entweder die Mitosen sehr lang sind (oder sehr verlängert), oder jene Zellen reagieren anders als die von uns verwendeten Fibrocyten, indem sich die Störung erst nach einer längeren Zeit bemerkbar macht. Dann wäre dort der Empfindlichkeitsrythmus ein anderer. Es besteht also hinsichtlich des Beginns der Hemmung bei unseren Versuchen keine Dosenabhängigkeit. Wenn einmal die Dosis erreicht ist, die eine Hemmung hervorzubringen vermag, tritt diese sofort ein. Dies zeigt sehr schön Film 205/206 (Abb. 1).

Nach dem Mitosensturz tritt ein mitosenarmes oder mitosenfreies Intervall auf, in seiner Dauer abhängig von der Dosis und der Empfindlichkeit der Kultur. Die Länge dieses Intervalles war bei unseren Versuchen (Gewebeulturen) für höhere Dosen nicht bestimmbar, da die Wachstumsfähigkeit auch normaler Kulturen ohne Mediumwechsel nur auf etwa 2—3 Versuchstage ausgedehnt ist. Bei der schwächsten angewandten Dosis von 60 r trat nur eine sehr kurze mitosenfreie Pause ein (Film 205/206 20 Min., 210/211 40 Min.), danach war für eine gewisse Zeit, etwa 3 Stunden, die Teilungstätigkeit stark herabgesetzt, stieg aber dann sehr rasch wieder ungefähr auf die normale Höhe. Bei 180 r herrscht etwa während 3 Stunden nach der Bestrahlung ein mitosenfreies Intervall. Dann beginnt nicht etwa die Teilungstätigkeit langsam, so daß für eine gewisse Zeit ein herabgesetzter mitotischer Koeffizient vorhanden wäre, sondern sie steigt erstaunlich rasch beinahe auf die normale Höhe, wo sie für lange Zeit verbleibt. Selbst bei einer Bestrahlung von 300 r, nach einem Intervall von  $5\frac{1}{2}$  Stunden, ist dieses Verhalten zu konstatieren. Dieses Bestehen eines mitosenarmen Intervalles und der plötzliche Wiederanstieg wird erklärt, wenn man mit LOVE, der auch an Fibrocyten arbeitete, annimmt, daß innerhalb von 3 Stunden vor der Mitose die Strahlenempfindlichkeit erhöht ist. In der Tat setzt nach 3 Stunden der normale Rhythmus wieder ein, die Zellen, die sich in der Phase der herabgesetzten Radiosensibilität befanden und so von der schwachen Dosis nicht berührt wurden, schreiten nun zur Teilung. Daß nach der Bestrahlung noch ein kleiner Teil der Zellen sich teilen kann, dürfte darin zu suchen sein, daß die Zellen individuell verschieden empfindlich sind.

Nach der mitosenarmen oder mitosenfreien Pause tritt ein Wiederanstieg auf. Wir haben ihn für Dosen von 60—300 r im Film festgehalten.

Die erreichte Höhe der Teilungstätigkeit war bei diesen Dosen immer sehr nahe der jedem Versuch vorangehenden Normalaufnahme. Ein Überanstieg, wie ihn SPEAR und LOVE beschrieben haben, als Kompensation der mitosenarmen Zeit, trat bei unseren Versuchen nicht auf. Ein Anstieg auf 110%, wie er in einem Film auftrat, kann in die normale Schwankungsbreite gerechnet werden.

Durch die Arbeiten von JÜNGLING und LANGENDORFF, sowie anderer Autoren, hat das Studium des Mitosenrhythmus insofern eine Bedeutung erhalten, als man versucht, daraus Schlüsse für die Strahlenbehandlung der Geschwülste zu ziehen. Ebenso wie bei unseren Versuchen festgestellt wurde, haben die Autoren keine Dosenabhängigkeit der Geschwindigkeit des Mitosensturzes gefunden, sondern nur eine objektbedingte Verschiedenheit. Nachdem es gelungen ist, die Art und Weise des Mitosensturzes durch die Filmmethode zu erfassen, kann man wohl annehmen, daß die Zeit, um das Mitosenminimum zu erreichen, nur abhängig ist von der Ablaufzeit der Mitosen. Die Dauer des mitosenfreien Intervalls, sowie die Höhe des Wiederanstieges sind dosenabhängig.

