

# Über die Wirkung von Röntgenstrahlen auf den Zellstoffwechsel

## I. Die Beeinflussung des Gasstoffwechsels und der Glykolyse von isoliertem Gewebe durch Röntgenstrahlen

Von FRANCESCO BRESCIANI, KLAUS DOSE\* und BORIS RAJEWSKY

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

(Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. Dr. h. c. B. RAJEWSKY)

(Z. Naturforschg. 14 b, 158—168 [1959]; eingegangen am 20. Dezember 1958)

I. X-irradiation of isolated rat diaphragm with 10 to 200 kr produces a change in tissue metabolism which we schematize in two successive phases:

1st phase: Increase of oxygen consumption, proportional to the dosage; an even greater increase of  $\text{CO}_2$  production;  $Q_{\text{CO}_2}/Q_{\text{O}_2} > 1$ , that is, aerobic glycolysis; inhibition of anaerobic glycolysis.

2nd phase: Reduction of oxygen consumption, proportional to the dosage (over 65 kr the  $Q_{\text{O}_2}$  decreases below the control); an even greater decrease of  $\text{CO}_2$  production:  $Q_{\text{CO}_2}/Q_{\text{O}_2} > 1$ ; a greater inhibition of anaerobic glycolysis.

With 200 kr or more no increase of respiration appears, but instead from the beginning there is a reduction of the metabolism as described in the second phase.

II. A similar effect is found in rat liver and in frog heart tissue.

III. When the tissue was incubated in the homologous serum no change in the quality of the described effect was observed. Under our experimental conditions the tissue was X-irradiated within a small quantity of incubation medium and immediately afterwards placed in a fresh medium; this limits the effect of oxidative radicals (arising in the X-irradiated water) upon the tissue.

IV. We set forth the experimental hypothesis that all the described changes in the metabolism of the cell after X-irradiation depend upon a primary alteration of electrolyte balance in the cell, especially of the potassium/sodium relationship. The well known decrease of glycolysis after X-irradiation is a consequence of the loss of potassium from the X-irradiated cell.

Die Ergebnisse der neueren strahlenbiologischen Forschung haben ein mannigfaltiges Erfahrungsgut zutage gebracht. Sie haben aber zugleich mit aller Deutlichkeit die außerordentliche Kompliziertheit der bei der Bestrahlung der lebenden Organismen ablaufenden Vorgänge gezeigt. Die Strahlenbiologie hat aber erst seit wenigen Jahren den Rang einer exakten Wissenschaft erreicht. Sie ist zwar noch weit davon entfernt. Ein klares Bild über die Mechanismen der einzelnen durch Strahlung ausgelösten „Wirkungen“ und die Hierarchie der physikalisch-chemischen, biochemischen und physiologischen Prozesse sowie der daraus resultierenden morphologischen Veränderungen liegt zwar noch nicht vor, aber es haben sich doch einige grundsätzliche Erkenntnisse herauskristallisiert:

1. Es unterliegt heute keinem Zweifel, daß die primären Vorgänge der Strahlenwirkung auf dem molekularen Gebiet der Grundsubstanzen des Gewebes liegen. Es ist aber ebenso eindeutig klar, daß diese Vorgänge bei allen Bestrahlungen in vivo im engsten Zusammenhang mit dem gesamten physiologisch-chemischen System der Organismen stehen und dem Einfluß der Rückwirkungen dieses Systems unterliegen.

\* Teil der Habilitationsschrift, Frankfurt a. M. 1959.

2. Dementsprechend kann man übereinstimmende Ergebnisse der Versuche in vivo und in vitro nicht ohne weiteres erwarten. Vielmehr muß man diese Versuche sehr sorgfältig und gut überlegt voneinander trennen. Erst nach eingehender Klärung der Sachlage in beiden Fällen kann man endgültige, den gesamten Sachverhalt umfassende Theorien aufstellen.

3. Auch bei den Untersuchungen an isolierten Geweben muß man den Umstand berücksichtigen, daß diese Gewebe einen gewissen Gehalt an „regulierenden“ Stoffen besitzen können. Dadurch kann die „primäre Strahlenwirkung“ im isolierten Gewebe beeinflußt werden. Es bedarf unter Umständen einer besonderen Präparierung der Gewebestücke, um die obenerwähnten Nebenwirkungen zu eliminieren. Methodisch gesehen ist dies eine sehr schwierige Aufgabe, weil dabei die Grundstruktur und die Grundeigenschaften der interessierenden Körper, aber natürlich auch der entsprechenden Vorgänge, nicht verändert werden darf.

Wir haben deshalb bei unseren Arbeiten eine grundsätzliche Trennung zwischen den Untersuchungen in vivo (Ganz- und Teilkörper-Bestrahlungen) und den Untersuchungen in vitro vorgenommen. Nur selten sind wir in der Lage, die Ergebnisse der bei-

den Zweige miteinander zu verbinden. In allen solchen Fällen handelt es sich aber vorläufig nur um hypothetische Überlegungen. Man muß noch Ergebnisse vieler weiterer Untersuchungen abwarten, bis man eindeutige Aussagen machen kann.

Wir haben diese Untersuchungen ausschließlich an in Ringer-Lösung oder Serum inkubiertem Gewebe durchgeführt, welches kurz vor dem Versuch aus dem Tier präpariert wurde. Auf diese Weise ist es möglich, die primären Stoffwechsel-Änderungen, die durch die Bestrahlung verursacht werden, zu erfassen, da eine indirekte Beeinflussung des Zellstoffwechsels durch viele andere Faktoren (Endokrine Drüsen, Nervensystem, Blutkreislauf, Wechselwirkung einzelner Organe untereinander usw.) — wie bei In-vivo-Untersuchungen nach einer Ganzkörperbestrahlung — wegfällt. Das Gewebe wurde bei unseren Versuchen in Gegenwart der kleinsten, noch zulässigen Menge Inkubationsflüssigkeit bestrahlt. Nach der Bestrahlung wurde das Gewebe mit frischer Inkubations-Flüssigkeit abgespült und anschließend in ebenfalls unbestrahlter Inkubations-Flüssigkeit inkubiert; denn wenn man umgekehrt in einem relativ großen Volumen Inkubations-Flüssigkeit Gewebe oder freie Zellen bestrahlt, so kann man die Ergebnisse dieser Versuche nicht mehr mit den Ergebnissen eines in vivo durchgeführten Experiments (z. B. Ganzkörper-, Teilkörper- oder Organbestrahlung) vergleichen, weil unter diesen Bedingungen (in vivo) das Verhältnis der Gewebsflüssigkeit zum Zellvolumen wesentlich kleiner als eins ist. Das bedeutet im umgekehrten Fall aber, — z. B. wenn das Verhältnis der Inkubations-Flüssigkeit zum Zellvolumen relativ groß ist —, daß hier erwartungsgemäß die durch die Strahlung aus dem Wasser der Inkubations-Flüssigkeit erzeugten reaktionsfähigen Stoffe wie  $H_2O_2$ ,  $*OOH$ ,  $*OH$  und  $*H$  erst sekundär zu den Zellen diffundieren und da wirksam werden. Man erhält also hierdurch eine Strahlenwirkung, die in dieser Form von vornherein weder quantitativ noch qualitativ mit irgendeiner Strahlenwirkung bei In-vivo-Versuchen zu vergleichen ist.

Wir haben ferner unmittelbar nach der Bestrahlung mit unseren Messungen begonnen; denn nur hierdurch kann erreicht werden, daß man ein klares Bild über die primären Vorgänge nach Einwirkung von Röntgenstrahlen auf den Zellstoffwechsel gewinnt. Beobachtungen, die erst mehrere Std. nach der Bestrahlung angestellt werden, lassen dagegen im allgemeinen kaum noch den primären Mechanismus der Strahlenwirkung erkennen, da hier schon unspezifische Folgereaktionen die eigentlichen Primärreaktionen abgelöst bzw. überdeckt haben.

