

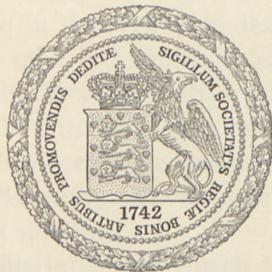
DET KGL. DANSKE VIDENSKABERNES SELSKAB  
BIOLOGISKE MEDDELELSER, BIND XVII, NR. 8

---

WIRKUNG DER RÖNTGENSTRAHLEN  
AUF DEN UMSATZ DER NUKLEINSÄURE  
IM JENSEN-SARKOM

VON

H. v. EULER UND G. v. HEVESY



KØBENHAVN  
I KOMMISSION HOS EJNAR MUNKSGAARD  
1942



Der Nachweis der Wirkung der Röntgenstrahlen auf Sarkome wird in der Regel auf folgende Weise erbracht: Bruchstücke der bestrahlten Sarkome werden durch Impfung auf normale Tiere übertragen und es wird untersucht, ob die Sarkome nach Verlauf von einigen Tagen angehen oder nicht. Wir waren bestrebt, dieses Verfahren durch einen chemischen Nachweis zu ersetzen. Nun sprechen zahlreiche Erfahrungen dafür, dass Dosen, welche den Sarkomen gegenüber wirksam sind, die in den Gewebezellen vor sich gehenden Stoffwechselforgänge nicht wesentlich beeinflussen und es die im Zellkern verlaufenden Vorgänge sind, welche in erster Linie der Einwirkung der Strahlen unterliegen. Bei der Suche nach einem chemischen Nachweis der Wirkung der Röntgenstrahlen auf das Sarkom lag es deshalb nahe, die im Zellkern sich abspielenden Prozesse eingehender zu betrachten. Unter den Bestandteilen des Zellkerns gehören die Nukleinsäuren zu den wichtigsten.

Der Nukleinsäure fällt eine wesentliche Rolle bei der Zellteilung zu. So zeigte z. B. KOSSEL, dass die im Laufe der Spermio-genese auftretenden Veränderungen in einem Ab- und Umbau der Eiweissstoffe sowie in der Synthese des verhältnismässig sehr eiweissarmen Histon- oder Protaminnukleats bestehen, und CASPERSSONS<sup>1</sup> Untersuchungen der Absorption der ultravioletten Strahlen durch die Bestandteile der ruhenden sowie der sich teilenden Zellkerne haben es sehr wahrscheinlich gemacht, dass das KOSSELSche Eiweissumbauschema auch für die gewöhnliche mitotische Zellteilung gilt.

Die mitotische Zellteilung wird durch verhältnismässig kleine Dosen von Röntgenstrahlen gehemmt, und man sollte auf Grund der obigen Betrachtungen erwarten, dass die Bestrahlung des Gewebes mit Röntgenstrahlen eine Verminderung des Nuklein-

<sup>1</sup> T. CASPERSSON, *Chromosoma* 1, 562, 1940.

säureumsatzes im Zellkern bewirkt. Diese Überlegung hat uns dazu veranlasst, die Bildung von Nukleinsäure<sup>1</sup> im Jensen-Sarkom der Ratte vor und nach der Bestrahlung mit Röntgenstrahlen zu untersuchen.

Die Untersuchung wurde unter Anwendung der Methode der radioaktiven Indikatoren ausgeführt. Diese Methode ermöglicht die Unterscheidung von Nukleinsäuremolekülen, die vor bzw. nach Beginn des Versuches gebildet worden sind. Die letzteren, die in einem aktiven Milieu, nämlich in aktives Phosphat enthaltenden Zellen entstanden sind, werden aktiv sein (d. h. radioaktiven Phosphor enthalten) im Gegensatz zu den bereits vor Beginn des Versuches vorhandenen inaktiven Molekülen.

### Beschreibung der Methode.

Führt man dem Versuchstier, z. B. durch subkutane Injektion, eine ganz geringe Menge Natriumphosphats zu, das durch Beimischung von radioaktivem Phosphor ( $^{32}_{15}\text{P}$ ) gekennzeichnet ist, so treten die gekennzeichneten Phosphationen bald in die Sarkomzellen ein und nehmen an den in den Zellen vor sich gehenden Aufbauprozessen mit derselben Wahrscheinlichkeit teil wie die übrigen in den Sarkomzellen vorhandenen Phosphationen. Werden in der Sarkomzelle Nukleinsäuremoleküle aufgebaut, so werden sie radioaktiv gekennzeichnet sein. Wenn alle am Ende des Versuches im Sarkom vorhandenen Nukleinsäuremoleküle im Laufe des Versuches gebildet worden sind, so wird 1 mg Nukleinsäure-P denselben Gehalt an  $^{32}\text{P}$ , dieselbe Radioaktivität, aufweisen wie 1 mg Phosphat-P. Zeigt dagegen nach Abschluss des Versuches 1 mg Nukleinsäure-P eine Aktivität, die z. B. nur 1 % der Aktivität von 1 mg Phosphat-P ausmacht, so beträgt die während des Versuches gebildete Nukleinsäuremenge 1 % der gesamten, im Sarkom vorhandenen Nukleinsäuremenge. Dabei wird vorausgesetzt, dass die nach Beendigung des Versuches gemessene Aktivität von 1 mg Phosphat gleich der zu jedem anderen Zeitpunkt im Laufe des Versuches vorhandenen Aktivität ist (vgl. hierzu die Ausführungen auf S. 7).

<sup>1</sup> Die im Tumor vorhandene Nukleinsäure ist nach VOWLES (Sv. Vet. Akad. Arkiv f. Kemi 14 B, Nr 10, 1940) identisch mit der Thymusnukleinsäure.

## Darstellung und Messung der Aktivität des radioaktiven Phosphors.

Der in den im folgenden zu beschreibenden Versuchen angewandte radioaktive Phosphor war in den meisten Fällen durch die Einwirkung von Neutronen auf Schwefelkohlenstoff gewonnen worden<sup>1</sup>. Als Neutronenquelle diente eine Radium-Beryllium-Mischung, die 600 mg Radium-Element enthielt. Für die Überlassung dieser Quelle sowie vieler anderer Hilfsmittel sind wir Herrn Professor NIELS BOHR zu grösstem Dank verpflichtet. Ausserdem stand uns radioaktiver Phosphor zur Verfügung, der gleichfalls durch die Einwirkung schneller Neutronen auf Schwefelkohlenstoff gewonnen wurde, wobei jedoch die Neutronen mit Hilfe einer Hochspannungsanlage erzeugt worden sind, und zwar in den meisten Fällen im Institut für theoretische Physik der Universität Kopenhagen, in einzelnen Fällen dagegen im Forschungslaboratorium der Glühlampenfabrik Philips in Eindhoven. Wir sind Herrn Dr. O. BØGGILD bzw. den Herren Dr. HEYN und Dr. A. H. W. ATEN für die Herstellung dieser Präparate zu besonderem Dank verpflichtet.

Die mit Hilfe der Radiumquellen erzeugten Präparate enthielten keine chemisch nachweisbaren Phosphormengen. Sie wurden durch Schütteln der verwendeten 10 l Schwefelkohlenstoff mit verdünnter Salpetersäure gewonnen. Nach dem Eindampfen der salpetersauren Lösung blieb das aktive Phosphat im Rückstand zurück; es wurde mit Wasser aufgenommen, und die Lösung wurde durch einen Glasfilter filtriert. Dieser Prozess wurde einige Male wiederholt. Zuletzt wurde die Aktivität in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und danach den Versuchstieren injiziert. Jeder Ratte wurde 0.1—1 ccm injiziert. Die Aktivität der injizierten Lösung betrug etwa  $\frac{1}{10} \mu$ Curie.

### Messung der Radioaktivität des Nukleinsäure-Phosphors.

2 Stunden nach Injektion wurde die Ratte getötet und die Nukleinsäure des Sarkoms isoliert. Dabei kam die Isolierungsmethode von KLEIN und BECK<sup>2</sup> zur Anwendung. Im Laufe des

<sup>1</sup> O. CHIEVITZ und G. HEVESY, D. Kgl. Danske Vidensk. Selskab, Biol. Medd. XIII, 9, 1937.

<sup>2</sup> O. KLEIN und BECK, Z. f. Krebsforschung 42, 172, 1935.

Versuches bilden sich in den Sarkomen neben schwach aktiver Nukleinsäure sehr stark aktive, säurelösliche Verbindungen sowie stark aktive Phosphatide; eine Verunreinigung der Nukleinsäure mit den geringsten Mengen säurelöslichen Phosphors oder mit Phosphatidphosphor kann daher die Resultate der Messung der Aktivität der Nukleinsäure störend beeinflussen. Die Nukleinsäurepräparate wurden aus diesem Grund noch weitergehend gereinigt als dies in der oben genannten Untersuchung von KLEIN und BECK beschrieben wird (siehe S. 9). Die gereinigte Nukleinsäure wurde nass mit Schwefelsäure und 30 %igem  $H_2O_2$  verascht.  $\frac{1}{5}$  der gewonnenen Lösung wurde zur kolorimetrischen Phosphorbestimmung verwendet;  $\frac{4}{5}$  der Lösung wurden 80 mg Natriumphosphat zugesetzt und der Phosphorgehalt als Ammoniummagnesiumphosphat isoliert. Dadurch wurde erreicht, dass der aktive Phosphorgehalt der Probe mit etwa 70 mg inaktivem Ammoniummagnesiumphosphat vermengt vorlag. Alle unsere Präparate wurden in dieser Weise behandelt, und es gelang uns dadurch, bei der Aktivitätsbestimmung stets Präparate von nahezu gleichem Gewicht und gleichem Volumen zu vergleichen. Es erübrigt sich dadurch eine etwaige Korrektur für die verschiedene Absorption der  $\beta$ -Strahlen in den zu vergleichenden Präparaten.

Die Aktivität des Ammoniummagnesiumphosphats oder eines bekannten Bruchteils der Probe wurde mit dem GEIGER-MÜLLER Zählrohr gemessen. Aus der gemessenen Aktivität, dem Gewicht der Ammoniummagnesiumphosphatprobe und dem auf chemischem Wege bestimmten Phosphorgehalt der Nukleinsäure berechneten wir die Aktivität von 1 mg P wie aus folgendem Beispiel hervorgeht:

$$\text{Aktivität von 1 mg Nukleinsäure-P} = \frac{8.60}{2.44} \frac{80}{71} \frac{5}{4} = 4.98 \text{ Zählrohrstösse per Minute.}$$

8.60 bedeutet hier die Aktivität des den Nukleinsäure-P enthaltenden Ammoniummagnesiumphosphats, 2.44 den P-Gehalt der gesamten Nukleinsäure des Sarkoms in mg; 80 ist das Gewicht der gesamten gefällten Ammoniummagnesiumphosphatprobe in mg, und 71 das Gewicht der unter dem Zählrohr angebrachten Probe.  $\frac{5}{4}$  ist die Korrektur, die vorzunehmen ist, da wir nur  $\frac{4}{5}$  der durch die Veraschung der Nuklein-

säure erhaltenen Lösung zur radioaktiven Untersuchung verwendet haben.

