

(Aus dem Gewebezüchtungs-Laboratorium der pathologisch-anatomischen Abteilung
[Direktor: Dr. *Edmund Mayer*] des städtischen Krankenhauses Am Urban zu Berlin.)

Die Wirkung der Quarzlampenbestrahlung auf Gewebekulturen.¹

Von
Edmund Mayer.

Mit 45 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 18. Dezember 1929.)

Bereits in den ersten Zeiten der Gewebezüchtung haben *Levaditi* und *Mutermilch* (1913) den Einfluß von Quarzlampenbestrahlung auf Hühnerfibroblasten untersucht. Sie fanden, daß nach 20—30 minutiger Bestrahlung mit einer Lampe von 60—70 Volt in 20 cm Abstand die in Ringerlösung gehaltenen Stückchen nicht mehr aussproßten.

Neue und abgestufte Untersuchungen wurden von *S. Kiaer* (1925) an einem 1 Jahr alten Hühnerfibroblastenstamm ausgeführt. 24 Stunden nach der Übertragung (auf Quarzdeckgläser) wurden die kräftig wachsenden Kulturen mit einer Kromayer-Quarzlampe in 6 cm Entfernung bestrahlt, während sie sich in einem Wasserbade von 38° befanden. 24 Stunden nach der Bestrahlung wurden die Kulturen gewaschen und in neue Nährtropfen (Plasma + Extrakt) umgesetzt, so daß also 48 stündige Wachstumsperioden zur Beobachtung gelangten. Die zweimal in 24 Stunden erfolgenden Messungen ergaben bei 0,5 Sekunden bis 5 Minuten Bestrahlungsdauer keinen Einfluß. Bei 8—15 Minuten Bestrahlung zeigte sich *Wachstumshemmung während der nächsten 24 Stunden*, mit der Bestrahlungsdauer steigend; in der nächsten Übertragung meist keine Hemmung mehr. Bei 30 oder 60 Minuten Bestrahlungsdauer war die Wachstumshemmung meist auch noch in der nächsten Übertragung nachweisbar; in der zweiten oder dritten Übertragung aber wieder Wachstum ebenso wie das der Kontrollen. Bei 2 oder 3 Stunden Bestrahlungsdauer erfolgte „Tötung der Fibroblasten“. Eine „Latenzzeit“ der Strahlenwirkung fand *Kiaer* nicht. Er meint, daß vielleicht seine Messungen (alle 12 Stunden) dafür nicht ausgereicht hätten; doch gibt er sein Messungsverfahren nicht an. *Kiaer* hat nämlich

¹ An den Kosten der Vorversuche beteiligte sich die Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft.

seine offenbar wohldurchdachten Versuche lediglich in einem kurzen Bericht der „Comptes rendus“ niedergelegt, so daß man sich, abgesehen von dem Messungsverfahren, auch von der Zahl und Beschaffenheit der Versuchs- und Kontrollkulturen sowie von den Wachstums- und Hemmungsgrößen kein Bild machen kann. Schon deshalb erschien uns eine erneute Untersuchung notwendig. Darüber hinaus erhob sich die Frage, ob die von *Kiaer* bei verschiedenen Bestrahlungszeiten gefundenen Reaktionen eine Eigentümlichkeit seines Fibroblastenstammes waren. Vor allem aber bedurfte die von *Kiaer* betonte Beobachtung, daß die durch kurze Bestrahlung gehemmten Gewebszellen „bei Übertragung in einen neuen Nährstoff ihre Wachstumsfähigkeit wiedergewinnen“, einer Nachprüfung bzw. Aufklärung.

Unsere eigenen Untersuchungen erstrecken sich auf Deckglaskulturen von Hühnerfibroblasten (Fibroblasten im Sinne der gewebezüchterischen Bezeichnungsweise), die gemäß der von *Albert Fischer* geübten Technik (1 Tropfen Plasma + 1 Tropfen Embryonalextrakt, flach ausgebreitet) gezüchtet wurden. Stets diente die Hälfte einer Kultur als Versuchskultur, die zweite Hälfte der gleichen Kultur als Kontrolle.

Die Messung des Wachstums erfolgte täglich, an den Umsetzungstagen jedoch vor und nach der Umsetzung. Da ein Edingerscher Apparat nicht zur Verfügung stand, wurde die Projektion mit dem mikrophotographischen Apparat bei 20facher linearer Vergrößerung auf eine glasklare Scheibe an Stelle der Mattscheibe ausgeführt und auf einem aufgelegten Stück Pauspapier der Umriß der Kultur in der bekannten Weise gezeichnet. Die gezeichneten Flächen wurden mit dem Planimeter gemessen und die mit der Noniuseinheit multiplizierten Planimeterwerte mittels Division durch die quadratische Vergrößerung (also durch 400) in absolute Quadratmillimeterwerte umgewandelt. Wir geben also in den Tabellen und auf den Ordinaten der Kurven die wahren Größen unserer Kulturen in Quadratmillimetern an. Zur Veranschaulichung der Kulturgrößen sind eine Anzahl Übersichtsphotographien von ganzen Kulturen unter Angabe der linearen Vergrößerungen beigelegt. Durch Planimetrieren dieser Abbildungen kann man unsere Messungswerte nachprüfen.

Die Versuche zerfallen in zwei Reihen, von denen die erste im Mai, die zweite im Oktober 1929 durchgeführt wurde. Die Strahlenquellen sowie einige andere Punkte der Versuchsanordnung waren in den beiden Reihen verschieden.

1. Reihe.

Als Strahlenquelle dieser Reihe diente eine Cadmiumamalgamdampf-Quarzlampe. Sie brannte 10 Minuten nach der Volleinschaltung bei 3,5 Ampere und 75 Volt Klemmenspannung mit gleichbleibender Helligkeit, die etwa 600–700 HL. betrug. Die Ultraviolettintensität im Verhältnis zu einer bestimmten Cadmiumzelle und einem bestimmten Elektrometer wurde von Herrn Dr. *Rüttenauer* freundlicherweise bestimmt und erwies sich als höchstens halb so groß wie bei den üblichen „Höhensonnen“ des Handels.

Die Quarzröhre der Lampe befand sich 65 cm über den Kulturen. In dieser Entfernung war die Wärmewirkung gering, und es war eine Heizvorrichtung notwendig, um die bei 39° gezüchteten Kulturen während des Versuches auf ungefähr dieser Temperatur zu halten. Hierzu benutzen wir oben offene Holzkästen mit einer Kupferplatte als Boden, unter dem — durch eine Luftschicht getrennt — eine Asbestplatte liegt. Unter der Asbestplatte befinden sich zwei Glühbirnen. Auf die Kupferplatte wird zum Bestrahlungsversuch ein durch Leisten und Auflagen eingeteiltes Blechtablett mit den die Kulturen enthaltenden hohlgeschliffenen Objektträgern gelegt. Ein Thermoregulator in der Ebene der Kulturen sorgte für Ausschaltung der Heizung bei 39°. Außerdem wurden durch ein großes über die gesamte Apparatur zeltartig gebreitetes schwarzes Tuch die Luftströmungen verringert. Während der Versuche wurde die Temperatur nachgeprüft. Auf dem Tablett lag jede Kultur unter einer Hülle von schwarzem Papier, die je nach der Dauer der beabsichtigten Bestrahlung entfernt wurde.

1. Versuch.

(Tabelle 1 und 2.)

Osteoblasten vom Schädeldach des Hühnerembryos, 17. Übertragung. 10 Versuchskulturen (M 891a—895a, A 3147a—3151a) auf Quarzdeckgläsern, 10 Kontrollkulturen (M 891b—895b, A 3147b—3151b) auf Glimmer. Bestrahlung: 21 Stunden nach der Übertragung¹.

Bestrahlungsdauer: 60 Minuten.

Temperatur der Luft in der Höhe der Versuchskulturen während der Versuchsdauer 36—38°.

Die Kontrollkulturen verblieben im Brutschrank.

Die Tabelle 1 zeigt als Ergebnis, daß sämtliche 10 bestrahlten Kulturen während der 2 Tage nach der Bestrahlung im Wachstum stehenblieben, die Vergleichshälften aber sämtlich gut wuchsen. Die Wachstumskurve der Versuchskulturen zeigt also an der Stelle der Bestrahlung einen scharfen Knick und von da an mit der Zeitabszisse parallelen Verlauf (vgl. die Kurven der späteren Versuche). Der Wachstumsstillstand muß unmittelbar nach der Bestrahlung eingetreten sein, da die bestrahlten Kulturen seit der kurz vor der Bestrahlung erfolgten Messung nicht mehr die geringste Zunahme zeigten. Es ist sogar gelegentlich eine geringe Verkleinerung nach der Bestrahlung festzustellen (z. B. Kultur M 891 a und M 892 a), die auf Einziehung der Zellfortsätze in der Wachstumszone und Schrumpfungsvorgänge bei der beschleunigten Nekrobiose im Mittelstück zurückzuführen ist.

Nach dreitägigem Verweilen in demselben Nährmedium (also 2 Tage nach der Bestrahlung) wurden 6 von den bestrahlten und 5 von den unbestrahlten Kulturen in neue Nährtropfen übertragen. Sämtliche 10 Abkömmlinge der Bestrahlten, die durch Messung verfolgt wurden, zeigten auch jetzt völligen Wachstumsstillstand, während sämtliche Abkömmlinge der Unbestrahlten gut wuchsen (Tabelle 2). In der nach 2 Tagen anschließenden nächsten Übertragung wurden 6 Abkömmlinge von Bestrahlten (aus M 918 b, M 919 b, M 921 a, A 3159 a und b,

¹ In den Tabellen und Kurven gibt der Pfeil an, auf welche Messung die Bestrahlung folgte.

Tabelle 1.

Art der Kulturen	Stunden n. dem Um- setzen	Be- strahlt	Un- bestr. Kontr.	Be- strahlt	Un- bestr. Kontr.	Be- strahlt	Un- bestr. Kontr.	Be- strahlt	Un- bestr. Kontr.	Be- strahlt	Un- bestr. Kontr.	Be- strahlt	Un- bestr. Kontr.	Be- strahlt	Un- bestr. Kontr.	Be- strahlt	Un- bestr. Kontr.	Be- strahlt	Un- bestr. Kontr.	Be- strahlt	Un- bestr. Kontr.
Hühner- schädel- osteo- blasten 7. Über- tragung		M 891a	M 891b	M 892a	M 892b	M 893a	M 893b	M 894a	M 894b	M 895a	M 895b	A 3147a	A 3147b	A 3148a	A 3148b	A 3149a	A 3149b	A 3150a	A 3150b	A 3151a	A 3151b
	0	1,0	0,6	1,2	0,5	0,8	0,9	0,9	0,8	0,5	0,3	1,2	0,6	1,0	1,7	1,4	1,2	1,3	0,9	0,8	
	19,0	7,0	6,4	7,4	6,1	6,6	5,0	5,3	5,0	5,3	5,3	5,3	5,2	5,7	7,0	5,4	6,0	5,5	5,8	5,0	
	39,5	6,1	15,0	6,5	15,3	16,5	5,0	16,5	5,0	11,5	5,3	13,8	5,7	16,7	23,4	5,4	14,6	5,5	13,2	5,0	
	65,0	6,1	23,0	6,5	20,6	27,7	5,0	21,7	5,0	16,4	5,3	23,2	5,7	23,4	23,4	5,4	23,6	5,5	22,4	5,0	

Tabelle 2. (1. Übertragung nach der Bestrahlung.)

Art der Kulturen	Stunden n. dem Umsetzen	Aus bestrahlte. M 891a	Aus Kontr. M 891b	Aus bestrahlte. M 892a	Aus Kontr. M 892b	Aus bestr. M 894a	Aus Kontr. M 894b	Aus bestrahlte. A 3147a	Aus Kontrolle A 3147b	Aus bestrahlte. A 3160a	Aus Kontrolle A 3163b	Aus bestrahlte. A 3161a	Aus Kontr. A 3161b
Hühner-schädel- osteo- blasten	0	M 918a	M 918b	M 919a	M 919b	M 921a	M 921b	M 926a	M 926b	M 927a	M 927b	M 928a	M 928b
	15,0	Kein Wachs	0,9	K.W.	K.W.	1,0	2,3	K.W.	K.W.	2,2	0,9	K.W.	K.W.
18. Über-tragung	39,5	11,8	14,0	11,8	11,8	13,0	13,0	K.W.	K.W.	14,7	12,7	K.W.	K.W.

A 3160 a) weiter beobachtet und zeigten nach wie vor keine Spur von Wachstum. Die 10 weiter verfolgten Abkömmlinge von unbestrahlten Kontrollen (je 2 aus M 923 a, M 924 b, M 926 a, A 3163 b, A 3164 b) wuchsen wie bisher. Über die zweite Übertragung nach der Bestrahlung hinaus wurden diese Beobachtungen nicht fortgesetzt.

2. Versuch.

(Tabelle 3, Kurven Abb. 1—5, Mikrophotographien Abb. 6.)

Fibroblasten vom embryonalen Hühnerherz, 16. Übertragung.

10 Versuchskulturen (M 928a—932a, A 3177a—3181a) auf Quarzdeckgläsern.

10 Kontrollkulturen (M 928b—932b, A 3177b—3181b) auf Glimmer.

Nährmedium: alle 20 Kulturen erhielten Plasma vom gleichen Huhn und Extrakt vom gleichen Bereitungstage.

Bestrahlung: 22 Stunden nach der Übertragung.

Bestrahlungsdauer: je 2 Kulturen 1 Minute, 2 Minuten, 5 Minuten, 10 Minuten, 20 Minuten.

Temperatur der Luft: in der Höhe der Versuchskulturen während der Versuchsdauer 36°. Die Kontrollkulturen verblieben im Brutschrank.

Tabelle 3.

Art der Kulturen	Stunden n. dem Umsetzen	1 Min. bestrahlt	Unbestrahlte Kontr.	2 Min. bestrahlt	Unbestrahlte Kontr.	5 Min. bestrahlt	Unbestrahlte Kontr.	10 Min. bestrahlt	Unbestrahlte Kontr.	20 Min. bestrahlt	Unbestrahlte Kontr.
Hühnerherz-fibroblasten		M 930a	M 930b	M 931a	M 931b	M 929a	M 929b	M 932a	M 932b	M 928a	M 928b
	0	0,8	0,9	1,1	1,2	1,1	1,1	0,9	1,5	1,4	1,5
16. Übertragung	21,0	8,4	9,0	8,3	9,2	8,7	9,8	10,2	11,0	7,5	11,5
	→ 40,5	9,4	19,5	8,1	19,0	8,7	23,0	9,5	23,5	7,6	22,1
	66,5	21,5	31,9	18,4	26,8	11,7	30,7	9,6	35,0	8,6	29,4
	91,5	24,8	35,6	21,8	28,3	13,5	34,6	16,2	40,2	9,8	31,7
	115,5	24,8	35,6	21,8	28,3	13,5	34,6	16,2	40,2	11,6	31,7
	138,5	27,7	35,6	21,8	28,3	13,5	34,6	16,2	40,2	11,6	31,7
	163,5	27,7	35,6	22,3	28,3	13,5	34,6	16,2	40,2	11,6	31,7
	188,0	27,7	35,6	22,3	28,3	13,5	34,6	16,2	40,2	11,6	31,7
Hühnerherz-fibroblasten		A 3179a	A 3179b	A 3180a	A 3180b	A 3181a	A 3181b	A 3178a	A 3178b	A 3177a	A 3177b
	0	1,3	1,4	1,5	1,5	1,1	1,0	1,7	1,6	2,4	1,2
16. Übertragung	21,0	8,2	9,9	10,6	11,6	9,5	10,1	11,4	12,0	11,7	10,3
	→ 40,5	9,3	22,5	11,0	24,7	9,5	21,0	11,4	26,3	12,4	24,1
	66,5	20,5	33,6	17,8	37,2	9,5	30,0	11,4	37,5	12,4	37,5

Die Ergebnisse waren folgende: Durch 2—20 Minuten Bestrahlung wurde zunächst ein völliger Stillstand bis zur nächsten Messung, also für 20 Stunden, bewirkt. Nach 1 Minute Bestrahlung sieht man einen geringfügigen Zuwachs bei der nächsten Messung. Ob es sich hierbei um einen stetigen Zuwachs während der ganzen 20 Stunden handelt, oder um einen völligen Stillstand während der ersten Zeit von vielleicht 16 Stunden und um ein plötzliches Wiedereinsetzen des Wachstums während der letzten Stunden — das würde nur durch kürzere Messungsabstände zu entscheiden sein. Der Einfachheit wegen werden wir im