Zur Untersuchung des Zellstoffwechsels von isoliertem Gewebe haben wir besonders das Diaphragma der Ratte benutzt, weil man dieses Gewebe ohne jede Schädigung der Zellen aus dem Tier präparieren kann. Es ist Dank seiner geringen Dicke nicht nötig, hiervon Schnitte herzustellen, womit eine mögliche Schädigung der Zellen durch die Herstellung des Schnittes gleichfalls ausscheidet. Im Inkubationsversuch selbst haben wir versucht, die Umweltbedingungen des Diaphragma beim In-vitro-Versuch gegenüber den Bedingungen in vivo nach Möglichkeit einzuhalten.

Hierbei haben wir die zweite Methode von Warburg angewendet (Suspensionslösung: Ringer-Lösung oder Serum). Bei den meisten Versuchen haben wir jedoch in Übereinstimmung mit anderen Autoren<sup>1</sup> der proteinfreien Ringer-Lösung den Vorzug gegeben, da das Gewebe auch in situ nicht vom Serum, sondern von einer Flüssigkeit umgeben ist, die mehr Verwandtschaft zur Ringer-Lösung als zum Serum hat. Wir haben aber auch die Ergebnisse mit Ringer-Lösung als Suspensionsflüssigkeit mit den Ergebnissen verglichen, bei denen wir Serum als Inkubations-Flüssigkeit benutzten. Dies geschah auch, um festzustellen, ob Serum bei der Bestrahlung unter den von uns genannten Bedingungen eine Schutzwirkung für das Gewebe hat.

Abgesehen von den sehr zahlreichen Arbeiten über Veränderungen im Zellstoffwechsel längere Zeit (Stunden, Tage) nach einer Ganzkörperbestrahlung<sup>2-15</sup>, deren Interpretation aber aus den oben

<sup>1</sup> H. DRUCKREY, F. BRESCIANI u. H. SCHNEIDER, Z. Naturforsch. **13b**, 516 [1958].

<sup>2</sup> E. S. G. BARRON, A.E.C.D.-2316 (CH-3654) N.S.A **1**, 369 [1948].

<sup>3</sup> G. HEVESEY u. A. FORSSBERG, Nature [London] **168**, 692 [1951].

<sup>4</sup> W. FLORSHEIM, C. DOERNBACH u. M. E. MORTON, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **81**, 121 [1952].

<sup>5</sup> F. SMITH, W. G. BUDDINGTON u. M. M. GRENAN, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **81**, 140 [1952].

<sup>6</sup> J. S. KLEIN, Fed. Proc. **11**, 240 [1952].

<sup>7</sup> J. HICKMAN u. G. ASHWELL, Fed. Proc. **12**, 66 [1953].

<sup>8</sup> R. H. MOLE, Quart. J. exp. Physiol. **38**, 69 [1953].

<sup>9</sup> P. MANDEL, Ch. GROS u. J. RODESCH, Radiob. Symp. Butterworths; Sci. Publ., London 1954, p. 210.

<sup>10</sup> P. LEHERRE, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales **148**, 927 [1954].

erwähnten Gründen jedoch meistens recht schwierig ist, wurde unseres Wissens der Zellstoffwechsel von normalem Gewebe unmittelbar nach einer In-vitro-Röntgenbestrahlung noch nicht eingehender untersucht. Nur über die Veränderung des O<sub>2</sub>-Verbrauchs von Erythrozyten (in vitro) durch Röntgenstrahlen liegen einige Ergebnisse vor<sup>16, 17</sup>.

### Methodik

Für unsere Untersuchungen benutzten wir hauptsächlich männliche Ratten (ca. 200 g) aus der Zucht des Max-Planck-Instituts für Biophysik. Diese Ergebnisse wurden jedoch durch Untersuchungen an Wistaratten (reiner Stamm) und Stamm BD III (Druckrey) kontrolliert. Die Ratten wurden durch Genickschlag getötet und die Organe (Diaphragma bzw. Leber) schnellstens bei möglichst geringer Schädigung herauspräpariert. Das Diaphragma wurde von dorsal nach ventral in zwei gleiche Teile zerschnitten, wobei der mittlere bindegewebige Teil entfernt wurde. Die eine Hälfte wurde jeweils bestrahlt usw., während die andere als Kontrolle diente. Die Leberschnitte wurden mit Hilfe eines scharfen Rasiermessers nach der üblichen Technik hergestellt.

Für die Untersuchungen am Herzmuskel benutzten wir das Herz des Grasfrosches (*Rana temporaria*, ♂; Wintertiere). Die Herzen wurden im wesentlichen nach C. Amsler präpariert (Versuche in toto). Für die Untersuchungen am Muskelgewebe des Ventrikels wurde dieser nach Abtrennung des Vorhofs in eine linke und eine rechte Hälfte zerschnitten und in luft- bzw. sauerstoffgesättigter Lösung inkubiert. Die Dicke des Substrates blieb auch in diesem Fall unterhalb der maximal zulässigen Grenzen für eine exakte Atmungsmessung an Gewebe. Die hier gegenüber den Untersuchungen an Geweben von Warmblütern größere Substratdicke wird in diesem Fall durch den allgemein wesentlich kleineren Stoffwechsel im Gewebe des Kaltblüters wieder ausgeglichen, so daß auch hier noch ein guter Gasaustausch gewährleistet ist; denn nach der Gleichung (Warburg):

$$d = \sqrt{8 \cdot C_0 (D/A)}$$

folgt, daß der maximal zulässige Durchmesser ( $d$ ) des Gewebes proportional der Quadratwurzel aus der Sauerstoffkonzentration ( $C_0$ ) im Medium und dem Verhältnis der Diffusionskonstanten ( $D$ ) des Sauerstoffs im Gewebe zur Intensität der Atmung ( $A$ ) des Gewebes ist. Wir haben ferner kontrolliert, daß die  $Q_{O_2}$ - und  $Q_{CO_2}$ -Werte auch bei Veränderung des Gewichtes des inkubierten Gewebes konstant blieben.

Als Inkubations-Flüssigkeiten benutzten wir isotonsche Ringer-Bicarbonatlösungen mit 0,2 (Rattengewebe) bzw. 0,1% (Froschherz) Glucose, vom pH 7,4 und homologes Serum, welches durch 10-minütiges Erhitzen auf 56° inaktiviert worden war.

Wir haben die zweite Methode von Warburg angewendet. Das Volumen der Suspensionsflüssigkeit betrug 4,5 ml, das Volumen der Gefäße war ca. 11 bzw. 18 ml. Im Fall der Versuche mit Serum war auch die CO<sub>2</sub>-Retention des Serums bestimmt worden. Als Gasgemische verwendeten wir O<sub>2</sub> mit 5% CO<sub>2</sub> und N<sub>2</sub> (O<sub>2</sub>-Gehalt unter 0,5%) mit 5% CO<sub>2</sub>. Die Inkubationsflüssigkeiten waren vor der Benutzung mit dem jeweiligen Gasgemisch gesättigt worden. Die Schüttelfrequenz der Gefäße war 200/min, bei einer Amplitude von 1 cm; die Inkubations-Temperatur war 38° C (Warmblüter) und 20° bzw. 25° C (Kaltblüter). Der Sauerstoffverbrauch des Froschherzens wurde nach der ersten (direkten) Methode von Warburg bestimmt. Die Diaphragmen und die Leberschnitte wurden nach ihrer Präparation einige Min. in eisgekühlter, gasgesättigter Ringer-Lösung bzw. Serum gehalten, um die Glykolyse und die K-Abgabe zu hemmen, welche beide als Folge der Anoxie im Gewebe nach dem Tod des Tieres und der durch die Präparation bewirkten Schädigung des Gewebes auftreten<sup>18</sup>.

