

Table I

H_2O_2 -contents (γ pro 17 mg dry weight) in organs of normal rats and in organs and tumour of rats with transplants of Walker-carcinoma

Rat	Liver	Kidney	Tumour
1 (normal)	2.1	25.0	
2 (normal)	4.8	50.0	
3 (normal)	2.5	45.0	
4 (normal)	3.0	34.0	
5 (Ca 10 days after graft)	—	—	16.0
6 (Ca 10 days)	1.8	23.0	32.6
7 (Ca 12 days)	1.7	28.5	12.8
8 (Ca 14 days)	3.0	33.0	13.5
9 (Ca 16 days)	4.2	45.0	4.1
10 (Ca 18 days)	4.7	51.3	4.4

Table II

H_2O_2 -contents (γ pro 12 mg dry weight) in organs of normal mice and in organs and tumours of mice with transplants of Ehrlich-cancer

Mouse	Liver	Kidney	Tumour
1 (normal)	12	40	
2 (normal)	11.3	53	
3 (normal)	12.7	37	
4 (normal)	10	35	
5 (normal)	6	30	
6 (normal)	9	60	
7 (Ca 10 days after graft)	12	50	12
8 (Ca 10 days after graft)	14	47	13
9 (Ca 10 days after graft)	7	60	13
10 (Ca 10 days after graft)	6	50	11
11 (Ca 13 days)	11	55	5
12 (Ca 13 days)	8	43	6

In all animals the kidney shows the highest contents of H_2O_2 , a finding which may be in accord with some old observations of BLASCHKO¹ that an appropriate concentration of hydroxylamine brings about a strong decrease of respiration of kidney sections, whereas it does not disturb the respiration of testis. A catalase poison exerts a stronger action where H_2O_2 is more largely formed, i.e. in kidney. This organ is a site of the most intense oxidation processes and H_2O_2 may be considered as a result of a very active oxidative metabolism.

In regard to tumours, we find in rats with Walker-Ca some figures which are (rats 5–8) in the same order as those of kidney, always exceeding the amounts found in livers, i.e. in an organ with high metabolic rate. Tumours of rats 9–10, examined after a longer delay after graft and showing more necrotic changes, gave lower values. Ehrlich-cancer of mice seems to possess lower amounts of H_2O_2 , tumours show figures of same order as livers (mice 7–10), in one case lower (mouse 11). This finding may be related to the large necrotic changes occurring in such a tumour. The decrease of H_2O_2 -contents with extending necrosis of the tumour is a general feature.

A series of H_2O_2 -estimations has been started on livers of rats fed dimethylaminoazobenzene and an appropriate deficient diet in order to obtain hepatomas and to compare them with normal livers. A report of such experiments will be given later. We may now anticipate that the livers of 4 rats fed the deficient diet (with carcinogen or without) showed very high contents in the range 18–26 γ after only a month of treatment, i.e. in a quite precancerous condition.

Arguing from the kidney, which evidently has a particular position owing to its high metabolic rate, we may suppose a content of H_2O_2 in tumours which exceeds (in rats), or equals (in mice), that of the liver. This finding may show a rather active oxidative metabolism in tumours, in contrast to the usual assertion of a prevailing anaerobic metabolism. It is difficult to assess the importance of H_2O_2 for carcinogenesis according to the above working hypothesis. The action of this metabolite may be different in different tissues, according to the equilibrium of catalase-peroxidase, presence of H-donors, structure of cell proteins and protein split product. A more extensive study concerning chemically induced tumours at different stages may give a clearer answer.

P. RONDONI and G. CUDKOWICZ

Centro per la oncologia sperimentale del C.N.R., Sezione presso l'Istituto del cancro di Milano, March 9, 1953.

Zusammenfassung

Die auf Grund älterer Arbeiten festgestellte «aggregierende Wirkung» des Wasserstoffsuperoxyds auf gewisse Proteinsysteme gestattet die Arbeitshypothese aufzustellen, wonach die bekannte Abnahme der Katalaseaktivität im Geschwulstgewebe eine Zunahme des H_2O_2 -Gehaltes zur Folge haben dürfte und dadurch zum Umbau gewisser Proteine führen würde, der die Grundlage der krebsigen Umwandlung der Zelle darstellen könnte. Die Bestimmung des H_2O_2 -Gehaltes (Titanium-Sulfat-Methode) wurde bei transplantablen Tumoren (Walker-Rattekarzinom und Ehrlich-Mäusekrebs) unternommen. Werte in der Größenordnung der metabolisch sehr aktiven Organe (Niere, Leber) wurden meistens gefunden. Auch die Lebern einiger mit Dimethylazobenzol und einer mangelhaften Diät gefütterten Ratten wiesen sehr frühzeitig hohe H_2O_2 -Werte auf. Die Arbeitshypothese erheischt weitere experimentelle Belege.