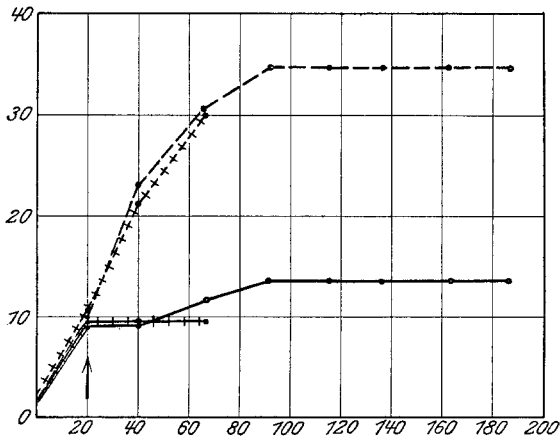
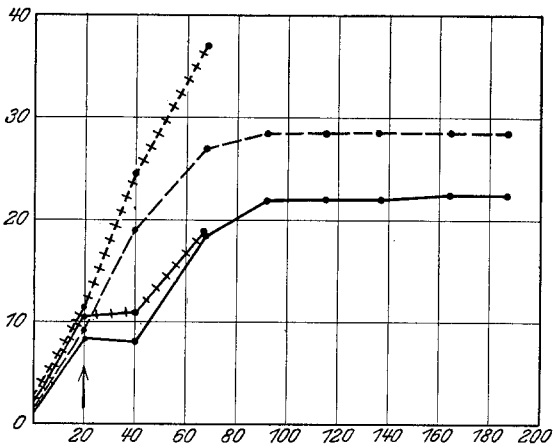
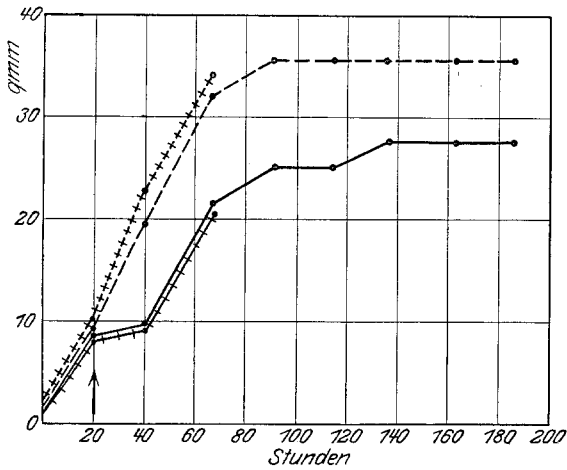


Abb. 4.
10 Min. Bestrahlung.
Bestrahlt M 932 a ———
Unbestr. Kontr. b - - - - -
Bestrahlt A 3178 a -|-|-|-|
Unbestr. Kontr. b + + + + +

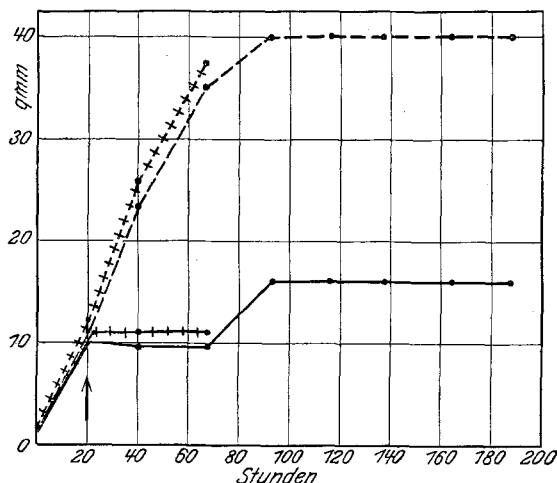
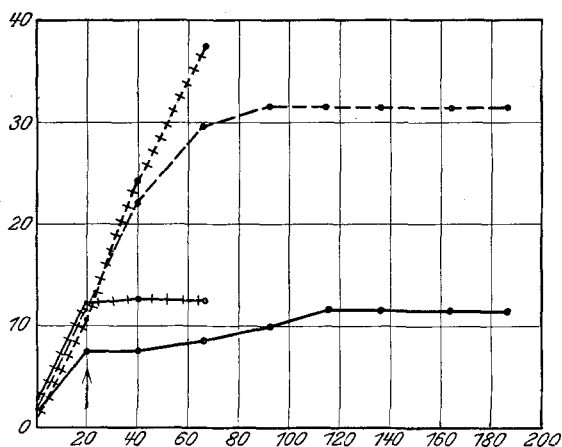


Abb. 5.
20 Min. Bestrahlung.
Bestrahlt M 928 a ———
Unbestr. Kontr. b - - - - -
Bestrahlt A 3177 a -|-|-|-|
Unbestr. Kontr. b + + + + +



ganzen Verlauf der Arbeit sehr geringfügigen Zuwachs zwischen zwei Messungen immer kurz als Stillstand bezeichnen und die beiden eben genannten Möglichkeiten dabei offen lassen. Wir sagen also jetzt, daß 1—20 Minuten Bestrahlung einen Stillstand für zunächst 24 Stunden bewirkte. Die Versuchs- und Kontrollkulturen wurden nach diesem insgesamt 48stündigem Zeitabschnitt nun aber nicht umgesetzt, sondern die A-Kulturen noch einen weiteren Tag, die M-Kulturen noch 6 weitere Tage ohne Umsetzung beobachtet. Es zeigte sich nun, daß die 1 und 2 Minuten Bestrahlten nach ihrer 24 stündigen Wachstumshemmung etwa ebenso stark weiterwuchsen, wie die Kontrollen es am Tage vorher getan hatten; die 1 Minute bestrahlte M-Kultur stand übrigens am 3. Tage nach der Bestrahlung nochmals still, um am 4. wieder etwas

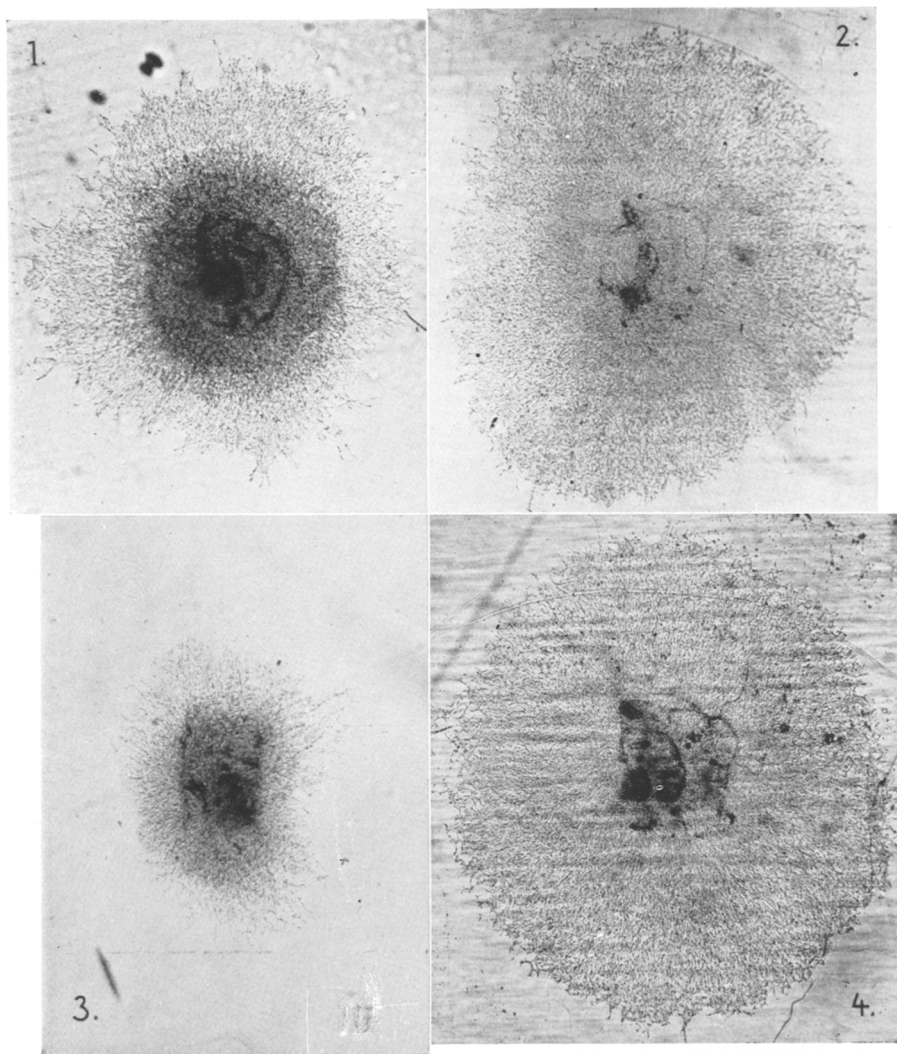


Abb. 6 (zu Tabelle 3 und Kurven Abb. 2 und 5).

- | | |
|--|------------------------------------|
| 1. M 931a, 2 Min. bestrahlt
Nach der Hemmungsperiode gewachsene
Zone hell. | 2. M 931b, unbestrahlte Kontrolle. |
| 3. M 928a, 20 Min. bestrahlt,
Stillstand seit der Bestrahlung. | 4. M 928b, unbestrahlte Kontrolle. |
- Photographie 70 Std. nach der Übertragung = 48 Std. nach der Bestrahlung.
Vergr. 9,4fach.

zu wachsen. Die Kurven der 1 und 2 Minuten Bestrahlten verlaufen also mit einem scharfen Knick, im übrigen aber parallel den Kontrollen. Von den 5, 10 und 20 Minuten Bestrahlten verharren die A-Kulturen

auch am 2. Tage nach der Bestrahlung im Stillstand. Von den entsprechenden M-Kulturen zeigten die 5 und 20 Minuten Bestrahlten am 2. Tage nach der Bestrahlung wieder ein langsames Wachstum, das aber bald wieder gänzlich aufhörte. Die 10 Minuten Bestrahlte hatte dagegen erst am 2. Tage nach der Bestrahlung wieder einen Wachstumsschub, um dann stehenzubleiben.

Morphologisch trat bei allen bestrahlten Kulturen während des Wachstumsstillstandes eine starke Anhäufung von Fetttropfen in den Zellen der Zone ein, die *vor* der Bestrahlung gewachsen war, ferner eine Verdichtung des Mittelstückes. Die Zellen der neuen, also *nach* der Hemmungszeit entstehenden Wachstumszone sind dagegen wieder fettarm (Abb. 6).

1. Übertragung nach der Bestrahlung.

(Tabelle 4, Kurven Abb. 7—11, Mikrophotographien Abb. 12.)

Bei der nun anschließenden Übertragung in einen neuen Nährtropfen wurden sowohl die bestrahlten als die unbestrahlten Kulturen geteilt und sämtlich auf Glimmer gesetzt. Die M-Kulturen wurden wiederum während eines etwas längeren, nämlich 4tägigen Zeitabschnittes, ohne Umsetzung beobachtet, die A-Kulturen während einer kürzeren 3tägigen Periode. Die Abkömmlinge der 5 Minuten bestrahlten A-Kultur nebst Kontrolle fehlen, weil Bakterien in ihnen auftraten.

Vergleichen wir zunächst die Abkömmlinge der unbestrahlten A- und M-Kulturen, so sehen wir bei den M-Kulturen als Folge des für Deckglaskulturen außerordentlich langen Verweilens im gleichen Nährmedium (7 Tage bei 39°) zweierlei Wachstumshemmungen:

1. Am 1. Tage nach der Umsetzung ist das Wachstum der M-Kulturen sehr schwach; es nähert sich erst am 2. Tage dem kräftigen Wachstumstypus der A-Kulturen.

Eine der M-Kulturen (M 969a) scheint sogar eine nachhaltige Hemmung davongetragen zu haben, kann aber auch durch unbekannte Einflüsse geschädigt sein.

2. Die M-Kulturen sind nach 63 stündigem Wachstum, ja sogar nach 86 stündigem Wachstum, durchschnittlich kleiner geblieben als die A-Kulturen nach 63 stündigem Wachstum.

Vergleichen wir außerdem die Abkömmlinge der unbestrahlten A-Kulturen mit ihren Stammkulturen der vorigen Übertragung, so sehen wir ein bedeutend stärkeres Wachstum bei den Stammkulturen. Zum Beispiel wurde die Stammkultur A 3179 b in 3 Tagen 33,6 qmm groß, während ihre Abkömmlinge A 3202 a und b nur 21,4 und 19,7 qmm erreichten. Wir finden nach den Beobachtungen meiner Mitarbeiterin Frl. *Marianne Albrecht* dieses Sinken der Wachstumsstärke sehr häufig dann, wenn ein 3 tägiger Zeitabschnitt ohne Übertragung (an Stelle des 2 täglichen) vorausging. Außerdem kommen aber noch andere Wachstumsschwankungen bei Gewebekulturen in Betracht, mit deren Untersuchung wir beschäftigt sind.

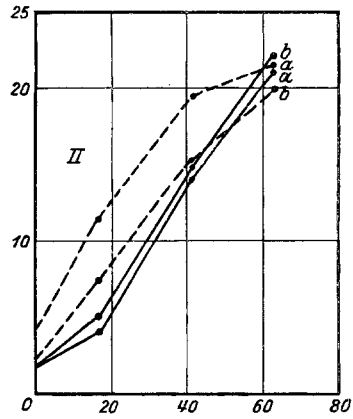
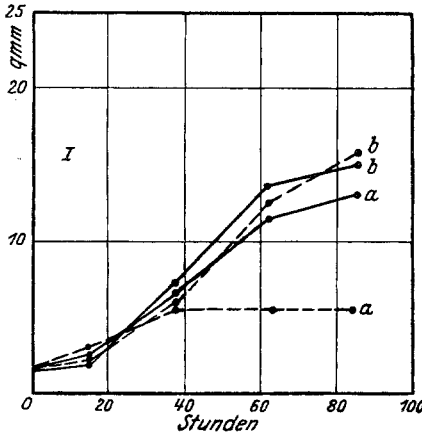


Abb. 7. 1. Übertragung nach 1minütiger Bestrahlung.

I. M 974a und b —————
 aus bestrahlt. M 930a
 M 969a und b - - - - -
 aus Kontrolle M 930b

II. A 3207a und b —————
 aus bestrahlt. A 3179a
 A 3202a und b - - - - -
 aus Kontrolle A 3179b

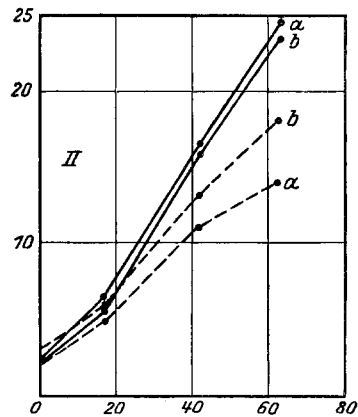
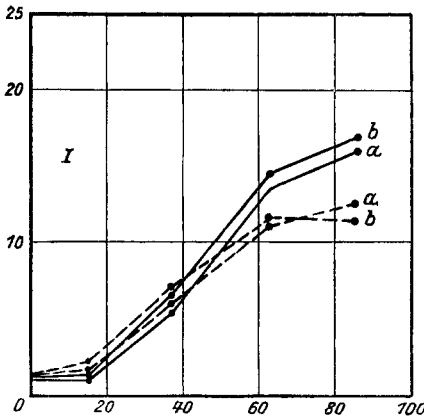


Abb. 8. 1. Übertragung nach 2minütiger Bestrahlung.

I. M 973a und b —————
 aus bestrahlt. M 931a
 M 970a und b - - - - -
 aus Kontrolle M 931b

II. A 3209a und b —————
 aus bestrahlt. A 3180a
 A 3203a und b - - - - -
 aus Kontrolle A 3180b

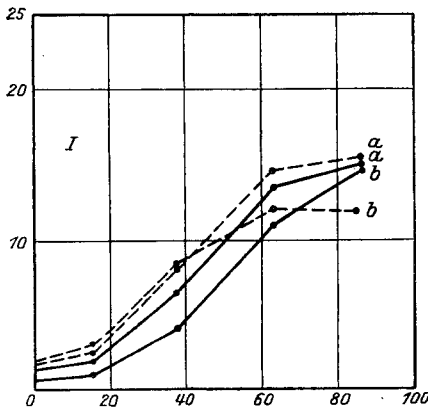


Abb. 9. 1. Übertragung nach 5minütiger Bestrahlung.