Bestrahlungsbedingungen: Dermopan-Röntgenanlage (Siemens): 45 kV; 25 mA; Filterung durch 200 μAl; Dosisleistung in 6 cm Abstand von der Röhrenachse 12,5 kr/min (in Luft), im Gewebe (abhängig von der durchstrahlten Schicht) etwa 7,5 kr/min. Die etwa 2 bis 5 mm starken Froschherzen bzw. Ventrikelteile wurden während der Bestrahlung mehrmals gewendet, um eine homogene Dosisverteilung zu erreichen. Die Substrate wurden in kleinen Al-Gefäßen bestrahlt. Sie waren stets gerade mit Suspensionsflüssigkeit bedeckt. Das Volumenverhältnis Suspensionsflüssigkeit/Gewebe betrug etwa 2–3. Nach der Bestrahlung wurde das Gewebe mit frischer Suspensionsflüssigkeit abgespült und inkubiert. Die Bestrahlungszeit betrug zwischen 5 und 10 Minuten. Die ersten manometrischen Ablesungen erfolgten 15 bis 20 Min. nach Bestrahlungsende.

### Ergebnisse

#### Aerobe Versuche mit Rattendiaphragma

Bei den ersten Versuchen bestrahlten wir die Diaphragmen mit 65 kr. Zwischen dem Ende der Bestrahlung und der ersten manometrischen Ablesung lag eine Zeit von 20 Min., die mit Vorbereitungen

<sup>11</sup> C. HEVESEY, Sonderbände zur Strahlentherapie **32**, 115 [1955].

<sup>12</sup> M. F. SULLIVAN u. K. D. DU BOIS, Radiation Res. **3**, 202 [1955].

<sup>13</sup> W. GAHLEN u. G. STÜTTGEN, Strahlentherapie **97**, 259 [1955].

<sup>14</sup> W. S. MARTIN, R. C. GRUBBS u. M. A. LESSLER, Amer. J. Physiol. **187**, 505 [1956].

<sup>15</sup> A. D. SNEZKO, Biofizika **2**, 67 [1957].

<sup>16</sup> L. FRANKENTHAL u. A. BACQ, Biochem. J. **38**, 351 [1944].

<sup>17</sup> A. BACH u. L. BLOCH-FRANKENTHAL, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **66**, 366 [1947].

[Min.]		Großes Gefäß (H') [mm]	Kleines Gefäß (H) [mm]	X <sub>O<sub>2</sub></sub> [mm <sup>3</sup> ]	X <sub>CO<sub>2</sub></sub> Q <sub>O<sub>2</sub></sub> [mm <sup>3</sup> ]	Q <sub>CO<sub>2</sub></sub>	Q <sub>CO<sub>2</sub></sub> Q <sub>O<sub>2</sub></sub>	Q <sub>O<sub>2</sub></sub> M
0 bis 60	Kontrolle	- 45	- 12,3	- 105	+ 105 - 5,3	+ 5,3	1,0	0
	Bestrahlt	- 51	- 7,0	- 165	+ 189 - 8,3	+ 9,1	1,10	0,8
60 bis 120	Kontrolle	- 45	- 12,0	- 108	+ 112 - 5,4	+ 5,6	1,04	0,2
	Bestrahlt	- 55	- 17,0	- 112	+ 97 - 5,6	+ 4,9	0,86	0
120 bis 180	Kontrolle	- 43	- 10,0	- 96	+ 94 - 4,8	+ 4,7	0,98	0
	Bestrahlt	- 66	- 26,0	- 89	+ 70 - 4,5	+ 3,5	0,79	0
180 bis 240	Kontrolle	- 44	- 14,0	- 90	+ 84 - 4,5	+ 4,2	0,93	0
	Bestrahlt	- 60	- 23,0	- 82	+ 67 - 4,1	+ 3,4	0,82	0

Tab. 1. Aerober Stoffwechsel von normalem und bestrahltem (65 kr), isoliertem Ratten-Diaphragma in Ringer-Bicarbonat mit 0,2% Glucose bei 38° C in 5 Vol.-% CO<sub>2</sub>-O<sub>2</sub>. Trockengewicht pro Gefäß: 20 mg.

Kontrolle: Kleines Gefäß:  $v=11,3$ ;  $v_F=4,5$ ;  $K_{O_2}=0,6086$ ;  $K_{CO_2}=0,8397$ .

Großes Gefäß:  $v=18,1$ ;  $v_F=4,5$ ;  $K_{O_2}=1,2081$ ;  $K_{CO_2}=1,4389$ .

$$X_{O_2}=H' \cdot 0,44 - H \cdot 0,76.$$

$$X_{CO_2}=H' \cdot 0,53 - H \cdot 1,07.$$

Bestrahlt: Kleines Gefäß:  $v=11,1$ ;  $v_F=4,5$ ;  $K_{O_2}=0,5911$ ;  $K_{CO_2}=0,8219$ .

Großes Gefäß:  $v=18,0$ ;  $v_F=4,5$ ;  $K_{O_2}=1,2037$ ;  $K_{CO_2}=1,4345$ .

$$X_{O_2}=H' \cdot 0,43 - H \cdot 0,73.$$

$$X_{CO_2}=H' \cdot 0,52 - H \cdot 1,08.$$

des eigentlichen Warburg-Versuchs ausgefüllt war. In Tab. 1 sind die Volumina der Gefäße, die Volumina der Suspensionsflüssigkeit, die Konstanten  $K_{O_2}$  und  $K_{CO_2}$ , die beobachteten Druckänderungen und die ausgerechneten Quotienten ( $Q_{O_2}$ ,  $Q_{CO_2}$ ,  $Q_{CO_2}/Q_{O_2}$  und  $Q_M^{N_2}$ ; Dimension: mm<sup>3</sup>/10 mg Trockengewicht) wiedergegeben.

Man findet, daß nach Bestrahlung mit 65 kr die O<sub>2</sub>-Aufnahme während der ersten Stde. nach der Bestrahlung auf 157% (Kontrolle=100%), die CO<sub>2</sub>-Produktion auf 179% steigt. Das Verhältnis  $Q_{CO_2}/Q_{O_2}=1,15$  zeigt, daß es hierbei zu einer deutlichen aeroben Glykolyse kommt ( $Q_M^{N_2}=1,2$ ). Während der zweiten Stde. geht der O<sub>2</sub>-Verbrauch auf normale Werte zurück, während die CO<sub>2</sub>-Produktion sogar noch weiter absinkt (87% der Kontrolle). Als Folge davon geht auch das  $Q_{CO_2}/Q_{O_2}$ -Verhältnis auf 0,86 zurück. Dies bedeutet einen Rückgang der aeroben Glykolyse und eine zunehmende Verbrennung von Fetten bzw. Proteinen. Während der dritten und vierten Stde. sinkt der O<sub>2</sub>-Verbrauch weiter auf 90% ab. Aber auch die CO<sub>2</sub>-Produktion geht noch auf 80% der Kontrolle zurück, wobei die relative Verbrennungsrate für Fette bzw. Proteine weiter ansteigt ( $Q_{CO_2}/Q_{O_2}=0,82$ ).

Diese Ergebnisse nach Bestrahlung mit 65 kr haben wir nur als Beispiel vorangestellt. In weiteren

Versuchen wurde der Strahleneffekt auf den Gasstoffwechsel im gesamten Dosisbereich zwischen 10 und 400 kr – wie vorstehend für 65 kr geschildert – näher untersucht. In Abb. 1 sind die Veränderungen

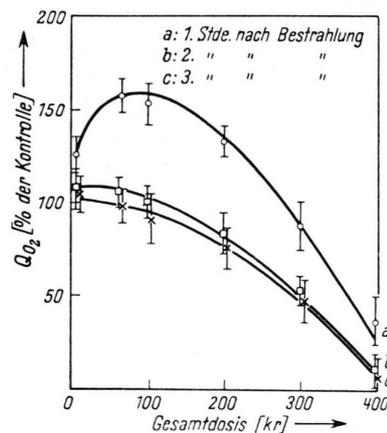


Abb. 1. Abhängigkeit der relativen  $Q_{O_2}$ -Werte des Diaphragmas (in vitro) von der Strahlendosis während der 1., 2. und 3. Stde. nach der Bestrahlung.

im O<sub>2</sub>-Verbrauch ( $Q_{O_2}$  in Prozent der Kontrolle) in Abhängigkeit von der Strahlendosis während der ersten, zweiten und dritten Stde. nach der Bestrahlung wiedergegeben.

