

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Graz.)

Über die Wirkung von Pyroninlösungen auf die Epidermiszellen der Larven von *Triton alpestris**).

(Mitosebeeinflussung durch Pyronin II.).

Von

E. Kupka.

Mit 21 Textabbildungen.

Einleitung, Material und Methodik.

Bereits bei ersten orientierenden Versuchen über die Wirkung von wässrigen Pyroninlösungen auf Zellen (Kupka 1950 a) hatten sich in den Wurzelspitzen von *Allium cepa* bei den geprüften Verdünnungen von 10^{-3} , 10^{-4} und 10^{-5} **)) verschiedenartige Mitosestörungen nachweisen lassen. Dabei war besonders bemerkenswert, daß sich sowohl in der späten Prophase, als auch in der Metaphase, der Anaphase und der Telophase Abnormitäten vorfanden, woraus erhellte, daß das Wirkungsmuster des Pyronins besonders groß sein müsse.

In der Prophase waren an einzelnen Stellen Verklebungen und Verklumpungen zwischen den verschiedenen Chromosomen erkennbar. In der Metaphase kam es besonders bei der Verdünnung 10^{-3} zu extremer Verkürzung und Verdickung der Chromosomen. Sowohl bei der Pyroninkonzentration 10^{-3} als auch 10^{-4} fanden sich reichlich typische C-Mitosen. Anaphasisch war das Schädigungsbild von verschiedenartigen Chromatinbrücken beherrscht. Im Sinne von Sekundäreffekten zu deuten waren verschieden große Chromatinreste, die in Telophasen auftraten und z. T. mit Sicherheit ganze Chromosomen darstellten, die durch Stilllegung des Centromeres in der Äquatorialplatte verblieben waren.

*) Herrn Professor Dr. W. Marinelli anlässlich seines 60. Geburtstages gewidmet.

***) Die Verdünnungen sind immer auf das Gewicht bezogen.

Vorläufige Versuche an Meerschweinchen hatten gezeigt, daß die Tiere nach Injektion größerer Mengen von Pyronin (in physiologischer Kochsalzlösung) nach ca. 4 Wochen unter allgemein kachektischen Erscheinungen absterben.

Auf Grund dieser Befunde erschien es daher wünschenswert festzustellen, wie sich tierische Zellen gegenüber der Behandlung mit Pyroninlösungen verhalten. Die Wahl fiel auf die Epidermiszellen der Schwanzspitzen von Molchlarven, da dieses Material nach Fixierung und Färbung an Totalpräparaten untersucht werden kann. Durch diese Methode der Untersuchung ganzer Zellen fallen alle Fehlerquellen weg, die der Mikrotomtechnik sowie den Quetschpräparaten anhaften können.

Die verwendeten Larven von *Triton alpestris* befanden sich in Altersstufen zwischen dem Glaesner-Stadium 40 und 42. Sie wurden unter größter Schonung aus kleinen Zuchtaquarien mit der Pipette entnommen und in Petrischalen übertragen, wo dann das Baden der ganzen Tiere in der Farbstofflösung entsprechender Konzentration erfolgte. Die Behandlungsdauer betrug immer 1 Stunde. Nachher wurde mehrmaliger Wasserwechsel vorgenommen, um möglichst alles Pyronin aus der Zuchtflüssigkeit zu entfernen. Das Farbstoffpräparat war wie bei meinen früheren Versuchen Pyronin G von „The British Drug Houses Ltd. London“. Es wurde stets in Brunnenwasser gelöst. Angewendet wurden die Konzentrationen 10^{-4} , 10^{-5} und 10^{-7} .

Da bei den beiden stärkeren Lösungen (10^{-4} und 10^{-5}) die Molchlarven frühestens 75 Minuten, spätestens aber 5 Stunden nach Beendigung des Farbstoffbades alle abstarben, konnten bei diesen beiden Versuchsreihen nur cytologische Veränderungen im Sinne von Primäreffekten untersucht werden. Zur Auswertung gelangten Schwanzspitzen nur von solchen Tieren, die beim Zeitpunkte des Fixierens noch voll beweglich waren und auf leichte Reize hin muntere Schwimmbewegungen ausführten. Bei der Konzentration 10^{-4} wurden die Larven etwa 10 Minuten, bei 10^{-5} ca. 3 Stunden nach dem Pyroninbade fixiert. Als Fixierungsmittel wurde Bouin, zur Färbung saures Haemalaun nach Mayer verwendet. Bei der Pyroninkonzentration 10^{-7} zeigten die Tiere in den darauf folgenden 3 Tagen keine äußerlich merkbaren Schädigungen. Sie wurden 36 Stunden nach der Behandlung in Nawaschin fixiert und dann nach Feulgen gefärbt. Dadurch war es möglich, bei etwa auftretenden

den Sekundäreffekten Chromosomenmaterial mit Sicherheit zu erkennen.

Pathologische Mitosen.

Nach Pyroninbehandlung mit 10^{-5} fanden sich zahlreiche Mitosestörungen. Die Metaphasen waren durch abnorm verkürzte ansatzstelle aneinander haften, oder und oft auch gleichzeitig, verklebten verschiedene Chromosomen der Äquatorialplatte mit einander (Abb. 1 und 2).