I. M 972a und b —————
 aus bestrahlt. M 929a
 M 968a und b - - - - -
 aus Kontrolle M 929b
 II. Wegen bakterieller Infektion
 unbrauchbar

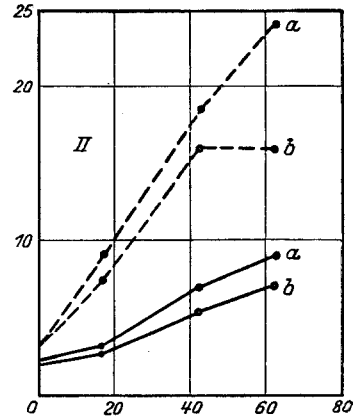
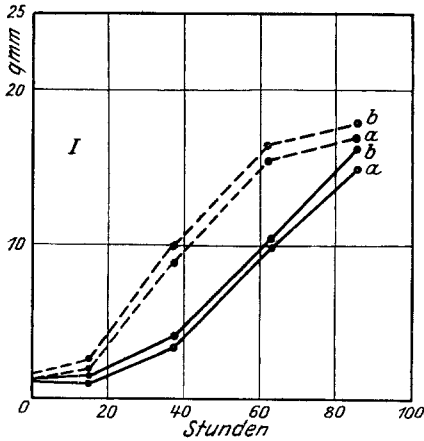


Abb. 10. 1. Übertragung nach 10minütiger Bestrahlung.

I. M 976a und b —————
aus bestrahlt. M 932a
M 971a und b — — — —
aus Kontrolle M 932b

II. A 3206a und b —————
aus bestrahlt. A 3178a
A 3201a und b — — — —
aus Kontrolle A 3178b

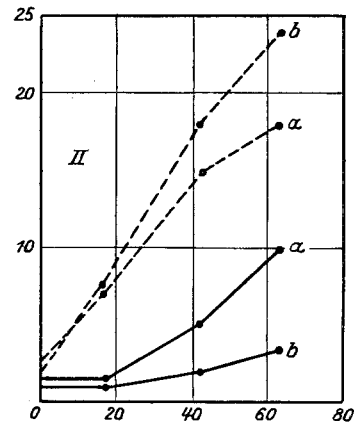
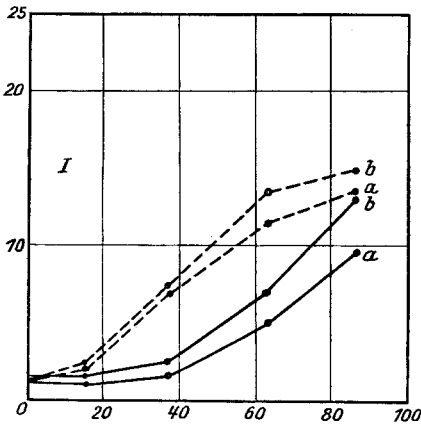


Abb. 11. 1. Übertragung nach 20minütiger Bestrahlung.

I. M 975a und b —————
aus bestrahlt. M 928a
M 967a und b — — — —
aus Kontrolle M 928b

II. A 3208a und b —————
aus bestrahlt. A 3177a
A 3205a und b — — — —
aus Kontrolle A 3177b

Wir kommen jetzt zu den Abkömmlingen der bestrahlten Kulturen. In den M-Kulturen zeigt sich die schon bei den Kontrollkulturen erwähnte Hemmung des 1. Tages, aber noch in verstärktem Maße. Die Unterschiede gegen die Abkömmlinge der Kontrollen sind bei den M-Kulturen sehr gering und ohne erkennbare Richtung. Die *Formen* der Wachstumskurven unterscheiden sich oft mehr als die erreichten *Endgrößen*. Man sieht dies beim Vergleich zwischen M 976a und b als

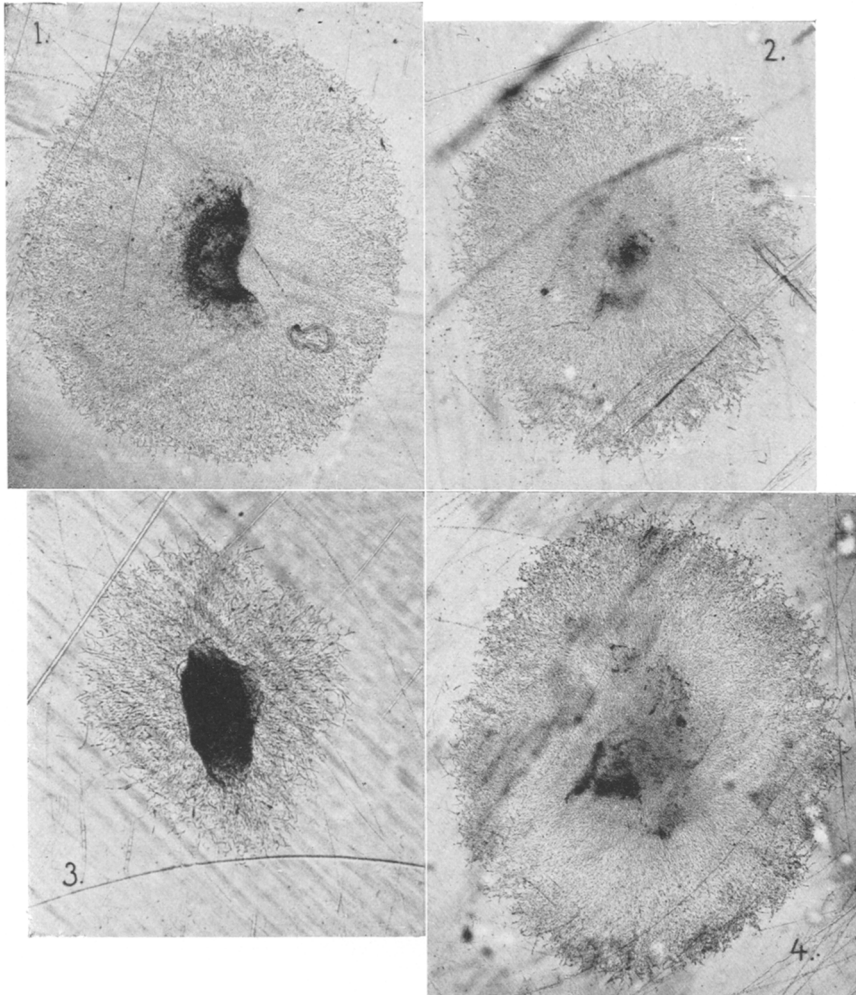


Abb. 12 (zu Tabelle 4 und Kurven Abb. 8, II und Abb. 11, II).

1. Übertragung nach der Bestrahlung.

1. A 3209b aus 2 Min. bestr. A 3180 a

Mittelstück dunkler, Wachstum etwas stärker als bei 2.

3. A 3208a aus 20 Min. bestr. A 3177 a

Wachstum stärker als bei der 20 Min. bestrahlten Abb. 6, 3., aber viel schwächer als 4. dieser Abbildung

2. A 3203b aus unbestrahlter Kontrolle A 3180b

Wachstum etwas schwächer als in der vorigen Übertragung

4. A 3205b aus unbestrahlter Kontrolle A 3177b

Wie 2.

Photographie 65 Std. nach der Übertragung. Vergr. 9,4fach.

Abkömmlinge der 10 Minuten bestrahlten M 932 a und andererseits M 971 a und b als Abkömmlinge der unbestrahlten Kontrolle M 932 b.

Tabelle 4. (1. Übertragung nach der Bestrahlung.)

Art der Kulturen	Stunden n. dem Umsetzen	Aus 1' bestrahlt. M 930a	Aus unbestr. Kontrolle M 930b	Aus 2' bestrahlt. M 931a	Aus unbestr. Kontrolle M 931b	Aus 5' bestrahlt. M 929a	Aus unbestr. Kontrolle M 929b	Aus 10' bestrahlt. M 932a	Aus unbestr. Kontrolle M 932b	Aus 20' bestrahlt. M 928a	Aus unbestr. Kontrolle M 928b
Hühnerherz-fibroblasten	0	M 974a	M 969a	M 973a	M 970a	M 972a	M 968a	M 976a	M 971a	M 975a	M 967a
	15,5	1,7	1,5	0,9	1,0	0,5	1,6	0,9	1,3	1,0	1,3
	37,5	2,3	1,9	1,2	1,2	0,8	2,5	0,9	2,1	1,0	1,2
	63,0	6,6	6,9	5,5	6,3	4,2	8,3	3,5	10,3	1,5	2,0
	86,5	11,5	13,7	13,5	11,1	11,0	14,5	9,6	15,5	7,1	7,3
17. Übertragung	0	13,2	15,1	17,1	12,5	15,1	12,2	14,6	17,3	9,6	13,4
	17,0	13,7	14,5	16,3	11,5	14,8	15,5	16,6	18,0	13,3	13,0
	41,0	21,0	22,0	23,4	14,2	18,0					15,0
	63,5										
Hühnerherz-fibroblasten	0	A 3207a	A 3202a	A 3208a	A 3203a						
	17,0	1,2	3,8	2,5	2,0						
	41,0	4,0	5,1	6,2	4,7						
	63,5	13,7	14,5	16,7	10,7						
		21,0	22,0	24,5	14,2						
17. Übertragung	0	A 3207b	A 3207b	A 3209b	A 3203b						
	17,0	1,2	3,8	2,5	2,0						
	41,0	4,0	5,1	6,2	4,7						
	63,5	13,7	14,5	16,7	10,7						
		21,0	22,0	24,5	14,2						
Hühnerherz-fibroblasten	0	A 3207c	A 3202c	A 3208c	A 3203c						
	17,0	1,2	3,8	2,5	2,0						
	41,0	4,0	5,1	6,2	4,7						
	63,5	13,7	14,5	16,7	10,7						
		21,0	22,0	24,5	14,2						
17. Übertragung	0	A 3207d	A 3207d	A 3209d	A 3203d						
	17,0	1,2	3,8	2,5	2,0						
	41,0	4,0	5,1	6,2	4,7						
	63,5	13,7	14,5	16,7	10,7						
		21,0	22,0	24,5	14,2						

Tabelle 5. (2. Übertragung nach der Bestrahlung.)

Art der Kulturen	Stunden nach dem Umsetzen	Aus 1' bestrahlt. A 3179a	Aus unbestr. Kontrolle A 3179b	Aus 2' bestrahlt. A 3209a	Aus unbestr. Kontrolle A 3209b	Aus 5' bestrahlt. A 3203a	Aus unbestr. Kontrolle A 3203b	Aus 10' bestrahlt. A 3206a	Aus unbestr. Kontrolle A 3206b	Aus 20' bestrahlt. A 3208a	Aus unbestr. Kontrolle A 3208b
Hühnerherz-fibroblasten	0	A 3225a	A 3226a	A 3227a	A 3228a	A 3229a	A 3230a	A 3231a	A 3232a	A 3233a	A 3234a
	17,5	1,3	0,9	1,1	1,5	1,2	1,4	1,0	0,7	0,8	0,6
	39,5	5,2	4,0	5,1	7,5	5,2	5,7	3,5	1,1	3,4	0,6
		11,8	12,3	12,5	13,8	14,5	14,5	7,2	1,1	9,0	0,6
18. Übertragung	0	A 3225b	A 3226b	A 3227b	A 3228b	A 3229b	A 3230b	A 3231b	A 3232b	A 3233b	A 3234b
	17,5	1,3	0,9	1,1	1,5	1,2	1,4	1,0	0,7	0,8	0,6
	39,5	5,2	4,0	5,1	7,5	5,2	5,7	3,5	1,1	3,4	0,6
		11,8	12,3	12,5	13,8	14,5	14,5	7,2	1,1	9,0	0,6
18. Übertragung	0	A 3225c	A 3226c	A 3227c	A 3228c	A 3229c	A 3230c	A 3231c	A 3232c	A 3233c	A 3234c
	17,5	1,3	0,9	1,1	1,5	1,2	1,4	1,0	0,7	0,8	0,6
	39,5	5,2	4,0	5,1	7,5	5,2	5,7	3,5	1,1	3,4	0,6
		11,8	12,3	12,5	13,8	14,5	14,5	7,2	1,1	9,0	0,6

Die Abkömmlinge der 1 Minute bestrahlten A-Kulturen zeigen außer einer geringen Verschiedenheit der Kurvenform keine nennenswerte Abweichung gegenüber den Abkömmlingen der Kontrollen. Die Abkömmlinge der 2 Minuten bestrahlten A-Kultur sind sogar besser gewachsen als die Kontrollenabkömmlinge (Mikrophotographie Abb. 12, Nr. 1 und 2). Die Abkömmlinge der 10 und 20 Minuten bestrahlten A-Kulturen wachsen zum Teil wieder ganz leidlich, bleiben aber stark hinter den Abkömmlingen der Kontrollen zurück (Mikrophotographie Abb. 12, Nr. 3 und 4).

Morphologisch sind die Abkömmlinge der Bestrahlten noch durch ihr dunkles Mittelstück von den Abkömmlingen der Kontrollen leicht zu unterscheiden. Die Wachstumszone der mit den Kontrollen gleich starken (oder etwas stärkeren) Abkömmlingen von kurz Bestrahlten stimmt auch bezüglich ihrer hellen, fettarmen, gleichmäßigen Zellen mit den Kontrollen überein. Bei den Abkömmlingen der lange Bestrahlten ist die Wachstumszone nicht nur kleiner, sondern auch lockerer und unregelmäßiger als bei den Abkömmlingen der entsprechenden Kontrollen.

2. Übertragung nach der Bestrahlung.

(Tabelle 5, Kurven Abb. 13—16, Mikrophotographien Abb. 17—19.)

Durch Messung verfolgt wurden in dieser weiteren Übertragung nur noch die A-Kulturen. Aus den je 2 Abkömmlingen der 1, 2, 10 und 20 Minuten bestrahlten A-Kulturen wurden also in dieser Übertragung durch Teilung je 4 Kulturen, von den zugehörigen Kontrollenabkömmlingen wurde immer nur 1 Unterkultur durch Messung verfolgt.

Die Beobachtung in dieser Übertragung wurde auf die übliche 2 tägige Wachstumsperiode beschränkt, um nicht noch weitere Schäden zu setzen. Die Kontrollabkömmlinge wuchsen nämlich in dieser Übertragung abermals etwas schlechter als in der vorausgehenden.

Die Abkömmlinge der 1 Minute Bestrahlten stimmten untereinander und mit den Kontrollabkömmlingen im Wachstum wieder überein. Der bei den Abkömmlingen der 2 Minuten bestrahlten A-Kulturen in der vorigen Übertragung angedeutete Überschuß über die Kontrollabkömmlinge war in dieser Übertragung auch noch angedeutet. Bei den Abkömmlingen der 10 und 20 Minuten Bestrahlten zeigte je ein (von der gleichen Kultur der vorigen Übertragung stammendes) Paar ungefähr gleiches Wachstum wie der Kontrollabkömmling, während das andere Paar in beiden Gruppen jede Spur von Wachstum vermissen ließ. Die beiden von 10 und 20 Minuten bestrahlten A-Kulturen stammenden gut wachsenden Paare zeigen in dieser 2. Übertragung nur noch einen geringen Größenunterschied gegenüber den Abkömmlingen der 1 und 2 Minuten bestrahlten A-Kulturen.

Morphologisch ist bei den Kontrollenabkömmlingen jetzt ebenfalls ein Dunkelwerden des Mittelstückes (durch Nekrosen) eingetreten, eine offenbare Folge der beiden vorausgegangenen 3 tägigen Verweilzeiten in

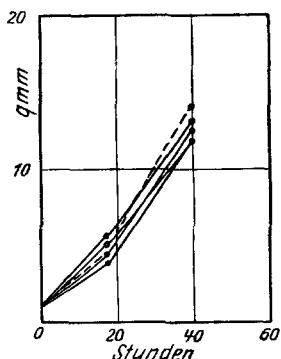


Abb. 13. 2. Übertragung nach 1minütiger Bestrahlung.
Bestrahltenabkömmlinge —————
A 3225a und b aus A 3207a
A 3226a und b aus A 3207b
Kontrollenabkömmling - - - - -
A 3218a aus A 3202b.