Hiernach haben wir die Radioaktivität von 1 mg Nukleinsäure-P mit der Radioaktivität von 1 mg freiem Phosphat-P des Sarkoms zu vergleichen. Die auf S. 4 erwähnte Voraussetzung — dass der aus dem Sarkom isolierte Phosphat-P dieselbe Aktivität hat, die wir zu einem beliebigen Zeitpunkt während des Versuches gefunden hätten — ist jedoch nicht gegeben. Die Absorption des injizierten Phosphats beansprucht mehrere Minuten und — obgleich die Membran der Sarkomzellen, wie an anderer Stelle besprochen<sup>1</sup>, für den Durchtritt des Phosphats sehr permeabel ist — nimmt das Eindringen des Phosphats aus dem Plasma (bzw. der extrazellulären Flüssigkeit) in die Sarkomzellen gleichfalls Zeit in Anspruch. Ferner ändert sich die Aktivität des Plasma-Phosphats während des Versuches. Sie steigt zunächst und sinkt dann infolge des Einströmens des gekennzeichneten Phosphats in die Orgazellen und dgl. wieder ab. Korrekterweise müssten wir daher die Aktivität von 1 mg Sarkom-Phosphat zu verschiedenen Zeitpunkten messen und auf diese Weise den Mittelwert der Phosphataktivität während des Versuches berechnen. Diese mittlere Aktivität von 1 mg Phosphat sollte dann mit der Aktivität von 1 mg Nukleinsäure-P, die nach Beendigung des Versuches gefunden wurde, verglichen werden. Wir sind jedoch nicht so sehr an den genauen Werten des Nukleinsäureumsatzes der Nukleinsäure im Sarkom interessiert wie an der Wirkung der Röntgenstrahlen auf den Nukleinsäureumsatz. Wir haben deshalb das obige, etwas langwierige Verfahren durch das folgende ersetzt.

Wir verglichen die Aktivität von 1 mg Nukleinsäure-P mit der Aktivität von 1 mg freiem Plasma-P, die am Ende des Versuches festgestellt wurde. Die Aktivität des Plasma-P steigt zunächst während des Versuches und sinkt später wieder ab; der 2 Stunden nach erfolgter Injektion gemessene Wert der Aktivität ist nicht sehr verschieden von dem Mittelwert der Aktivität, der im Laufe des Versuches vorlag. Wir haben ferner einen Vergleich der Aktivität von 1 mg Nukleinsäure des Sarkoms mit der Aktivität von 1 mg freiem P der Leber vorgenommen, wodurch wir in den Besitz

<sup>1</sup> G. v. HEVESY und H. v. EULER, Sv. Vet. Akad. Arkiv f. Kemi 15 A, Nr 15, 1940.

einer zweiten Vergleichsskala gelangten. In unseren späteren Versuchen haben wir auch einen Vergleich der Aktivität des Nukleinsäure-P mit der Aktivität des freien P des Sarkoms vorgenommen. Bei letzterem Verfahren muss ein Bruchteil des Sarkoms zur Isolierung des freien Phosphats geopfert werden; trotzdem ist dieses Verfahren dem zuerst geschilderten und von uns auch zuerst angewandten Verfahren entschieden vorzuziehen (vgl. S. 19).

Plasma- bzw. Leberproben wurden mit 10 bzw. 25 %iger Trichloressigsäure behandelt; zu  $\frac{4}{5}$  der Lösung wurden 80 mg Natriumphosphat zugesetzt, das freie Phosphat der Lösung wurde als Ammoniummagnesiumphosphat gefällt und die Radioaktivität der Probe, wie oben geschildert, unter dem GEIGER-MÜLLER Zählrohr gemessen.  $\frac{1}{5}$  der Lösung wurde zur kolorimetrischen Bestimmung des freien P verwendet. Die Ammoniummagnesiumproben wurden vor der Messung ihrer Aktivität in Aluminiumschälchen von 1.2 cm Durchmesser und 2 mm Höhe angebracht; die Schälchen wurden unter das Fenster des Zählrohrs geschoben<sup>1</sup>. Während die zu messenden Leberfraktionen über 1000 Stösse per Minute im Zählrohr auslösten, betrug die Aktivität der Sarkom-Nukleinsäure meist nur einige Stösse per Minute; in einzelnen Fällen mussten wir sogar Aktivitäten messen, die nur wenige Zehntel Stösse per Minute betrug. Solche Messungen wurden in der Weise durchgeführt, dass wir abwechselnd 24 Stunden lang die Aktivität des Präparates und 24 Stunden lang die Aktivität von inaktivem Ammoniummagnesiumphosphat gemessen haben. Die letztere, die sogenannte »natürliche Stosszahl«, betrug etwa 4 per Minute und konnte oft mit einer Genauigkeit von 2% reproduziert werden. Um eine solche Genauigkeit zu erreichen sind etwa 1° übersteigende Temperaturschwankungen der Zählordnung zu vermeiden.

### **Ermittlung des Prozentsatzes des injizierten <sup>32</sup>P, der in der Nukleinsäure des Sarkoms vorgefunden wird.**

Bei der Bestimmung des Prozentsatzes des injizierten, radioaktiv gekennzeichneten Phosphors, der in die Nukleinsäure des

<sup>1</sup> Eine genaue Beschreibung des verwendeten Zählrohrs findet sich bei H. LEVI, Acta Physiol. Scand. 2, 311, 1941.

Sarkoms eingebaut wird, verfährt man folgendermassen: Zu einem bekannten, kleinen Bruchteil, z. B.  $\frac{1}{300}$ , der zur Injektion verwendeten Lösung werden 80 mg Natriumphosphat zugesetzt; der P-Gehalt der Lösung wird danach als Ammoniummagnesiumphosphat gefällt. Die Aktivität dieser Probe wird mit der Aktivität des aus dem Sarkom isolierten Nukleinsäure-P verglichen, der ebenfalls als Ammoniummagnesiumphosphat des gleichen Gewichtes wie die erstgenannte Probe vorliegt. Ist die Aktivität von  $\frac{1}{300}$  Teil der injizierten Lösung = 100 Stösse per Minute, so wurden der Ratte 30 000 Stösse injiziert. Wird die Aktivität von 1 mg Nukleinsäure-P gleich 10 gefunden, so enthält 1 mg Nukleinsäure-P 0,033 % des injizierten  $^{32}\text{P}$ . Durch Division mit dem kolorimetrisch ermittelten Gewicht des Nukleinsäure-P ergeben sich die in den Tabellen 1—6 aufgeführten Zahlen.

### Die verwendeten Sarkome.

Zu allen bisher angestellten Versuchen haben wir Jensen-Sarkome der Ratten verwendet, welche durch Transplantation eines von der Abteilung für experimentelle Pathologie der I. G. Farbenindustrie-A. G., Elberfeld, Professor D. DOMAGK, erhaltenen Sarkoms weiter gezüchtet worden waren.

Die Transplantation erfolgte stets subkutan durch Anbringung eines etwa 1 mm tiefen Gewebeschnitts. Die Sarkome entwickelten sich in unserem Rattenstamm in etwa 3 Wochen bis zur Grösse von etwa 20 g. Zu den Bestrahlungsversuchen wurden meistens Ratten mit einem Sarkomgewicht von etwa 20 bis 30 g verwendet.

### Die Isolierung der Nukleinsäure.

Das Sarkomgewebe wurde fein zerschnitten und nach der von KLEIN und BECK<sup>1</sup> angegebenen Methode auf Nukleinsäure verarbeitet. Die Rohfällung wurde in 1 n Natronlauge gelöst, mit etwa 80 mg sek. Natriumphosphat versetzt und mit 5 %iger Eisenhydroxydlösung gefällt. Um etwa vorhandene radioaktive Phosphate zu entfernen, wurde diese Reinigung der Nukleinsäure noch zweimal wiederholt. Das so erhaltene Produkt wurde dann zweimal mit methylalkoholischer Salzsäure nach KLEIN

<sup>1</sup> O. KLEIN und BECK, Z. f. Krebsforschung **42**, 163, 1935.

und BECK umgefällt. Da das säurelösliche Phosphat viel aktiver ist als das Phosphat der Nukleinsäure, ist die weitgehendste Reinigung der Nukleinsäure von fremden Phosphaten von grösster Bedeutung.

In der endgültig gereinigten Fällung wurde das Phosphat kolorimetrisch nach FISKE und SUBBAROW<sup>1</sup> (Modifikation von TEORELL<sup>2</sup>) bestimmt. Ein anderer Teil wurde als Ammoniummagnesiumphosphat gefällt und dann zur Aktivitätsbestimmung verwendet.

Bezüglich der bei diesem Verfahren zur Anwendung gelangten Mengen verweisen wir auf ein als Beispiel mitgeteiltes Protokoll (S. 6) und weiter auf die Tabellen 1—6 (S. 12—16).

Die Blut- und Leberproben wurden folgendermassen aufgearbeitet:

Das Blut, das in einem Gefäss mit einigen mg Na-Citrat aufgefangen worden war, wurde zentrifugiert; das Plasma (in der Regel 2—3 ccm) wurde mit 3 ccm 10%iger Trichloressigsäure versetzt, die Lösung zentrifugiert und filtriert, und der abzentrifugierte Rückstand noch einmal mit 2 ccm Trichloressigsäure extrahiert und filtriert. Das gesamte Filtrat wurde mit Wasser auf 25 ccm verdünnt; davon wurden 2 ccm zur kolorimetrischen P-Bestimmung nach FISKE-SUBBAROW-TEORELL verwendet. 20 ccm Filtrat wurden mit 80 mg sek. Natriumphosphat versetzt, und das gesamte Phosphat wurde als Magnesiumammoniumphosphat gefällt. Diese Fällung wurde nach dem Trocknen bei 110° für die Aktivitätsbestimmung verwendet.

Die Leber (in der Regel 5—8 g) wurde zunächst 15 Min. mit 20 ccm 25%iger Trichloressigsäure und dann nochmals 10 Min. lang verrieben. Der Trichloressigsäureextrakt wurde filtriert und das Filtrat mit Wasser auf 100 ccm verdünnt. In 1 ccm wurde P kolorimetrisch bestimmt. 80 ccm der Lösung wurden nach Zusatz von 80 mg Natriumphosphat zur Fällung des für die Aktivitätsbestimmung erforderlichen Magnesiumammoniumphosphat verwendet.

Sämtliche chemisch-analytischen Arbeiten sind von Dr. phil. L. AHLSTRÖM und Assistent Ing. B. HÖGBERG ausgeführt worden, denen wir auch an dieser Stelle für ihre Mitarbeit bestens danken.

<sup>1</sup> FISKE und SUBBAROW J. Biol. Chem. **66**, 375, 1925.

<sup>2</sup> TEORELL, Biochem. Z. **230**, 1, 1931.

### Die Bestrahlung des Sarkoms.

Die Sarkome wurden 26 bis 67 Minuten lang mit Röntgenstrahlen bestrahlt, die eine mit 165 KV und 7 mA betriebene Röhre aussandte. Als StrahlungsfILTER kamen eine Kupferfolie von 0.5 mm und eine Aluminiumfolie von 1 mm in Anwendung. Die Bestrahlung erfolgte aus einer Entfernung von 25—42 cm. Bestrahlt wurde allein das Sarkom; die übrigen Körperteile der Ratte wurden gegen die Einwirkung der Bestrahlung durch Bedecken mit Bleiplatten geschützt. 20 Minuten nach Beendigung der Bestrahlung erfolgte die Injektion der NaCl-Lösung, die radioaktiv gekennzeichnetes Natriumphosphat enthielt.

