

schlecht löslicher Insulindepots in oder an den Mitochondrien eventuell in Form einer Insulin-Zink-Protein-Bindung annimmt, dann muß der Abgabe des Hormons eine lokale Entziehung von Zink vorhergehen. Verschiedene Zinkkomplexe bildende Zwischenstufen des aktivierten Citronensäurezyklus, u. a.

Citrat, können einen derartigen Vorgang herbeiführen. — Die früher geäußerten Vorstellungen über die blutzucker-gesteuerte Insulinabgabe werden durch die vorgelegten Befunde ergänzt. Über die Bedeutung des Zinks in den wenig Insulin enthaltenden Fraktionen läßt sich bisher nichts aussagen.

Röntgenstrahlen-Inaktivierung der Bernsteinsäure-Oxydase in den Mitochondrien der Rattenleber und des Buttergelbtumors

VON B. RAJEWSKY, G. GERBER, K. H. PARCHWITZ und H. PAULY

Aus dem Max-Planck-Institut für Biophysik, Frankfurt a. M.

(Z. Naturforsch. 11 b, 415—416 [1956]; eingegangen am 6. April 1956)

Die Inaktivierung durch Röntgenstrahlen der an Lebermitochondrien gebundenen Bernsteinsäure-Oxydase wurde untersucht. Ihre Halbwertsdosis beträgt $3,5 \cdot 10^6$ r. Bernsteinsäure-Oxydase, die an Hepatommitochondrien gebunden ist, ist empfindlicher als die normaler Mitochondrien. Die Bernsteinsäure-Oxydase an kleinsten Partikeln zeigt dagegen in beiden Fällen eine größere Strahlenresistenz.

Die Sauerstoffaufnahme von Ratten- und Mäusegewebe, die über das Warburgsche Atmungsferment verläuft, wird durch eine Röntgenstrahlen-Dosis von etwa $2—3 \cdot 10^5$ r bis auf einen nicht weiter beeinflussbaren Betrag von 10—20% (Dosis bis zu $2 \cdot 10^6$ r) unterbunden^{1,2}. Die Analyse der Dosis-effekt-Kurve ergibt für das „strahlenempfindlichste“ Enzym der Fermentkette einen empfindlichen Bereich von 10^{-17} cm³. Es kann jedoch nicht ausgesagt werden, ob dieses „strahlenempfindlichste“ Ferment der Reihe der glykolytischen Enzyme, dem Citronensäurezyklus oder der Atmungskette angehört. Die vorliegende Untersuchung befaßt sich mit dem Bernsteinsäure-Oxydase-System, das an die Mitochondrien fest gebunden ist und das einen wichtigen Teil der an der Gewebeatmung beteiligten Fermente darstellt.

Methodik

Nach Dekapitation der Ratten* wurde die Leber oder das Hepatogewebe in der 4-fachen Menge eisgekühlter 0,25-m. Saccharoselösung homogenisiert (Potter und Elvehjem). Die nach Schneider und Hogeboom³ gewonnenen Mitochondrien wurden einmal in Saccharose gewaschen und anschließend bestrahlt.

Bestrahlungsbedingungen: 50 KV, 1000 mA, $5 \cdot 10^5$ /Min.

¹ H. Pauly u. B. Rajewsky, Strahlentherapie 99, 383 [1956].

² H. Pauly u. B. Rajewsky, Internat. Symp. Radiobiol. Cambridge 1955.

* Die Tumortiere erhielten wir freundlicherweise von Herrn Professor Druckrey. Wir danken ihm hiermit recht herzlich dafür.

Die Bestrahlung fand in Plexiglas-Schälchen bei 0° C statt. Die Aktivität des Fermentsystems wurde bei 37° C manometrisch bestimmt. Die Reaktionsmischung in den Warburg-Gefäßen hatte folgende Zusammensetzung: 0,01-m. Kaliumphosphat-Puffer p_{H} 7,1, 0,0033-m. KCl, 0,033-m. MgCl₂, 0,003-m. ATP, $1,3 \cdot 10^{-5}$ -m. Cytochrom C, 0,084-m. Saccharose, 0,05-m. Succinat.

Die Aktivität der an die Mitochondrien der Rattenleber gebundenen Bernsteinsäure-Oxydase zeigt — nach Abb. 1 — eine nahezu exponentielle Dosisabhängigkeit mit der großen Halbwertsdosis von $3,5 \cdot 10^6$ r. Es scheint also nicht das Cytochromsystem als „strahlenempfindlichstes“ Ferment für die Dosisabhängigkeit der O₂-Aufnahme von Gewebeschnitten verantwortlich zu sein. In Abb. 1 ist weiterhin die Dosisabhängigkeit der Bernsteinsäure-Oxydase-Aktivität dargestellt, die sich noch nach 30 Min. Zentrifugieren bei 60 000 g in der SPINCO-Zentrifuge in dem eiweißreichen Überstand des Leberhomogenats befand. Da diese Aktivität durch 60 Min. Zentrifugieren bei 100 000 g ebenfalls noch sedimentiert, handelte es sich um eine Suspension sehr kleiner Partikel.