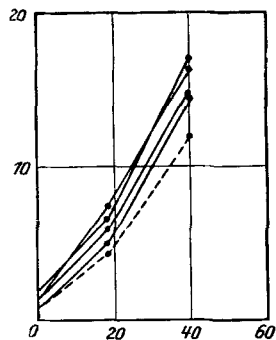


Abb. 14. 2. Übertragung nach 2minütiger Bestrahlung.
Bestrahltenabkömmlinge —————
A 3227a und b aus A 3209a
A 3228a und b aus A 3209b
Kontrollenabkömmling - - - - -
A 3220a aus A 3203b

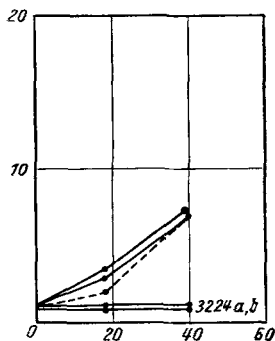


Abb. 15. 2. Übertragung nach 10minütiger Bestrahlung.
Bestrahltenabkömmlinge —————
A 3223a und b aus A 3206a
A 3224a und b aus A 3206b
Kontrollenabkömmling - - - - -
A 3216a aus A 3201b

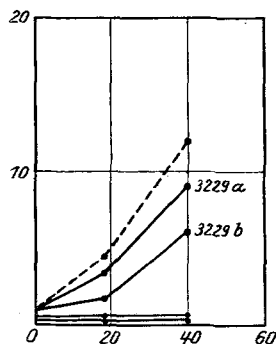


Abb. 16. 2. Übertragung nach 20minütiger Bestrahlung.
Bestrahltenabkömmlinge —————
A 3229a und b aus A 3208a
A 3230a und b aus A 3208b
Kontrollenabkömmling - - - - -
A 3221a aus A 3205a

demselben Nährmedium. Diese Anäherung an die Abkömmlinge der Bestrahlten beruht also lediglich auf einer Schädigung der Kontrollenabkömmlinge. Immerhin ist die fortschreitende „Erholung“ der Abkömmlinge von Bestrahlten jetzt sogar bei einer Kultur zu sehen, die von einer 20 Minuten Bestrahlten stammt. Auf der Abb. 17 ist die am besten gewachsene dieser Gruppe (A 3229 a) wiedergegeben: sie zeigt

eine bedeutend dichtere und regelmäßigere Wachstumszone als die Kultur A 3208 a, deren Unterkultur sie ist und hat schlanke, fettarme Zellen (Abb. 18).

Die zweite durch Teilung von A 3208 a entstandene Kultur A 3229 b ist zwar bezüglich der gemessenen Wachstumsgröße ähnlich; die Zellen

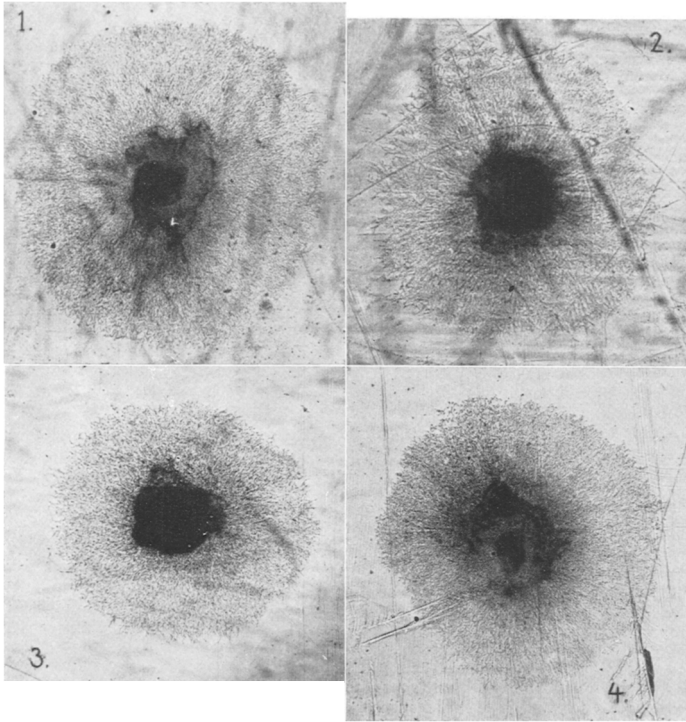


Abb. 17 (zu Tabelle 5 und Kurven Abb. 14 und 16).

2. Übertragung nach der Bestrahlung.

1. A 3228 a aus A 3209 b

Abkömmling einer 2 Minuten Bestrahlten;
Wachstum wieder ein wenig größer
als 2. Die dunklen Punkte sind Fehler
in der photographischen Platte

2. A 3220 a aus A 3203 b

Abkömmling einer Kontrolle; Mittelstück
dunkel, eine Folge von zwei 3tägigen
Verweilperioden im selben Nährmedium

3. A 3229 a aus A 3208 a

Abkömmling einer 20 Minuten Bestrahlten;
Wachstumszone nur noch etwas kleiner
als 4.

4. A 3221 a aus A 3205 a

Abkömmling einer Kontrolle; Mittelstück
wie bei 2.

Photographie bereits 41 Std. nach der Übertragung, Wachstumszonen von 1., 2. und 4. daher kleiner als auf Abb. 12 (65 Std. nach Übertragung photographiert). Vergr. 9,4fach.

der Wachstumszone sind aber ganz mangelhaft gegliedert, und die plumpen Bänder, die statt der schlanken Spindelzellen vorliegen, sind von großen Fetttropfen erfüllt (Abb. 19).

Die von 1 bzw. 2 Minuten Bestrahlten abstammenden Kulturen A 3225a, A 3226a und A 3227b wurden fixiert und mit Hämalaun und Sudan oder Hämalaun allein

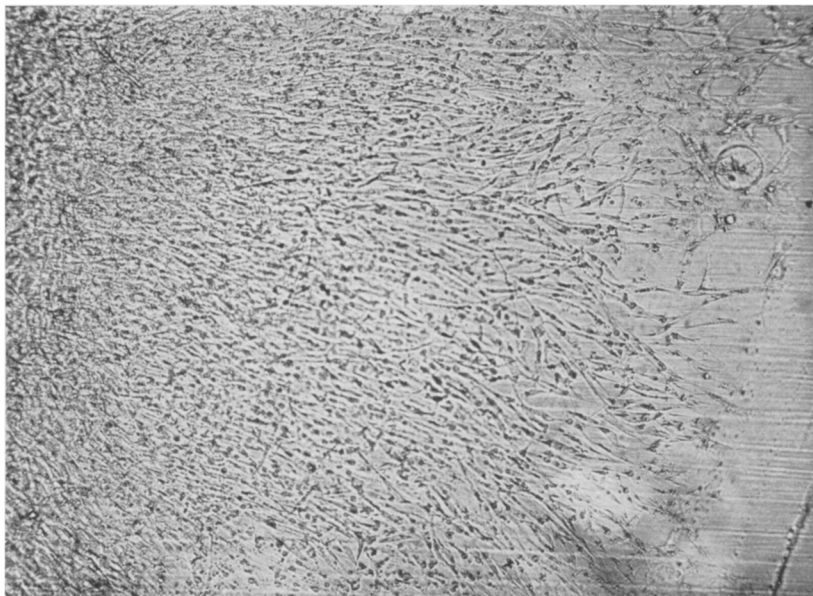


Abb. 18 (zu Tabelle 5 und Kurve Abb. 16). 2. Übertragung nach 20minütiger Bestrahlung. A 3229a (vgl. Abb. 17, 3) stärker vergrößert. Schlanke, spindelförmige Zellen mit nur kleinen Fetttropfen. Photographie 41 Std. nach Übertragung. Vergr. 90fach.

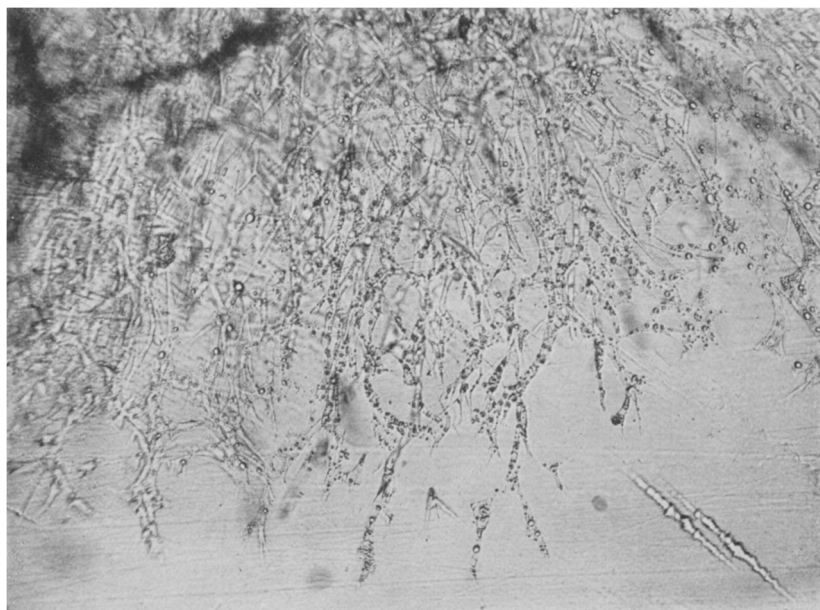


Abb. 19 (zu Tabelle 5 und Kurve Abb. 16). 2. Übertragung nach 20minütiger Bestrahlung. A 3229b, wie die Kultur der Abb. 18 durch Teilung von A 3208a entstanden, jedoch morphologisch völlig abweichend: plumpe ungegliederte Bänder mit großen Fetttropfen. Photographie 41 Std. nach Übertragung. Vergr. 90fach.

gefärbt. Man konnte sich auch in den gefärbten Präparaten überzeugen, daß Kerne und Cytoplasma in nichts von den Fibroblasten durchschnittlich wachsender, unbestrahlter Kulturen verschieden waren, ferner, daß alle vorhandenen Tröpfchen bzw. Vakuolen in den Zellen sudanpositiv waren.

3. und 4. Übertragung nach der Bestrahlung.

Bei je 2 Abkömmlingen der 1 und der 2 Minuten bestrahlten Kulturen und je 2 Abkömmlingen der zugehörigen unbestrahlten Vergleichskulturen wurde noch in der 4. Übertragung nach der Bestrahlung das Wachstum gemessen. Eine weitere Verschlechterung im Wachstum der Vergleichskulturen war nicht zu beobachten. Die Abkömmlinge der Bestrahlten wuchsen ein wenig besser als die der Kontrollen, so daß zum mindesten hemmende Spätwirkungen der Bestrahlung von 1 oder 2 Minuten auch jetzt auszuschließen sind. Um die Überschüsse als Förderungswirkung anzusprechen, dafür sind sie zu gering: auch sind wegen der geringen Zahl von 8 Kulturen, die in dieser Übertragung noch gemessen wurden, allgemeine Schlüsse nicht gestattet. Auf tabellarische Wiedergabe der Werte kann also verzichtet werden.

Übersicht über die 1. Reihe.

Bei allen angewandten Bestrahlungsdauern von 2 Minuten an wurde ein völliger Stillstand, bei 1 Minute Bestrahlung ein fast völliger Stillstand des Wachstums auf 1 Tag erzielt. Bei den kurzen Bestrahlungen ging das Wachstum dann ungestört wieder weiter, bei den längeren bis zu 20 Minuten kam es nur allmählich wieder in Gang und blieb schwach, bei 60 Minuten Einwirkung blieb der völlige Stillstand bestehen, und zwar auch bei mehrfacher Übertragung. Zur Beseitigung der Hemmung bei den 1—20 Minuten bestrahlten Kulturen war keine Übertragung in ein neues Nährmedium nötig, sondern die Hemmung verschwand oder verringerte sich je nach der Bestrahlungszeit früher oder später beim Verweilen der Kultur in dem gleichen Medium. *Kiaer* hat offenbar deswegen in dem neuen Nährmedium die Ursache für das Aufhören der Hemmung erblickt, weil er nach nur 48 stündiger Beobachtungszeit im gleichen Medium, also 24 Stunden nach der Bestrahlung, die Umsetzung vornahm: 24 Stunden nach der Bestrahlung ist aber ungefähr die Mindestdauer der Hemmungsperioden, wie wir gefunden haben.

Bei Verfolgung durch weitere Übertragungen sahen wir im allgemeinen ein weiteres Schwinden der Hemmungseinflüsse, so daß manche Abkömmlinge der 20 Minuten Bestrahlten sich von denen der kürzer Bestrahlten und von denen der nicht bestrahlten Kulturen kaum mehr unterschieden. Andererseits fanden wir bei manchen von den 10 oder 20 Minuten Bestrahlten nach anscheinender Erholung in der 1. Übertragung nach der Bestrahlung wieder einen Wachstumsstillstand in der 2. Übertragung. Da es sich um gleichmäßige Reaktionen

zweier Paare und gerade um Abkömmlinge der am längsten Bestrahlten handelt, möchten wir diesen Wachstumsstillstand als Spätfolge der Bestrahlung deuten, obwohl gelegentlich auch bei einer unbestrahlten Vergleichskultur (M 969 a, Kurve Abb. 7) ein plötzlicher Stillstand eintrat, wie bereits erwähnt wurde.

Daß wir mit kürzeren Bestrahlungszeiten als *Kiaer* die entsprechenden Wirkungen erzielten, dürfte an der größeren Stärke unserer Lampe im Vergleich zu der kleineren Kromayerlampe *Kiaers* liegen, ein Unterschied, der nicht einmal durch den Abstand von 65 cm bei uns gegen 6 cm bei *Kiaer* ausgeglichen wurde.

Von morphologischen Befunden hatten wir Verfettung während der Hemmungszeit festgestellt, ferner einmal, in der 2. Übertragung nach Bestrahlung die Bildung fettreicher ungegliederter Bänder gefunden. Die morphologischen Vorgänge bei der Stilllegung und dem Wiedereintritt des Wachstums wurden erst in der 2. Versuchsreihe genauer beobachtet.

2. Reihe.

Als Strahlenquelle dieser 2. Reihe diente eine Quecksilberdampf-Quarzlampe („Künstliche Höhensonne“ des Handels). Sie brannte 10 Minuten nach der Volleinschaltung mit gleichbleibender Helligkeit bei 6,5 Ampere und 130 Volt Klemmenspannung. Ihre Helligkeit betrug (ohne Kappe, Strahlung nach unten) 1600 HL., war also doppelt so stark wie die der Quarzlampe der 1. Reihe. Auch die Ultraviolettstärke dieser zweiten Quarzlampe war (nach Angabe von Herrn Dr. *Rüttenauer*) mehr als doppelt so groß wie die der ersten Lampe.

Um nun ähnliche Strahlenstärken wie in der ersten Versuchsanordnung zu erreichen, wurde bei der 2. Reihe ein Abstand von 100 cm gegen 65 cm in der 1. Reihe zwischen Quarzröhre und Kulturen genommen.

Die erste Quarzlampe war mit 600–700 HL. angesetzt worden; genau würde $676 \cdot 100^2 = 1600 \cdot 65^2$ sein.

Die Temperatur wurde in dieser 2. Reihe dadurch geregelt, daß die Kulturen auf ihrem Tablett während des Versuches in einem *Wasserbad* lagen, und zwar 3 cm unter der Wasseroberfläche. Die Strahlen der Quarzlampe durchsetzten also 97 cm Luft + 3 cm Wasser + 1 Quarzdeckglas, um zur Kultur zu gelangen. Die Kulturen waren diesmal mit genau passenden Blechkappen einzeln zugedeckt, die je nach der Dauer der Bestrahlung abgenommen wurden.

Die zur niedrigsten Bestrahlungszeit gehörige Kontrollkultur befand sich jedesmal während der ganzen Versuches gemeinsam mit den zu bestrahlenden im Wasserbade und blieb dauernd von der Blechkappe bedeckt.

1. und 2. Versuch.

(Tabelle 6, Kurven Abb. 20–25, Mikrophotographien Abb. 26–45.)

Da in beiden Versuchen dieser Reihe die gleichen Bestrahlungszeiten angewandt wurden, so können Tabellen, Kurven und Ergebnisse beider Reihen gemeinsam besprochen werden.

1. *Versuch.* Es wurden 3 Stämme gleichzeitig benutzt.

1. Fibroblasten vom Hühnerembryonenherz, 70. Übertragung. Diese Kulturen stammen von den im Mai 1929 in der 16. Übertragung gewesenen Kulturen A 3177 a bis A 3181 a, die damals als unbestrahlte Kontrollen im 2. Versuch der 1. Reihe (Tabelle 1) dienten. 6 Versuchskulturen (A 4289 b bis A 4294 b) auf Quarzdeckgläsern, 6 Kontrollkulturen (A 4289 a bis A 4294 a) auf Glimmer.

2. Fibroblasten vom Hühnerembryonenherz, 19. Übertragung. 6 Versuchskulturen (A 4283 b bis A 4288 b) auf Quarzdeckgläsern, 6 Kontrollkulturen (A 4283 a bis A 4288 a) auf Glimmer.