Die Ausführung von so kurzdauernden Versuchen hat u. a. den Vorteil, dass die Wirkung der Röntgenstrahlen kurz nach Beendigung der Bestrahlung untersucht werden kann. Im Laufe der Zeit gehen bekanntlich weitgehende Veränderungen im bestrahlten Gewebe vor sich, und die Wirkung dieser Veränderungen auf den Nukleinsäureumsatz lässt sich auf die Weise studieren, dass man die Injektion der radioaktiven Lösung nicht sofort nach Unterbrechung der Bestrahlung, sondern einen oder mehrere Tage später vornimmt. Über das Ergebnis solcher Versuche soll demnächst berichtet werden.

Die Bestrahlungen wurden im Radiopathologischen Institut des Karolinischen Krankenhauses, Stockholm, ausgeführt. Den Herren Prof. Dr. ELIS BERVEN und Prof. Dr. OLLE REUTERWALL, welche uns die Bestrahlungseinrichtungen freundlichst zur Verfügung stellten, sind wir zu besonderem Dank verpflichtet. Auch Herrn Laborator A. FORSBERG und Frau BJÖRKGREN möchten wir für ihre freundliche Hilfe bei der Bestrahlung bestens danken.

### Messresultate.

Das Ergebnis der ausgeführten Versuche ist aus den Tabellen 1—6 zu ersehen. Tabellen 1—3 enthalten Angaben über den Nukleinsäureumsatz in nicht bestrahlten und schwach bzw. stärker bestrahlten Sarkomen. Tabellen 4—6 enthalten Angaben über den Bruchteil der injizierten  $^{32}\text{P}$ -Menge, die in 1 mg freiem Plasma-Phosphat-P bzw. 1 mg freiem Leber-Phosphat-P nach Verlauf von 2 Stunden zu finden ist.

Tabelle 1.  
Nukleinsäureumsatz im nicht-bestrahlten Jensen-Sarkom.  
Versuchsdauer 2 Stunden.

Nr. der Ratte	Gewicht des gerei- nigten Sarkoms in g	Nuklein- säure-P- Gehalt von 1 g Sarkom in mg	<sup>32</sup> P-Gehalt von 1 mg Nukleinsäure-P in % des <sup>32</sup> P-Gehaltes von		% der injizierten <sup>32</sup> P-Menge vorhanden in 1 mg Nuklein- säure-P
			1 mg Leber anorgan. P	1 mg Plasma anorgan. P	
I + II .....	36.2	3.8	2.60	..	0.013
III + IV .....	34.5	12.3	2.23	..	0.010
V + VI .....	19.3	7.5	3.10	..	0.015
VII + VIII .....	31.9	6.6	1.76	2.98	0.015
IX + X .....	23.2	8.3	1.30	2.15	0.012
XI + XII .....	2.9	0.9	1.35	..	0.019
XIII .....	16.7	1.3	2.33	1.76	0.032
XIV .....	22.5	6.3	1.14	1.06	0.017
XV .....	17.9	2.4	1.13	1.21	0.021
XVI .....	17.7	5.7	1.25	1.52	0.020
Mittelwert ....	22.3	5.5	<b>1.82</b>	<b>1.78</b>	<b>0.017</b>

Tabelle 2.  
 Nukleinsäureumsatz im schwach bestrahlten Jensen-Sarkom.  
 Dosis 77 bis 310 r (internat. Röntgen-Einheiten).  
 Versuchsdauer 2 Stunden.

Bezeichnung der Ratte	Dosis in r	Gewicht des gerei- nigten Sarkoms in g	Nuklein- säure-P- Gehalt des Sarkoms in mg	<sup>32</sup> P-Gehalt von 1 mg Nuklein- säure-P in % des <sup>32</sup> P-Gehaltes von		% der injizierten <sup>32</sup> P-Menge vorhanden in 1 mg Nuklein- säure-P
				1 mg Leber anorgan P	1 mg Plasma anorgan. P	
A.....	77	6.2	10.1	1.74	1.53	0.040
B.....	77	11.2	16.0	0.26	0.22	0.006
C.....	77	5.7	11.0	1.33	1.74	0.038
D.....	155	13.0	6.4	1.39	1.03	0.031
E.....	155	9.4	13.7	1.80	3.71	0.037
F.....	155	15.0	35.0	1.92	2.54	0.042
G.....	310	13.8	1.3	1.20	1.47	0.018
H.....	92	12.3	2.3	0.95	0.80	0.0139
J.....	92	10.0	1.0	1.04	1.53	0.0173
K.....	92	3.1	2.5	1.65	1.51	0.0306
L.....	186	6.3	5.0	2.14	3.32	0.0381
M.....	186	6.8	1.2	1.93	3.71	0.0374
N.....	186	3.8	0.47	0.54	0.50	0.0086
Mittelwert..	..	9.0	8.1	<b>1.38</b>	<b>1.82</b>	<b>0.028</b>

Tabelle 3.  
Nukleinsäureumsatz im bestrahlten Jensen-Sarkom.  
Dosis 460 bis 7000 r (internat. Röntgen-Einheiten).  
Versuchsdauer 2 Stunden.

Nr. der Ratte	Dosis in r	Gewicht des gerei- nigten Sarkoms in g	Nuklein- säure-P- Gehalt des Sarkoms in mg	<sup>32</sup> P-Gehalt von 1 mg Nuklein- säure-P in % des <sup>32</sup> P-Gehaltes von		% der injizierten <sup>32</sup> P-Menge vorhanden in 1 mg Nuklein- säure-P
				1 mg Leber anorgan. P	1 mg Plasma anorgan. P	
1 .....	2080	11.1	1.33	0.20	..	0.0016
2 .....	2080	18.2	2.33	0.41	..	0.0032
3 .....	2080	18.5	8.30	0.37	..	0.0029
4 .....	2080	5.3	1.36	0.17	0.32	0.0023
5 .....	2080	5.5	2.30	0.20	0.27	0.0025
6 .....	2080	6.0	1.86	0.21	0.44	0.0066
7 .....	1000	14.9	4.05	0.22	..	0.0015
8 .....	1000	13.0	2.05	0.35	..	0.0011
9 .....	1000	6.8	1.70	0.39	..	0.0014
10 .....	2080	18.0	0.36	0.10	0.19	0.0044
11 .....	1240	13.4	1.33	0.25	0.48	0.0011
12 .....	620	17.0	2.11	0.13	0.24	0.0053
13 .....	1025	13.9	6.20	0.36	0.21	0.0063
14 .....	460	12.0	5.30	0.02	0.01	0.0003
15 .....	460	8.6	5.31	0.56	0.29	0.0095
16 .....	1025	5.9	21.0	0.28	0.35	..
17 .....	1025	2.2	6.71	1.04	1.50	..
18 .....	1025	11.8	52.0	0.31	0.54	..
19 .....	1025	3.4	6.70	0.51	0,66	..
20 .....	465	9.7	16.2	0.84	1.04	..
21 .....	465	10.0	27.2	2.12	1.29	..
22 .....	620	6.3	8.80	1.31	3.41	..
23 .....	900	7.7	25.0	0.78	0.99	0.0123
24 .....	1180	4.8	2.31	0.60	0.82	0.0137
25 .....	1395	4.6	2.00	0.42	0.56	0.0096
26 .....	1025	7.3	7.12	0.80	0.91	0.0087
27 .....	1025	17.5	10.9	0.076	0.18	0.0017
28 .....	1025	6.7	11.0	0.65	0.70	0.0099
29 .....	1180	12.3	4.72	0.34	0.34	0.0051
30 .....	1400	6.0	3.70	0.47	0.64	0.0090
31 .....	1730	9.3	2.27	1.40	1.51	0.0130
32 .....	2550	8.2	1.80	0.75	0.95	0.0100
33 .....	7000	9.1	0.28	0.40	0.50	0.0071
34 .....	7000	14.2	0.65	0.11	0.080	0.0017
Mittelwert ..	..	9.9	7.5	<b>0.50</b>	<b>0.65</b>	<b>0.0056</b>

Tabelle 4.

$^{32}\text{P}$ -Gehalt des freien Phosphats des Blutplasmas und der Leber.  
Nicht bestrahlt.

Nr. der Ratte	Gewicht der Leber in g	P-Gehalt des Leber- Phosphats in mg %	P-Gehalt des Plasma- Phosphats in mg %	% des injizierten $^{32}\text{P}$ vorhanden in	
				1 mg Leber-P	1 mg Plasma-P
I + II .....	16.9	39	..	0.48	..
III + IV .....	17.0	50	..	0.44	..
V + VI .....	15.2	52	..	0.48	..
VII + VIII .....	13.6	57	5.7	0.85	0.59
IX + X .....	14.5	58	6.4	0.89	0.61
XI + XII .....	12.2	45	..	1.37	..
XIII .....	6.0	53	8.2	1.35	1.79
XIV .....	5.0	58	8.5	1.52	1.61
XV .....	6.3	47	7.7	1.42	1.32
XVI .....	6.4	46	9.6	1.63	1.33
Mittelwert .....	7.1	51	7.7	<b>1.04</b>	<b>1.21</b>

Tabelle 5.

$^{32}\text{P}$ -Gehalt des freien Phosphats des Blutplasmas und der Leber.  
Schwach bestrahlt.  
(77 bis 310 r).

Bezeichnung der Ratte	Gewicht der Leber in g	P-Gehalt des Leber- Phosphats in mg %	P-Gehalt des Plasma- Phosphats in mg %	% des injizierten $^{32}\text{P}$ vorhanden in	
				1 mg Leber-P	1 mg Plasma-P
A .....	6.6	49	4.0	2.27	2.60
B .....	6.8	57	4.3	2.31	2.74
C .....	6.5	53	4.4	2.84	2.15
D .....	6.2	54	4.0	2.19	2.97
E .....	7.0	41	7.8	2.31	1.08
F .....	5.9	54	5.6	2.23	1.64
G .....	6.6	46	9.2	1.47	1.21
H .....	8.3	50	6.4	1.55	1.84
J .....	6.6	48	6.5	2.23	1.52
K .....	5.9	42	5.6	1.88	2.05
L .....	5.7	43	7.4	1.89	1.22
M .....	6.0	40	7.9	1.92	1.00
N .....	5.2	53	6.0	1.59	1.81
Mittelwert .....	6.3	47	6.1	<b>2.05</b>	<b>1.83</b>

Tabelle 6.

<sup>32</sup>P-Gehalt des freien Phosphats des Blutplasmas und der Leber.  
Bestrahl.  
(Dosis 460—7000 r).