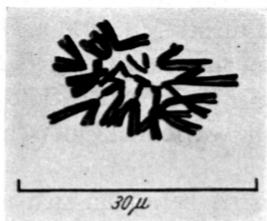


Abb. 1. Methaphase nach Pyronin 10^{-5} . Abnorme Verkürzung der Chromosomen und Verklebungen zwischen verschiedenen Chromosomen des Satzes.

Das weitere Schicksal solcher Metaphasen ist je nach dem Ausmaß der aufgetretenen Chromosomenverklebungen verschieden. Haften nur wenige Chromosomen an einander, bzw. sind nur kleine Abschnitte verklebt, so erfolgt sowohl Anaphase als auch Telophase; diese sind dann durch das Auftreten von Chromatinbrücken gekennzeichnet. Abb. 3 zeigt eine solche Anaphase mit zahlreichen Brücken.

Die telophasischen Brücken, die pseudoamitotisch aussehen können (Abb. 4), sind wie auch die anaphasischen, relativ selten, da häufiger schwere Verklebungen zu einem anderen Schädigungsmuster führen.



Abb. 2. Pyronin 10^{-50} ; sehr starke Verklebungen. Vergrößerung wie Abb. 1.

Ist die Chromosomenverplumpung (Chromosomenpyknose im Sinne der Terminologie von Politzer 1934) sehr intensiv, so ist die Individualität der einzelnen Metaphasechromosomen nicht mehr feststellbar und wir haben ein Bild wie Abb. 5 vor uns. Solche Metaphasen wandeln sich direkt in einen Restitutionskern um, der sich als kompakte, telophasisch veränderte Masse darstellt, die oft noch durch ihre Form ihre direkte Herkunft aus einer Metaphaseplatte erkennen läßt (Abb. 6). Anschließend

kommt es dann nicht mehr zur Ausbildung eines Ruhekernes, sondern das ganze Kernmaterial degeneriert pyknotisch (Abb. 7). — Ausgesprochen vereinzelt konnte auch Mehrpoligkeit der Teilungsspindel beobachtet werden.

Außer diesen Mitoseabnormitäten, trat bei den Versuchen mit höherer Konzentration, d. h. bei 10^{-4} , eine weitere sehr interessante Form der Störung auf. Sie besteht darin, daß die Chromosomen in der Metaphase ausgesprochen dünn und fein sind. Ich möchte diesen Typus als fädige Modifikation der Kernschleifen bezeichnen (Abb. 8). Fünf Molchlarven, deren Schwänze genau durch-



Abb. 3.

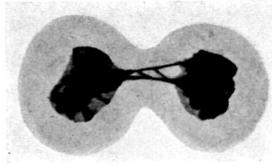


Abb. 4.



Abb. 5.

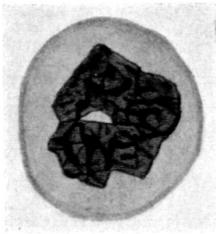


Abb. 6.

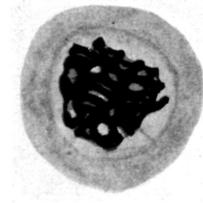


Abb. 7.

Abb. 3. Pyronin 10^{-5} ; späte Anaphase mit zahlreichen Chromatinbrücken und unregelmäßiger Chromosomenwanderung. Vergr. wie Abb. 1.

Abb. 4. Pyronin 10^{-5} ; Telophase mit komplizierter chromatischer Brücke. Vergrößerung wie Abb. 1.

Abb. 5. Pyronin 10^{-5} ; schwerste Verklebungen und Verklumpungen in der Metaphase. Vergr. wie Abb. 1.

Abb. 6. Pyronin 10^{-5} ; Restitutionskernbildung nach Zusammenbruch der Mitose. Vergr. wie Abb. 1.

Abb. 7. Pyronin 10^{-5} ; Pyknose eines Restitutionskernes. Vergr. wie Abb. 1.

untersucht wurden, zeigten nur zwei Mitosen: Beide waren Metaphasen mit fädig modifizierten Chromosomen. Die kurze Zeit von etwas über einer Stunde hatte also genügt, abgesehen von den beiden eben angeführten Mitosen, alle Kernteilungsstadien zum Verschwinden zu bringen. Über das weitere Schicksal der fädig modifizierten Chromosomen kann keine Aussage gemacht werden, da

weitere, später zu besprechende Schäden an den Hautzellen auftreten, die in Übereinstimmung mit den Versuchen über die Dauer des Überlebens derart behandelter Larven zeigten, daß das Zellenmate-

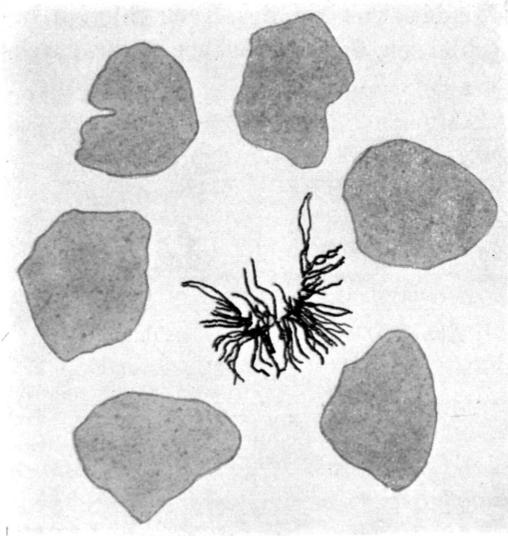


Abb. 8. Pyronin 10-4; fädige Modifikation der Chromosomen offenbar als Folge der intensiven Blockade der Nucleinsäuren durch die Vitalfärbung. Vergr. wie Abb. 1.