3. Fibroblasten aus der Iris vom Hühnerembryo, 46. Übertragung. 6 Versuchskulturen (M 1688 a bis M 1693 a) auf Quarzdeckgläsern, 6 Kontrollkulturen (M 1688 b bis M 1693 b) auf Glimmer.

Diese Fibroblasten stammten ursprünglich aus Mischkulturen von Epithel + Fibroblasten der Iris, waren aber durch Untergang des epithelialen Anteils seit 20 Übertragungen reine Fibroblastenkulturen geworden und sind es seither geblieben. (Über diesen Vorgang wird an anderer Stelle genauer berichtet.)

Alle 36 Kulturen hatten Plasma von dem gleichen Huhn sowie Extrakt von dem gleichen Bereitungstage als Nährmedium erhalten. In dem Wasserbade befanden sich gleichzeitig die 18 Versuchskulturen und, wie bereits erwähnt, 3 von den Kontrollkulturen (A 4290 a, A 4284 a, M 1692 b). Die übrigen Kontrollen verblieben im Brutschrank.

Die beiden Herzfibroblastengruppen gelangten etwa 20 Stunden nach der Übertragung, die Irisfibroblastengruppe etwa 21 Stunden nach der Übertragung zur Bestrahlung.

Bestrahlungszeiten: Von jedem Stamm 1 Kultur je 20 Sekunden, 1, 2, 4, 7, 15 Minuten. Temperatur des Wasserbades während des Versuches 38—39°.

Da bei 3 Paaren der Irisfibroblasten durch Ring- und Lochbildung beim Wachstum die Messungsergebnisse unsicher oder unbrauchbar wurden, so wurde der Versuch mit Abkömmlingen des gleichen Stammes (von unbestrahlten Kulturen) 3 Wochen später wiederholt:

2. *Versuch.* Fibroblasten aus der Iris vom Hühnerembryo, 55. Übertragung. (Gleicher Stamm wie im 1. Versuch.) 6 Versuchskulturen (M 1764 a bis M 1769 a) auf Quarzdeckgläsern, 6 Kontrollkulturen (M 1764 b bis M 1769 b) auf Glimmer.

Alle 12 Kulturen im gleichen Plasma und Extrakt. Bestrahlung: 24 Stunden nach der Übertragung. Bestrahlungszeiten: Wie im 1. Versuch. Temperatur des Wasserbades während des Versuches: 38,5—39,5°; Kontrollkultur M 1765 b, zur 20 Sekunden Bestrahlten gehörig, im Wasserbade, die übrigen im Brutschrank.

In den 4 Gruppen, die im 1. und 2. Versuch dieser Reihe insgesamt zur Beobachtung kamen, wurden die bestrahlten Kulturen mindestens

während 4 Tagen nach der Bestrahlung (= 5 Tage nach der Übertragung) durch Messungen und teilweise auch photographisch verfolgt. Die unbestrahlten Kontrollen wurden jedoch nur 3 Tage im gleichen Nährmedium verfolgt und dann umgesetzt. Die Kontrollkulturen gehörten nämlich zugleich einer Beobachtungsreihe über Wachstumsschwankungen ohne künstliche Einflüsse an und mußten deshalb den üblichen Umsetzungsrhythmus beibehalten (jede Woche 2 Wachstumsperioden von 2 Tagen und 1 Periode von 3 Tagen). Die Kenntnis der „spontanen“ Wachstumsschwankungen kann, wie bereits bei der 1. Reihe, 2. Versuch, erwähnt wurde, auch für die Bewertung der Strahlennachwirkung, wie überhaupt für jeden fortlaufenden Versuch mit Gewebekulturen von Bedeutung sein.

Tabelle 6.

Art der Kulturen	Stunden n. dem Umsetzen	20 Sek. bestrahlt	Un- bestr. Kontr.	1 Min. bestrahlt	Un- bestr. Kontr.	2 Min. bestrahlt	Un- bestr. Kontr.	4 Min. bestrahlt	Un- bestr. Kontr.	7 Min. bestrahlt	Un- bestr. Kontr.	15 Min. bestrahlt	Un- bestr. Kontr.
Hühnerherz-fibroblasten	0	A4290b	A4290a	A4291b	A4291a	A4293b	A4293a	A4292b	A4292a	A4294b	A4294a	A4289b	A4289a
	19,0	0,8 5,4	1,7 7,2	0,8 4,7	0,8 5,0	0,7 5,0	1,3 ein- getrocknet	1,0 4,5	1,4 5,5	1,5 3,8	1,4 4,2	1,1 5,1	2,2 4,3
70. Übertragung	→ 42,5 65,5 92,0 114,5	11,5 21,7 29,0 35,3	21,4 32,6 um- ges.	6,2 14,0 21,3 28,2	16,2 26,3 um- ges.	5,0 10,0 17,6 22,3	ein- getrocknet	4,5 4,5 5,4 5,4	15,0 25,0 um- ges.	3,8 7,6 10,1 13,6	12,4 20,4 um- ges.	5,8 5,8 7,1 8,8	16,0 23,2 um- ges.
Hühnerherz-fibroblasten	0	A4284b	A4284a	A4285b	A4285a	A4288b	A4288a	A4287b	A4287a	A4286b	A4286a	A4283b	A4283a
	19,0	1,4 5,1	1,6 5,2	0,6 4,3	0,6 4,3	1,0 3,7	1,1 3,9	1,2 4,2	1,2 5,0	0,8 4,1	0,9 3,4	0,9 3,7	0,5 3,1
19. Übertragung	→ 40,0 65,5 92,0 115,0	7,5 15,0 19,6 21,8	12,0 23,0 um- ges.	4,5 9,5 13,3 13,3	12,4 24,3 um- ges.	3,7 9,4 11,0 11,0	9,8 19,8 um- ges.	3,8 5,2 9,3 11,7	12,9 24,2 um- ges.	3,4 3,4 3,4 3,4	8,6 18,7 um- ges.	3,6 3,7 3,7 3,7	10,4 19,7 um- ges.
Hühneriris-fibroblasten	0	M 1692a	M 1692b	M 1691a	M 1691b	M 1693a	M 1693b	M 1689a	M 1689b	M 1690a	M 1690b	M 1688a	M 1688b
	20,0	1,3 7,2	1,1 6,7	1,3 6,5	1,3 7,5	Ring- bil- dung	Ring- bil- dung	Lö- cher- bil- dung	Ring- bil- dung	0,9 6,5	1,0 6,3	Loch- bil- dung	Ring- bil- dung
46. Übertragung	→ 44,5 68,5 93,5 116,0	14,7 19,5 24,5 28,5	19,1 30,2 um- ges.	8,1 18,4 23,0 26,3	20,4 29,6 um- ges.					7,3 10,2 13,4 16,7	17,4 25,5 um- ges.		
Hühneriris-fibroblasten	0	M 1765a	M 1765b	M 1768a	M 1768b	M 1767a	M 1767b	M 1764a	M 1764b	M 1768a	M 1768b	M 1769a	M 1769b
	23,0	2,1 12,1	0,9 9,8	1,2 9,4	1,4 10,2	1,5 10,1	1,1 9,3	1,0 9,4	0,7 6,0	1,1 5,7	1,3 7,0	1,1 6,6	1,0 6,7
55. Übertragung	→ 44,5 67,5 91,0 114,0 142,0 162,0	17,6 28,3 35,3 40,4 40,4 40,4	22,4 32,3 um- ges.	10,8 20,4 20,4 25,0 27,7	23,0 33,1 um- ges.	11,2 11,2 18,0 20,6 20,6	21,9 32,3 um- ges.	9,2 9,2 9,2 9,2 9,2	17,0 22,9 um- ges.	6,1 6,1 7,7 9,1 9,1	16,5 22,5 um- ges.	5,7 5,7 5,7 5,7 5,7	14,1 17,6 um- ges.

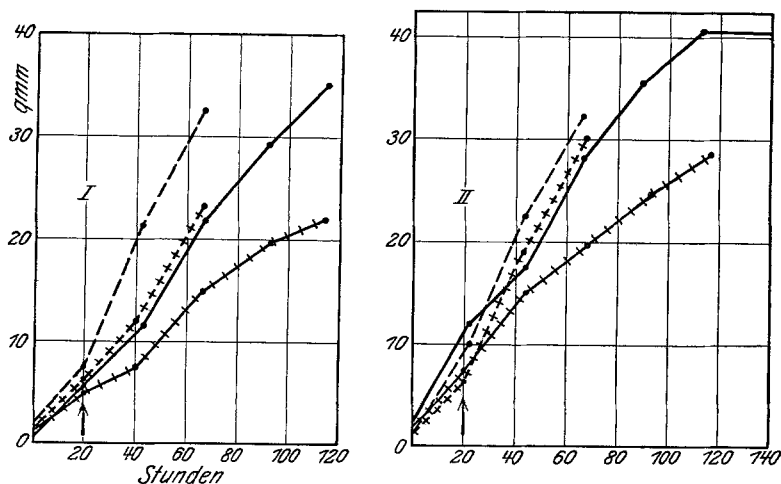


Abb. 20. 20 Sek. Bestrahlung.

I. Herzfibroblasten

Bestrahlt A 4290 b —————
 Unbestrahlte Kontr. a - - - - -
 Bestrahlt A 4284 b -|-|-|-|-
 Unbestrahlte Kontr. a + + + + +

II. Irisfibroblasten

Bestrahlt M 1765 a —————
 Unbestrahlte Kontr. b - - - - -
 Bestrahlt M 1692 a -|-|-|-|-
 Unbestrahlte Kontr. b + + + + +

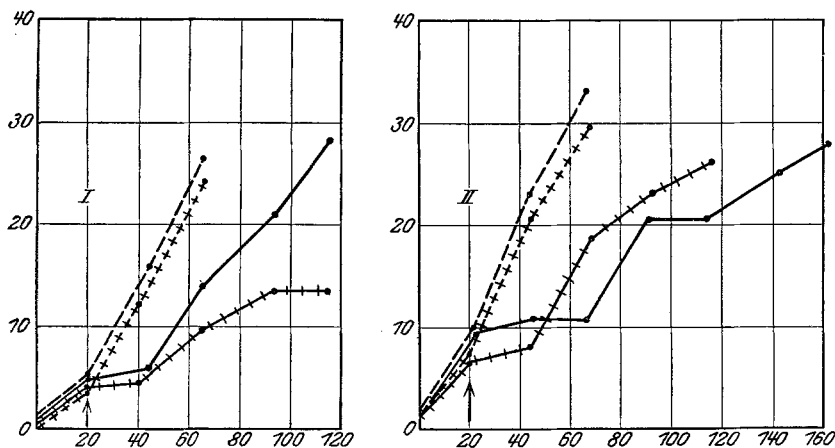


Abb. 21. 1 Min. Bestrahlung.

I. Herzfibroblasten

Bestrahlt A 4291 b —————
 Unbestrahlte Kontr. a - - - - -
 Bestrahlt A 4285 b -|-|-|-|-
 Unbestrahlte Kontr. a + + + + +

II. Irisfibroblasten

Bestrahlt M 1766 a —————
 Unbestrahlte Kontr. b - - - - -
 Bestrahlt M 1691 a -|-|-|-|-
 Unbestrahlte Kontr. b + + + + +

Wir beschränkten also in dieser 2. Reihe den Vergleich der bestrahlten und unbestrahlten Kulturen in allen 4 Gruppen auf eine dreitägige Wachstumsperiode, also auf 2 Tage nach erfolgter Bestrahlung. Für diesen Vergleich sind die Kurven also nur bis zur 65. (bzw. 68.) Stunde

Messungsergebnisse.

Der in der 1. Versuchsreihe beobachtete etwa rechtwinkelige Knick der Wachstumskurve als Ausdruck eines zunächst 24 stündigen Stillstandes infolge der Bestrahlung fand sich auch in dieser 2. Reihe bei einer Bestrahlungsdauer von 1 Minute aufwärts, und zwar ausnahmslos bei

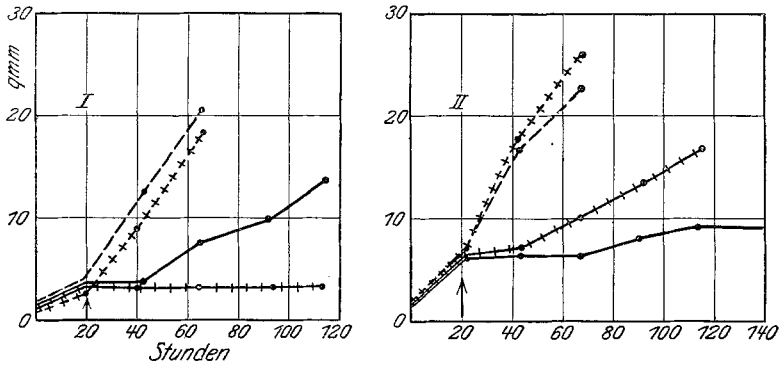


Abb. 24. 7 Min. Bestrahlung.

I. Herzfibroblasten

Bestrahlt A 4294 b —————
 Unbestrahlte Kontr. a - - - - -
 Bestrahlt A 4286 b -|-|-|-|-
 Unbestrahlte Kontr. a + + + + +

II. Irisfibroblasten

Bestrahlt M 1768 a —————
 Unbestrahlte Kontr. b - - - - -
 Bestrahlt M 1690 a -|-|-|-|-
 Unbestrahlte Kontr. b + + + + +

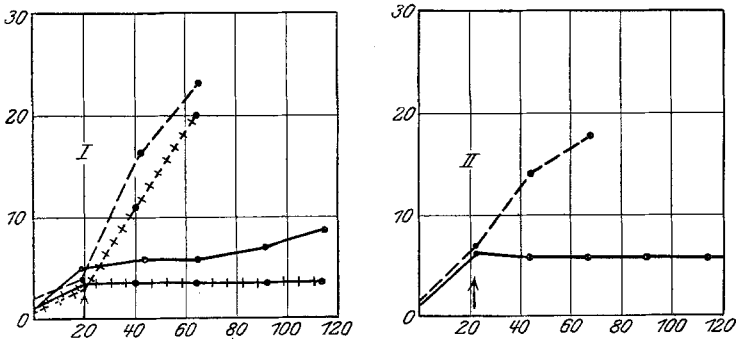


Abb. 25. 15 Min. Bestrahlung.

I. Herzfibroblasten

Bestrahlt A 4289 b —————
 Unbestrahlte Kontr. a - - - - -
 Bestrahlt A 4283 b -|-|-|-|-
 Unbestrahlte Kontr. a + + + + +

II. Irisfibroblasten

Bestrahlt M 1769 a —————
 Unbestrahlte Kontr. b - - - - -

allen Kulturen aller 4 Gruppen. Die Gesetzmäßigkeit geht soweit, daß wieder bei den 1 oder 2 Minuten bestrahlten Kulturen auf die Stillstandszeit ein kräftiger Wachstumsschub folgte. Die Hemmungsperiode dauerte bei den Herzfibroblasten auch wieder rund 1 Tag, ebenso bei den Irisfibroblasten der 46. Übertragung (2 Minuten Bestrahlte fehlen hier).

Bei den Irisfibroblasten der 55. Übertragung betrug die Hemmungszeit jedoch 2 Tage, dafür zeigte die 1 Minute Bestrahlte 2 Tage nach der Bestrahlung einen nochmaligen eintägigen Wachstumsstillstand, genau wie es in der 1. Reihe beobachtet worden war. Um nun für dieses eigenartig gesetzmäßige Verhalten bei 1- und 2 minutiger Bestrahlung die Grenzwerte nach oben und unten zu ermitteln, hatten wir in dieser 2. Reihe als kürzere Bestrahlungsdauer 20 Sekunden hinzugefügt und

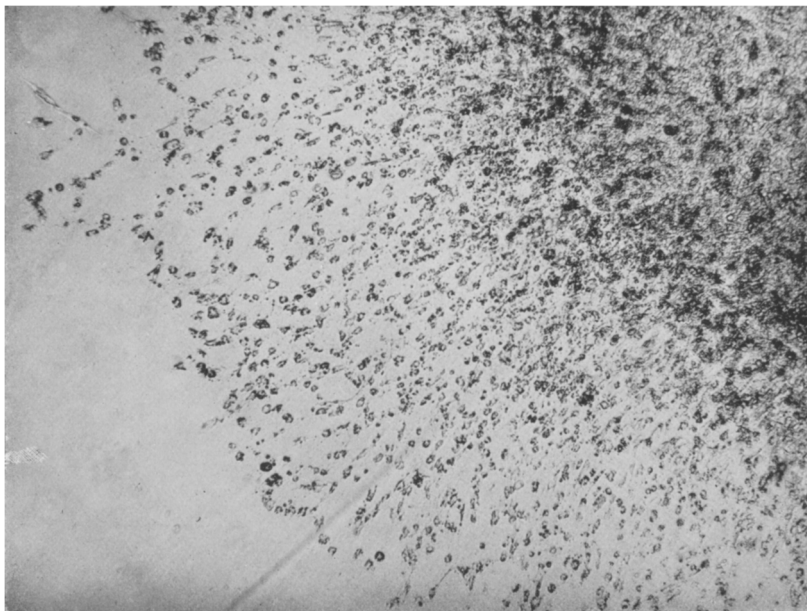


Abb. 26 (ebenso wie alle folgenden Abbildungen zu Tabelle 6 gehörig). M 1764a, 4 Min. bestrahlt. Umwandlung der Wachstumszone in verfettete Abrundungszellen. Nur links oben 2 Spindelzellen. Photographie 67 Std. nach der Übertragung (48 Std. nach Bestrahlung). Vergr. 74fach.

als längere — statt der 5 Minuten in der 1. Reihe — 4 und 7 Minuten angewandt.