Nr. der Ratte	Gewicht der Leber in g	P-Gehalt des Leber- Phosphats in mg %	P-Gehalt des Plasma- Phosphats in mg %	% des injizierten <sup>32</sup> P vorhanden in	
				1 mg Leber-P	1 mg Plasma-P
1 .....	4.8	79	..	0.81	..
2 .....	5.2	69	..	0.88	..
3 .....	8.0	52	..	0.79	..
4 .....	5.9	50	7.4	1.76	0.94
5 .....	7.1	55	6.8	1.25	0.91
6 .....	4.0	48	6.8	3.15	1.51
7 .....	7.0	47	..	0.67	..
8 .....	6.6	36	..	0.43	..
9 .....	5.2	41	..	0.37	..
10 .....	4.4	48	10.0	4.55	2.31
11 .....	5.0	45	6.9	4.45	2.33
12 .....	4.6	48	8.3	3.90	2.24
13 .....	5.5	79	5.7	1.94	3.50
14 .....	5.1	89	4.5	1.70	3.21
15 .....	4.1	98	6.0	1.77	3.23
16 .....	5.9	49	9.2	3.0	2.5
17 .....	7.2	45	5.6	2.5	2.1
18 .....	4.0	53	4.4	4.7	2.7
19 .....	5.8	52	4.9	3.6	2.7
20 .....	6.2	60	7.9	1.5	1.0
21 .....	6.1	64	7.7	1.1	1.8
22 .....	6.6	46	9.2	1.7	0.6
23 .....	4.8	69	7.6	1.8	1.3
24 .....	5.5	60	5.9	1.7	1.1
25 .....	4.9	67	4.0	1.7	1.7
26 .....	7.3	50	6.6	1.2	1.1
27 .....	7.5	59	6.7	1.8	0.9
28 .....	6.7	57	5.0	1.3	0.7
29 .....	5.1	27	5.4	3.6	1.5
30 .....	5.4	46	5.0	1.9	1.4
31 .....	6.5	54	4.5	0.9	0.9
32 .....	6.2	52	5.8	1.3	1.0
33 .....	5.3	58	5.8	1.7	1.4
34 .....	5.5	62	9.6	1.5	2.1
Mittelwert .....	5.7	59	6.0	<b>2.0</b>	<b>1.7</b>

### Besprechung der Ergebnisse.

Wie aus den Zahlen der Tabellen 1—3 und der zusammenfassenden Darstellung in Tabelle 7 zu ersehen ist, wird durch die Einwirkung einer Röntgendosis von über 450 r die Bildung neuer (radioaktiver) Nukleinsäuremoleküle in den meisten Fällen stark herabgesetzt. In den mit weniger als 450 r bestrahlten Sarkomen erfolgte die Bildung der radioaktiv gekennzeichneten Nukleinsäure nahezu im selben Ausmasse wie in den unbestrahlten Sarkomen.

Tabelle 7.

Nukleinsäureumsatz im unbestrahlten, schwach bestrahlten (mit weniger als 450 r) und stärker bestrahlten (oberhalb 450 r) Jensen-Sarkom.

Sarkom	<sup>32</sup> P-Gehalt von 1 mg Nukleinsäure-P in Prozenten des <sup>32</sup> P-Gehaltes von	
	1 mg Leber anorgan. P	1 mg Plasma anorgan. P
	Mittelwert	
Unbestrahlt . . . . .	1.82	1.78
Schwach bestrahlt . . . . .	1.38	1.81
Bestrahlt . . . . .	0.50	0.65
	Höchstwert	
Unbestrahlt . . . . .	3.10	2.98
Schwach bestrahlt . . . . .	2.14	3.71
Bestrahlt . . . . .	2.12	3.41
	Tiefstwert	
Unbestrahlt . . . . .	1.13	1.06
Schwach bestrahlt . . . . .	0.26	0.22
Bestrahlt . . . . .	0.076	0.080

In 5 von den 34 Sarkomen, die wir mit über 450 r bestrahlt haben, konnten wir keine Wirkung der Bestrahlung auf die Bildung der Nukleinsäure nachweisen. Eines dieser Sarkome wurde mit 1730 r bestrahlt, ein anderes mit 1025 r, ein weiteres mit 620 r, und zwei weitere mit 465 r. Es lagen hier vermutlich der Strahlenwirkung gegenüber mehr resistente Sarkome vor. Bei der Untersuchung des Angehens von bestrahlten Sarkomen nach erfolgter Transplantation fand man, dass die einzelnen Sar-

kome der Wirkung der Strahlung gegenüber verschieden empfindlich sind. Russ und SCOTT<sup>1</sup> geben z. B. an, dass sich von 100 mit 1000 r bestrahlten Jensen-Rattensarkomen 75 zurückgebildet haben, und bezüglich der Empfindlichkeit des nahe verwandten »Sarkom 180« gibt SUGURIA<sup>2</sup> an, dass nach der Bestrahlung mit 1000 r die Hälfte der Sarkome abstarb. Alle, im Verlauf weiterer Versuche (siehe S. 22) untersuchten 7, mit 2000 r bestrahlten Rattensarkome zeigten eine verminderte Nukleinsäurebildung während der der Bestrahlung folgenden 2 Stunden; solche Sarkome werden gelegentlich angetroffen.

In den meisten Fällen ist der Unterschied in der Bildung von radioaktiv gekennzeichneten (also neugebildeten) Nukleinsäuremolekülen im unbestrahlten und im bestrahlten Sarkom so ausgeprägt, dass man unmittelbar nach Anbringung der Probe unter dem Zählrohr qualitativ entscheiden kann, ob ein unbestrahltes Sarkom vorliegt. Eine vollständige Unterdrückung der Bildung aktiver Nukleinsäuremoleküle lässt sich allerdings auch durch Anwendung starker Dosen nicht erreichen. So wurde nach der erfolgreichsten Bestrahlung mit 7000 r die Aktivität von 1 mg Nukleinsäure-P gleich 0.1 % der Aktivität von 1 mg freiem Leber-P und gleich 0.08 % der Aktivität von 1 mg freiem Plasma-P gefunden. Die mit Ehrlich-Carcinomen an Mäusen bisher ausgeführten Versuche haben teilweise andere Ergebnisse erbracht als die mit Jensen-Sarkomen gewonnenen, wie demnächst mitgeteilt werden soll.

Durch die Möglichkeit, die Wirkung, welche die Röntgenstrahlen auf die Bildung von Nukleinsäuremolekülen im Sarkom ausüben, mit Hilfe von radioaktiven Indikatoren zu messen, kann die Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Sarkome auf chemischem Wege verfolgt werden. Hierzu sei bemerkt, dass die beschriebenen Versuche leicht auszuführen sind — am besten in der Weise, dass man die Aktivität des Nukleinsäure-P des Sarkoms mit der Aktivität des freien P des Sarkoms vergleicht — und ferner, dass es von Bedeutung sein könnte, die wirksame Röntgendosis festzustellen, die eine nachweisbare Reduktion der Bildung von radioaktiv gekennzeichnete Nukleinsäure bewirkt.

In den beschriebenen Versuchen wurde die Bildung von radio-

<sup>1</sup> S. RUSS and G. M. SCOTT, Brit. J. Radiol. **13**, 267, 1940.

<sup>2</sup> K. SUGURIA, Radiology **29**, 352, 1937.

aktiv gekennzeichnete Nukleinsäure im Laufe der auf die Bestrahlung folgenden 2 Stunden ermittelt (die Bestrahlung selbst dauerte höchstens 42 Minuten). Es steht dem nichts im Wege, die Bildung von radioaktiv gekennzeichnete Nukleinsäure z. B. in der ersten Stunde, der ersten halben Stunde, oder noch kürzere Zeit nach erfolgter Bestrahlung zu bestimmen. Wir sind somit in der Lage, die chemische Wirkung der Röntgenstrahlen auf das Sarkom unmittelbar nach erfolgter Bestrahlung zu ermitteln.

### Phosphorgehalt von Leber und Plasma.

Wie aus den Zahlen der Tabellen 4—6 hervorgeht, ist kein wesentlicher Unterschied zwischen dem freien Phosphorgehalt des Plasmas und der Leber der bestrahlten, schwach bestrahlten und stärker bestrahlten Tiere zu finden. (Bestrahlt wurden stets nur die Sarkome.) Der durchschnittliche freie P-Gehalt der Leber beträgt 51, 47 bzw. 59 mg %; für den freien P-Gehalt des Plasmas sind die entsprechenden Zahlen 7.7, 6.1 bzw. 6.0 mg %.

In 1 mg freiem Leber-P der unbestrahlten, schwach bestrahlten, bzw. stärker bestrahlten Ratten finden sich 2 Stunden nach erfolgter Injektion 1.04<sup>1</sup>, 2.05 bzw. 2.00 % des injizierten <sup>32</sup>P. Die Leber enthält demnach zu diesem Zeitpunkt (Durchschnittswert des Lebergewichtes = 7.1, 6.3 bzw. 5.7 g) etwa 7 % des injizierten <sup>32</sup>P als freien P.

In 1 mg freiem Plasma-P finden sich 2 Stunden nach erfolgter Injektion 1.21, 1.83 bzw. 1.72 % des injizierten <sup>32</sup>P. Demnach enthält 1 mg freier Leber-P 2 Stunden nach erfolgter Injektion nahezu dieselbe Menge <sup>32</sup>P wie 1 mg Plasma-P.

### Vergleich der Aktivität des Nukleinsäure-P mit der Aktivität des freien P des Sarkoms.

Aus dem letzten Abschnitt geht hervor, dass sich im bestrahlten Sarkom weniger aktive Nukleinsäure bildet als im unbestrahlten. Aus dieser Feststellung darf jedoch nicht unbedingt gefolgert werden, dass die Bestrahlung den Nukleinsäureumsatz

<sup>1</sup> In späteren Versuchen (siehe S. 23) wurde in 1 mg freiem Leber-P unbestrahlter Ratten 2.13 % und in den mit 2000 r bestrahlten Tieren 2.16 % des injizierten <sup>32</sup>P gefunden. Für das Plasma-P waren die entsprechenden Zahlen 1.21 bzw. 1.15.

im Sarkom herabsetzt. Es wäre auch denkbar, dass die Bestrahlung das Eindringen des Indikators in die Sarkomzellen erschwert, und dass der beobachtete Effekt von einer Herabsetzung der Permeabilität der Zellwand für Phosphat unter der Wirkung der Bestrahlung herrührt. Erfahrungen, die an verschiedenen biologischen Systemen über die Wirkung der Bestrahlung auf die Permeabilität gesammelt worden sind und die demnächst mitgeteilt werden sollen, sprechen zwar gegen die letztgenannte Deutung der beobachteten Verminderung der Bildung von aktiver Nucleinsäure im bestrahlten Sarkom; wir haben jedoch — um die Erklärungsmöglichkeit, dass wir eine Beeinflussung der Phosphatpermeabilität durch die Bestrahlung beobachten, zu eliminieren — Versuche angestellt, in denen die Aktivität des Nucleinsäure-P mit der Aktivität des freien P des Sarkoms verglichen wurde. Der grösste Teil des freien P des Sarkoms besteht aus innerhalb der Zellen befindlichem P; falls ein Vergleich der genannten Aktivitäten eine wesentlich kleinere Zahl im Falle des bestrahlten Sarkoms liefert, so beweist diese Feststellung eindeutig, dass die Bestrahlung den Nucleinsäureumsatz hemmt und nicht etwa nur das Eindringen des Indikators in die Zellen erschwert.<sup>1</sup>

Die Ergebnisse dieser Versuche sind aus den Tabellen 8 und 9 ersichtlich. Wie aus diesen Tabellen zu ersehen ist, beträgt die radioaktiv gekennzeichnete, demnach während der 2-stündigen Versuchsdauer gebildete Nucleinsäure nach vorangehender Bestrahlung mit 2000 r etwa  $\frac{1}{3}$  der Menge, die sich im unbestrahlten Sarkom bildet. Dieses Ergebnis stützt sich auf Zahlen, die durch einen Vergleich der Aktivität des Nucleinsäure-P mit der Aktivität des freien Sarkom-P an frischem Gewebematerial gewonnen worden sind. (Das Verhalten des nekrotischen Gewebes wird im nächsten Abschnitt besprochen.)