rial schon so sehr geschädigt war, daß ihm keine prospektive Bedeutung mehr zukam. -- Wie Abb. 8 weiters erkennen läßt, unterscheiden sich diese Mitosen nicht nur durch die geringe Dicke und die bedeutende Länge der Chromosomen von den Teilungsbildern, wie wir sie bei der Konzentration 10^{-5} fanden, sondern auch darin, daß wir hier keinerlei Verklebungen feststellen können.

Bei Anwendung von Pyronin in der Verdünnung 10^{-7} traten

36 Stunden nach der Behandlung Mitosestörungen auf, die als Sekundäreffekte zu bezeichnen sind. In einem extremen Falle hat-



Abb. 9.

Abb. 9. Pyronin 10-7; 36 Stunden nach der Behandlung Desorientierung der Chromosomen als Sekundäreffekt.

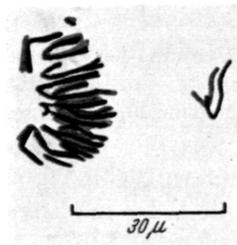


Abb. 10.

Abb. 10. Pyronin 10-7; 36 Stunden nach der Behandlung. Inaktivierung des Centromers.

ten sich wohl alle Chromosomen geteilt, die anaphasische Chromosomenwanderung war aber vollkommen desorganisiert, wodurch das Bild einer chaotischen Verteilung der Kernschleifen entstand (Abb. 9). Andererseits fanden sich pathologische Mitosen, wie sie in der Abb. 10 wiedergegeben sind. Hier zeigt es sich, daß Chromosomen die Anaphasebewegung nicht mitgemacht haben, bzw. abgelenkt worden sind. Weiters sind, wenn auch nicht sehr häufig, Chromosomenbrüche nachweisbar.

Vergleichen wir die Pyroninwirkung auf pflanzliche Zellen (*Allium cepa*) (Kupka 1950a) mit der auf die Zellen der Epidermis von *Triton alpestris*, so sehen wir, daß sich das tierische Material als bedeutend empfindlicher erwiesen hat. Die Annahme, daß dieser Unterschied lediglich auf andere Permeabilitätsverhältnisse zurückzuführen sei, kann kaum aufrecht erhalten werden, da auch bei Dauerbehandlung der Wurzelspitzen von *Allium* mit einer Pyroninlösung von 10^{-5} innerhalb der beobachteten 7 Tage, wenn auch verlangsamt, weitere Adventivwurzeln ausgebildet wurden und Zellteilungen stattfanden.

Pathologisch veränderte Ruhekerne.

Bei den mit Pyronin in der Verdünnung von 10^{-4} behandelten Molchlarven traten in der Epidermis reichlich Schädigungen der Ruhekerne auf, die als Primäreffekte anzusprechen sind. Zwei verschiedene Typen der Degeneration sind unterscheidbar und auf Grund einer genauen Vergleichung der auftretenden Bilder war es möglich, für jede je eine Reihe der sich ausbildenden Veränderungen zusammenzustellen.

Type 1 (Grobschollige Degeneration): Einzelne Kerne zeigen zuerst feine, fast punktförmige Chromatinkörnchen, wobei sich das umgebende Karyoplasma noch wie bei normalen Kernen verhält (Abb. 11). Mit zunehmender Größe und Anfärbbarkeit der Chromatinschollen verblaßt dann der übrige Kernraum (Abb. 12 und 13). Die grobscholligen Bildungen schließen sich nun zu größeren Aggregaten zusammen, wobei gleichzeitig die Kernmembrane und sonstiger Kerninhalt verschwinden (Abb. 14). Damit ist eine vollkommene Kernpyknose erreicht.

Type 2 (Vakuolige Degeneration): Sie beginnt damit, daß in den betroffenen Kernen, die sich noch normal und homogen anfärben lassen, eine mehr oder minder große Zone auftritt, die etwas

heller ist, d. h. etwas schwächer tingiert erscheint. Diese Zone hat dem umgebenden Kernplasma gegenüber keine scharfe Grenze, sondern verläuft kontinuierlich (Abb. 15).

In einem etwas späteren Stadium zeigt sich, daß die begonnene

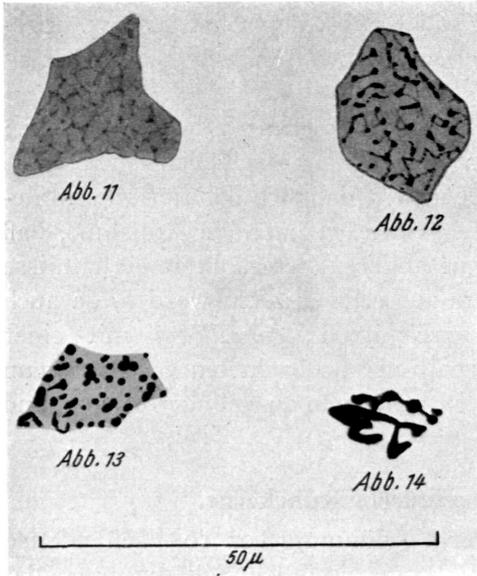


Abb. 11. Pyronin 10-4; Ruhekern mit ersten Anzeichen einer Schädigung.