Man sieht nun in der Tat in allen 4 Gruppen, daß bei 20 Sekunden Bestrahlung an Stelle der hochgradigen bzw. langdauernden Hemmung eine bedeutend geringere bzw. kürzer dauernde auftritt. Die Wachstumskurve weist daher hier nirgends einen deutlichen Knick auf. Angedeutet ist eine leichte Abknickung lediglich bei den Irisfibroblasten der 55. Übertragung, bei den 3 anderen Gruppen würde man der Kurvenform keinen Eingriff am Anfang des 2. Wachstumstages ansehen. Hier zeigt nur der Vergleich mit dem Wachstum der unbestrahlten Kontrollen das deutliche Zurückbleiben während des auf die Bestrahlung folgenden Tages an.

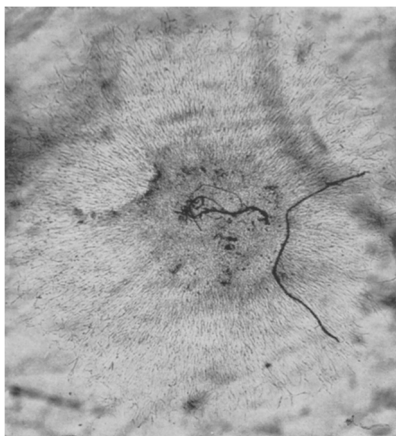


Abb. 27. A 4290 b, 20 Sek. bestrahlt. Photographie 42 Std. nach Übertragung = 24 Std. nach Bestrahlung. Viel kleiner als die Kontrolle Abb. 29, an den Zellen jedoch kein Unterschied sichtbar. Vergr. 13,2fach.



Abb. 28. A 4290 b. Photographie 65 Std. nach Übertragung, hat jetzt die Größe der Kontrolle auf Abb. 29 erreicht. Zellen wie zuvor: keine Grenze zwischen dem Wachstum vor und nach der Bestrahlung sichtbar. Vergr. 13,2fach.

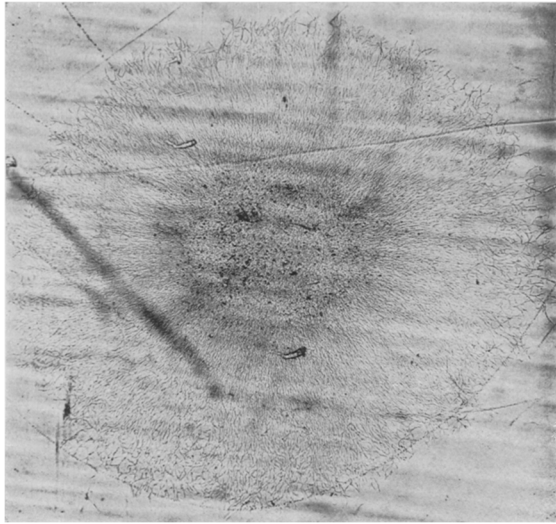


Abb. 29. A 4290a. Unbestrahlte Kontrolle. Photographie 42 Std. nach Übertragung. Vergr. 13,2fach.



Abb. 30. A 4290a. Photographie 65 Std. nach Übertragung. Vergr. 13,2fach.

Was nun das Wachstum *nach* der 24 stündigen Hemmungsperiode betrifft, so verläuft bei den 20 Sekunden bis 2 Minuten Bestrahlten die Kurve oft wieder parallel mit den Kontrollen, d. h. es werden die Wachstumsgrößen der Kontrollen mit einer der Hemmungsperiode entsprechenden „Verspätung“ von den Bestrahlten erreicht. Zum Beispiel

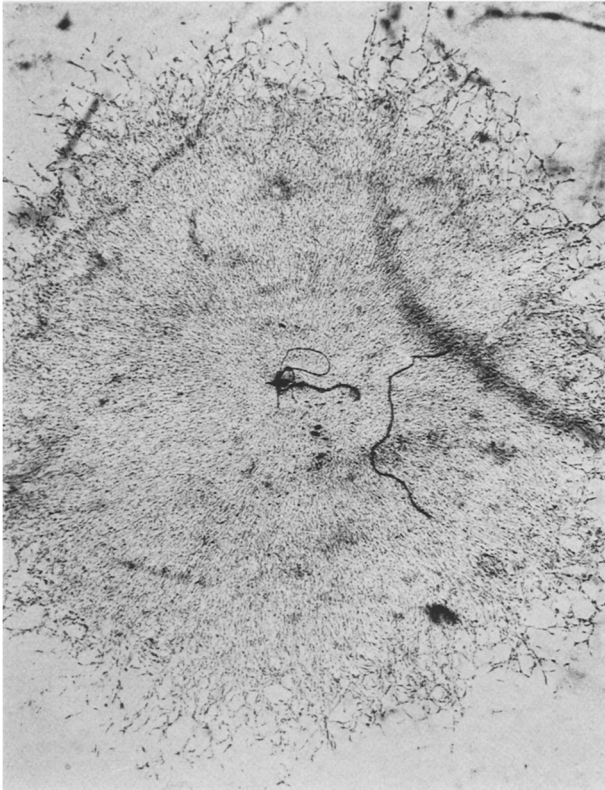


Abb. 31. A 4290 b. Photographie 114 Std. nach Übertragung = 96 Std. nach Bestrahlung. Es ist jetzt die Größe der vor 2 Tagen umgesetzten Kontrolle (Abb. 30) erreicht. Keine Nekrose im Mittelstück. Vergr. 13,2fach.

ist bei den Herzfibroblasten der 70. Übertragung die 20 Sekunden Bestrahlte nach 65 Stunden so groß, wie die Kontrolle nach 42 Stunden war; bei den Irisfibroblasten der 55. Übertragung ist die 1 Minute Bestrahlte nach 91 Stunden erst ungefähr so groß, wie die Kontrollkultur nach 44 Stunden war: Die Bestrahlungen von mehr als 2 Minuten ergaben teils völligen Stillstand über die ersten 24 Stunden nach der Bestrahlung hinaus für die ganze Dauer der Beobachtung (4 Tage nach der Bestrahlung und mehr), teils ein schwaches Wiederaufleben des Wachstums. Keine

der 4, 7 oder 15 Minuten Bestrahlten war am Schluß der Beobachtung, also nach 5 tägiger Wachstumszeit, auch nur annähernd zu der Größe gelangt, die die Kontrollen nach 3 tägigem Wachstum erreicht hatten.

Während die Herzfibroblasten der 19. Übertragung erwartungsgemäß durch 4 Minuten Bestrahlung weniger gelähmt wurden als durch 7 oder 15 Minuten Bestrahlung, sind die Herzfibroblasten der 70. Übertragung bei 4- oder 15minütiger Bestrahlung ungefähr gleich stark gelähmt, bei 7minütiger Bestrahlung dagegen nach der 24 stündigen Hemmungsperiode wieder einigermaßen gewachsen. Ebenso hat bei den Irisfibroblasten die Bestrahlung von 7 Minuten nicht so stark gewirkt wie die von 4 oder 15 Minuten. Das Wachstum nach Übertragung von bestrahlten Kulturen wurde in dieser 2. Reihe nicht verfolgt, da dies bereits in der 1. Reihe geschehen war.

Morphologische Beobachtungen bei der Wachstumshemmung.

Als morphologische Erklärung für die Wachstumshemmung nach der Bestrahlung finden wir vor allem eine kugelige Abrundung der Fibroblasten durch Aufgabe ihres Verbandes unter gleichzeitiger starker Verfettung. Diese runden fettreichen „Untergangszellen“ sind von schlecht wachsenden Kulturen, besonders unter Gift- und Kälteeinflüssen, hinreichend bekannt¹. Auf Abb. 26 sieht man, daß durch 4minütige Bestrahlung sich die gesamte Wachstumszone in derartige runde Zellen umgewandelt hat.

Den Gegenpol dieser deutlichen morphologischen Veränderung sehen wir bei der 20 Sekunden bestrahlten Kultur A 4290 b auf den Abb. 27, 28 und 31: Abrundungszellen fehlen gänzlich, die Fibroblasten unterscheiden sich weder 24 Stunden nach der Bestrahlung noch später irgendwie von den Kontrollen (Abb. 29 u. 30), und auch das Mittelstück zeigt keine Verdunklung. Die Wachstumsverzögerung im Vergleich zur Kontrolle erfahren wir hier also lediglich durch die Messungen (Tabelle 6, Kurve Abb. 20, I). Den Zellformen können wir nichts ansehen, und die Mikrophotographien zeigen nur den von den Messungen her bekannten Größenunterschied der Wachstumszonen: 2 Tage nach der Bestrahlung sieht die bestrahlte Kultur (Abb. 28) so aus, wie die Kontrollkultur am Vortage (Abb. 29) aussah. In diesem Falle würde man durch kinematographische Beobachtung während der Periode des Stillstandes oder verlangsamten Wachstums eine Hemmung der amöboiden Wanderung und der Mitosen finden.

Die Bildung von verfetteten Abrundungszellen einerseits, der bloße Stillstand des Wachstums ohne Änderung des geweblichen Bildes andererseits liefern nun die beiden Anteile, aus denen sich unsere anderen Beobachtungen zusammensetzen. So sehen wir nach Bestrahlung von

¹ Vgl. die Arbeit des Verfassers „Zellschädigung und Mitose.“

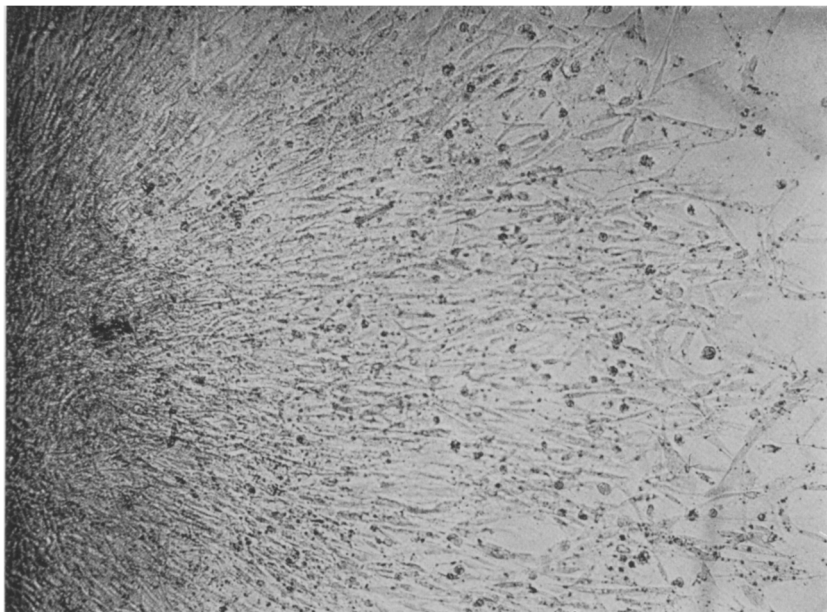


Abb. 32. A 4284b. 20 Sek. bestrahlt. Photographie 40 Std. nach Übertragung = 24 Std. nach Bestrahlung. Fibroblasten teils verfettet und abgerundet, teils unverändert wie bei der Kontrolle Abb. 33. Vergr. 74fach.

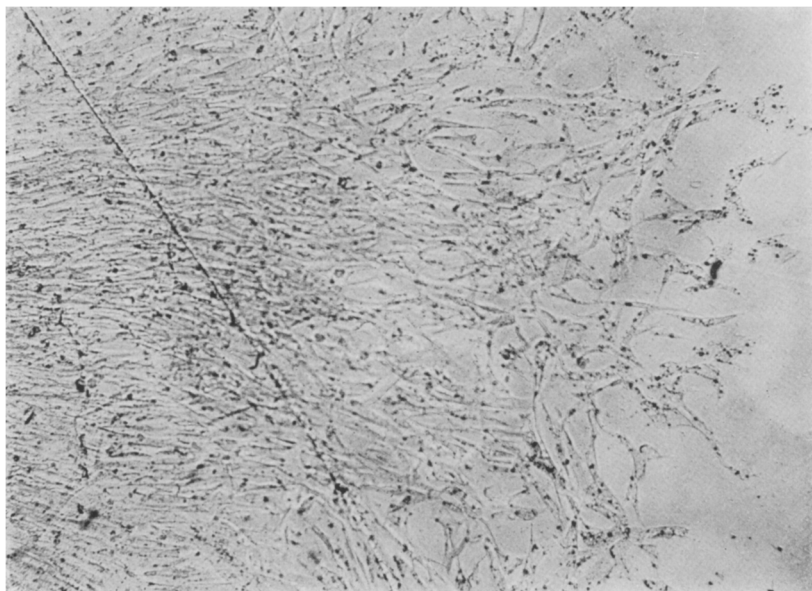


Abb. 33. A 4284a. Kontrolle, Photographie 40 Std. nach Übertragung. Vergr. 74fach.

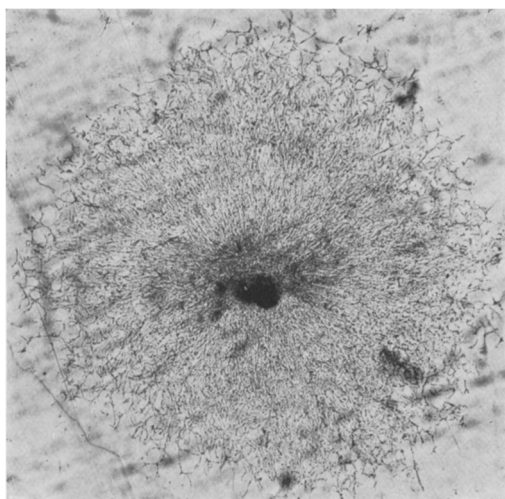


Abb. 34. A 4284b. Photographie 65 Std. nach Übertragung. Zahl der verfetteten Abrundungszellen anscheinend vermindert. Wachstumszone kleiner als Abb. 35. Vergr. 13,2fach.

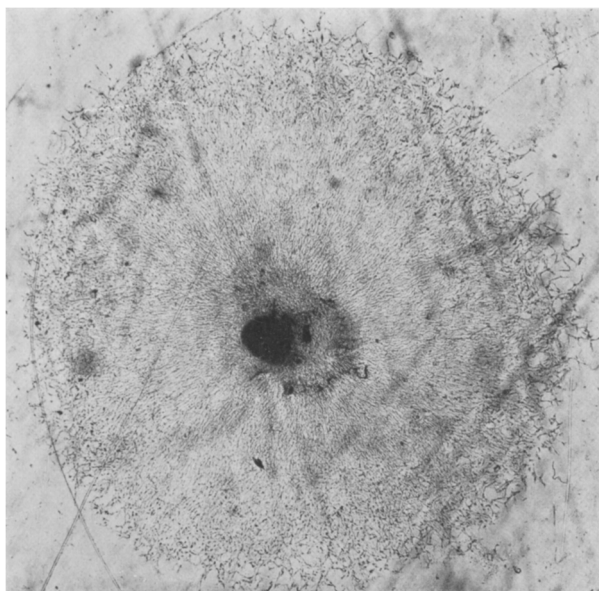


Abb. 35. A 4284a. Kontrolle, Photographie 65 Std. nach Übertragung. Einzelne verfettete Abrundungszellen im Randgebiet. Vergr. 13,2fach.