Über das Verhalten von Grünalgen bei Einwirkung mehrwertiger Alkohole

Den zahlreichen Untersuchungen über die Wirkung mehrwertiger Alkohole auf die Struktur und die Funktion tierischer Gewebe¹ stehen nur wenige gegenüber, die sich mit dem Einfluss solcher Substanzen auf pflanzliche Zellen beschäftigen.

Nach den Beobachtungen von LOESER und Mitarbeitern² wird die Atmung von Hefezellen durch mehrwertige Alkohole – 1,2-Propandiol, 1,3-Butandiol, 1,2,3-Propantriol, 1,2,4-Butantriol – unterschiedlich verändert. Während die untersuchten Substanzen den Sauerstoffverbrauch der Hefe bei Abwesenheit von Glukose steigern, schränken dieselben Alkohole bei Zusatz von Glukose zur Hefe die Atmung ein. Diese Doppelwirkung ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass die Hefezelle bei Fehlen von Glukose die Alkohole als Brennmaterial mit heranzieht und sie in Abhängigkeit von der jeweiligen Konstitution – Zahl, Qualität, Stellung der Hydroxylgruppen – verschieden rasch und vollkommen abbaut. Steht den Hefezellen hingegen Glukose – das natürliche Brennmaterial – zur Verfügung, so werden die zugefügten Alkohole nicht angegriffen, sondern ent-

¹ Zusammenfassung der Literatur siehe A. LOESER: Referat: Lösungsmittel und Lösungsvermittler, 19. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft, Göttingen 1952, Arch. exper. Path. Pharmakol. 218, 36 (1953).

² H. KLEINSORG, C. G. SCHMIDT und A. LOESER, Arch. exper. Path. Pharmakol. 211, 235 (1950). – E. STÖRMER, unveröffentlichte Versuche.

¹ H. BLASCHKO, J. physiol. 84, 52 (Proceed.) (1935).

falten in erster Linie die ihnen eigenen Wirkungen: die Hefezelle wird jetzt durch die Alkohole so verändert, dass sie nicht mehr imstande ist, die ihr angebotene Glukose zu verbrennen bzw. zu spalten. Anders ausgedrückt heisst das: Hefatmung und Hefegärung werden unter solchen Bedingungen gehemmt. Für diese Wirkung scheint die Konzentration der Alkohole und nicht ihre chemische Konstitution von Bedeutung zu sein.

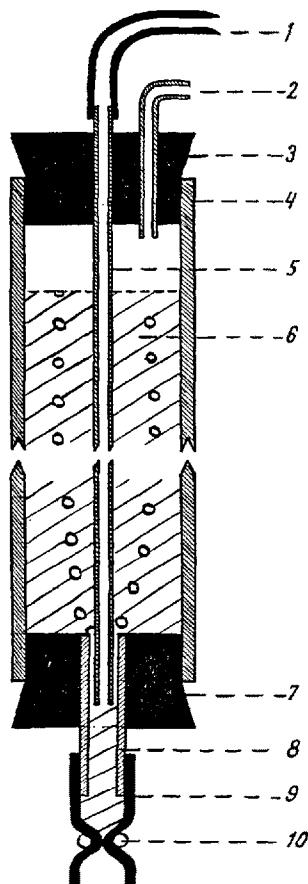


Abb. 1. Kulturröhre, Medianschnitt: 1 = Gaszuleitung, 2 = Gasableitung, 3 = Gummistopfen, 4 = Glasröhr (verkürzt gezeichnet), 5 = Gaseinleitungsrohr, 6 = Chlorellensuspension mit aufsteigenden Gasblasen, 7 = Gummistopfen, 8, 9 = Glasrohr mit Schlauch zum Ablassen der Chlorellen, 10 = Schlauchklemme. Glas: Eng schraffiert; Gummi: schwarz.