Abb. 12. Pyronin 10-4; deutliche Schädigung wird durch das Auftreten von Chromatinschollen erkennbar.

Abb. 13. Pyronin 10-4; die Chromatinkörner haben sich zu größeren Schollen zusammengeschlossen, die Kernmembrane wird undeutlich und der Kernsaft nur noch schwach anfärbbar.

Abb. 14. Pyronin 10-4; der Kern ist gänzlich zerfallen und es sind lediglich große Chromatinschollen zu beobachten.

Trennung der Kernsubstanz in zwei, sich verschieden stark färbende Anteile vollständig durchgeführt ist. Das helle Material ist annähernd kugelförmig, wie eine Vakuole, im dunkleren eingeschlossen und von einer intensiv sich anfärbenden Grenzschicht membranartig umgeben (Abb. 16). In der Abb. 17 ist ein Kern wiedergegeben, bei dem sich der helle Anteil, offenbar durch Schrumpfung beim Fixieren, vollständig abgelöst hat und dadurch die Grenzmembrane besonders deutlich sichtbar werden läßt. Ebenso finden wir die Grenzmembrane an Kernen wieder, bei denen der Inhalt der vakuoligen Bildung offenbar ausgestoßen worden ist und so lediglich die membranartige Hülle,

auch noch in ihrer Form deutlich, erhalten blieb (Abb. 18). Dies spricht dafür, daß es sich hier wirklich um eine membranartige Bildung handelt, die bereits vor der Fixierung vorhanden war und der, als formbildendes Element, eine gewisse Festigkeit zukommt.

Die Entleerung stellt aber nur eine Möglichkeit im weiteren Verhalten solcher Kerne dar, die überdies in meinen Präparaten

nicht sehr häufig anzutreffen war. Öfter bleibt die vakuolige Bildung mit ihrem Inhalte weiter erhalten und nimmt dabei an Volumen noch merklich zu. Das kann soweit führen, daß große Teile der Kernoberfläche von der Grenzmembrane eingenommen werden und in extremeren Fällen das übrige Kernmaterial durch die Vakuole in mehrere Teile getrennt erscheint. Abb. 19 gibt eine solche Trennung in zwei annähernd gleich große Stücke wieder, Abb. 20 hingegen einen Fall, bei dem, neben einem größeren chromatischen Anteil, einige kleinere, der Oberfläche des hellgefärbten Materiales anhaften. Auf gleiche Weise kann es auch zu Gebilden kommen, wie sie Abb. 21 zeigt, die, wenn nicht durch Vergleichung mit anderen

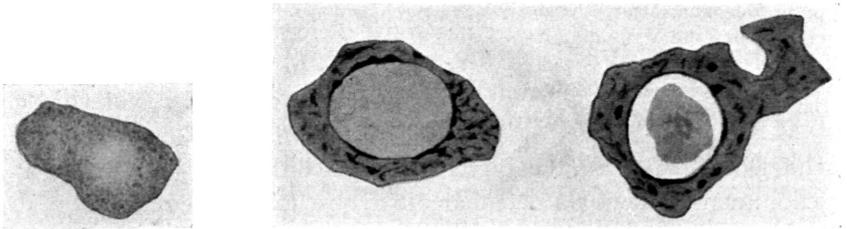


Abb. 15.

Abb. 16.

Abb. 17.

Abb. 15. Pyronin 10-4; erste Anzeichen für den Beginn einer vakuoligen Degeneration des Ruhekerne durch das Auftreten einer aufgestellten Zone erkenntlich. Vergr. wie Abb. 11.

Abb. 16. (r) Pyronin 10-4; typische Ausbildung der Kernvakuole. Vergr. wie Abb. 11.

Abb. 17. (l) Pyronin 10-4; vakuolig degenerierter Kern bei dem durch die Fixierung der Inhalt der Vakuole stark geschrumpft ist. Vergr. wie Abb. 11.

Stadien ihre Entstehung über die vakuolige Degeneration sicher gestellt wäre, leicht als das Ende einer tripolaren Mitose gedeutet werden könnten.

Versuchen wir, die beiden eben beschriebenen Degenerationsformen der Ruhekerne kausalanalytisch zu verstehen, so müssen wir darauf hinweisen, daß die grobschollige Degenerationsform in erster Linie in den dem Flossensaum genäherten Bezirken auftritt und verbunden ist mit großräumigerem Zellzerfall. Kerne mit vakuoliger Degeneration finden sich im allgemeinen vergesellschaftet mit Kernen, die keinerlei Degenerationserscheinungen erkennen lassen. Für diese räumliche Verteilung der beiden Typen von Kernschädigungen lassen sich verschiedene Gesichtspunkte aufzeigen,

die verursachend wirken können. So kann der einwirkende Farbstoff in den verschiedenen Gebieten der Epidermis verschieden schnell, bzw. verschieden stark, zu den einzelnen Zellen vordringen. Die Einzelzellen selbst können für den Farbstoff verschieden permeabel sein und da wir ja nur Kernveränderungen feststellen konnten, wissen wir nichts über die Bedeutung des den Kern umhüllenden Cytoplasmas. Aus der Tatsache, daß unveränderte und vakuolig degenerierte Kerne mit einander vergesellschaftet auftreten, geht jedenfalls hervor, daß die einzelnen Zellen eines sonst gleichförmigen Gewebes, der Epidermis, als in ihrer augenblicklichen physiologischen Situation verschieden anzusehen sind. Damit kann Verschiedenheit auch für entsprechende Abschnitte der Epidermis angenommen werden. Da offenbar die grobschollige Degeneration, die