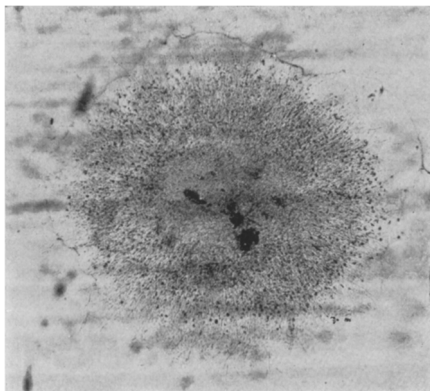


Abb. 36. A 4291b. 1 Min. bestrahlt. Photographie 42 Std. nach Übertragung = 24 Std. nach Bestrahlung. Fibroblasten teils verfettet (dunkel) und abgerundet, teils fettarm und schlank. Mit Lupe betrachten! Vergr. 13,2fach.

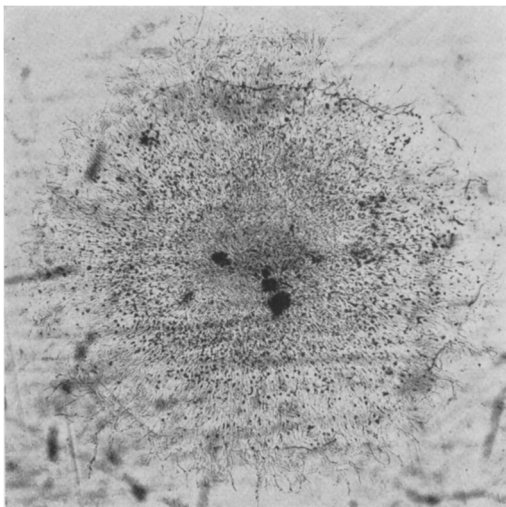


Abb. 37. A 4291b. Photographie 65 Std. nach Übertragung. Wachstum der gut erhaltenen Fibroblasten; verfettete Rundzellen in unverminderter Zahl beigemischt. Vergr. 13,2fach.

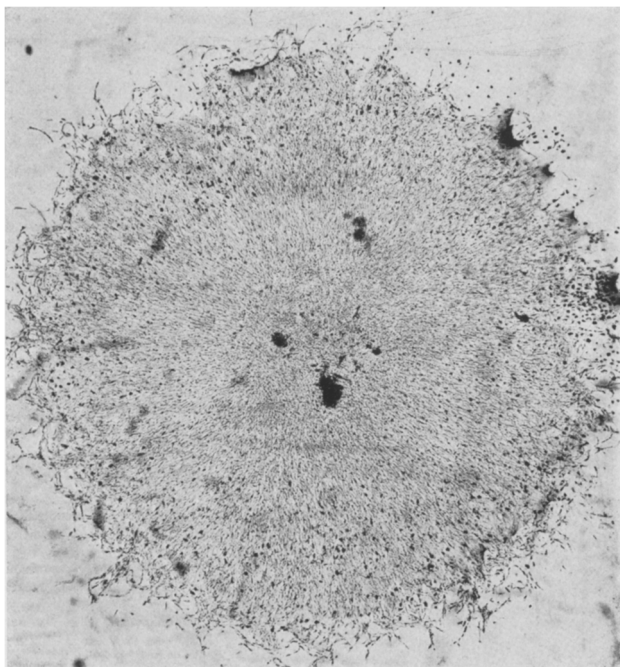


Abb. 38. A 4291b. Photographie 114 Std. nach Übertragung. Weiteres üppiges Wachstum; die verfetteten Rundzellen in der Flächeneinheit entsprechend spärlicher, hauptsächlich in die Randzone gewandert oder geschleppt. Vergr. 13,2fach.

20 Sekunden bei A 4284 b (Abb. 32) einen Teil der Fibroblasten unverändert schlank und fettarm wie bei der Kontrolle (Abb. 33), einen Teil jedoch in verfettete Abrundungszellen umgewandelt. Die gleiche Zusammensetzung finden wir nach 1 Minute Bestrahlung bei A 4291 b (Abb. 36—38).

Es scheint also in ein und derselben Kultur gegenüber der Bestrahlung empfindlichere Fibroblasten zu geben, die sich in runde Untergangszellen verwandeln, und widerstandsfähigere Fibroblasten, die außer einer anzunehmenden vorübergehenden Lähmung der Beweglichkeit und Teilungsfähigkeit keine sichtbaren Schäden davontragen. Durch eine Ausmerzungen der schwächeren Zellen könnte als Folge der Bestrahlung eine bessere Wachstumsbilanz herauskommen als bei den unbestrahlten Vergleichskulturen. Vielleicht lag Derartiges bei den 2 Minuten bestrahlten A-Kulturen der 1. Reihe vor, die in der anschließenden Übertragung etwas besser wuchsen als die Abkömmlinge der Kontrollen (Tabelle 4, Kurve Abb. 8, II; Mikrophotographie Abb. 12, Nr. 1 und 2).

Als Mittelding zwischen der Abrundung mit Verfettung und dem Fehlen morphologischer Zellveränderungen beim Stillstand finden wir gelegentlich ein Breiter- und Plumperwerden der Fibroblasten mit mäßiger Verfettung, aber ohne Aufgabe ihres Verbandes, z. B. nach 1 Minute Bestrahlung bei A 4285 b (Abb. 39 und 41).

Morphologische Beobachtungen beim Wiederaufleben des Wachstums.

Wenn in der Hemmungszeit keinerlei morphologische Veränderungen eintraten, war natürlich auch keine Grenze zwischen der alten und der neuen Wachstumszone sichtbar. Im anderen Falle entstand beim Wiederaufleben des Wachstums, wie in der 1. Reihe (Abb. 6, Nr. 1), so auch in der 2. Versuchsreihe um die dunkle, vor der Bestrahlung gewachsene und während des Stillstandes verfettete Zone herum eine neue fettfreie und helle Zone, z. B. nach 1 Minute Bestrahlung bei Kultur A 4285 b (Abb. 40 und 42) und M 1766 a (Abb. 44 und 45).

Bei der letztgenannten Irisfibroblastenkultur M 1766 a ist in der Hemmungsperiode der geringfügige Zuwachs sehr zart und locker (Abb. 44); sodann nimmt zunächst nicht so sehr die Breite der Wachstumszone zu als vielmehr die Zellzahl in der Flächeneinheit, also die Dichtigkeit des Fibroblastennetzes (Abb. 45). Hiermit stimmt der auf der Kurve Abb. 21, II sichtbare Wachstumsschub von der 67. Stunde zur 91. Stunde gut überein. Erst die zunehmende Dichtigkeit des Gewebes nach 91 Stunden hatte die Projektion deutlich und das Zeichnen des Randes möglich gemacht.

Die während der Hemmungszeit entstandenen verfetteten Abrundungszellen können beim erneuten Wachstum der unveränderten Fibroblasten erhalten bleiben und geraten dann mehr und mehr an den Rand (Abb. 37 und 38). Sie können sich aber auch allmählich verringern,

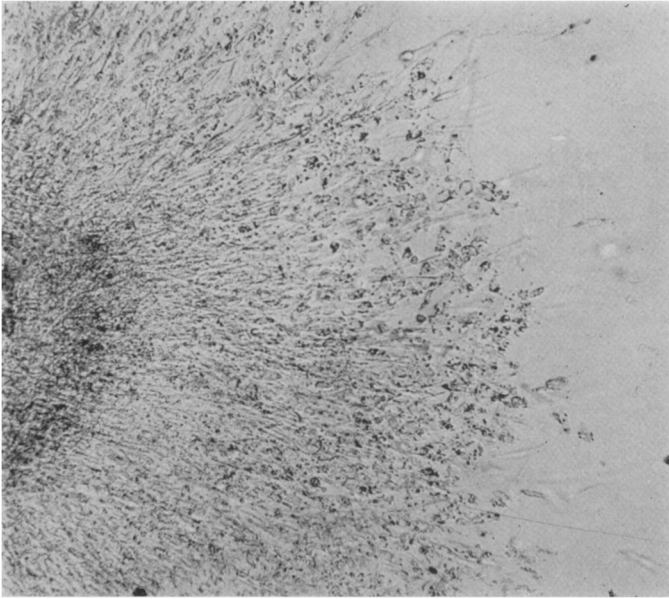


Abb. 39. A 4285 b. 1 Min. bestrahlt. Photographie 40 Std. nach Übertragung = 24 Std. nach Bestrahlung. Verbreiterung und mäßige Verfettung der Fibroblasten während der Stillstandszeit. Vergr. 74fach.



Abb. 40. A 4285 b. Photographie 65 Std. nach Übertragung. Neu wachsende Fibroblasten meist schlank und fettarm, aber wirr angeordnet. Vergr. 74fach.

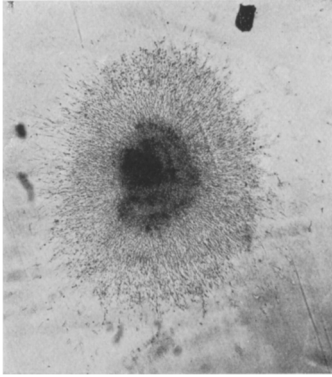


Abb. 41. A 4285b. Übersichtsbild zu Abb. 39. Photographie 40 Std. nach Übertragung.
Vergr. 13,2fach.

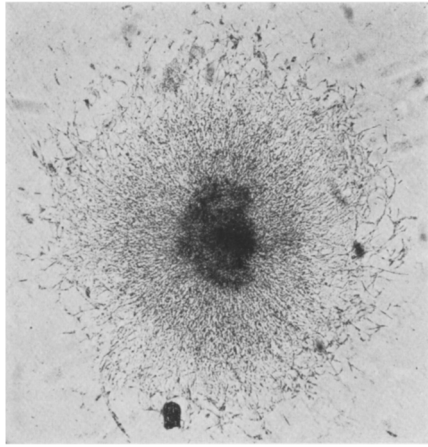


Abb. 42. A 4285b. Übersichtsbild zu Abb. 40. Photographie 65 Stunden nach Übertragung. Vor der Bestrahlung gewachsene Zone dunkel (während der Stillstandszeit verfettet), neue Wachstumszone fettarm und hell, aber etwas locker und wirr. Vergr. 13,2fach.

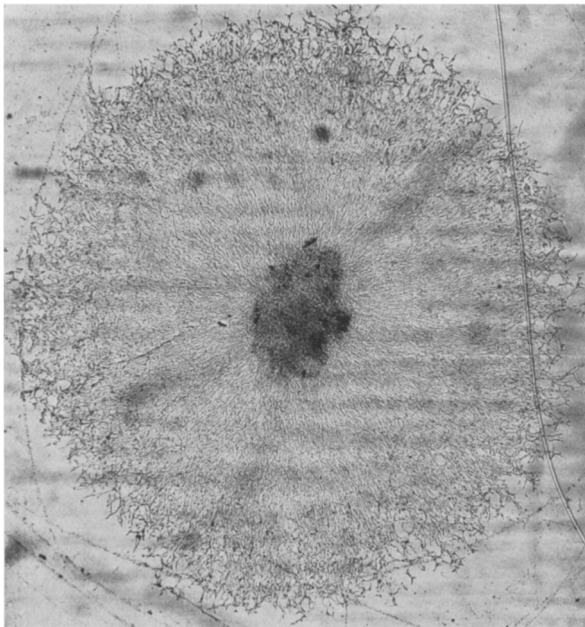


Abb. 43. A 4285a. Kontrolle. Photographie 65 Std. nach Übertragung.
Vergr. 13,2fach.

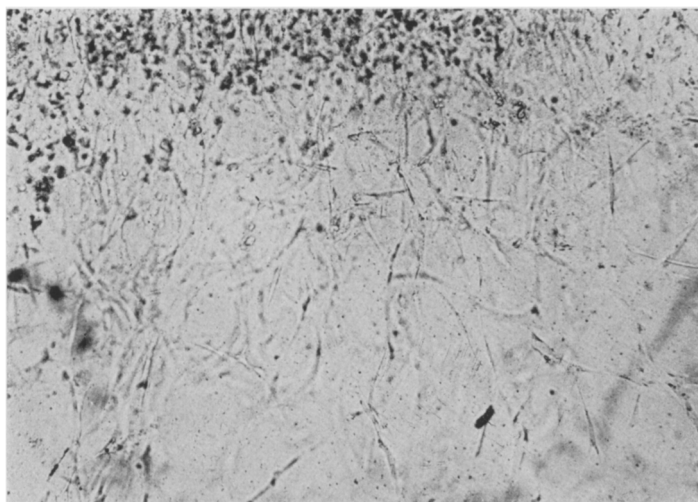


Abb. 44. M 1766a. 1 Min. bestrahlt. Photographie 67 Std. nach Übertragung = 48 Std. nach Bestrahlung. Am oberen Rande des Bildes ist noch gerade die Zone der dunklen verfetteten und vielfach abgerundeten Zellen zu sehen. Ganz zarter Zuwachs spindliger Fibroblasten. Vergr. 74fach.

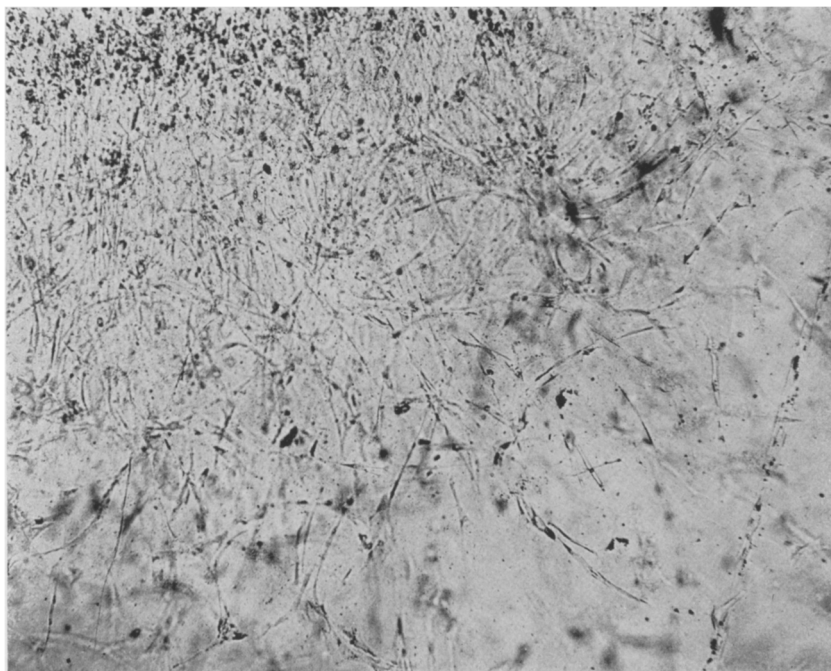


Abb. 45. M 1766a. Photographie 91 Std. nach Übertragung. Das kräftige Wachstum nach Überwindung der Hemmung hat die Zone verbreitert, vor allem aber das Fibroblastennetz viel dichter gestaltet. Vergr. 74fach.

wahrscheinlich durch Zerfall (Abb. 34). Andererseits treten bei längerem Verweilen im gleichen Medium auch bei unbestrahlten Kulturen manchmal einzelne verfettete Abrundungszellen auf (Abb. 35). Der Wiedereintritt von abgerundeten Zellen in den Fibroblastenverband ist unwahrscheinlich, aber ohne kinematographische Einzelverfolgung nicht ganz auszuschließen.

Das bei den Hemmungserscheinungen zuletzt beschriebene allgemeine Breiter- und Plumperwerden der Fibroblasten mit nur mäßiger Verfettung, also eine mittelstarke sichtbare Schädigung *aller* Zellen, führte beim Wiederaufleben des Wachstums zu geringeren Größen, als es bei schwerer Veränderung *einiger* Zellen und Unverändertbleiben der übrigen Zellen der Fall war (vgl. die Kurven der Versuchskulturen in Abb. 21, I).

Auswertung der Beobachtungen.

Überblicken wir die Ergebnisse beider Versuchsreihen, so sehen wir als Wirkung der Quarzlampenbestrahlung gewisse gesetzmäßige Hemmungen des Wachstums. In der Beeinflussung der Wachstumskurve besteht weitgehende Übereinstimmung bei allen untersuchten Fibroblastenstämmen sowie auch den gleichen Stämmen in verschiedenem Züchtungsalter. Die Strahlenwirkung muß überall dort *sofort* eingesetzt haben, wo die Wachstumskurve mit scharfem Knick abbiegt, also im allgemeinen bei Bestrahlungsdauern von über 1 Minute. Weshalb *Kiaer* die Frage der „Latenzzeit“ offenließ, obwohl er in kürzeren Abständen maß als wir, entzieht sich ohne Kenntnis seines Messungsverfahrens der Erörterung. Denn wenn seit einer kurz vor der Bestrahlung erfolgten Messung nicht der geringste Zuwachs erfolgt ist, muß der Stillstand mit dem Zeitpunkt der Bestrahlung zusammenfallen. Lediglich unsere bei 20 Sekunden Bestrahlung erhaltenen Kurven mit fehlender oder nur stumpfwinkliger Abknickung gestatten Zweifel über den Augenblick der Strahlenwirkung; doch würden wahrscheinlich Messungen in kürzeren Abständen auch hier einen sofortigen aber kürzer dauernden Wachstumsstillstand ergeben.