Auf welche Art die hemmende Wirkung der Bestrahlung zustandekommt, ist bis jetzt nicht entschieden worden. Die verschiedenen Theorien der Strahlenwirkung vermögen keine befriedigende Erklärung zu geben. Die Wirkung beruht jedenfalls auf Materialveränderungen, die den Ablauf der Mitosen wohl behindern, aber nicht zerstören, solange man sich in den nicht tödlichen Grenzen hält. Man kann dabei an Kolloidveränderungen denken, wie dies v. MÖLLENDORFF bei Ultraviolettbestrahlung getan hat, oder an eine Störung des Aufbaustoffwechsels (LANGENDORFF).

Die Beobachtung der Veränderungen am Mitosenablauf nach der Bestrahlung, erlaubt gewisse Rückschlüsse zu ziehen über die Strahlenwirkung auf die Zelle. Doch muß hervorgehoben werden, daß die Wirkung in dieser Hinsicht eine geringe zu sein scheint, indem Dosen, welche bereits als beträchtlich angesprochen werden müssen, nur einen kleinen Effekt hervorrufen. Dabei sind die Mitosen, bei welchen sichere Veränderungen zu beobachten sind, bereits stark pathologisch verändert, so daß Schlüsse nur unter allem Vorbehalt gezogen werden dürfen.

Die Beobachtung der direkten Bestrahlungswirkung auf den Ablauf der Einzelmitose in Kulturen von Kaninchenfibrocyten ist durch die Filmversuche weitgehend gelungen. Auf Grund ihrer Untersuchungen an Wurzelspitzen von *Vicia faba* ziehen JÜNGLING und LANGENDORFF eine Beschleunigung des Mitosenablaufes nach schwachen Röntgendosen in Betracht. Sie hatten festgestellt, daß in der Zahl der Mitosen der Wurzelspitzen eine tagesperiodische Schwankung mit einem Maximum innerhalb von 24 Stunden vorhanden ist. Durch eine Bestrahlung mit 40 r wurde der Rhythmus so verändert, daß 2 Maxima, bei 80 r deren 3 auftraten. Diese Beobachtung veranlaßte die Autoren zur Annahme einer

**Beschleunigung**, zumal keine Veränderungen, weder makroskopisch noch mikroskopisch, zu beobachten waren. **POLITZER** zieht dagegen auf Grund der Beobachtung, daß die Mitosen erst nach der halben Ablaufszeit des Primäreffektes verschwanden, die bei seinen Versuchen der etwa doppelten Dauer einer normalen Mitose entsprach, eine Verlangsamung des Teilungsablaufes in Betracht.

Die Wirkung der Bestrahlung auf den Mitosenablauf kommt in auffälliger Weise nur an den direkt von der Bestrahlung getroffenen Mitosen zum Ausdruck. Da aber nach der Bestrahlung der Beginn neuer Mitosen sofort gestoppt wird, beschränkt sich die Erfahrung auf relativ wenige Mitosen. Die nach dem Intervall auftretenden Mitosen dürfen jedenfalls nicht ohne weiteres zur Beurteilung der direkten Strahlenwirkung herangezogen werden, da sich bereits wichtige Veränderungen abgespielt haben, die ein Wiederbeginnen der Teilungstätigkeit erlauben, d. h. es hat eine gewisse Regulierung der Schädigung stattgefunden.