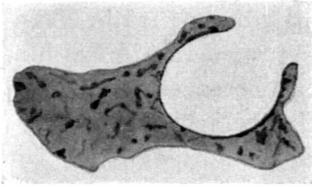


Abb. 18. Pyronin 10-4; vakuolig degenerierter Kern, bei dem sich die Vakuole entleert hat, wodurch die Grenzmembrane deutlich sichtbar wird. Vergr. wie Abb. 11.

ansehen sind. Damit kann Verschiedenheit auch für entsprechende Abschnitte der Epidermis angenommen werden. Da offenbar die grobschollige Degeneration, die

ansehen sind. Damit kann Verschiedenheit auch für entsprechende Abschnitte der Epidermis angenommen werden. Da offenbar die grobschollige Degeneration, die

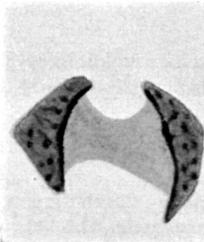


Abb. 19.



Abb. 20.

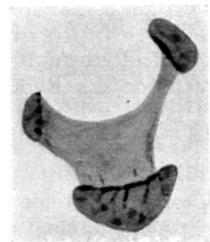


Abb. 21.

Abb. 19. (r) Pyronin 10-4; durch vakuolige Degeneration ist das chromatische Kernmaterial in zwei Teile getrennt. Vakuole offenbar stark geschrumpft. Vergr. wie Abb. 11.

Abb. 20. (l) Pyronin 10-4; vakuolige Degeneration, wobei das chromatische Material in mehrere Stücke aufgeteilt wird. Vergr., wie Abb. 11.

Abb. 21. Pyronin 10; vakuolige Degeneration, die wie Telophase einer tripolaren Mitose aussieht. Vergr. wie Abb. 11.

großräumiger auftritt, die stärkere Kernschädigung darstellt, bleibt die Frage offen, inwieweit es sich hier um eine direkte Wirkung handelt oder um einen Summationseffekt. Dieser könnte dann eintreten, wenn die einander benachbarten betroffenen Zellen sich gegenseitig, zusätzlich schädigen würden.

Diskussion der Ergebnisse.

Die hier mitgeteilten Beobachtungen zeigen abermals, daß das Wirkungsmuster des Pyronins sehr groß ist. So haben wir gesehen, daß colchicinartige Effekte neben chromatischer Brückenbildung auftreten können. Colchicin ist, wie wir bereits aus den Untersuchungen von Dustin (1934), Lev an (1937, 1938) und Bucher (1939) wissen, in erster Linie ein Stoff, der auf die Ausbildungen des Atraktoplasmas einwirkt und so zu der bekannten Vervielfachung von Chromosomensätzen führen kann. Die typische C-Mitose zeichnet sich aber auch durch das Verhalten der Chromosomen selbst aus, denn diese sind hier metaphasisch stets gut bis maximal verkürzt und verhältnismäßig dick.

Chromatische Brückenbildung, wie sie insbesondere nach Trypaflavinbehandlung auftritt, ist von Bucher (1939), Bauch (1947) und Hohl (1949) genauer studiert und als Folge einer Verklebung von Chromosomen, die schon in der späten Prophase stattfinden dürfte, dargestellt worden. Als Ursache wurde eine entsprechende Veränderung der Matrixschichte angenommen.

Es muß nun verwundern, daß ein Stoff sowohl die Wirkung der einen, als auch der anderen Art haben kann. Wollen wir hier zu einer etwas befriedigenden Vorstellung kommen, so müssen wir uns über folgendes klar sein: Bereits die Versuche an *Allium cepa* (Kůpka 1950a) haben gezeigt, daß die C-Mitosen mit zunehmender Stärke der Pyroninlösung häufiger werden. Danach würden hohe Dosen Colchicinwirkung, niedere Verklebungseffekte bedingen. Diese Vorstellung läßt auch die Abb. 1 verstehen, die uns gleichzeitig Verklebungen und Kontraktion der Chromosomen zeigt. Hier war in der für die Verklebung kritischen Periode der Prophase die Pyroninkonzentration in der Zelle noch entsprechend niedrig, um dann bis zur Metaphase den für die Ausbildung von C-Effekten nötigen Wert zu erreichen.

Die Vorstellung, daß ein und derselbe Stoff, je nach der einwirkenden Konzentration, so grundlegend verschiedene Wirkung ausüben soll, scheint im ersten Momente vielleicht unwahrscheinlich. Wenn wir aber unsere Ergebnisse hier, mit den neueren Befunden über die Wirkung verschiedener chemischer Stoffe auf Proteine und auf isolierte Chromosomen vergleichen, so treten beachtliche Parallelen auf.