Das bei den Bestrahlungen über 1 Minute nachgewiesene Fehlen einer Wirkungsverzögerung (Latenzzeit) spricht dafür, daß die Strahlen unmittelbar an den Zellen angreifen. Übrigens hatte *Kiaer* bereits festgestellt, daß nicht etwa eine Wirkung der Bestrahlung auf das Nährmedium die Ursache der Wachstumshemmung war. Er deckte durch Paraffin mit Tusche nur die Kulturen gegen die Strahlen der Quarzlampe ab, während der übrige Teil des flachausgebreiteten Nährtropfens der Bestrahlung preisgegeben war: eine Wachstumshemmung trat bei dieser Versuchsanordnung nicht ein.

Bei Bestrahlung von Gewebekulturen durch Radium oder Röntgenstrahlen hatten *Laser* und *Halberstädter* ebenfalls eine Wachstumshemmung im Vergleich zu den Kontrollen gefunden, bei allen angewandten

Gaben aber eine etwa 24 stündige Verzögerung der Hemmungswirkung festgestellt. Es muß also hier eine längere Ursachenkette vorliegen als bei latenzfreien Reaktionen. Daß die Strahlen aber auch hier nicht am Nährmedium ansetzen, ging aus der Versuchsanordnung von *Laser* und *Halberstädter* hervor. Denn die in der Wirkungsrichtung der Bestrahlung befindliche Kontrollkultur und die abseits von der Strahlenwirkung liegende Vergleichskultur befanden sich in ein und derselben Carrelflasche, also im gleichen Nährmedium. Es bleibt unseres Erachtens nur der Schluß übrig, daß die bis zur Meßbarkeit der Hemmung der Radium- oder Röntgenbestrahlung ablaufenden Zwischenvorgänge sich in den Zellen selbst abspielen. Der Angriffspunkt liegt also sowohl bei den nichtdurchdringenden Strahlen der Quarzlampe als bei der durchdringenden Radium- und Röntgenstrahlung in den Zellen der Gewebekultur, die Wirkungsweise scheint aber im zweiten Falle eine verwickeltere zu sein als im ersten.

Immerhin kann auch die Wirkungsweise der Quarzlampenbestrahlung nicht ganz einfach sein. Denn wir sahen in einigen Fällen einen deutlichen morphologischen Ausdruck der Hemmung, nämlich die Lösung der Zellen aus dem Verbande unter Verfettung, also die Umwandlung der Fibroblasten in runde „Untergangszellen“; in anderen Fällen ging der Stillstand und auch das Wiederaufleben des Wachstums ganz ohne Veränderungen der Zellform einher. In noch anderen Fällen fanden sich beide Reaktionsweisen gleichzeitig oder nur die ersten Stufen der Fibroblastenumbildung und Verfettung.

Kann schon die sofortige Hemmung auf verschiedene Weise zustande kommen, so gilt dies noch mehr für jene Eigenarten der Wachstumskurve, die wir als Spätwirkungen der Bestrahlung bezeichnet haben. Während einige der kurz bestrahlten Kulturen nach der Hemmungszeit mit einer bloßen „Verspätung“ gegenüber den Kontrollen, im übrigen mit unveränderter Kurvenform weiterwuchsen wie nach einer unschädlichen Narkose, sahen wir in 2 Fällen nach Überwindung der hemmenden Erstwirkung eine erneute Wachstumsverlangsamung einige Tage nach der Bestrahlung und anschließend wieder stärkeres Wachstum.

Bemerkenswerte Nachwirkungen traten vor allem bei der „Erholung“ der länger bestrahlten Kulturen auf. So war in der ersten Übertragung nach der Bestrahlung die Kurvenform auch dann eine andere als bei den Abkömmlingen der Kontrollen, wenn schließlich die gleichen Endgrößen erreicht wurden: die Wachstumsenergie war die gleiche, aber der Rhythmus ein verschiedener. Bei abermaliger Übertragung lieferten die schon in Erholung begriffenen Kulturen solche mit weiterer Besserung des Wachstums und solche mit erneuter und endgültiger Einstellung jeden Wachstums.

Die „Endgültigkeit“ bezieht sich natürlich nur auf die Dauer unserer Beobachtung; ganz ausgeschlossen ist es nicht, daß z. B. von den durch einstündige

Bestrahlung anscheinend „getöteten“ Osteoblastenkulturen die eine oder andere nach mehrwöchentlicher weiterer Pflege doch wieder Wachstum gezeigt hätte. Versuche in dieser Richtung stehen noch aus.

Es gibt also nicht nur eine Auslese der Zellen *einer* Kultur als Erstwirkung der Bestrahlung, sondern auch noch eine Auslese ganzer Kulturen als Spätwirkung der Bestrahlung. Diese „Auslese“ von Abkömmlingen dürfte ihre Quelle darin haben, daß manche Gebiete der bestrahlten Stammkultur in verschiedenem Maße geschädigt worden waren.

Für die Beseitigung der durch Bestrahlung bewirkten Wachstums-
hemmung kann, wie bereits dargelegt, der Wechsel des Nährmediums nicht entscheidend sein, da die bestrahlten Kulturen auch beim Verweilen im selben Medium ihre Wachstumsfähigkeit wieder erhielten. Auch dies spricht für eine Strahlenwirkung unmittelbar an den Zellen. Ob der Wechsel des Nährmediums jedoch *ganz* belanglos ist, würde erst durch Kulturen in Carrelflaschen mit ihren längeren Wachstumszeiten nachzuweisen sein.

Eine Wachstumsförderung als sofortige Wirkung der Bestrahlung fanden wir ebensowenig wie *Kiaer* bei irgendeiner der angewandten Bestrahlungszeiten. Als wachstumsfördernde Nachwirkung können vielleicht die vereinzelt überschüssigen Abkömmlinge von kurz bestrahlten Kulturen über das Wachstum der Kontrollenabkömmlinge gedeutet werden, doch sind die Beträge recht gering. Beim Aufsuchen wachstumsfördernder Strahlenmengen würden nicht nur die Zeiten noch weiter zu verändern sein, sondern vielleicht auch die Abstände und damit die Wirkungsstärke der Quarzlampen. (Über die Bedeutung des Zeitfaktors vgl. *Liechti*.) Sollte sich einmal eine sofortige Wachstumsförderung durch irgendeine Bestrahlung ergeben, so käme zunächst in Betracht, daß lediglich durch Ausmerzungen der schwächsten Zellen eine Steigerung der durchschnittlichen Vermehrungsgeschwindigkeit der Zellen und somit eine Hebung der Wachstumsbilanz für die ganze Kultur ermöglicht wurde. Denn tatsächlich sind, wie oben gezeigt wurde, oft in ein und derselben Kultur empfindlichere Zellen vorhanden, die durch die Bestrahlung zu runden verfetteten Untergangszellen werden, und daneben widerstandsfähigere Zellen, die unverändert bleiben.

Ob nun aber eine Zelle unmittelbar durch die ihren Kern oder Leib treffenden Strahlen zu schnellerer Teilung veranlaßt wird, oder ob dies mittelbar durch Befreiung von ihren schwächeren Nachbarn erfolgt, indem ihr Nahrungsanteil steigt und ihre Bewegungsfreiheit auch für Teilungen zunimmt — das ist eine Aufgabe der kinematographischen Verfolgung im einzelnen, deren Lösbarkeit zunächst zweifelhaft erscheint. Sollte jedoch Wachstumsbeschleunigung ganz ohne Zelluntergang beobachtet werden, so wäre der Beweis für unmittelbare Wachstumsförderung („Stimulierung“) erbracht.

Wir haben durch genauere morphologische Beobachtung mit photographischen Reihen einen gewissen Einblick in die Zellschicksale beim Eintritt der hemmenden Strahlenwirkung und beim Wiederaufleben des Wachstums gewonnen. Doch haben wir nur verschiedene Zellreaktionsarten kennen gelernt, die *möglich* sind, ohne aber eine gesetzmäßige Beziehung dieser Reaktionen etwa zu 20 sekundiger, 1 minutiger oder 2 minutiger Bestrahlungsdauer zu finden, und ohne aussagen zu können, wieviel Zellen so oder so reagieren. Die wichtigste, aber auch schwierigste Aufgabe besteht also darin, die zahlenmäßig faßbare Wachstumsbilanz ganzer Kulturen auf die einzelnen Zellschicksale wiederum zahlenmäßig zurückzuführen. Das erst wäre eine Überführung statistischer Gesetzmäßigkeiten in dynamische Gesetzmäßigkeiten im Sinne von *Planck*.

Morphologisch neuartige Veränderungen der Fibroblasten wurden durch die Quarzlampenbestrahlung nicht erzeugt: die verfetteten Abrundungszellen bilden sich z. B. auch durch Kältewirkung, und die plumpen ungegliederten Cytoplasmabänder mit großen Fetttropfen (Abb. 19) sahen wir auch durch Zusatz von weit abgebauten Eiweißstoffen entstehen. Über etwaige abnorme Mitosenformen können wir nichts aussagen, da wir fast ausschließlich Lebendbeobachtungen (mit Serienphotographien nur bis zu 90 facher Vergrößerung) machten.

Daß übrigens außer dem Wachstum noch andere Lebensäußerungen der Gewebekulturen unter Strahleneinflüssen untersucht werden müssen, haben bereits *Laser* und *Halberstädter* betont. Wertvolle Anfänge bilden hier die Untersuchungen von *Kiaer* über das Verhalten schlagender embryonaler Hühnerherzstückchen bei Quarzlampenbestrahlung. Wir haben zunächst die am besten bekannte Leistung der Gewebekulturen, das Wachstum, unter dem Einfluß des Lichtes untersucht, und zwar begannen wir mit der Quarzlampenbestrahlung, weil hier Vorarbeiten vorlagen, aber zahlenmäßige Unterlagen und damit die Voraussetzungen für jederzeit wiederholbare Versuche noch fehlten. Dies beides zu liefern, war die Aufgabe der vorliegenden Arbeit.

In der 1. Versuchsreihe hatten wir eine vereinigte Wirkung von ultravioletten Strahlen, sichtbaren Strahlen und langwelligen Wärmestrahlen vor uns, da die Strahlen der Quarzlampe nur Luft und ein Quarzdeckglas zu durchsetzen hatten, um zur Gewebekultur zu gelangen. In der 2. Versuchsreihe wurden die langwelligen Wärmestrahlen abgefiltert, da die Kulturen von einer 3 cm hohen Wasserschicht bedeckt waren. Ein Unterschied in dem Ergebnis der beiden Versuchsreihen besteht nicht: mithin spielen die langwelligen Wärmestrahlen, deren Anteil an der Gesamtenergie der Quarzlampe übrigens sehr gering ist, bei dem Zustandekommen unserer Beobachtungen keine Rolle. *Kiaer* hatte seine Versuche unter Anbringung einer Glasplatte zwischen Quarzlampe und Kulturen wiederholt: das nun allein hindurchtretende sicht-

bare Licht hatte keinerlei Wirkung auf das Wachstum¹. Daraus schloß *Kiaer*, daß die von ihm in den ersten Versuchen beobachteten Wachstumshemmungen lediglich auf den ultravioletten Anteil der Quarzlampe zurückzuführen waren. Das ist wahrscheinlich, aber noch nicht bewiesen. Es kann vielmehr die von *Kiaer* und uns beobachtete Hemmung eine vereinigte Wirkung von ultraviolettem und sichtbarem Licht darstellen: es fehlt noch der Versuch mit ultraviolettem Licht allein. Den Bestrahlungen durch Lichtquellen mit Linienspektren, wie die Quarzlampe, werden wir zunächst Untersuchungen mit kontinuierlichen (Banden-)Spektren anschließen. Zugleich werden wir untersuchen, auf welchem Teil des ultravioletten Spektrums die Wirkungen beruhen. Den in physikalischer Hinsicht reinsten Versuch wird schließlich die Benutzung monochromatischen Lichtes darstellen, wie es im Bereich des Ultraviolett *Liechti* zur Einwirkung auf Spulwurmeier und Bakterien angewandt hat.

Zusammenfassung.

1. Es wurden verschiedene Stämme von Hühnerfibroblastenkulturen bei stets gleichgehaltenen Temperaturen mit Quarzlampen bestrahlt, wobei Abfiltrierung der langwelligen (Wärme-)Strahlen nichts an den Ergebnissen änderte.

2. Die Bestrahlung führte bei allen angewandten Zeiten zu einer Hemmung des Wachstums im Vergleich zu den unbestrahlten Kulturen.

3. Nach den längsten Bestrahlungszeiten wurde kein Wachstum mehr beobachtet; nach den kürzeren Bestrahlungen erfolgte ein wieder mit den unbestrahlten Vergleichskulturen übereinstimmendes Wachstum teils noch im gleichen Nährmedium, teils in den anschließenden Übertragungen.

4. Von 1 Minute Bestrahlung aufwärts konnte das Fehlen jeder Wirkungsverzögerung (Latenzzeit) in der Größenordnung der Messungen nachgewiesen werden, im Gegensatz zur Radium- und Röntgenwirkung.

5. Außer dieser sofortigen Wirkung kommen noch als Spätwirkungen erneute Wachstumsstillstände vor.

6. Der Wechsel des Nährmediums ist für das Wiederaufleben des Wachstums nach der Hemmung nicht entscheidend.

7. Hieraus und aus dem Fehlen einer Wirkungsverzögerung wird geschlossen, daß die *Zellen* der Angriffspunkt der Strahlen sind.

8. Das morphologische Verhalten der Zellen bei der Hemmung und beim Wiederaufleben des Wachstums zeigt, daß oft *auf verschiedenen Wegen gleiche Wachstumsbilanzen* entstehen, ferner, daß durch eine — mehrfach von uns beobachtete — *Auslese unter den Zellen* auch eine

¹ Auch *Goodrich* und *Scott* hatten mit sichtbarem polychromatischem Licht (600 Watt Wolframlampe mit Gasfüllung) keinerlei Einfluß auf das Wachstum von Hühnerfibroblastenkulturen erhalten.

Steigerung der Wachstumsbilanz einer bestrahlten Kultur im Vergleich zur Kontrolle zustande kommen könnte.

9. Eine solche Wachstumssteigerung war bei Abkömmlingen einer 2 Minuten bestrahlten Kultur angedeutet.

10. Gesetzmäßige Beziehungen zwischen Bestrahlungsdauer und Wachstumsgrößen der Gesamtkulturen sind erkennbar, nicht aber solche zwischen Bestrahlungsdauer und den morphologischen Vorgängen an den einzelnen Zellen.

Literaturverzeichnis.

Fischer, Albert: Gewebezüchtung. 2. Aufl. München 1927. — *Goodrich, H. B.* und *J. A. Scott*: The effect of light on tissue cultures. *Anat. rec.* **24** (1923). — *Kjaer, Sven*: Action de la lumière ultraviolette sur les cultures tissulaires in vitro. *C. r. Soc. Biol. Paris* **93**, 1389 (1925). — Action de la lumière ultraviolette sur les fragments de coeur contractiles in vitro. *C. r. Soc. Biol. Paris* **93**, 1391 (1925). — *Laser, Hans* u. *Ludwig Halberstädter*: Radiosensibilität normaler und bösartiger Gewebe in vitro. *Z. Krebsforsch.* **29**, 411 (1929). — *Levaditi, C. u. S. Mutermilch*: Mode d'action des rayons sur la vie et la multiplication des cellules in vitro. Rayons ultraviolets. *C. r. Soc. Biol. Paris* **74**, 1180 (1913). — *Liechti, Adolf*: Über den Zeitfaktor der biologischen Strahlenwirkung. „Strahlenther.“ **33**, 1 (1929). — *Mayer, Edmund*: Zellschädigung und Mitose. Bemerkungen zum Degenerations- und Krankheitsbegriff. *Virchows Arch.* **275**, 144 (1930). — *Planck, Max*: Dynamische und statistische Gesetzmäßigkeit. (Universitätsrede.) Leipzig 1914.