Nach den Messungen, die an unseren Filmversuchen gemacht wurden, könnte bei höheren Dosen (1000 r und mehr) eine deutliche Verlangsamung des Mitosenablaufes festgestellt werden. Diese Veränderung, die vor allem durch ein längeres Bestehenbleiben der Äquatorialplatte hervorgerufen wird, bei der aber auch eine Erschwerung in dem Ausbreiten der Tochterzellen mitwirkt, läßt an einen entquellenden Einfluß denken. Bei den Versuchen mit Hypo- und Hypertonie und mit quellenden und entquellenden Salzen hat **v. MÖLLENDORFF** gezeigt, daß durch Hypertonie und entquellende Salze eine Verzögerung des Anaphasenbeginns sowie eine Erschwerung der Ausbreitung der Tochterzellen stattfindet. Die Verzögerung in der Ausbreitung wurde vor allem belegt durch das gehäufte Auftreten von Doppelpolrunden. Eine solche Beobachtung wurde allerdings bei meinen Versuchen nicht gemacht. Ähnliche Verzögerungen, die bei den Versuchen mit Ultraviolettbestrahlung gefunden wurden, veranlaßten **v. MÖLLENDORFF** und **LAQUEUR**, diese, zwar unter allem Vorbehalt, ebenfalls einem gewissen entquellenden Einfluß der Bestrahlung zuzuschreiben.

Während durch die Filmversuche die Art der Wirkung der höheren Strahlendosen einigermaßen sicher gedeutet werden kann, ist dies für schwächere und mittlere Dosen viel schwieriger. Wie aus der Zusammenstellung der Filme (Tabelle 1 und 2) hervorgeht, wird, wenigstens zeitweise, der Mitosenablauf nach schwacher und mittlerer Bestrahlung (unter etwa 600 r) verkürzt. Diese Feststellung, die sich mit der Annahme von **JÜNGLING** und **LANGENDORFF** deckt, steht aber mit den Ergebnissen bei noch höherer Dosis in direktem Widerspruch. Eine Erklärung der Beschleunigung des Teilungsablaufes ist bei Annahme der Erklärung, die für die stärkeren Dosen versucht wurde, nicht leicht möglich. Das von vielen Autoren abgelehnte oder angezweifelte **ARNDT-SCHULZ**sche Gesetz behauptet zwar, daß schwache Reize die Lebenstätigkeiten

anfachen, mittlere sie fördern, starke sie hemmen und stärkste sie aufheben, ohne daß aber die gegensätzliche Wirkung erklärt würde. Selbst wenn man eine Stimulation durch schwache und mittlere Dosen annimmt, d. h. in diesem Falle eine Verkürzung der Mitosenablaufszeit, so steht doch die hemmende Wirkung der Bestrahlung auf die Teilungsfolge auch bei den schwächsten von uns angewandten Dosen im Vordergrund. Es ist nun in Betracht zu ziehen, daß die Bestrahlung vielleicht an zwei verschiedenen Stellen angreift. Für diese Vorstellung spricht die Tatsache, daß bei mittleren Dosen, (Film 231/232/233 und 236/237) wo die Gesamtdauer abnimmt, eine Zunahme der späten Metaphase und der Anaphase zu verzeichnen ist. Während die Änderungen im zeitlichen Ablauf der Mitose gewisse Hinweise geben, wo der Angriffspunkt der Strahlenwirkung zu suchen ist, sind die morphologischen Veränderungen der Mitose weitgehend unspezifisch. Im Primäreffekt wurden Pyknosen der Chromosomen beobachtet. Die Verklebungen machen sich manifest in Brückenbildungen, in An-, Telo- und Rekonstruktionsphasen. Doch auch schon in den Äquatorialplatten sind Verklebungen sichtbar. POLITZER wie MARQUART führen dies auf abnorme Beschaffenheit der Chromosomenhülle zurück, also eine Störung der kolloidalen Grenzflächen, die durch Störung der Viskoregulationskräfte zustande kommt. Diese Annahme stützt die Beobachtung, daß in der frühen Metaphase die Chromatinbänder außerordentlich unregelmäßige Oberflächen besitzen. Die Chromosomenpyknose ist auch beim Einfluß hypertotonischer Medien gefunden worden (W. v. MÖLLENDORFF 1938). Wenn dann trotz stärkster Pyknose eine Zellteilung erzwungen wird, so ist dies ein Beweis dafür, daß die plasmatische Teilungsregulation zwar gestört, aber nicht unterbunden ist.