Eine Stde. nach der Bestrahlung ist die Steigerung des  $O_2$ -Verbrauchs mit mehr als 150% gegenüber der Kontrolle am größten, wenn das Gewebe vorher mit etwa 100 kr bestrahlt wurde. 120 Min. bzw. 180 Min. nach der Bestrahlung kann man mit einer Dosis bis zu etwa 100 – 120 kr nur noch eine geringe Steigerung des  $O_2$ -Verbrauchs feststellen (ca. 110% gegenüber der Kontrolle); in jedem Fall sinkt die Atmung nach 120 – 180 Min. stark ab, wenn mit mehr als 120 kr bestrahlt wurde.

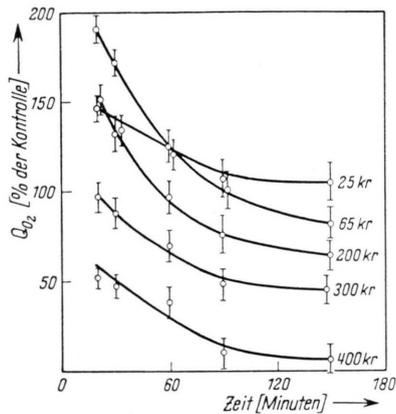


Abb. 2. Zeitliche Abhängigkeit der relativen  $Q_{O_2}$ -Werte des Diaphragmas nach Bestrahlung mit 25, 65, 200, 300, und 400 kr.

In Abb. 2 ist die Änderung des  $O_2$ -Verbrauchs (ebenfalls in % der Kontrolle) in Abhängigkeit von der Zeit (Min.) nach Bestrahlung mit verschiedenen Strahlendosen zwischen 25 und 300 kr wiedergegeben. Etwa 20 Min. nach der Bestrahlung mit 65 kr kann man manchmal sogar eine Verdopplung des  $Q_{O_2}$  gegenüber dem Kontrollgewebe beobachten. In jedem Fall geht dieser Effekt jedoch mit der Zeit stark zurück. Nach Bestrahlung mit 25 – 65 kr werden innerhalb der Beobachtungszeit (ca. 180 Min.) etwa wieder Normalwerte erreicht. Bei Bestrahlung mit größeren Dosen (ab 200 kr) sinkt die Atmung wenige Min. nach einer teilweise noch meßbaren anfänglichen Steigerung deutlich unter die Normalwerte. 20 Min. nach Bestrahlung mit 400 kr konnte nur noch 50% des normalen  $Q_{O_2}$ -Wertes gemessen werden, dieser Wert sank nach 150 Min. weiter auf etwa 10% des Kontrollwertes ab.

In Abb. 3 sind die relativen Veränderungen im  $O_2$ -Verbrauch und in der  $CO_2$ -Produktion (2. Methode von Warburg) während der ersten und zweiten Stde. nach der Bestrahlung in Abhängigkeit

von der Strahlendosis wiedergegeben. Deutlich erkennt man, daß während der ersten Stde. z. B. nach Bestrahlung mit 100 kr die relativen  $Q_{CO_2}$ -Werte noch stärker als die  $Q_{O_2}$ -Werte ansteigen, woraus sich wegen des Verhältnisses  $Q_{CO_2}/Q_{O_2} > 1$  eine deutlich erhöhte aerobe Glykolyse errechnet. Dagegen ist

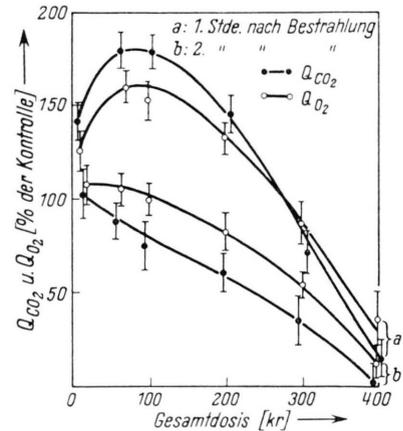


Abb. 3. Die relativen Änderungen der  $Q_{O_2}$ - und  $Q_{CO_2}$ -Werte des Diaphragmas in Abhängigkeit von der Strahlendosis während der ersten und zweiten Stde. nach der Bestrahlung.

in der zweiten Stde. nach Bestrahlung mit 100 kr die relative  $CO_2$ -Produktion kleiner als die  $O_2$ -Aufnahme:  $Q_{CO_2}/Q_{O_2} < 1$ ; d. h. die aerobe Glykolyse ist Null; Fette und Proteine werden vermehrt verbrannt.

#### Anaerobe Versuche mit Rattendiaphragma

Als Beispiel für die in diesem Zusammenhang durchgeführten Einzelversuche werden die Ergebnisse nach Bestrahlung mit 65 kr ausführlicher wiedergegeben. Aus Tab. 2 erkennt man, daß die anaerobe Glykolyse ( $Q_M^{Na}$ ) des Diaphragmas durch die genannte Strahlendosis von 65 kr während der ersten Stde. nach Bestrahlung auf etwa 67%, während der zweiten und dritten Stde. auf etwa 20 bzw. 28% der entsprechenden Kontrollwerte zurückgeht.

Ähnliche Ergebnisse erhält man auch nach Bestrahlung mit anderen Strahlendosen. In Abb. 4 ist die während der ersten, zweiten und dritten Stde. nach der Bestrahlung gefundene anaerobe Glykolyse in Abhängigkeit von der Strahlendosis (10 bis 200 kr) dargestellt. In jedem Fall wird die anaerobe Glykolyse gehemmt. Diese Hemmung steigt etwa exponentiell mit der Zeit nach der Bestrahlung und der

[Min.]		H (mm)	X <sub>CO<sub>2</sub></sub>	Q <sub>M</sub> <sup>N<sub>2</sub></sup>
0 bis 60	Kontrolle	+ 74	+ 97	+ 5,1
	Bestrahlt	+ 49	+ 65	+ 3,4
60 bis 120	Kontrolle	+ 65	+ 85	+ 4,5
	Bestrahlt	+ 14	+ 18,5	+ 0,93
120 bis 180	Kontrolle	+ 69	+ 90	+ 4,7
	Bestrahlt	+ 18	+ 24	+ 1,3

Tab. 2. Anaerober Stoffwechsel von normalem und bestrahltem (65 kr) Ratten-Diaphragma in Ringer-Bicarbonat mit 0,2% Glucose bei 38° C in 5 Vol.-% CO<sub>2</sub>-N<sub>2</sub>. Trockengewicht pro Gefäß: 19 mg.

Kontrolle:  $v=16,02$  cc;  $v_F=3,2$  ml;  $K_{CO_2}=1,3023$ ;  
 $X_{CO_2}=X_M=H \cdot 1,3023$ .

Bestrahlt:  $v=16,29$  cc;  $v_F=3,2$  ml;  $K_{CO_2}=1,3198$ ;  
 $X_{CO_2}=X_M=H \cdot 1,3198$ .

eingestrahlenen Dosis. Die anaerobe Glykolyse ist während der ersten Stde. nach Bestrahlung mit 200 kr auf etwa 30% des Kontrollwertes zurückgegangen, bis zur dritten Stde. sinkt sie auf kaum meßbare Werte ab. Dagegen tritt bei Aerobiose während der ersten Stde. nach Bestrahlung mit dieser Dosis – wie aus Abb. 3 hervorgeht – eine deutliche Glykolyse auf.

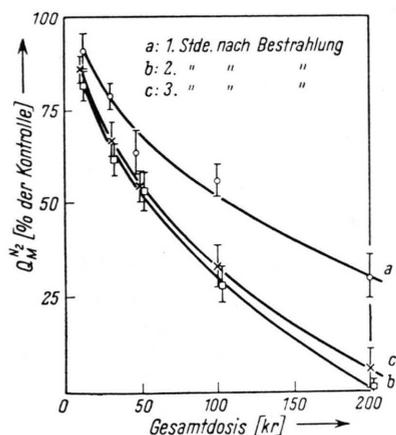


Abb. 4. Zeitliche Abhängigkeit der relativen  $Q_M^{N_2}$ -Werte des Diaphragmas nach Bestrahlung mit 10, 25, 65, 100 und 200 kr.