Wie bereits erwähnt, besteht der freie P des Sarkoms teilweise aus P, der aus der extrazellulären Flüssigkeit des Gewebes herrührt, und dieser P hat eine andere spezifische Aktivität (Aktivität per mg P) als der intrazelluläre P. Die spezifische Akti-

<sup>1</sup> In unseren früheren Versuchen haben wir auf die Untersuchung der Aktivität des freien Sarkom-P verzichtet, um das gesamte Sarkomgewebe zur Gewinnung der Nucleinsäure verwenden zu können; später fanden wir es jedoch entschieden ratsam, auch die spezifische Aktivität des freien P jedes untersuchten Sarkoms zu bestimmen.

vität des extrazellulären P entspricht nahezu der Aktivität des freien Plasma-P. Der extrazelluläre Anteil am freien Sarkom-P ist jedoch gering und, da die Aktivität des Sarkom-P sich von der des Plasma-P nicht wesentlich unterscheidet, ist der Fehler, den wir begehen, wenn wir von der komplexen Natur des freien Sarkom-P absehen, nicht erheblich. Die Ratte 47:1 enthält z.B. 1.45 mg % extrazellulären P und 44.8 mg % intrazellulären P. Wir gewinnen diese Zahlen auf Grund der Annahme, dass  $\frac{1}{4}$  des Sarkoms aus extrazellulärer Flüssigkeit besteht, ferner aus dem P-Gehalt des Plasmas (5.8 mg %) und des Sarkoms (46.3 mg %). Die 1.45 mg % extrazellulärer P haben nicht dieselbe spezifische Aktivität wie die 44.8 mg % intrazellulärer P, sondern eine 5 % höhere (siehe Tabelle 8); somit überschätzen wir bei Vernachlässigung des extrazellulären Anteils die spezifische Aktivität des intrazellulären P mit  $\frac{0.07}{44.8} = 0.14$  %.

Was die Wirkung der Bestrahlung auf die Sarkomzellenpermeabilität betrifft, so ist womöglich eine beschränkte Wirkung der Bestrahlung auf die Permeabilität vorhanden. Während das Verhältnis der Aktivität von 1 mg Sarkom-P zu der Aktivität von 1 mg Plasma-P in unbestrahlten Sarkomen im Durchschnitt (siehe Tabellen 8 und 9) 1.07 beträgt, ist das entsprechende Verhältnis im Falle der bestrahlten Sarkomen 0.94; diese Differenz vermag jedoch den grössten Teil des beobachteten Effektes nicht zu erklären.

### Nukleinsäureumsatz und Phosphatpermeabilität des nekrotischen Sarkomgewebes.

Wie aus Tabelle 8 hervorgeht, ist der Nukleinsäureumsatz im nekrotischen Sarkomgewebe zwar wesentlich kleiner als im frischen Gewebe, doch ist der Umsatz im nekrotischen Gewebe durchaus nicht vernachlässigbar. Dasselbe gilt für die Ersetzungsgeschwindigkeit des intrazellulären Phosphates durch Plasma- (Lympe-) Phosphat. Der Austauschgleich ist im nekrotischen Gewebe nicht so weit fortgeschritten wie im frischen Gewebe; im Laufe von 2 Stunden wird jedoch ein wesentlicher Teil des freien Sarkomphosphats durch Plasmaphosphat ersetzt. Daraus folgt, dass im nekrotischen Gewebe eine recht gute Blut- (Lym-

Tabelle 8.  
Nukleinsäureumsatz in unbestrahlten Sarkomen.

Ratte	Sarkom- volumen in ccm	Aktivität von 1 mg Nukleinsäure-P in Prozenten der Aktivität von 1 mg			
		Leber-P	Plasma-P'	Sarkom-P	
47:1 (200 g) .....	38	{ frisch	0.77	1.13	1.18
		{ nekrotisch	0.41	0.55	1.08
47:2 (145 g) .....	13	{ frisch	1.58	3.31	2.12
		{ nekrotisch	—	—	—
47:3 (158 g) .....	14	{ frisch	1.15	1.67	1.23
		{ nekrotisch	0.71	1.03	1.20
47:4 (168 g) .....	18	{ frisch	0.81	2.77	1.93
		{ nekrotisch	0.29	0.97	1.15
51:1 (160 g) .....	19+15	{ frisch	0.97	1.23	4.64
+ 51:2 (132 g) .....		{ nekrotisch	0.78'	0.96	1.06
48:4b(188 g) .....	23	frisch	1.13	1.47	1.20
Mittelwert .....		{ frisch	1.07	1.93	<b>2.05</b>
		{ nekrotisch	0.55	0.88	<b>1.12</b>

Prozent des injizierten  $^{32}\text{P}$  vorhanden in 1 mg.

	Leber-P	Plasma-P	Sarkom-P		Nukleinsäure-P	
			(frisch)	(nekrot.)	(frisch)	(nekrot.)
47:1 .....	1.73	1.18	1.12	0.635	0.0133	0.0065
47:2 .....	1.99	0.95	1.49	1.29	0.0313	—
47:3 .....	1.83	1.26	1.72	1.08	0.0212	0.0130
47:4 .....	3.73	1.12	1.61	0.95	0.0311	0.0109
51:1 + 2 .....	1.98	1.56	0.46	1.45	0.019	0.015
48:4b .....	1.51	1.21	1.43	—	0.017	—
Mittelwert ...	2.13	1.21	1.30	1.08	0.022	0.011

Tabelle 9.  
Nukleinsäureumsatz in mit 80 Röntgen per Minute  
(25 Minuten lang) bestrahlten Sarkomen.

Ratte	Sarkom- volumen in cem	Aktivität von 1 mg Nukleinsäure-P in Prozenten der Aktivität von 1 mg			
		Leber-P	Plasma-P	Sarkom-P	
49:1 .....	18	{ frisch	0.68	0.90	0.72
		{ nekrotisch	0.40	0.60	0.88
49:2 .....	23	{ frisch	1.00	0.85	0.79
		{ nekrotisch	0.42	0.33	0.46
49:3 .....	13	{ frisch	0.70	1.01	1.00
		{ nekrotisch	0.025	0.036	0.036
49:4 .....	19	{ frisch	0.12	0.50	0.54
		{ nekrotisch	—	—	—
50:1 .....	7	{ frisch	0.45	1.14	0.80
		{ nekrotisch	—	—	—
50:2 .....	8	{ frisch	0.21	0.37	0.31
		{ nekrotisch	—	—	—
50:3 .....	33	{ frisch	0.14	0.13	0.33
		{ nekrotisch	0.073	0.063	0.23
Mittelwerte .....		{ frisch	0.47	0.63	<b>0.65</b>
		{ nekrotisch	0.23	0.26	<b>0.16</b>

Prozent des injizierten <sup>32</sup>P vorhanden in 1 mg.

	Leber-P	Plasma-P	Sarkom-P		Nukleinsäure-P	
			(frisch)	(nekrot.)	(frisch)	(nekrot.)
49:1 .....	1.53	0.92	1.15	0.67	0.0083	0.0059
49:2 .....	0.64	1.00	0.82	0.58	0.012	0.0026
49:3 .....	1.71	1.18	1.19	1.17	0.012	0.00043
49:4 .....	6.23(?)	1.60	1.48	1.27	0.0077	—
50:1 .....	1.69	0.74	1.05	0.25	0.0084	—
50:2 .....	2.04	1.15	1.38	—	0.0043	—
50:3 .....	1.29	1.50	0.55	0.42	0.0018	0.00095
Mittelwert ...	2.16	1.16	1.09	0.73	0.0078	0.0025

phe-) Zirkulation vorhanden sein muss. Der an sich reduzierte Nucleinsäureumsatz im nekrotischen Gewebe ist durch die Wirkung der Röntgenstrahlen weiter herabgesetzt.

Tabelle 10.

Vergleich des Durchschnittswertes des Nucleinsäureumsatzes und der Phosphatpermeabilität im frischen und im nekrotischen Gewebe.

		Frisches Gewebe	Nekrotisches Gewebe
Aktivität von 1 mg Nucleinsäure-P in Prozenten der Aktivität des freien Sarkom-P	Unbestrahlt . . . . .	2.05	1.12
	Bestrahlt mit 2000 r	0.65	0.16
Verhältnis der Aktivität von 1 mg freiem P des nekrotischen und des frischen Sarkomgewebes . . . . .	Unbestrahlt . . . . .	0.66	
	Bestrahlt . . . . .	0.76	

### Menge der im Laufe von 2 Stunden im Sarkomgewebe neu gebildeten Nucleinsäure.

Wir fanden (Tab. 8), dass 2 Stunden nach erfolgter subkutaner Injektion des radioaktiven Phosphats die Aktivität des Nucleinsäure-P 2% der Aktivität des freien Sarkom-P beträgt. Wäre im Laufe der Versuchszeit die Aktivität des freien Sarkom-P dieselbe, die wir am Ende des Versuches feststellen, so könnten wir aus den obigen Zahlen schliessen, dass während der 2-stündigen Versuchszeit Nucleinsäuremoleküle aufgebaut worden sind, die 2% der gesamten im Sarkom vorhandenen Nucleinsäure ausmachen, also durchschnittlich — bei Sarkomen, die weniger als 40 g wiegen — 0.18 mg per g Gewebe (vgl. Tab. 12). Die Aktivität des Sarkom-P ändert sich jedoch im Laufe des Versuches. Wenn wir z. B. annehmen, dass sie mit der Zeit linear zunimmt, so beträgt der Prozentsatz der neu gebildeten Nucleinsäuremoleküle nicht 2%, sondern 4%. Die Änderung der spezifischen Aktivität des freien P der Sarkomzellen mit der Zeit erfolgt jedoch nicht nach einer einfachen Gesetzmässigkeit: an-