Die Störungen in Sekundäreffekt sind weitgehend von denen des Primäreffektes verschieden. Die vorherrschende Störung ist die Chromosomenablenkung. POLITZER führt nach Untersuchungen BLEIER<sup>4</sup> die Chromosomenablenkung auf Nebenspindeln zurück. Demgegenüber konnte ich bei meinen Versuchen auch bei stärkster Chromosomenablenkung keine solchen Nebenspindeln sehen. Vielmehr glaube ich, diese Störung auf eine Störung bei der Bildung des Teilungsraumes zurückführen zu können. In diesem Zusammenhang haben diese Chromosomenablenkungen besonderes Interesse, da sie nicht zu einer Zeit auftreten, wo das Wachstum gestoppt ist, sondern wo immerhin eine gewisse Teilungstätigkeit besteht, wie es ähnlich v. MÖLLENDORFF bei seinen Versuchen mit cancerogenen Stoffen und Geschlechtshormonen gefunden hat. Während dort durch die Art der Stoffe gewisse Hinweise auf den Wirkungsmechanismus bestehen, ist eine Erklärung für den Bestrahlungssekundäreffekt fast ohne Grundlage. Während v. MÖLLENDORFF über das Schicksal der abgelenkten Chromosomen bei seinen Versuchen weitgehend im unklaren ist, zeigt es sich, daß bei Röntgenbestrahlungen die abgelenkten Chromosomen zu Teilkernen rekonstruiert

werden können. Neben der Chromosomenablenkung besteht aber im Sekundäreffekt noch eine andere Störung. Es treten ähnlich wie im Primäreffekt in der Anaphase hier und da Brückenbildungen zwischen den Diasteren auf. Allerdings sind diese viel schwächer als im Primäreffekt, d. h. sie umfassen meist nur ein Chromosom. Pseudoamitosen wie im Primäreffekt sind nicht vorhanden, doch können die Verbindungs-fäden auch nach der Kernrekonstruktion bestehen bleiben. In seinen Untersuchungen an Pollenmitosen hat MARQUART verschiedene Arten von Verbindungen der Chromosomen in Sekundäreffekte festgestellt. Aus diesen ergeben sich bei der Längsspaltung der Chromosomen Möglichkeiten der Brückenbildung im Sekundäreffekt. Infolge der Kleinheit und der großen Zahl der Chromosomen war es bei meinen Versuchen nicht möglich, Ergebnisse in dieser Richtung zu erhalten. POLITZER, der offenbar im Sekundäreffekt keine Anaphasen mit Chromatinbrücken sah, sondern nur sog. Hantelkerne, führt diese Brückenbildung auf eine Verschmelzung von Haupt- und Teilkernen zurück.

Es ist angezeigt, einen Vergleich anzustellen, zwischen den Mitosenstörungen des Röntgenssekundäreffektes und ähnlichen Störungen, die hervorgerufen wurden durch andere Einwirkungen. W. v. MÖLLENDORFF hat bei der Chromosomenabsprengung, die ja als Hauptstörung des Sekundäreffektes auftritt, grundsätzlich zwei Möglichkeiten unterschieden: „In dem einen Fall treten diese Fehlbildungen (abgesprengte Chromosomen) vergesellschaftet mit solchen Wachstums- und Mitosenstörungen auf, welche praktisch einen Wachstumsstopp, wenn nicht den Tod des wachsenden Gewebes bedeuten. Im anderen Fall findet man diese Fehlbildung in Fällen, bei welchen die Wachstumsrate ganz oder fast unvermindert ist und der Mitosenmechanismus ebenfalls scheinbar ganz normal verläuft.“ In die erste Gruppe gehören die Störungen nach Einwirkung von Hypo- und Hypertonie, Chloralhydrat und Alkohol, u. a. m., in die zweite Gruppe die Störungen durch Testosteron, Oestron, Benzpyren, Methylcholanthren, Arsenik und, wie W. v. MÖLLENDORFF mitgeteilt hat, eine Menge weiterer Kohlenwasserstoffe, meist cancerogener Natur oder eng Verwandte. Ebenso wurde die Absprengung von Chromosomen in Mitosen maligner Gewebe festgestellt.