#### Versuche mit Rattenleber und Frosch-Herzmuskel

In weiteren Versuchen sollte die Frage geklärt werden, ob die von uns am Diaphragma der Ratte beobachteten Effekte als allgemein charakteristisch

für das Muskelgewebe von Wirbeltieren anzusehen sind, und ob sich diese Effekte ferner nicht nur am Muskelgewebe, sondern auch an anderen Gewebsarten reproduzieren lassen. Daher haben wir auch den Stoffwechsel in Schnitten von Rattenleber und im Muskel des Froschherzens untersucht. Mit der Untersuchung des Phosphatstoffwechsels nach Röntgenbestrahlung des isolierten Froschherzens hatten wir uns schon früher beschäftigt. Diese Ergebnisse – Steigerung des Phosphor- und Energiestoffwechsels nach Bestrahlung mit 20 – 120 kr – ließen erwarten, daß sich nach Bestrahlung mit den genannten Dosen auch die Atmung des Frosch-Herzmuskels erhöhen würde<sup>17a</sup>.

Wie bereits bei den Untersuchungen am Diaphragma stellen wir auch hier die nach Bestrahlung

[Min.]		Q <sub>O<sub>2</sub></sub>	Q <sub>CO<sub>2</sub></sub>	$\frac{Q_{CO_2}}{Q_{O_2}}$
0 bis 60	Kontrolle	- 13,3	+ 13,2	1,0
	Bestrahlt	- 18,0	+ 20,0	1,11
60 bis 120	Kontrolle	- 13,0	+ 13,0	1,0
	Bestrahlt	- 10,0	+ 9,0	0,9

Tab. 3. Aerober Stoffwechsel von normalen und bestrahlten Leberschnitten in Ringer-Bicarbonat mit 0,2% Glucose in 5 Vol.-% CO<sub>2</sub>-O<sub>2</sub>, bei 38° C.

mit 65 kr gefundenen Ergebnisse als ausführlich beschriebenen Versuch voran. In Tab. 3 sind die Q<sub>O<sub>2</sub></sub>- und Q<sub>CO<sub>2</sub></sub>-Werte, sowie der Quotient  $Q_{CO_2}/Q_{O_2}$  während der ersten und zweiten Stde. nach der Bestrahlung von Leberschnitten der Ratte (Aerobiose) zusammengestellt. Der mittlere O<sub>2</sub>-Verbrauch beträgt hier während der ersten Stde. 140%, er reduziert sich jedoch schon während der zweiten Stde. auf 77% gegenüber der Kontrolle. Während der ersten Stde. kann man auch hier eine leichte aerobe Glykolyse beobachten ( $Q_M^{N_2}=2,0$ ); dieser Effekt verschwindet jedoch schon unmittelbar danach ( $Q_{CO_2}/Q_{O_2}=0,9$  während der zweiten Stde. nach der Bestrahlung).

Aus diesen Ergebnissen erkennt man, daß man durch Bestrahlung von Rattenleber-Schnitten mit 65 kr eine Änderung im Gasstoffwechsel erreicht, die der entsprechenden Änderung beim Diaphragma sehr ähnlich ist.

Ähnliche Stoffwechsel-Änderungen, wie nach Be-

strahlung des Rattendiaphragmas und der Leberschnitte, können wir auch nach Bestrahlung des Frosch-Herzmuskels beobachten.

In diesem Fall haben wir zunächst einfach den  $O_2$ -Verbrauch des überlebenden Froschherzens (*Rana temporaria*, ♂, Wintertiere) in Ringer-Lösung (+ 0,1% Glucose,  $p_H$  7,4, Gasraum: reiner Sauerstoff) bei 25° C gemessen. Das Froschherz arbeitete unter unseren Bedingungen auch noch nach zwei Tagen regelmäßig, dabei wurde die Funktion des Herzens nicht beeinflusst, wenn der reine Sauerstoff durch Luft ersetzt wurde. Wenn man das überlebende Herz in toto bestrahlt, werden natürlich auch die regulatorischen Nervenzentren des Herzens mitbestrahlt. Die als Folge der Bestrahlung beobachteten Effekte können in diesem Fall sowohl direkt durch eine Schädigung des Muskelgewebes, aber auch indirekt infolge einer Schädigung der erwähnten Nervenzentren auftreten. Um den Einfluß der nervösen Regulation auf die Muskelkontraktion auszuschließen, haben wir in weiteren Versuchen den Vorhof und damit den Sinusknoten vom Ventrikel abgetrennt und den Ventrikelmuskel vom Ansatz des Vorhofes zur Ventrikelspitze in eine linke und eine rechte Hälfte zerschnitten, wovon wir jeweils die eine bestrahlten, während die andere als Kontrolle diente. Durch die Teilung des Ventrikelmuskels gewannen wir nicht nur für jeden Versuch homogenes Gewebematerial, sondern erreichten auch, daß die innere Ventrikelwand, wie beim schlagenden Herzen, ausreichend mit Sauerstoff und frischer Inkubationsflüssigkeit versorgt wurde.

In Übereinstimmung mit den Effekten, die wir nach Bestrahlung der Rattendiaphragmen und der Rattenleber-Schnitte mit 65 kr beobachten konnten, kommt es auch nach Bestrahlung des Ventrikelmuskels mit dieser Dosis nach etwa 60 Min. (bei 25° C) zu einer maximalen Steigerung der  $O_2$ -Aufnahme auf durchschnittlich 130% des Kontrollwertes. Danach geht auch dieser Effekt zurück und erreicht nach 180–240 Min. allmählich einen für längere Zeit konstanten  $Q_{O_2}$ -Wert von etwa 70% der Kontrolle. Diese Ergebnisse sind in Abb. 5 wiedergegeben.

Da diese Experimente nicht bei 38° C, sondern bei 25° C durchgeführt wurden, war es in diesem Fall wegen der hierdurch stark herabgesetzten Reaktions-Geschwindigkeit außerdem möglich, auch den Anstieg der  $O_2$ -Aufnahme unmittelbar nach der Bestrahlung zu erfassen. Auf Grund dieser Ergeb-

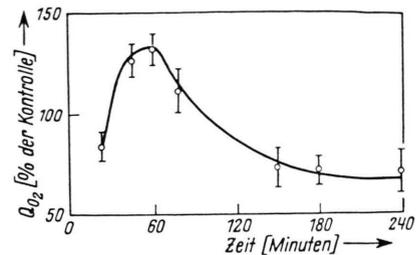


Abb. 5. Die Änderung der  $O_2$ -Aufnahme des Ventrikelmuskels (*Rana temporaria*) nach Bestrahlung mit 65 kr in Abhängigkeit von der Zeit nach der Bestrahlung.

nisse vermuten wir, daß ähnliche Veränderungen des Zellstoffwechsels allgemein nach Bestrahlung von normalem Gewebe mit größeren Dosen (10 bis 120 kr) Röntgenstrahlen zu beobachten sind. Da diese Steigerung der Atmung sowohl an Muskelgewebe wie auch an Leberschnitten beobachtet wurde, scheiden als Ursache für diesen Effekt z. B. alle Veränderungen in der Muskelfunktion aus (Tonus und Kontraktilität), die ebenfalls nach Röntgenbestrahlung mit ähnlichen Dosen erreicht werden. Als Ursache für diese Stoffwechsel-Änderungen sollte daher eine durch die Strahlung bewirkte Schädigung der Zelle zu entdecken sein, als deren Folge eher auch eine Störung der normalen Muskelfunktionen auftreten könnte.

#### Versuche mit Serum als Inkubations-Flüssigkeit

WARBURG und Mitarbb.<sup>19</sup> bestrahlten Ascites-Tumorzellen suspendiert in Ringer-Lösung oder Serum (0,179 mg Trockengewicht Tumorzellen pro ml) und fanden, daß die Hemmung der anaeroben Glykolyse nach Bestrahlung im Serum bei unmittelbar anschließender Messung in der gleichen Suspensionsflüssigkeit nur 20-mal geringer war als bei Verwendung von Ringer-Lösung als Suspensionsflüssigkeit.