fangs ist sie einige Minuten lang praktisch gleich 0, da die Absorption des injizierten P und dessen Eindringen in den extrazellularen und weiter in den intrazellularen Raum Zeit braucht. Andererseits steigt die spezifische Aktivität mit der Zeit in der letzten Phase des Versuches nur wenig; wenn ein Ausgleich zwischen der Aktivität des Plasma- (extrazellularen) P und des zellularen P nahezu erreicht ist, ändert sich nämlich die spezifische Aktivität des Sarkom-P nur wenig mit der Zeit. In einer Reihe von Fällen ist nach 2 Stunden nicht nur ein Ausgleich zwischen der spezifischen Aktivität des Sarkom-P und des Leber-P erreicht, sondern die erstere überflügelt sogar die letztere. Dieser Vorgang ist der Ursache zuzuschreiben, dass die Aktivität des Plasma-P innerhalb der ersten halben Stunde ein Maximum erreicht und dann allmählich abnimmt. Aus dem sehr aktiven Plasma dringt sehr aktiver P in die Zellen: dieser P wird zwar wieder durch neu ankommenden, weniger aktiven Plasma-P abgelöst, der Aktivitätsausgleich zwischen Sarkom-P und Plasma-P erfolgt jedoch langsamer als die Änderungen der Plasma-Aktivität, und so erklärt es sich, dass wir nach 2 Stunden den Sarkom-P aktiver antreffen können als den Plasma-P. Bei den obigen Überlegungen müssen wir berücksichtigen, dass der freie P der Sarkomzellen nicht nur Ein- und Austrittsmöglichkeiten durch die Zellwand hat, sondern auch verschiedene Einbaumöglichkeiten in die organischen, P-haltigen Moleküle der Sarkomzellen. Nach dem Eintritt des sehr aktiven Plasma-P tritt entsprechender P rasch in Adenosintri-phosphat-, Hexosemonophosphat- und ähnliche Moleküle ein, die dann als Speicherungsraum für den stark aktiven P dienen. Strömt der letztere wieder in das — inzwischen verarmte — Plasma zurück, so wird der Aktivitätsverlust des freien Sarkom-P durch Abgabe von stark aktivem P aus dem Speicherungsraum kompensiert, und dieser Vorgang trägt dazu bei, das höhere Aktivitätsniveau des freien Sarkom-P aufrechtzuerhalten. Nicht nur nimmt die Aktivität des Sarkom-P in den späteren Phasen des Versuches nicht linear mit der Zeit zu, unter Umständen kann sie sogar eine Abnahme erleiden. Wenn wir den Endwert der spezifischen Aktivität des Sarkom-P mit etwa  $1\frac{1}{2}$  multiplizieren, so dürften wir den Wert erhalten, den der freie Sarkom-P durchschnittlich im Laufe des Versuches hatte und der als Ausgangsmaterial zur Bildung der aktiven Nukleinsäure diente. Wir haben

den erhaltenen Wert dann für das Verhältnis der Aktivität von 1 mg Nukleinsäure-P und 1 mg Sarkom-P mit  $1\frac{1}{2}$  zu multiplizieren, um zu dem Wert der prozentualen Nukleinsäurezunahme des Sarkoms im Laufe von 2 Stunden zu gelangen. Dieser Wert beträgt demnach etwa 3 % der gesamten Nukleinsäuremenge oder im Durchschnitt 0.26 mg per g Sarkom.

### Zuwachs und Erneuerung.

Die im Laufe des Versuches gebildete und deshalb radioaktiv gekennzeichnete ( $^{32}\text{P}$ -haltige) Nukleinsäure ist entweder in dem neu entstandenen Gewebe zu finden, oder aber ist sie der Erneuerung bereits vorhandener Nukleinsäure zuzuschreiben. Im Falle der Adenosintriphosphorsäure und auch einiger anderer, säurelöslicher Phosphorverbindungen erfolgt eine Erneuerung der Moleküle im Sarkom und in anderen Organen mit sehr grosser Geschwindigkeit. In Gegenwart von radioaktiv gekennzeichnetem Phosphat zeigen sich die genannten Verbindungen nach Ablauf ganz kurzer Zeit radioaktiv. Die Nukleinsäuremoleküle werden dagegen in den normalen Organen sehr langsam erneuert. Angaben über die Erneuerungsgeschwindigkeit der Nukleinsäure in den Organen erwachsener Ratten werden demnächst mitgeteilt.

Wir nehmen an, dass der Nukleinsäuregehalt der Sarkome seinem Gewicht bzw. Volumen proportional ist. Diese Annahme wird durch Feststellungen gestützt, die weiter unten mitgeteilt werden. Der prozentuale Zuwachs des Nukleinsäuregehaltes ist dann gleich dem prozentualen Volumenzuwachs des Sarkoms. Mit Hilfe unserer radioaktiven Versuche bestimmen wir den Prozentsatz der Nukleinsäuremoleküle, die im Laufe der 2 letzten Stunden vor dem Töten der Ratte gebildet worden sind, und durch Untersuchung der Volumenzunahme des Sarkoms stellen wir den in den letzten 2 Stunden erfolgten Zuwachs fest. Doch ist diese Grösse zu klein, um durch Ausmessung der Dimensionen des Sarkoms festgestellt werden zu können. Der Zuwachs, der im Laufe der letzten 24 Stunden erfolgt ist, kann dagegen gemessen und daraus der Zuwachs, der im Laufe von 2 Stunden erfolgt ist, berechnet werden. Es scheint uns jedoch richtiger zu sein, die Berechnung des im Laufe von 2 Stunden erfolgten Volumen-

Tabelle 11.  
Volumenzunahme der Sarkome.

Ratte	Gewicht und spez. Gewicht des Sarkoms samt Nukleinsäuregehalt per g	Datum	Volumen <sup>1</sup> des Sarkoms in cem	Täglicher prozentualer Volumenzuwachs	Durchschnitt des täglichen prozentualen Volumenzuwachses im Laufe der 6 letzten Tage
48:1 a	15 g; (2.5) 3.6 mg	<sup>16</sup> / <sub>5</sub>	2.77	—	25.0 <sup>2</sup>
		<sup>18</sup> / <sub>5</sub>	4.88	38.1	
		<sup>19</sup> / <sub>5</sub>	5.63	15.3	
		<sup>20</sup> / <sub>5</sub>	6.10	8.4	
48:2 a	8 g; (2.3) —	<sup>18</sup> / <sub>5</sub>	0.80	—	34.4
		<sup>19</sup> / <sub>5</sub>	1.13	41.2	
		<sup>20</sup> / <sub>5</sub>	1.62	43.2	
		<sup>21</sup> / <sub>5</sub>	2.16	33.4	
		<sup>22</sup> / <sub>5</sub>	2.49	15.3	
48:3 a	8 g; (2.4) 4.9 mg	<sup>18</sup> / <sub>5</sub>	1.09	—	27.9 <sup>3</sup>
		<sup>19</sup> / <sub>5</sub>	1.59	46.0	
		<sup>20</sup> / <sub>5</sub>	2.64	66.6	
		<sup>21</sup> / <sub>5</sub>	2.64	0	
		<sup>22</sup> / <sub>5</sub>	3.35	26.8	
48:1 b	19 g; (2.5) 9.5 mg	<sup>20</sup> / <sub>5</sub>	1.42	—	30.5
		<sup>21</sup> / <sub>5</sub>	2.01	41.5	
		<sup>29</sup> / <sub>5</sub>	3.81	44.8	
		<sup>30</sup> / <sub>5</sub>	4.23	11.0	
		<sup>1</sup> / <sub>6</sub>	6.03	21.5	
48:2 b	28 g; (2.0) 7.1 mg	<sup>2</sup> / <sub>6</sub>	7.75	28.5	20.3
		<sup>26</sup> / <sub>5</sub>	3.23	—	
		<sup>27</sup> / <sub>5</sub>	5.24	62.3	
		<sup>29</sup> / <sub>5</sub>	7.37	20.4	
		<sup>30</sup> / <sub>5</sub>	8.77	19.0	
48:5 b	11 g; (1.8) 12.6 mg	<sup>1</sup> / <sub>6</sub>	14.25	31.1	28.0
		<sup>2</sup> / <sub>6</sub>	14.25	0	
		<sup>29</sup> / <sub>5</sub>	0.84	—	
		<sup>30</sup> / <sub>5</sub>	1.42	69	
		<sup>3</sup> / <sub>6</sub>	1.80	13.4	
		<sup>2</sup> / <sub>6</sub>	2.47	37	
<sup>3</sup> / <sub>6</sub>	3.52	42.6			
<sup>4</sup> / <sub>6</sub>	4.53	28.7			
<sup>5</sup> / <sub>6</sub>	6.03	33.1			

<sup>1</sup> Das Volumen des Sarkoms wurde aus der Länge, Breite und Tiefe berechnet, wobei eine elliptische Gestalt des Sarkoms angenommen wurde.

<sup>2</sup> Zuwachs nur 4 Tage lang beobachtet.

<sup>3</sup> Zuwachs nur 5 Tage lang beobachtet.

Tabelle 11 (fortgesetzt).

Ratte	Gewicht und spez. Gewicht des Sarkoms samt Nukleinsäuregehalt per g	Datum	Volumen des Sarkoms in ccm	Täglicher prozentualer Volumenzuwachs	Durchschnitt des täglichen prozentualen Volumenzuwachses im Laufe der 6 letzten Tage
48:6b	15 g; (1.7) 12.3 mg	$\frac{26}{5}$	0.34	—	22.7
		$\frac{27}{5}$	1.01	197	
		$\frac{20}{5}$	1.17	7.9	
		$\frac{30}{5}$	1.34	14.5	
		$\frac{1}{6}$	1.34	0	
		$\frac{2}{6}$	1.84	37.3	
		$\frac{3}{6}$	2.89	57	
		$\frac{4}{6}$	2.80	0	
		$\frac{5}{6}$	3.81	36.1	
		$\frac{6}{6}$	4.53	18.7	
48:12b	26 g; (1.9) —	$\frac{9}{6}$	1.8	—	36.3
		$\frac{13}{6}$	6.12	60	
		$\frac{15}{6}$	11.28	42	
		$\frac{16}{6}$	14.08	25	
48:13b	20 g; (1.9) —	$\frac{9}{6}$	1.93	—	24.0
		$\frac{13}{6}$	5.7	49	
		$\frac{15}{6}$	7.84	18.8	
		$\frac{16}{6}$	10.56	34.5	
49:1	36 g; (2.0) 9.1 mg	$\frac{18}{5}$	1.93	—	23.6
		$\frac{19}{5}$	2.81	45.7	
		$\frac{20}{5}$	3.69	31.4	
		$\frac{21}{5}$	5.36	45.3	
		$\frac{22}{5}$	6.37	18.8	
		$\frac{23}{5}$	8.13	27.6	
		$\frac{26}{5}$	13.49	22.0	
		$\frac{27}{5}$	13.49	0	
49:3	20 g; (2.1) 9.3 mg	$\frac{18}{5}$	1.47	—	25.0
		$\frac{19}{5}$	1.84	25.0	
		$\frac{20}{5}$	2.60	52.2	
		$\frac{21}{5}$	3.18	22.5	
		$\frac{22}{5}$	3.77	18.5	
		$\frac{23}{5}$	5.24	38.8	
		$\frac{26}{5}$	7.04	11.4	
		$\frac{27}{5}$	11.0	56.4	
		$\frac{28}{5}$	13.28	20.7	

Tabelle 11 (fortgesetzt).

