

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<sup>1,2</sup>. Die Analyse der Dosis-effekt-Kurve ergibt für das „strahlenempfindlichste“ Enzym der Fermentkette einen empfindlichen Bereich von  $10^{-17}$  cm<sup>3</sup>. 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 Hepatomgewebe in der 4-fachen Menge eisgekühlter 0,25-m. Saccharoselösung homogenisiert (Potter und Elvehjem). Die nach Schneider und Hogeboom<sup>3</sup> gewonnenen Mitochondrien wurden einmal in Saccharose gewaschen und anschließend bestrahlt.

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

<sup>1</sup> H. Pauly u. B. Rajewsky, Strahlentherapie 99, 383 [1956].

<sup>2</sup> 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  $p_{\text{H}}$  7,1, 0,0033-m. KCl, 0,033-m. MgCl<sub>2</sub>, 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 O<sub>2</sub>-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-

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

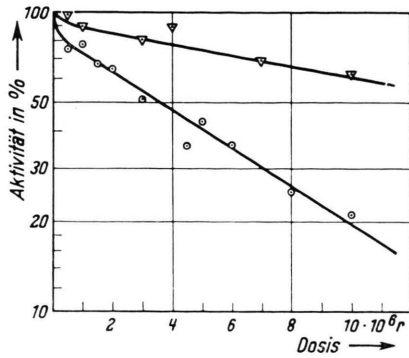


Abb. 1. Inaktivierung der Bernsteinsäure-Oxydase.  
 $\triangle$  Überstand nach 30 Min. Zentrifugieren bei 60 000 g.  
 $\circ$  Mitochondrien.

direkte Strahlenwirkung“ bekannt<sup>4, 5, 6</sup>. 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 halblogarithmischer 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-

<sup>4</sup> B. Rajewsky, Brit. J. Radiol. **25**, 550 [1952].

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

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

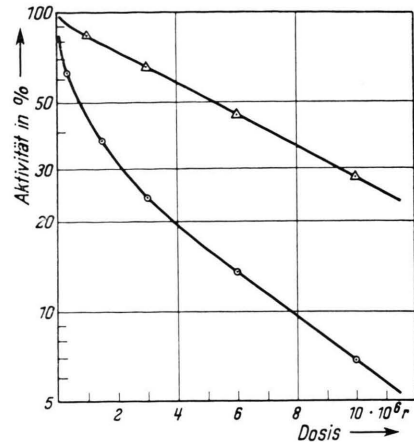


Abb. 2. Inaktivierung der Bernsteinsäure-Oxydase.  
 $\triangle$  Mitochondrien normaler Leber.  $\circ$  Hepatommitochondrien.

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 Funktionszustand wie in der Aufarbeitung vorliegen, so lassen doch diese Befunde zusammen mit den über die Inaktivierung des Cytochromsystems von Hefe und Bakterien<sup>7, 8</sup> sowie der Gewebeatmung und Glykolyse von Gewebsschnitten<sup>1, 2, 9, 10</sup> durch Röntgenstrahlen vermuten, daß der Tod nach einer Ganzkörper-Bestrahlung mit einer letalen Dosis von etwa 1000 r nicht seine Ursache in einer direkten Wirkung auf die an den Mitochondrien gebundene Atmungskette hat.

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

<sup>8</sup> E. Pollard, Progr. Biophysics **5**, 72 [1955].

<sup>9</sup> B. Rajewsky u. K. Inouye, Naturwissenschaften **25**, 540 [1937].

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