Ranzi (1951) hatte bereits gezeigt, daß beim Seeigel experimentelle Animalisierung und Vegetativisierung in der Embryogenese mit chemischen Substanzen möglich ist, die in gleicher Weise in Proteinlösungen die Viskosität senken oder ansteigen lassen. Die Viskosität ist in diesem Zusammenhange als Ausdruck für die Form der Eiweißmoleküle anzusehen. In einer weiteren Veröffentlichung (Ranzi u. Citterio 1953) über die Wirkung verschiedener Salzlösungen auf die Stabilität der Form verschiedener Proteine konnte gezeigt werden, daß ein und derselbe Stoff, Na_2SO_4 , je nach der angewendeten Konzentration, entgegengesetzte Wirkung ausübt. Eine Lösung von Na_2SO_4 — 0,25 M wirkte einerseits vegetativisierend auf den Seeigelkeim und andererseits stabilisierend auf das Eiweißmolekül. Hingegen bewirkte eine 0,03 M Na_2SO_4 -Lösung Animalisierung und setzte die Widerstandsfähigkeit des Eiweißmoleküles gegen den zerlegenden Einfluß des Harnstoffes herab.

Orlandi (1953) untersuchte die Wirkung verschiedener, im Seeigelversuch als animalisierend bzw. vegetativisierend bekannter Stoffe auf Aufschwemmungen isolierter Chromosomen aus Lympho- und Erythrozyten des Huhnes. Hier zeigte es sich, daß die ersteren Stoffe ebenfalls Chromosomen auflösen, wohingegen vegetativisierende auf die Form der Chromosomen konservierend bzw. stabilisierend wirken.

Fassen wir die eben angeführten Ergebnisse zusammen, so finden wir zwei Reihen: Erstens Stoffe die vegetativisieren, Proteine stabilisieren und Chromosomen konservieren und zweitens solche die animalisieren, die Widerstandsfähigkeit der Proteine herabsetzen und Chromosomen auflösen. Dabei kann ein Stoff in höherer Konzentration stabilisierend und in schwächerer auflösend wirken. Wenn sich Pyronin ähnlich verhalten sollte, so könnte dies die Besonderheit seines Wirkungsmusters auf die Mitose abklären.

Die fädige Modifikation der Kernschleifen, wie wir sie in Abb. 8 nach einer Behandlung mit Pyronin in Konzentration von 10^{-4} kennen gelernt haben, müßte als absoluter Mangel an Nucleinsäure gedeutet werden, da diese als durch den Farbstoff blockiert angenommen werden kann (Strugger 1949).

Bei der Beurteilung einer antimitotisch wirksamen Substanz ist der Vergleich des auftretenden Wirkungsmusters mit bereits bekannten Erscheinungen dieser Art von besonderer Bedeutung.

Pyronin mit seinem sehr breiten Muster läßt sich bestens mit der Wirkung von X-Strahlen (Lea 1946) gleichsetzen. Am Ruhekern treten sowohl nach Röntgenstrahlen als auch nach Pyroninbehandlung Zerfallserscheinungen im Sinne grobscholliger als auch vakuoliger Degeneration auf (Wetterer 1919, Pekarek 1927, Regaud & Lacassagne 1928 und Flaskamp 1930).

Der Ablauf der Mitose zeigt nach Röntgenbestrahlung gleiche Schäden wie nach Pyroninbehandlung: Verkürzte und verdickte Chromosomen in der Metaphase (vgl. Hohl 1949, Abb. 8), anaphasische Brückenbildung (Politzer 1934, Lea 1946 u. Hohl 1949), Chromosomenbrüche (Koller 1953 u. Lane 1953) sowie Inaktivierung des Centromeres (Hohl 1949). Pflanzliche Gewebe sind außerdem vielfach für Röntgenbestrahlung weniger empfindlich als tierische. Zum biologischen Wirkungsmuster der X-Strahlen ist natürlich auch die Steigerung der Mutationsrate zu rechnen. Für Pyronin ist der mutationsfördernde Effekt durch die Untersuchungen von Witkin (1947) und Demerec, Wallace & Witkin (1948) nachgewiesen worden. — Dieser Vergleich zeigt also, daß wir die Pyroninwirkung als ausgesprochen radiomimetisch bezeichnen können.

Von Bedeutung scheint weiters, daß sowohl bei X-Strahlen (de Nicola 1950, Huber 1951), bei UV-Licht (Caspersson 1950), bei N-Lost (Gjessing & Chanutin 1946, Butler, Gilbert & Smith 1950 und Lowrance & Carter 1950), bei Pyronin (Strugger 1949), bei verschiedenen Bastarden (Brachet 1949, und Baltzer 1952), sowie bei Hitze (Brachet 1949) der Metabolismus der Nucleinsäuren gestört ist. Gleichlaufend finden wir eine Pathologie der Mitose für Röntgenstrahlen (Pekarek 1927, Regaud & Lacassagne 1928 und Politzer 1934), für UV-Licht (Politzer 1934), für N-Lost (Ford 1949 und Hohl 1949), für Pyronin (Kupka 1950a, u. hier), für Bastarde (Baltzer 1910, Boehringer 1938, Schönmann 1938, Kupka 1950b, Poljakova 1950) und für Hitze (Bruhin 1950) angegeben.