Ratte	Gewicht und spez. Gewicht des Sarkoms samt Nukleinsäuregehalt per g	Datum	Volumen des Sarkoms in ccm	Täglicher prozentualer Volumenzuwachs	Durchschnitt des täglichen prozentualen Volumenzuwachses im Laufe der 6 letzten Tage
49:4	30 g; (1.6) 13.7 mg	<sup>18</sup> / <sub>5</sub>	1.51	—	21.5
		<sup>19</sup> / <sub>5</sub>	2.43	61.0	
		<sup>20</sup> / <sub>5</sub>	3.27	34.5	
		<sup>21</sup> / <sub>5</sub>	4.69	43.4	
		<sup>22</sup> / <sub>5</sub>	6.37	35.9	
		<sup>23</sup> / <sub>5</sub>	9.05	42.0	
		<sup>26</sup> / <sub>5</sub>	11.56	9.2	
		<sup>27</sup> / <sub>5</sub>	16.13	39.9	
50:1	18 g; (2.5) 9.9 mg	<sup>4</sup> / <sub>6</sub>	2.6	—	35.6
		<sup>9</sup> / <sub>3</sub>	7.25	35.6	
50:2	18 g; (2.1) 4.6 mg	<sup>4</sup> / <sub>6</sub>	3.35	—	30.2
		<sup>9</sup> / <sub>6</sub>	8.40	30.2	
48:3b	51 g; (1.7) 13.0 mg	<sup>26</sup> / <sub>5</sub>	2.93	—	21.3
		<sup>27</sup> / <sub>5</sub>	4.32	47.8	
		<sup>29</sup> / <sub>5</sub>	8.46	47.7	
		<sup>30</sup> / <sub>5</sub>	12.57	21.7	
		<sup>1</sup> / <sub>6</sub>	14.54	7.8	
		<sup>2</sup> / <sub>6</sub>	15.50	6.6	
		<sup>3</sup> / <sub>6</sub>	18.81	18.2	
		<sup>4</sup> / <sub>6</sub>	20.53	9.1	
48:4b	42 g; (1.9) 14.5 mg	<sup>5</sup> / <sub>6</sub>	29.30	42.7	19.4
		<sup>26</sup> / <sub>5</sub>	2.43	—	
		<sup>27</sup> / <sub>5</sub>	4.48	84.4	
		<sup>29</sup> / <sub>5</sub>	5.49	11.3	
		<sup>30</sup> / <sub>5</sub>	8.46	53.3	
		<sup>1</sup> / <sub>6</sub>	11.10	15.0	
		<sup>2</sup> / <sub>6</sub>	13.20	18.9	
		<sup>3</sup> / <sub>6</sub>	15.50	17.4	
48:7b	75 g; (1.9) 14.5 mg	<sup>4</sup> / <sub>6</sub>	21.37	37.9	16.0
		<sup>5</sup> / <sub>6</sub>	22.63	5.9	
		<sup>26</sup> / <sub>5</sub>	2.51	—	
		<sup>27</sup> / <sub>5</sub>	4.06	61.6	
		<sup>29</sup> / <sub>5</sub>	8.42	53.5	
		<sup>30</sup> / <sub>5</sub>	9.23	9.6	
		<sup>1</sup> / <sub>6</sub>	14.71	30	
		<sup>2</sup> / <sub>6</sub>	16.97	15.4	
	<sup>3</sup> / <sub>6</sub>	17.18	1.2		

Tabelle 11 (fortgesetzt).

Ratte	Gewicht und spez. Gewicht des Sarkoms samt Nukleinsäuregehalt per g	Datum	Volumen des Sarkoms in ccm	Täglicher prozentualer Volumenzuwachs	Durchschnitt des täglichen prozentualen Volumenzuwachses im Laufe der 6 letzten Tage
48:7b (fortgesetzt)	75 g; (1.9) 14.5 mg	4/6	22.46	—	12.8
		5/6	26.4	17.5	
		6/6	29.87	13.1	
		8/6	36.87	11.6	
		9/6	40.56	10.0	
48:8b	81 g; (1.6) 10.8 mg	26/5	4.69	—	7.1
		27/5	6.37	35.9	
		29/5	7.75	10.2	
		30/5	10.89	40.5	
		1/6	15.71	31.5	
		2/6	20.66	15.2	
		3/6	21.37	3.4	
		4/6	27.15	27.0	
		5/6	35.95	32.0	
		6/6	34.32	0	
		8/6	38.17	5.6	
		9/6	42.57	11.5	
10/6	49.15	15.4			
11/6	51.29	4.3			
12/6	51.29	0			
48:9b	79 g; (1.5) —	26/5	3.52	—	11.9
		27/5	4.99	42	
		29/5	7.0	21	
		30/5	10.39	49	
		1/6	13.62	15.5	
		2/6	19.19	41.1	
		3/6	23.51	22.5	
		4/6	29.41	25.3	
		5/6	29.86	1.5	
		6/6	31.68	6.0	
		8/6	41.36	15.1	
		9/6	37.75	0	
10/6	47.85	29.2			
11/6	45.77	0			
12/6	51.33	12.1			
48:10b	83 g; (1.7) —	26/5	2.35	—	35.7
		27/5	3.69	57.2	
		29/5	5.53	25	

Tabelle 11 (fortgesetzt).

Ratte	Gewicht und spez. Gewicht des Sarkoms samt Nukleinsäuregehalt per g	Datum	Volumen des Sarkoms in ccm	Täglicher prozentualer Volumenzuwachs	Durchschnitt des täglichen prozentualen Volumenzuwachses im Laufe der 6 letzten Tage
48 : 10 b (fortgesetzt)	83 g; (1.7) —	30/5	6.83	23.5	8.7
		1/6	8.84	14.7	
		2/6	9.51	7.6	
		3/6	12.07	26.8	
		4/6	16.89	40.0	
		5/6	19.90	17.7	
		6/6	20.82	4.6	
		8/6	26.15	12.8	
		9/6	26.15	0	
		10/6	29.87	2.8	
		11/6	34.91	16.8	
		12/6	39.13	12.1	
		13/6	39.13	0	
		15/6	41.94	3.6	
		16/6	48.27	14.8	
48 : 11 b	78 g; (1.8) —	26/5	1.13	—	8.4
		27/5	1.76	56.0	
		29/5	2.81	30.0	
		30/5	7.04	93.0	
		1/6	9.22	15.5	
		2/6	11.31	22.6	
		3/6	15.25	34.7	
		4/6	16.89	11.4	
		5/6	18.77	11.1	
		6/6	23.59	25.6	
		8/6	31.68	17.1	
		9/6	34.32	8.2	
		10/6	35.2	2.6	
		11/6	36.29	3.1	
12/6	41.4	14.4			
13/6	43.45	5.0			
49 : 2	44 g; (1.9) 10.1 mg	16/5	3.02	—	12.7
		18/5	4.99	33	
		19/5	6.29	26.1	
		20/5	7.25	15.3	
		21/5	9.30	27.7	
		22/5	11.44	24.1	
		23/5	11.44	0	

Tabelle 11 (fortgesetzt).

Ratte	Gewicht und spez. Gewicht des Sarkoms samt Nukleinsäuregehalt per g	Datum	Volumen des Sarkoms in ccm	Täglicher prozentualer Volumenzuwachs	Durchschnitt des täglichen prozentualen Volumenzuwachses im Laufe der 6 letzten Tage
49 : 2 (fortgesetzt)	64 g; (1.9) 10.1 mg	26/5	17.30	17	13.7
		27/5	20.91	20.8	
		28/5	23.09	10.2	
50 : 3	64 g; (1.9) 10.2 mg	26/5	3.77	—	12.2
		27/5	6.75	79	
		29/5	7.42	15.0	
		30/5	9.13	23.9	
		1/6	12.19	16.8	
		2/6	15.08	24.0	
		3/6	17.56	14.5	
		4/6	20.11	16.4	
		5/6	21.24	5.6	
		6/6	27.36	28.8	
8/6	33.44	11.1			
9/6	33.44	0			

Die Trockensubstanz der untersuchten Sarkome variierte zwischen 18.5 und 20.7 % (Mittelwert 19.2 %) des Sarkomgewichtes.

zuwachses nicht auf eine einzige, mit Unsicherheiten behaftete Messung (vgl. Tab. 11) zu gründen, sondern auf eine Reihe von Messungen aufzubauen, die im Laufe der letzten 6 Versuchstage ausgeführt worden sind. Die Ergebnisse solcher sowie anderer Messungen sind aus den Tabellen 11 und 12 zu ersehen<sup>1</sup>. Die letztgenannte Tabelle enthält eine Zusammenstellung der gewonnenen Ergebnisse getrennt für Sarkome, die weniger bzw. mehr als 40 g wiegen. Die mit Hilfe der radioaktiven Methode untersuchten Sarkome waren in den allermeisten Fällen leichter als 40 g, und wir sind deshalb in besonderem Mass an dem Volumenzuwachs der erstgenannten Sarkomgruppe interessiert.

Es ist leicht verständlich, dass bei Sarkomen, die in die Nähe der Grenze ihrer Wachstumsmöglichkeit gelangt sind, der tägliche

<sup>1</sup> Berechnet man den prozentischen Volumzuwachs der Sarkome auf Grund von Messungen, die zu Beginn und am Ende des letzten Tages vorgenommen worden sind, so erhält man die Zahlen 26.5 bzw. 14.3.

Tabelle 12.

Durchschnittlicher Volumenzuwachs von 14 bzw. 10 Sarkomen innerhalb eines Tages	Durchschnittlicher Nukleinsäuregehalt per g Sarkom
Sarkome, die weniger als 40 g wiegen 27.4 %	8.8 mg
Sarkome, die mehr als 40 g wiegen 12.8 %	12.0 mg

prozentuale Volumenzuwachs wesentlich kleiner ist als im Falle von Sarkomen, die über eine nahezu unbegrenzte Wachstumsmöglichkeit verfügen. Der durchschnittliche Nukleinsäuregehalt per g Sarkom wird jedoch in beiden Fällen nicht wesentlich verschieden gefunden; er beträgt 8.8 bzw. 12.0 mg per g Sarkom. Diese Feststellung, die sich auf zwei Sarkomgruppen sehr verschiedener Grösse bezieht, stützt die Richtigkeit unserer Annahme, dass der prozentuale Zuwachs an Nukleinsäure dem prozentualen Volumen-(Gewichts-)zuwachs ungefähr parallel läuft.

Das durchschnittliche spezifische Gewicht der schweren Sarkome schwankt zwischen 1.5 und 1.9 g bei einem Durchschnittswert von 1.8; für die weniger als 40 g wiegenden Sarkome sind die entsprechenden Grenzen 1.6 und 2.5; der Durchschnittswert beträgt hier 2.1.

Bei den uns interessierenden Sarkomen beträgt der Volumen- und dementsprechend der Nukleinsäurezuwachs 27 % täglich, oder rund 2 % im Laufe von 2 Stunden<sup>1</sup>. Der neugebildete Anteil an Nukleinsäure (Zuwachs + Erneuerung) ergab sich aus den radioaktiven Messungen zu etwa 3 %. Ein wesentlicher Bruchteil der radioaktiv gekennzeichneten Nukleinsäure ist demnach dem Wachstumsprozess zuzuschreiben. Eine genaue Festlegung des Anteils der neu gebildeten, nicht dem Wachstumsprozess zuzuschreibenden Nukleinsäure ist durch einen Vergleich der durch radioaktive Messungen erzielten Resultate mit den Ergebnissen von Volumzuwachsmessungen kaum durchführbar. Die Untersuchung von in ihrem Wachstum vollständig gehemmten Sarkomen mit Hilfe der radioaktiven Methode sollte jedoch zum Ziele führen, da ja in solchen Sarkomen kein Nukleinsäurezuwachs stattfindet.