Um festzustellen, ob dieser Effekt auch für unsere Ergebnisse von Bedeutung ist, haben wir ebenfalls das Gewebe, das in möglichst wenig homologem Serum inkubiert war, bestrahlt und anschließend – nach Ersatz dieses Serums durch eine größere Menge unbestrahlten Serums – den Gasstoffwechsel untersucht.

<sup>18</sup> A. WALAAS u. B. WALAAS, J. biol. Chemistry **187**, 769 [1950].

<sup>19</sup> O. WARBURG, W. SCHRÖDER, H. S. GEWITZ u. W. VÖLKER, Z. Naturforschg. **13 b**, 591 [1958].

In Tab. 4 sind die Ergebnisse ( $Q_{O_2}$ ,  $Q_{CO_2}$ ,  $Q_{CO_2}/Q_{O_2}$ ,  $Q_{N_2}$ ) nach Bestrahlung von Rattendiaphragma, inkubiert in homologem Serum, mit 65 kr wiedergegeben.

	$Q_{O_2}$	$Q_{CO_2}$	$\frac{Q_{CO_2}}{Q_{O_2}}$	$Q_{N_2}$
Kontrolle	- 8,3	+ 8,0	0,92	+ 7,5
1. Stde. Bestrahlt	- 12,0	+ 14,1	1,17	+ 4,0
Kontrolle	- 8,0	+ 8,0	1,0	+ 7,0
3. Stde. Bestrahlt	- 7,2	+ 4,4	0,61	+ 4,1

Tab. 4. Aerober und anaerober Stoffwechsel von normalem und bestrahltem Ratten-Diaphragma in homologem Serum in 5 Vol.-%  $CO_2-O_2$  oder 5 Vol.-%  $CO_2-N_2$  bei  $38^\circ C$ .

Wie bei den Versuchen an in Ringer-Lösung inkubiertem Rattendiaphragma zeigt sich auch hier während der ersten Stde. eine Steigerung der  $O_2$ -Aufnahme, eine relativ noch größere Steigerung der  $CO_2$ -Produktion, infolgedessen ( $Q_{CO_2}/Q_{O_2} > 1$ ) eine deutliche aerobe Glykolyse und eine Hemmung der anaeroben Glykolyse. In der dritten Stde. geht der  $O_2$ -Verbrauch auf 90% der Kontrolle zurück, das Verhältnis  $Q_{CO_2}/Q_{O_2}$  wird wesentlich kleiner als eins, während die Hemmung der anaeroben Glykolyse ungefähr unverändert bleibt.

Bei diesen Untersuchungen hat sich also gezeigt, daß das Ergebnis nicht verändert wird, wenn man an Stelle von Ringer-Lösung Serum als Inkubations-Flüssigkeit wählt. Die Unterschiede, die jedoch zwischen diesem Ergebnis und den Ergebnissen von WARBURG bestehen, sind außer auf die verschiedenen Eigenschaften der untersuchten Zellen, vor allem auf die verschiedenen Versuchsbedingungen zurückzuführen. Wie wir schon vorher erwähnt haben, besteht dieser Unterschied vor allem darin, daß das Verhältnis von Suspensionsflüssigkeit zum gesamten Zellvolumen während der Bestrahlung bei den Versuchen von WARBURG und Mitarbb. größer ist als bei unseren Versuchen. Werden kleine Objekte bei homogener Verteilung in einer größeren Wassermenge (bei Gegenwart von Sauerstoff) bestrahlt, so hat man jedoch von vornherein aus prinzipiellen

Gründen eine qualitativ andere Strahlenwirkung zu erwarten, als bei wesentlich reduzierter Wassermenge (Theorie und Chemie der indirekten Treffervorgänge).

#### Versuche mit Kaliumchlorid

In den letzten Jahren wurde in vielen Arbeiten<sup>20-23</sup> über den Austritt von Kalium aus der Zelle und dessen Ersatz durch aus der Suspensionsflüssigkeit stammendes Natrium nach einer Röntgenbestrahlung berichtet. Besonders über die Ursache des hohen Kaliumgehaltes der Zelle ist noch wenig bekannt, gut bekannt ist jedoch, daß das K/Na-Verhältnis einen großen Einfluß auf den Zellstoffwechsel hat.

Unter den gleichen Bedingungen, unter denen wir den Gasstoffwechsel und die aerobe Glykolyse nach Bestrahlung untersuchten, haben wir auch den Einfluß einer K-reichen Inkubations-Flüssigkeit (Ringer-Lösung 0,05-m. an KCl) und einer K-freien Inkubations-Flüssigkeit (Ringer-Lösung ohne KCl) auf den Stoffwechsel untersucht.

Wenn man ein Diaphragma in K-reicher Inkubations-Flüssigkeit (Ringer-Lösung 0,05-m. an KCl) inkubiert, so steigt der  $O_2$ -Verbrauch des Gewebes gegenüber der in normaler Ringer-Lösung inkubierten Kontrolle an. Gleichzeitig findet man einen relativ noch stärkeren Anstieg in der  $CO_2$ -Produktion, woraus man auf eine deutliche aerobe

	Kontrolle (physiologische Ringer)	mit KCl (Ringer 0,05-m. an KCl)	ohne KCl (Ringer ohne KCl)
$Q_{O_2}$	- 5,3	- 10,1	- 4,5
$Q_{CO_2}$	+ 5,3	+ 12	+ 3,4
$Q$	+ 5,1	+ 3,0	+ 3,4

Tab. 5. Aerober und anaerober Stoffwechsel von Ratten-Diaphragma in physiologischer Ringer, in Ringer 0,05-m. an KCl und in Ringer ohne KCl, bei  $38^\circ C$  - Ringer-Bicarbonat mit 0,2% Glucose in 5 Vol.-%  $CO_2-O_2$  oder  $CO_2-N_2$ , bei  $38^\circ C$ .

Glykolyse schließen muß. Dagegen ist die anaerobe Glykolyse auch unter diesen Bedingungen gehemmt. - Diese Veränderungen im Gasstoffwechsel sind den Veränderungen sehr ähnlich, die man während der ersten Stde. nach Bestrahlung mit 65 kr findet.

Inkubiert man dagegen ein Diaphragma in K-freier Ringerlösung, so findet man ganz ähnliche

<sup>20</sup> C. W. SHEPARD u. G. E. BEYL, J. gen. Physiol. 34, 691 [1951].

<sup>21</sup> A. MOREZEK, Strahlentherapie 96, 618 [1955].

<sup>22</sup> L. E. ELLINWOOD, J. E. WILSON u. J. M. COON, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 94, 129 [1957].

<sup>23</sup> G. BALDINI, Radioter., Radiobiol. e Fis. med. 12, 20 [1957].

Veränderungen im Stoffwechsel, wie man sie auch während der zweiten, dritten usw. Stde. nach Bestrahlung mit 65 kr beobachtet: Hemmung der Atmung, Verhältnis  $Q_{CO_2}/Q_{O_2} < 1$ , Hemmung der anaeroben Glykolyse. Die experimentellen Daten über diese Beeinflussung des Stoffwechsels durch den K-Gehalt der Inkubations-Flüssigkeit wird in Tab. 5 zusammengefaßt.

### Diskussion

Aus den geschilderten Versuchen geht hervor, daß die Stoffwechsel-Änderungen, die man nach Bestrahlung des Diaphragmas, von Leberschnitten (Ratte) und des Ventrikelmuskels (Frosch) mit Dosen zwischen 10 und 200 kr findet, einander sehr ähnlich sind. Betrachtet man die zeitliche Folge dieser Veränderungen während eines Versuchs, so kann man stets zwei Phasen unterscheiden:

1. Phase: Steigerung der  $O_2$ -Aufnahme, relativ noch stärkere Steigerung der  $CO_2$ -Produktion,  $Q_{CO_2}/Q_{O_2} > 1$ , d. h. deutliche aerobe Glykolyse-Hemmung der anaeroben Glykolyse.