Alle diese experimentellen Eingriffe in das Leben der Zellen haben aber weiters noch gemeinsam, daß sie zu einem Ansteigen der Mutationsrate führen.

Die Parallelität der biologischen Wirkung, die wir beobachten können, d. h. Auslösung pathologischer Mitosen, Induktion von

Mutation und Denaturierung bzw. Vitalfärbung von Nucleinsäuren zeigt deutlichst die zentrale Stellung, die diesen im Ablaufe der Lebensvorgänge zukommt. Inwieweit in allen diesen Fällen die Beeinflussung der Nucleinsäure, bzw. deren Veränderung, das primäre Ereignis und damit die Ursache der angeführten Erscheinungen ist, läßt sich heute noch nicht entscheiden.

Zusammenfassung.

Die Wirkung von Pyroninlösungen der Verdünnung 10^{-4} , 10^{-5} und 10^{-7} auf die Epidermiszellen der Schwanzspitzen der Larven von *Triton alpestris* wird untersucht. Bei den ersten beiden Verdünnungen werden Primäreffekte beschrieben, bei der schwächsten Lösung hingegen Sekundäreffekte. Bei 10^{-4} Pyronin gibt es zwei Formen der Degeneration der Ruhekerne, grobschollige und vakuolige. Es wird wahrscheinlich gemacht, daß die erstere der Ausdruck einer stärkeren Schädigung ist. Als Mitosetypus tritt hier die fädige Modifikation der Chromosomen auf die als direkte Folge einer Blockade der Nucleinsäuren gedeutet wird.

Bei der Verdünnung 10^{-5} kommt es sowohl zu Bildern, die C-Mitosen sehr ähnlich sind, als auch zur Ausbildung anaphasischer Chromatinbrücken. Es wird versucht, diese Erscheinung mit ähnlichen Befunden von Ranzi & Citterio (1953) und Orlandi (1953) über entsprechende Strukturveränderungen von Eiweißmolekülen bzw. an isolierten Chromosomen zu erklären.

Nach einer Behandlung mit 10^{-7} -Pyronin wurden 36 Stunden später Brüche und Ablenkungen von Chromosomen sowie Inaktivierungen des Centromeres festgestellt.

Unter Rücksichtnahme auf die vorhandene Literatur und die eigenen Untersuchungsergebnisse wird dem Pyronin radiomimetrische Wirkung zugesprochen. Die Frage der Bedeutung der Nucleinsäuren für diese und ähnliche biologische Erscheinungen wird diskutiert.

Literatur.

Auerbach, Ch., 1950. Differences between effects of chemical and physical mutagens. Publ. Staz. Zool. Napoli, 22 (Suppl.). — Baltzer, F., 1910. Über die Beziehung zwischen dem Chromatin und der Entwicklung und Vererbungsrichtung bei Echinodermenbastarden. Arch. Zellf., 5. — Ders., 1952. The behavior of nuclei and cytoplasm in amphibian interspecific crosses. Symp. soc. for. exper. Biology, 6. — Bauch, R., 1947. Trypaflavin als Typus der