Der Unterschied der beiden Inaktivierungskurven zeigt, wie erheblich die „Strahlenempfindlichkeit“ des Bernsteinsäure-Oxydase-Systems von der Art der Aufarbeitung, von der Struktur der Partikel sowie vom Medium, in dem die Partikel bestrahlt werden, abhängen kann. Dieser Effekt ist unter dem Begriff „in-

³ W. W. Umbreit, R. H. Burris u. I. F. Stauffer, Manometric Methods in Tissue Metabolism. Burgess, Minneapolis 1951.

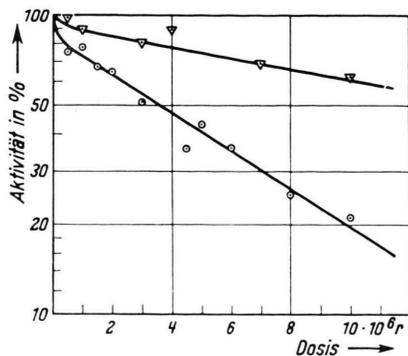


Abb. 1. Inaktivierung der Bernsteinsäure-Oxydase.
 Δ Überstand nach 30 Min. Zentrifugieren bei 60 000 g.
 ○ Mitochondrien.

direkte Strahlenwirkung“ bekannt^{4, 5, 6}. Daher ist auch Vorsicht bei der Deutung der Unterschiede zwischen dem Verhalten normaler Mitochondrien und der in Abb. 2 dargestellten Dosisabhängigkeit von Tumormitochondrien nötig.

Die Dosis-effekt-Kurve des an die Hepatommitochondrien gebundenen Bernsteinsäure-Oxydase-Systems kann man als Überlagerung zweier oder mehrerer Exponentialfunktionen auffassen. Da die Kurve bei höheren Dosen der Dosis-effekt-Kurve normaler Mitochondrien nahezu parallel läuft, darf man annehmen, daß etwa 40% der gesamten Bernsteinsäure-Oxydase sich in einem Zustand befindet, der eine ebenso große Strahlenempfindlichkeit — ein Maß dafür ist die Neigung einer exponentiellen Dosis-effekt-Kurve in halb-logarithmischer Darstellung — aufweist wie die an normale Leberzell-Mitochondrien gebundene Bernsteinsäure-Oxydase. Für den steilen Abfall der Kurve wären die restlichen 60% der Bernsteinsäure-Oxydase mit größerer „Strahlenempfindlichkeit“ verantwortlich. Die an die kleinen Partikel gebundene Bern-

⁴ B. Rajewsky, Brit. J. Radiol. **25**, 550 [1952].

⁵ W. M. Dale, in A. Holländer, Radiation Biology, Vol. I, S. 225. Mc Graw Hill, 1954.

⁶ E. S. G. Barron, in A. Holländer, Radiation Biology, Vol. I, S. 283, Mc Graw Hill, 1954.

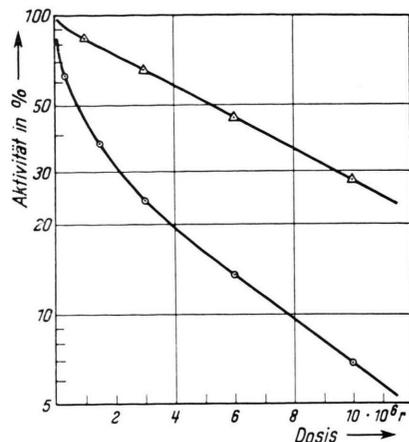


Abb. 2. Inaktivierung der Bernsteinsäure-Oxydase.
 Δ Mitochondrien normaler Leber. ○ Hepatommitochondrien.

steinsäure-Oxydase zeigt sich auch beim Tumorge- webe, wie aus Abb. 2 zu entnehmen ist, als wesentlich strahlenresistenter als die an die Mitochondrien gebundene Bernsteinsäure-Oxydase.

Obwohl nicht angenommen werden kann, daß die Mitochondrien in der Zelle im gleichen Funktionszu- stand wie in der Aufarbeitung vorliegen, so lassen doch diese Befunde zusammen mit den über die In- aktivierung des Cytochromsystems von Hefe und Bak- terien^{7, 8} sowie der Gewebeatmung und Glykolyse von Gewebsschnitten^{1, 2, 9, 10} durch Röntgenstrahlen vermuten, daß der Tod nach einer Ganzkörper-Be- strahlung mit einer letalen Dosis von etwa 1000 r nicht seine Ursache in einer direkten Wirkung auf die an den Mitochondrien gebundene Atmungskette hat.

⁷ H. Langendorff u. U. Hagen, Experientia [Basel] **11**, 485 [1955].

⁸ E. Pollard, Progr. Biophysics **5**, 72 [1955].

⁹ B. Rajewsky u. K. Inouye, Naturwissenschaften **25**, 540 [1937].

¹⁰ H. G. Crabtree u. L. H. Gray, Brit. J. Radiol. **12**, 39 [1939].