In welche der oben angeführten Kategorien nun aber die Mitosen des Bestrahlungsekundäreffektes gehören, ist nicht ohne weiteres zu entscheiden. Wohl ist zur Zeit des Sekundäreffektes die Wachstumsrate nicht unbedingt herabgesetzt, auch ist die Länge des Mitosenablaufes nicht wesentlich verändert, aber es trat vor dem Sekundäreffekt eine zum Teil bedeutende Wachstumshemmung auf. Zudem sind die Mitosenabsprengungen nicht die einzige Störung des Sekundäreffektes. Aber ich glaube, daß gerade aus dem Umstand, daß, wenn auch lange Zeit später, aus bestrahltem Gewebe maligne Geschwülste hervorgehen können, eine Berechtigung besteht, diese Störungen des

Sekundäreffektes in einer Linie mit denen nach Einwirkung carcinogener oder verwandter Stoffe zu betrachten.

Wie v. MÖLLENDORFF in seinen Mitteilungen gezeigt hat, bewirken Stoffe, wie Geschlechtshormone und carcinogene Kohlenwasserstoffe in solchen Konzentrationen schon die Chromosomenabsprengung, bei welchen noch keine andere Störungen, sowohl morphologischer wie dynamischer Art auftreten. Untersucht man die Mitosen der Bestrahlungsekundäreffektzeit darauf hin, so findet man, daß auch hier offenbar die Chromosomenabsprengung bei Dosen auftritt, die sonst (im Sekundäreffekt) keine anderen Mitosenstörungen bewirken. So wiesen z. B. im Sekundäreffekt nach Bestrahlung mit 500 r 25% der Äquatorialplatten abgesprengte Chromosomen auf; von 10% gestörten Anaphasen war die Hälfte infolge von Chromosomenabsprengung als pathologisch anzusprechen; bei den gestörten Telophasen waren es sogar drei Viertel. Bei den Rekonstruktionsphasen waren 7% rekonstruierte Teilkern vorhanden.

Bei 250 r ist zwar die Zahl der pathologischen Mitosen gering, doch treten auch hier die Formen mit Chromosomenabsprengung stark in den Vordergrund. Dasselbe ist bei den Versuchen mit noch kleineren Dosen zu bemerken. Diese Feststellung erlaubt uns, die Störungen im Sekundäreffekt in eine Reihe zu setzen mit den Störungen nach Behandlung mit Geschlechtshormonen, carcinogenen Kohlenwasserstoffen und verwandten Stoffen dieser beiden Gruppen, sowie Arsen, wobei allerdings nichts über den Mechanismus der Störung gesagt sein soll. Da im Sekundäreffekt eine direkte Wirkung der Strahlen nicht mehr vorhanden ist, kommen offensichtlich nur zwei mögliche Ursachen der Mitosenstörungen in Frage:

1. Eine herodozelluläre Schädigung des ganzen Gewebes. Diese ist allerdings mit unseren Methoden nicht nachweisbar.
2. Ein Entstehen neuer Substanzen, denen die Störungen zuzuschreiben wären. Dabei würde es sich vielleicht am ehesten um eine Abspaltung von in den Zellen gebundenen Stoffen handeln.

Diese zweite Möglichkeit wäre mit unseren Methoden unbedingt beweisbar. Es wäre zu prüfen, ob mit Extrakten bestrahlter Gewebe solche Chromosomenabsprengungen erzeugt werden können, wie dies für Extrakte von malignen Geweben zum Teil geschehen ist.