<sup>1</sup> Da der Volumzuwachs des Sarkoms im Laufe des Tages womöglich rythmisch erfolgt, ist das obige Ergebnis mit Vorsicht zu deuten.

Solche Versuche sind in Vorbereitung. Aus den obigen Erörterungen kann jedoch geschlossen werden, dass die Röntgenstrahlen eine Verminderung des gesamten Umsatzes der Nukleinsäure im Jensen-Sarkom bewirken (innerhalb 2 Stunden nach der Bestrahlung festgestellt).

### Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Bildung von säurelöslichen Phosphorverbindungen im Sarkom.

Im Gegensatz zu dem Aufbau der Nukleinsäuremoleküle wird die Bildung von säurelöslichen Phosphorverbindungen im Sarkom durch die Wirkung einer einige 1000 r betragenden Dosis nicht nachweisbar beeinflusst, wie dies aus Tabelle 13 hervorgeht.

Tabelle 13.

Bildung von radioaktiv gekennzeichneten, säurelöslichen Phosphorverbindungen im bestrahlten Sarkom.

Ratte	Dosis	Fraktion gekennzeichnet durch die Hydrolysenzzeit	Prozent des injizierten <sup>32</sup> P per mg P
I	1395 r	0 Min.	100
		7 »	95
		180 »	85
II	1670 r	0 Min.	100
		7 »	88
		180 »	84
III	2040 r	0 Min.	100
		7 »	100
		180 »	84
IV	2000 r	0 Min.	100
		7 »	100
		100 »	98
		180 »	93
V	2000 r	0 Min.	100
		7 »	85
		100 »	85
		180 »	100
VI	2100 r	0 Min.	100
		7 »	92
		100 »	98
		180 »	98

Wie aus Tabelle 13 ersichtlich, hat die 7 Min.-Fraktion nahezu dieselbe spezifische Aktivität wie die 0 Min.-Fraktion, und der grösste Teil der übrigen Fraktionen ist gleichfalls radioaktiv gekennzeichnet, d. h. im Laufe des Versuches neu gebildet. Röntgendosen von 2000 r Einheiten verhindern demnach nicht die nahezu vollständige Erneuerung der Moleküle der hydrolysierbaren, säurelöslichen Phosphorverbindungen im Sarkom. Der Umsatz der säurelöslichen P-Verbindungen steht in naher Beziehung zu den in den Zellen vor sich gehenden Oxydations- und Reduktionsprozessen, und es ist bekannt, dass diese letzteren Prozesse der Wirkung von Röntgenstrahlen gegenüber recht unempfindlich sind<sup>1</sup>.

### Enzymaktivität in bestrahlten Jensen-Sarkomen.

In Anbetracht der im letzten Abschnitt erwähnten Unempfindlichkeit des Ab- und Aufbaus der säurelöslichen P-Verbindungen der Wirkung von Röntgenstrahlen gegenüber war eine Wirkung der Röntgenstrahlen auf die an diesen Prozessen beteiligten Enzyme nicht zu erwarten.

Versuche, in denen die Wirksamkeit der aus dem Sarkom isolierten Katalase 1 Stunde nach erfolgter Bestrahlung mit 3000 r untersucht wurde, ergaben, dass die Wirksamkeit der Katalase durch die Bestrahlung des Sarkoms nicht gelitten hatte. Während die Katalaseaktivität des Muskels der normalen Ratten = 0.0252 gefunden worden ist, zeigte die Muskel-Katalase der bestrahlten Ratten einen Wert von 0.0385<sup>2</sup>.

Die Untersuchung der Wirkung der Strahlung auf die Aktivität der Nuklease gab gleichfalls ein negatives Resultat. Die Einwirkung der aus dem mit 3000 r bestrahlten Sarkom gewonnenen Nuklease auf als Substrat verwendete Thymusnukleinsäure blieb keinesweges hinter der Wirksamkeit der aus dem unbestrahlten Sarkom gewonnenen Nuklease zurück. Während die erstere im Laufe von 4 Stunden 66 % der Thymusnukleinsäure spaltete, betrug die entsprechende Zahl für das unbestrahlte Sarkom 46 %.

<sup>1</sup> Während  $\frac{4}{5}$  der Sarkome durch die Bestrahlung mit 1800 r am Angehen nach erfolgter Transplantation verhindert worden ist, war der Sauerstoffverbrauch dieser Sarkome von dem der Kontrollen nicht verschieden. (W. KEIL, Arch. exp. Pathol. 167, 338, 1932).

<sup>2</sup> Diese Versuche werden an anderer Stelle näher beschrieben.

Die Frage, ob die beim Aufbau der Nukleinsäure sich betätigenden Enzyme strahlungsempfindlich sind oder nicht, kann zur Zeit nicht beantwortet werden.

Aus den in dieser Abhandlung mitgeteilten Versuchen geht hervor, dass die Bestrahlung die Nukleinsäurebildung hemmt. Die Hemmung kann dadurch zustande kommen, dass die Bestrahlung solche Bestandteile, deren Gegenwart der Aufbau der Nukleinsäure und somit der Vorgang der Zellteilung erfordert, unmittelbar zerstört. Doch braucht dies nicht unbedingt der Fall zu sein.

Vom chemischen Standpunkt aus betrachtet ist die Zellteilung eine Folgeerscheinung des sehr intensiven synthetischen Prozesses, der in den Zellkernen vor sich geht. Ein Eingreifen in diesen synthetischen Prozess kann die Zellteilung unterbinden. Ein Eingreifen durch die Wirkung der Bestrahlung kann entweder dadurch erfolgen, dass für die Synthese unumgänglich notwendige Moleküle rascher zerstört als aufgebaut werden, oder aber dadurch, dass infolge der Einwirkung der Strahlung Fremdprodukte entstehen, die sich in die in den Zellkernen, oder in bestimmten Teilen der Zellkerne, vor sich gehenden chemischen Prozesse einschalten und dadurch den normalen Ablauf dieser Prozesse — und ihre Folgeerscheinung, die Zellteilung — hemmen. Unter der Einwirkung der Röntgenstrahlen erfolgt z. B. — wie wir aus den Versuchen von SVEDBERG und BROHULT<sup>1</sup> wissen — eine Zerlegung von hochpolymeren Molekülen, z. B. Plasmaproteinen, in niedriger molekulare Teilchen. Während das Ansammeln solcher Bruchstücke im Cytoplasma — wenn dies nicht in hoher Konzentration, also unter der Einwirkung von sehr grossen Dosen erfolgt — keine wesentlichen Änderungen verursacht, könnten dieselben Bruchstücke, wenn sie im Zellkern erzeugt werden oder wenn sie dorthin gelangt sind, durch Eintreten in die im sich teilenden Kern stattfindenden synthetischen Prozesse eine sehr weitgehende Wirkung ausüben. Dass unter der Einwirkung der Röntgenstrahlen auf das Gewebe degenerative Zellen auftreten, kann im Sinne der obigen Auffassung gedeutet werden.

Neben Spaltstücken von hochpolymeren Produkten treten eine Reihe anderer Fremdprodukte im bestrahlten Gewebe auf,

<sup>1</sup> TH. SVEDBERG und S. BROHULT, *Nature* **143**, 938, 1938.

wie z. B. naszierender Sauerstoff, der die Bildung von Wasserstoffsuperoxyd und anderen Oxydationsprodukten veranlasst.

Die Röntgenstrahlen haben keine selektive Affinität für die eine oder andere Molekülart des Gewebes; ein beliebiges Atom des bestrahlten Gewebes hat ungefähr die gleiche Wahrscheinlichkeit ionisiert zu werden wie ein anderes beliebiges Atom; sie kann auf  $4 \times 10$ —11 bei einer Bestrahlung mit einer Dosis von 1 r geschätzt werden<sup>1</sup>. Es ist möglich, dass die Röntgenstrahlen bzw. die durch die Strahlen ausgelösten Ionen unmittelbar auf einen zur Synthese der Nukleinsäure erforderlichen Bestandteil einwirken, z. B. durch Spaltung eines solchen Moleküls, es ist aber nicht weniger wahrscheinlich, dass die Einschaltung von Fremdprodukten in die die Zellteilung einleitende synthetische Phase das entscheidende Moment ist.

### Zusammenfassung.

Ratten mit Jensen-Sarkom wird eine radioaktiv gekennzeichnete Phosphatlösung subkutan injiziert; nach Verlauf von 2 Stunden wird die Nukleinsäure des Sarkoms isoliert.

Wenn die Nukleinsäure radioaktiv gefunden wird, so folgt hieraus, dass im Laufe des Versuches Nukleinsäuremoleküle im Sarkom aufgebaut worden sind.

Ein Vergleich der Aktivität von 1 mg Nukleinsäure-P mit der Aktivität von 1 mg freiem Sarkom-P ermöglicht eine Bestimmung der Menge der neu gebildeten Nukleinsäure.

Die im Laufe von 2 Stunden gebildeten Nukleinsäuremoleküle betragen 2—3% des gesamten Nukleinsäuregehaltes, der per g Sarkom durchschnittlich 9 mg ausmacht.

Die Bestrahlung des Sarkoms mit 1000 internationalen Röntgeneinheiten und zum Teil bereits mit einer Dosis von über 450 r bewirkt in den allermeisten Fällen einen Rückgang der Nukleinsäurebildung auf durchschnittlich  $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}$  des beim unbestrahlten Sarkom gefundenen Wertes. Einzelne (5 von 45), vermutlich besonders strahlungsresistente Sarkome zeigen auch nach erfolgter Bestrahlung eine normale Nukleinsäurebildung.

Die beschriebene Methode ermöglicht den Nachweis der Wir-

<sup>1</sup> P. JORDAN, Radiologica 2, 25, 1938.

kung der Strahlen auf das Sarkom unmittelbar nach erfolgter Bestrahlung auf chemischem Wege.

Im nekrotischen Sarkomgewebe beträgt der Nukleinsäureumsatz etwa die Hälfte bis ein Viertel des im frischen Gewebe festgestellten. Das freie Phosphat der Sarkomzellen wird durch Plasmaphosphat im nekrotischen Gewebe langsamer ersetzt als im frischen Gewebe, doch wird auch im nekrotischen Gewebe der grössere Teil des in den Sarkomzellen ursprünglich vorhandenen freien Phosphats im Laufe von 2 Stunden ersetzt.

Der säurelösliche, organische P des Sarkoms zeigt 2 Stunden nach erfolgter Injektion nahezu denselben Gehalt an radioaktiv gekennzeichnetem Phosphor wie 1 mg freier P des Sarkoms. Fast alle Moleküle der säurelöslichen Phosphorverbindungen des Sarkoms werden demnach im Laufe von 2 Stunden erneuert. Eine Bestrahlung mit 2000 r ruft keine nachweisliche Beeinflussung der Geschwindigkeit der Erneuerung der säurelöslichen P-Verbindungen im Sarkom hervor.

*Stockholms Högskolas Vitamininstitut und Københavns Universitets  
Institut for teoretisk Fysik, Juni 1942.*