Chromosomengifte. Naturw., **34**. — Boehringer, F., 1938. Über die Kernverhältnisse und die Entwicklung der merogonischen Amphibienbastarde *Triton* (♀) × *Salamandra* ♂. Roux' Arch., **138**. — Brachet, J., 1945. Embryologie Chimique. Masson, Paris. — Ders., 1947. The metabolism of nucleic acids during embryonic development. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **12**. — Ders., 1949. Le rôle et la localisation des acides nucléiques au cours du développement embryonnaire. Acidi nucleici proteine e differenziamento normale e patologica. Rosenberg & Sellier, Torino. — Bruhin, A., 1950. Beiträge zur Zytologie und Genetik schweizerischer *Crepis*-Arten. III. Arb. aus d. Inst. f. allgem. Botanik d. Univ. Zürich, Serie B, **1**. — Bucher, O., 1939. Der Einfluß von Colchicin und Trypaflavin auf den Wachstumsrhythmus und die Zellteilung in Fibrocytenkulturen. Zsch. f. Zellf. u. mikr. Anat., **29**. — Butler, J. A. V., Gilbert, L. A. & Smith, K. A., 1950. Radiometric action of sulfur and nitrogen mustards on desoxyribonucleic acid. Nature, **165**. — Caspersson, T., 1939. Über die Rolle der Desoxyribosenukleinsäure bei der Zellteilung. Chromosoma, **1**. — Ders., 1950. Cell Growth and Cell Function. A cytochemical study. W. W. Norton & Company, New York. — Demerec, M., 1946. Induced mutations and possible mechanisms of the transmission of heredity in *Escherichia coli*. Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., **32**. — Demerec, M., Wallace, B., & Witkin, E. M., 1948. The gene. Carnegie Inst. Wash. Yr. Bk., **47**. — Dustin, A. P., 1934. Action de la colchicine sur le sarcome greffé, type Crocker, de la souris. Bull. Acad. R. med. Belg., **14**. — Flaskamp, W., 1930. Über Röntgenschäden und Schäden durch radioaktive Substanzen. Sonderbände zur Strahlentherapie, **12**. — Ford, C. E., 1949. Chromosome breakages in nitrogen mustard treated *Vicia faba* root tip cells. Hereditas Suppl. Vol. -- Gjessing, E. C., & Chanutin, A., 1946. The effect of nitrogen mustards on the viscosity of thymonucleate. Cancer Research., **6**. — Hohl, K., 1949. Experimentelle Untersuchungen über Röntgeneffekte und chemische Effekte auf die pflanzliche Mitose. Thieme, Stuttgart. — Huber, W., 1951. Ergebnisse und Analyse unterschiedlicher Mechanismen der Strahlenwirkung bei einigen biologischen Systemen. Naturw., **38**. — Koller, P. C., 1953. The cytological effects of irradiation at low intensities. Symp. on Chromosome Breakage., Heredity, **6**. (Suppl.). — Kupka, E., 1950 a. Mitosebeeinflussung durch Pyronin. Rev. Suisse de Zool., **57**. — Ders., 1950 b. Die Mitosen- und Chromosomenverhältnisse bei der großen Schwebrenke, *Coregonus wartmanni* (Bloch), des Artersees. (Cytologische Untersuchungen an Coregonen II.). Ö. Z. Z., **2**. — Lane, G. R., 1953. Interpretation in X-ray chromosome breakage experiments. Symp. on Chromosome Breakage., Heredity., **6**. (Suppl.). — Lea, D. E., 1946. Actions of Radiations on Living Cells. Cambridge Univ. Press. — Lehmann, F. E., 1947. Chemische Beeinflussung der Zellteilung. Experientia., **3**. — Ders., 1951. Der Kernapparat tierischer Zellen und seine Erforschung mit Hilfe von Antimitotica. Schw. Ztschr. allgem. Pathol. u. Bakt., **14**. — Lettré, H., 1950. Über Mitosegifte. Ergebn. Physiol., **46**. — Levan, A., 1937. On chromosome fragments in *Betunia*. Sv. bot. Tidskr., **31**. — Ders., 1938. The effect of colchicine on root mitoses in *Allium*. Hereditas., **24**. — Lowrance, P. B., & Carter, C. E., 1950. The effect of nitrogen mustard on the metabolism of nucleic acids in the hematopoietic tissue of the rabbit. J. cellular. Comp. Physiol., **35**. — Meier, R., & Allgöwer, M., 1945. Zur Charakterisierung zellteilungswirksamer Substanzen an der Gewebekultur. Experientia., **1**. — Meier, R., & Schar, B., 1947. Différenciation de l'action antimitotique sur la cellule animale normale, in vitro. Experientia., **3**. --

Montalenti, G., 1949. Il metabolismo degli acidi nucleici nei suoi rapporti con l'attività della cellula. Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim., 25. — Nicola, M. de., 1950. Azione dei raggi X sul metabolismo degli acidi nucleici in cellule proliferative e cellule secretrici. Experientia., 6. — Orlandi, A., 1953. Sulla struttura submicroscopica dei cromosomi isolati. Rend. Ist. Lomb. (Cl. Sc.), 86. — Pekarek, J., 1927. Über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf die Kern- und Zellteilung bei Wurzelspitzen von *Vicia faba*. Planta., 4. — Politzer, G., 1934. Pathologie der Mitose. Protoplasma-Monogr., 7. — Poljakova, T. F., 1950. Ein Fall von Fragmentierung der Chromosomen unter dem Einfluß der Pfropfung. Dokl. Akad. Nauk. SSSR., 73. — Ranzi, S., 1951. The Proteins in the Cells and in Embryonic Development. Experientia., 7. — Ranzi, S. M. E., & Citterio, P., 1953. Stabilità della molecola proteica e determinazione embrionale. Rend. Ist. Lomb. (Cl. Sc.), 86. — Regaud, Cl., & Lacassagne, 1928. Die histo-physiologische Wirkung der Röntgen- und Radiumstrahlen auf die erwachsenen, normalen Gewebe der Säugetiere. P. Lazarus, Handb. d. ges. Strahlenheilkunde, J. F. Bergmann, München. — Schönmann, W., 1938. Der diploide Bastard *Triton palmatus* ♀ × *Salamandra* ♂. Roux' Arch., 138. — Serra, J. A., 1947. Composition of chromonemata and matrix and the role of nucleoproteins in mitosis and meiosis. Cold Spring Habor Symp. Quant. Biol., 12. — Strugger, S., 1949. Praktikum der Zell- und Gewebsphysiologie der Pflanzen. 2. Aufl., Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg. — Wetterer, J., 1919. Handbuch der Röntgen- und Radiumtherapie. 3. Aufl., 1. Bd., Neumich, München. — Witkin, E. M., 1947. Mutations in *Escherichia coli* induced by chemical agents. Cold Spring Habor, Symp. Quant. Biol., 12.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Österreichische Zoologische Zeitschrift](#)

Jahr/Year: 1955

Band/Volume: [05](#)

Autor(en)/Author(s): Kupka Edmund

Artikel/Article: [Über die Wirkung von Pyroninlösungen auf die Epidermiszellen der Larven von Triton alpestris. \(Mitosebeeinflussung durch Pyronin II.\). 442-456](#)