In diesem Zusammenhang ist eine Arbeit von PFUHL und KÜHTZ von Interesse. Diese Autoren bestrahlten ein haarfreigemachtes Feld vom Kaninchenrücken mit 800 r. Dann wurden Bindegewebshäutchenpräparate gemacht, wobei in den von der Bestrahlung getroffenen Gewebspartien, im Gegensatz zu den unbestrahlten, niemals Mitosen angetroffen wurden. In den nicht bestrahlten Gewebsteilen wurde nach 16 Stunden reichlich Mitosen gefunden, die zum Teil die gleichen Störungen aufwiesen, wie sie für Röntgenprimäreffekte bekannt sind. Dieser Mitosenschub dauerte bis 48 Stunden. Vom 3. bis 23. Tag wurden

keine Mitosen und kein Zellzerfall gefunden. Vom 25. Tag an traten wieder Mitosen auf, in Fibrocyten und Histiocyten. Da wurden Pyknose der Chromosomen, Fehlen der Spindel, Rhexis und Abspaltung von Chromosomen beobachtet. Nach 60—70 Tagen waren keine Mitosen mehr zu sehen. Die Autoren führen diese wellenförmige Teilungstätigkeit, sowie die Störung der Mitosen, auf die Bestrahlung zurück. Wieweit diese Vorgänge als Folge der Bestrahlung auftraten, läßt sich nicht genau überblicken. Jedenfalls besteht ein Unterschied zwischen diesen Versuchen und denjenigen der übrigen Autoren. Was jedoch auffallend ist, sind die Störungen der Mitosen, die gleich denen sind, die bei unseren Versuchen gefunden wurden. Ebenso ist der Mitosenrhythmus ein ähnlicher. Da eine direkte Strahlenwirkung nicht vorzuliegen scheint, erhebt sich die Frage, ob die gesamten Vorgänge durch Stoffwechselprodukte, die durch die Bestrahlung entstehen, bedingt sind. Versuche, die mit bestrahlten Züchtungsmedien angestellt wurden, ergaben keine Resultate, so daß die Annahme, die Störungen könnten auf der Grundlage von im Medium neu entstandenen Stoffen bedingt sein, keine Stützung erfährt. Ob aber die Zellen selbst zu einer Produktion solcher Stoffe durch die Bestrahlung angeregt werden, ist noch nicht untersucht worden. Gerade diese von PFUHL und KÜHTZ mitgeteilten Ergebnisse lassen die Annahme zu, daß die beschriebenen Störungen, die ja in bestrahlungsfernen Gewebepartien beobachtet wurden, auf die Einwirkung von Stoffen, die nach der Bestrahlung entstanden sind, zurückzuführen sind; ein Grund mehr, diese Störungen nach der Bestrahlung mit denen von Geschlechtshormonen und carcinogenen Stoffen usw. in eine Linie zu setzen. Durch diese Betrachtungsweise scheint ein grundlegender Unterschied gegeben, zwischen der direkten Strahlenwirkung, die sich als Primäreffekt geltend macht, und der indirekten Strahlenwirkung, deren Folgen die Störungen des Sekundäreffektes sind.

#### Zusammenfassung.

1. Es wurde der Einfluß von einzeitigen Röntgen- und Radiumbestrahlungen auf den Mitosenrhythmus und auf den Ablauf der Zellteilung in Kulturen von Kaninchenfibrocyten untersucht.

2. Die Wirkung beider Strahlenarten ist gleichwertig.

3. Die Bestrahlung macht sich auf den Teilungsrhythmus als Hemmung bemerkbar, die sofort auftritt und in ihrer Dauer von der Dosis abhängt, indem eine höhere Dosis eine längere Hemmung bewirkt. Dabei ist die Geschwindigkeit des Mitosensturzes unabhängig von der Dosis, wohl aber die Höhe des Sturzes. Geschwindigkeit und Höhe des Wiederanstieges der Teilungstätigkeit sind ebenfalls dosenabhängig.

4. Der Ablauf der Einzelmitose im Primäreffekt wird von der Bestrahlung so beeinflußt, daß bei kleinen Dosen eine Beschleunigung besteht, bei hohen Dosen eine Verlangsamung. Selbst sehr hohe Dosen

können aber den Ablauf der Mitose nicht unterbinden. Die Verlangsamung des Mitosenablaufes wird vor allem bedingt durch eine Erschwerung des Anaphasenbeginns.

5. Im Sekundäreffekt tritt ebenfalls eine Verlängerung der Mitosedauer ein, was auf eine Metaphasenstörung zurückzuführen ist.