2. Phase: Dosisabhängiger Rückgang der  $O_2$ -Aufnahme, relativ noch stärkerer Rückgang der  $CO_2$ -Produktion:  $Q_{CO_2}/Q_{O_2} < 1$ , – verstärkte Hemmung der anaeroben Glykolyse.

Während der zweiten Phase konnte nach Bestrahlung mit 25 kr innerhalb der Beobachtungszeit noch kein Absinken des  $Q_{O_2}$ -Wertes unter den Kontrollwert festgestellt werden. Nach Bestrahlung mit 65 kr und mehr sanken jedoch die  $Q_{O_2}$ -Werte mit zunehmender Dosis immer mehr unter den Kontrollwert ab. Wurde mit Dosen über 200 kr bestrahlt, so konnte die für die erste Phase charakteristische Steigerung der Atmung im allgemeinen nicht mehr beobachtet werden. Es ist möglich, daß auch hier ein ähnlicher Effekt auftritt, der jedoch meistens nicht mehr beobachtet wurde, weil er bis zu den ersten Ablesungen am Warburg-Apparat (20 Min. nach der Bestrahlung) schon wieder abgeklungen war.

Wenn die als Inkubations-Flüssigkeit benutzte Ringer-Lösung 0,05-m. an KCl ist, erzielt man eine Änderung des Stoffwechsels des inkubierten Gewebes (Diaphragma) wie während der oben erwähnten 1. Phase nach einer Röntgenbestrahlung. Inkubiert man dagegen das Gewebe in einer K-freien Ringer-Lösung, so erhält man Veränderungen des Stoffwechsels, die den Veränderungen sehr ähnlich sind, welche man während der oben erwähnten

2. Phase nach einer Röntgenbestrahlung beobachtet. In den Abb. 6 und 7 werden diese Ergebnisse noch einmal gegenübergestellt.

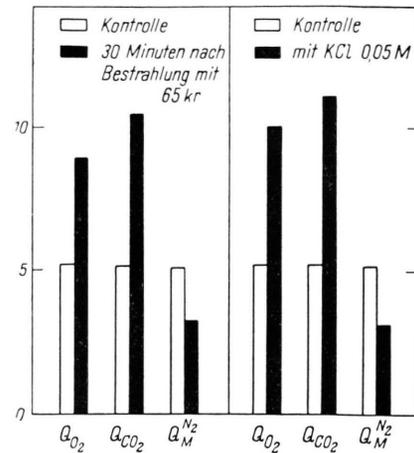


Abb. 6. Vergleich der Stoffwechsel-Änderungen des Rattendaphragmas (in vitro) 30 Min. nach Bestrahlung mit 65 kr (links) und während der Inkubation in K-reicher Lösung (Ringer-Lösung 0,05-m. an KCl) (rechts).

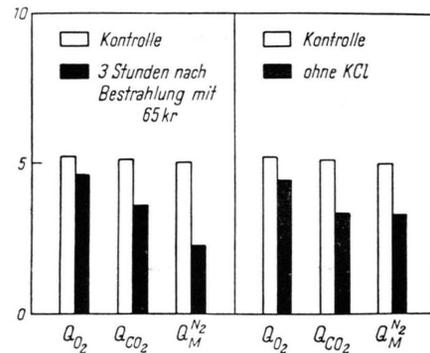


Abb. 7. Vergleich der Stoffwechsel-Änderungen des Rattendaphragmas (in vitro) 3 Stdn. nach Bestrahlung mit 65 kr (links) und während der Inkubation in K-freier Lösung (Ringer-Lösung ohne KCl) (rechts).

Bekanntlich wird durch eine Bestrahlung von Gewebe auch das Ionengleichgewicht der Zellen gestört<sup>20-23</sup>. Vielleicht wird hierbei spezifisch der K-Haushalt der Zelle verändert, da z. B. eine Veränderung des Ca-Haushaltes nicht beobachtet werden konnte<sup>24</sup>, während sich die Veränderungen in der Na-Verteilung nach einer Bestrahlung erklären lassen, wenn man annimmt, daß das aus der Zelle austretende K durch extrazelluläres Na ersetzt wird.

<sup>24</sup> A. MOREZEK, Ionisierende Strahlen u. der Haushalt anorganischer Kationen, Georg Thieme, Stuttgart 1957.

Ferner ist bekannt, daß Veränderungen im Elektrolytgleichgewicht der Zelle einen Einfluß auf den Zellstoffwechsel haben<sup>25-28</sup>. In diesem Zusammenhang haben wir oben über die Beeinflussung des Zellstoffwechsels (in vitro) durch den K-Gehalt der Inkubations-Flüssigkeit berichtet. Diese Ergebnisse führen notwendigerweise zu dem Schluß, daß die Veränderungen im K/Na-Haushalt nach einer Bestrahlung mit den gleichzeitig zu beobachtenden Änderungen des Zellstoffwechsels eng verbunden sind. Offenbar kommt es unmittelbar nach der Bestrahlung der Zelle zu einer Veränderung in der Verteilung des intrazellulären Kaliums. Eine in diesem Zusammenhang vorübergehend auftretende Erhöhung des Kaliumgehaltes, z. B. im Plasma, kann hierbei zu einer Aktivierung bestimmter Enzyme (z. B. Pyruvatkinase) führen, wodurch der gesamte Stoffwechsel aktiviert wird (1. Phase). Da weiterhin nach einer Bestrahlung fortlaufend K aus der Zelle austritt, wird diese an bestimmten Stellen der Zelle vorübergehend erhöhte Konzentration des K zusammen mit dem gesamten K-Gehalt wieder absinken, so daß nach einiger Zeit schon allein wegen des allgemein fehlenden K der Stoffwechsel zurückgehen muß (2. Phase).

Im folgenden müssen die unterschiedlichen Ergebnisse bei der Messung der Glykolyse unter aeroben und anaeroben Bedingungen besprochen werden. Nach Bestrahlung mit 65 kr findet man nämlich während der 1. Phase eine erhebliche aerobe Glykolyse, die erst in der 2. Phase verschwunden ist, während man von Anfang an eine fortschreitende Hemmung der anaeroben Glykolyse beobachtet.

Diese Diskrepanz zwischen der Größe der in Aerobiose und in Anaerobiose gemessenen Glykolyse ist auf die verschiedenen experimentellen Bedingungen, unter denen der Zellstoffwechsel untersucht wird, zurückzuführen. Unter anaeroben Bedingungen „stirbt“ das Gewebe nach wenigen Min.; denn es atmet nicht mehr, wenn es nach dieser Zeit wieder unter aeroben Bedingungen untersucht wird<sup>29</sup>. Diese tiefgreifenden Veränderungen im Zellstoffwechsel unter Anaerobiose werden unmittelbar begleitet von Veränderungen in der submikroskopischen Struktur der Zelle. So wird z. B. die durch das Wort

Permeabilität umrissene Funktion der Zelle so stark verändert, daß unmittelbar nach Beginn der Anaerobiose K in großer Menge aus der Zelle austritt<sup>30</sup>, was besonders in diesem Zusammenhang wichtig erscheint. Da also in diesem Fall Anaerobiose und Bestrahlung den K-Haushalt der Zelle gleichsinnig beeinflussen, ist eine Summierung dieser Wirkungen denkbar. Schon bei Beginn der ersten Messungen unter Anaerobiose kann daher die K-Konzentration in der Zelle so stark erniedrigt sein, daß man keine stärkere Glykolyse mehr beobachten kann.

Wesentlich schwerer ist dagegen die Hemmung der anaeroben Glykolyse zu interpretieren, die man nach Inkubation des Diaphragmas in kaliumfreier und kaliumreicher Ringer-Lösung beobachtet. Nach unseren Ergebnissen können hier die bloßen Veränderungen im K-Gehalt der Zelle für den Grad der Glykolyse keine entscheidende Bedeutung mehr haben; man muß vielmehr annehmen, daß wesentliche Funktionen der normalen Zelle (Permeabilität) unter anaeroben Bedingungen so stark geschädigt werden, daß sich der Elektrolythaushalt der Zelle schon bei geringen Veränderungen in der Elektrolyt-Zusammensetzung des Mediums nicht mehr anpassen kann. Als Folge dieser Störung der Elektrolytverteilung in der Zelle kann die gefundene Hemmung der anaeroben Glykolyse in K-freier und K-reicher Inkubations-Flüssigkeit gedeutet werden.

Nach Bestrahlung mit Dosen zwischen 10 und 200 kr findet man für die 1. Phase (Stoffwechselsteigerung) eine deutliche aerobe Glykolyse. Erst während der 2. Phase sinkt das Verhältnis  $Q_{CO_2}/Q_{O_2}$  stark unter eins. Das bedeutet: diese glykolytischen Vorgänge sind unmittelbar nach der Bestrahlung beschleunigt, erst später sind sie gehemmt. Die gleichen Aussagen treffen für die Veränderung des  $O_2$ -Verbrauchs durch die Bestrahlung zu. Diese Effekte stehen – wie oben beschrieben wurde – in engem Zusammenhang mit den Veränderungen im K-Haushalt der Zelle nach einer Bestrahlung. Nicht nur die aerobe Glykolyse wird durch  $K^{\oplus}$  gesteuert, sondern bekanntlich auch die Oxydationsvorgänge<sup>25</sup>. Dazu wird der  $O_2$ -Verbrauch des normalen Gewebes noch durch die jeweilige Intensität der Glykolyse beeinflusst.

<sup>25</sup> H. AEBI, *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **8**, 525 [1950].

<sup>26</sup> B. C. PRESSMAN u. H. A. LARDY, *J. biol. Chemistry* **197**, 547 [1952].

<sup>27</sup> K. C. DIXON, *J. Physiology* **110**, 87 [1949].

<sup>28</sup> P. D. BOYER, H. A. LARDY u. P. H. PHILLIPS, *J. biol. Chemistry* **146**, 673 [1942].

<sup>29</sup> H. DRUCKREY, *Naturwissenschaften* **23**, 796 [1935].

<sup>30</sup> E. CALKINS, J. M. TAYLOR u. A. B. HASTINGS, *AECU-2811* (1954) 36 S; ref. NSA, 263 (1954).

Die von mehreren Autoren nach Einwirkung von Röntgenstrahlen (ca. 25 kr) und  $H_2O_2$  auf Suspensionen von Ascites-Tumorzellen gefundene Hemmung der aeroben und anaeroben Glykolyse<sup>31, 32</sup> wird von diesen auf den gleichzeitig beobachtbaren Rückgang in der stationären DPN<sup>®</sup>-Konzentration zurückgeführt. Diese Vorgänge haben vielleicht auch neben dem Kaliumverlust eine Bedeutung für die nach Bestrahlung von normalem Gewebe mit 65 kr und mehr beobachtbare Veränderung des Stoffwechsels während der erwähnten 2. Phase. Die Steigerung des Stoffwechsels und der Anstieg des  $Q_{CO_2}/Q_{O_2}$ -

Verhältnisses über eins während der 1. Phase kann jedoch hierdurch nicht erklärt werden. Auf Grund der vorliegenden Ergebnisse muß man vielmehr annehmen, daß die beobachtbaren Veränderungen im Zellstoffwechsel nach Bestrahlung von normalem Gewebe primär durch die Veränderungen im K-Haushalt gesteuert werden.

Unser Dank gilt besonders Fräulein HILDEGARD STAPELFELDT für ihre intensive Mitarbeit.

<sup>31</sup> H. HOLZER u. S. FRANK, *Angew. Chem.* **70**, 570 [1958].

<sup>32</sup> H. MAAS u. G. H. RATHGEN, *Strahlentherapie* **4**, 668 [1957].

## The Internal Structure of Influenza Virus

By W. FRISCH-NIGGEMEYER

The Virus Laboratory of the University of California, Berkeley  
(Z. Naturforschg. **14 b**, 168—171 [1959]; eingegangen am 21. September 1958)

Auf Grund von physikalischen, chemischen und serologischen Untersuchungen wird ein Modell der inneren Struktur des Influenza-Virus entwickelt, das in Übereinstimmung mit dem elektronenmikroskopischen Bild ist.

The structure of the infective elementary body of influenza virus has been discussed from various aspects. From the way virus is excreted by an infected cell, it was concluded that it is an unorganized droplet of different subunits, contained in a lipid bag, formed by the cell membrane<sup>1, 2</sup>. Later, this view was extended and the virus was visualized as a complex of viral subunits and host cytoplasm enclosed in a membrane of lipid and mucoprotein of host origin as well as viral protein<sup>3</sup>. A diagram of a model of this view has recently been published<sup>4</sup>.

Electron micrographs of sections through influenza virus particles showed considerably more details than were accounted for by earlier views<sup>5</sup>. We think it is now possible to interpret the image shown by the electron microscope with the data of the physical, chemical and serological investigations.

In this publication we try to show, how the different properties of the virus, namely infectivity, antigenicity, hemagglutinating capacity, enzymatic activity and interference with other viruses can be attributed to different sites and subunits of the elementary body and how these subunits may be arranged in the virus particle.

### Results

#### The elementary body

Chemical analysis of type A influenza virus has shown that it consists of about 61 per cent protein, 34 per cent lipid, 3.5 per cent polysaccharide and 0.8 per cent ribonucleic acid (RNA)<sup>6-12</sup>. From filtration data<sup>13-15</sup> and sedimentation studies<sup>16-18</sup> it

<sup>1</sup> L. HOYLE, *J. of Hyg.* **48**, 227 [1950].

<sup>2</sup> L. HOYLE, *J. of Hyg.* **52**, 180 [1954].

<sup>3</sup> F. M. BURNET, *Science* [Washington] **123**, 1101 [1956].

<sup>4</sup> F. M. BURNET, *Enzyme, Antigen and Virus*, Cambridge 1953.

<sup>5</sup> C. MORGAN, H. M. ROSE and D. H. MOORE, *J. exp. Medicine* **104**, 171 [1956].

<sup>6</sup> A. R. TAYLOR, *J. biol. Chemistry* **153**, 675 [1944].

<sup>7</sup> C. A. KNIGHT, *J. exp. Medicine* **85**, 99 [1947].

<sup>8</sup> G. L. ADA and B. T. PERRY, *Austral. J. exp. Biol. med. Sci.* **32**, 453 [1954].

<sup>9</sup> M. UHLER and S. GARD, *Nature* [London] **173**, 1041 [1954].

<sup>10</sup> W. FRISCH-NIGGEMEYER and L. HOYLE, *J. of Hyg.* **54**, 201 [1955].

<sup>11</sup> L. H. FROMHAGEN and C. A. KNIGHT, *Virology* **2**, 430 [1955].

<sup>12</sup> G. L. ADA and A. GOTTSCHALK, *Biochem. J.* **62**, 686 [1956].

<sup>13</sup> W. J. ELFORD, C. H. ANDREWES and F. F. TANG, *Brit. J. exp. Pathol.* **17**, 53 [1936].

<sup>14</sup> W. J. ELFORD and C. H. ANDREWES, *Brit. J. exp. Pathol.* **17**, 422 [1936].

<sup>15</sup> W. F. FRIEDEWALD and E. G. PICKELS, *J. exp. Medicine* **79**, 301 [1944].

<sup>16</sup> A. R. TAYLOR, D. G. SHARP, I. W. McLEAN JR., D. BEARD, J. W. BEARD, J. H. DINGLE and A. E. FELLER, *J. Immunology* **48**, 361 [1944].

<sup>17</sup> D. G. SHARP, A. R. TAYLOR, I. W. McLEAN JR., D. BEARD and J. W. BEARD, *J. biol. Chemistry* **150**, 585 [1944].

<sup>18</sup> D. G. SHARP, A. R. TAYLOR, I. W. McLEAN JR., D. BEARD and J. W. BEARD, *J. biol. Chemistry* **159**, 29 [1945].