6. Die Mitosenstörungen im Primäreffekt sind vor allem Pyknose der Chromosomen deren Folge Brückenbildungen in Ana-, Telo- und Rekonstruktionsphase sind. Dadurch entstehen Bilder der Pseudoamitosen (POLITZER). Im Sekundäreffekt herrschen Chromosomenabspaltungen vor. Sie werden verglichen mit denen nach Behandlung mit carcinogenen Stoffen und Geschlechtshormonen. Als weitere Störung im Sekundäreffekt, treten Chromatinbrücken auf, die aber offenbar nicht auf Pyknose der Chromosomen beruhen.

7. Es wird versucht, die Wirkung der Bestrahlung im Primäreffekt durch einen entquellenden Einfluß der Bestrahlung zu erklären.

8. Es wird darauf hingewiesen, daß möglicherweise die Wirkung der Bestrahlung im Sekundäreffekt auf der Bildung von Stoffen beruht, welche Steriodcharakter haben.

9. Der Wirkungsmechanismus der Bestrahlung ist im Primäreffekt ein prinzipiell anderer als im Sekundäreffekt.

#### Schriftenverzeichnis.

- Alberti u. Politzer: Arch. mikrosk. Anat. **100** (1923); **103** (1924). — Z. Zellforsch. **1** (1924). — Bucher: Z. Zellforsch. **29**, 283—322 (1939); **30**, 438—462 (1940). — Canti and Donaldson: Proc. roy. Soc. Lond., Ser. B **100** (1924). — Canti and Spear: Proc. roy. Soc. Lond., Ser. B **100**, **102** (1926). — Cox: Arch. exper. Zellforsch. **11** (1931). — Dustin: Cancer **6**, 134 (1929). — Fuhs u. Politzer: Strahlenther. **45** (1932). — Gassul: Strahlenther. **27**, 694 (1928). — Hertwig: Arch. mikrosk. Anat. **77** (1911); **87** (1916). — Jüngling u. Langendorff: Strahlenther. **38** (1930); **44**, 771 (1932); **69**, 181—230 (1941). — Juul u. Kemp: Acta path. scand. (Stockh.) **7** (1930). — Lacassagne et Monod: Arch. franc. path. gén. et expéim. et d'Anat. path. **1**, **1** (1922). Zit. nach Jüngling u. Langendorff: Strahlenther. **69** (1941). — Langendorff, H. u. M.: Strahlenther. **42**, 793 (1931). — Laser: Strahlenther. **38** (1930). — Love: Arch. exper. Zellforsch. **11** (1931). — Marquart: Z. Bot. **32** (1938). — Möllendorff, W. v.: Arch. exper. Zellforsch. **21**, 1—66 (1937). — Z. Zellforsch. **27**, 301—325 (1937); **28**, 512—546 (1938); **29**, 706—749 (1939); **31**, 60—90 (1940). — Möllendorff, W. v. u. Laqueur: Z. Zellforsch. **28**, 310—340 (1938). — Möllendorff, W. v. u. Ostrouch: Z. Zellforsch. **29**, 323—355 (1939). — Pauli u. Politzer: Z. Zellforsch. **8** (1929). — Pfuhl u. Kühtz: Z. Anat. **110** (1940). — Politzer: Z. Zellforsch. **3** (1926). — Strahlenther. **27**, 553 (1928). — Pathologie der Mitose. Berlin 1934. — Politzer u. Zakowsky: Strahlenther. **42**, 165 (1931). — Rix: Arch. exper. Zellforsch. **11** (1931). — Stoel: Z. Krebsforsch. **26**, 388 (1928). — Strangeways: Proc. roy. Soc. Lond., Ser. B **102** (1926). — Strangeways and Hoopwood: Proc. roy. Soc. Lond., Ser. B **95** (1924). — Strangeways and Oakley: Proc. roy. Soc. Lond., Ser. B **95** (1924). — Wilson, Hughes, Glücksmann u. Spear: Strahlenther. **52**, 457 (1933).