In der vorliegenden Arbeit haben wir das Verhalten von Grünalgen nach Zusatz von 1,3-Butandiol – $\text{CH}_3 \cdot \text{CHOH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2\text{OH}$ – zur Nährflüssigkeit untersucht. Als Vergleichssubstanz diente der dreiwertige Alkohol Glyzerin. Die Versuche wurden in den Monaten November und Dezember 1952 sowie März und April 1953 bei Zimmertemperatur ausgeführt.

Methodisches. Grünalgen – Reinkulturen von *Chlorella vulgaris* var. *viridis chodat*. aus der Sammlung von Prof. PRINGSHEIM, Cambridge – wurden unter sterilen Bedingungen in einer definierten Nährlösung¹ gezüchtet. Als Lichtquelle diente eine 300-W-Metallfadenlampe mit Wasserkühlung in der Anordnung nach WARBURG². Ein Gasgemisch von etwa 95 Vol. % atmosphärischer Luft und 5 Vol. % Kohlensäure – Waschen in KMnO_4 und

¹ Nährlösung für Chlorellen: 0,57 g KNO_3 ; 0,16 g KH_2PO_4 ; 0,09 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$; 5,56 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$; 10,44 mg Natriumzitrat; 2,86 mg H_3BO_3 ; 1,81 mg $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$; 0,22 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$; 0,08 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$; 0,016 mg Ammoniummolybdat; 4,3 mg $\text{CaSO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ad 1000 ml Aqua dest.

² O. WARBURG, Biochem. Z. 100, 230 (1919).

HgCl_2 , Wattefilter – durchströmte stetig die Nährlösung. Nach etwa vier Tagen konnte das Angrünen der Kulturen beobachtet werden. 1–3 Wochen später hatten sich die Chlorellen so vermehrt, dass das Kulturmedium durch die darin aufgeschwemmten Algen eine satte grüne Farbe zeigte.

Zu diesem Zeitpunkt wurden je 50 ml der Chlorellensuspension zu 1450 ml einer Nährlösung gegeben, der außer den beschriebenen Substanzen 1,3-Butandiol oder Glyzerin bzw. Aqua dest. (Kontrollen) in so bemessenen Mengen zugesetzt war, dass die Endkonzentration der Alkohole 0,01%, 0,1% bzw. 1,0% in 1500 ml betrug. In senkrecht stehenden Glasröhren – Länge 1300 mm, lichte Weite 38 mm, unten und oben durch Gummistopfen verschlossen, Abbildung 1 – wurden die beschriebenen Versuchsansätze bei ständiger diffuser Scheinwerferbeleuchtung mit dem angegebenen Gasgemisch gleichmäßig 24 Tage lang durchströmt. Bestimmungen der Zellzahlen je Milliliter zu Beginn und am Ende des Versuches erfolgten in der Blutkörperchenzählkammer nach THOMA, Fettfärbungen in typischer Weise mit Sudan III. Mikroaufnahmen, deren Wiedergabe den Rahmen dieser Mitteilung überschreiten würde, sind mit einer Leitz-Ölimmersion 90:1 und 10:1 Periplanokularen angefertigt worden.

Ergebnisse. Bei Einwirkung von 1,3-Butandiol oder Glyzerin auf Kulturen von Grünalgen liess sich unter den angegebenen Bedingungen folgendes beobachten:

Bei einer Endkonzentration der beiden Substanzen von 0,1% war nach 24 Tagen die Zahl der Zellen je Milliliter um $1,4 \cdot 10^9$ (1,3-Butandiol) bzw. um $2,7 \cdot 10^9$ (Glyzerin) höher als in den Kontrollsätzen. In den Röhren mit 1%igem 1,3-Butandiol- bzw. Glyzerinzusatz waren $0,3 \cdot 10^9$ bzw. $1,3 \cdot 10^9$ Zellen je Milliliter mehr als gewöhnlich. Bei der mikroskopischen Untersuchung fanden sich im Vergleich zu den Kontrollen in den Ansätzen mit 0,1% 1,3-Butandiol bzw. Glyzerin mehr in Teilung begriffene Zellen sowie vermehrt junge Zellen; außerdem waren in zahlreichen Zellen sudanpositive Inhaltströpfchen zu erkennen. Weniger zahlreiche, dafür erheblich grössere, ebenfalls sudanpositive Inhaltstropfen wurden in den Zellen der Ansätze mit 1% 1,3-Butandiol bzw. Glyzerin gefunden. In vielen Fällen erschien hier der Chromatophor sichelförmig an die Zellwand gedrängt. Gegenüber den Kontrollen zeigten die Chlorellen aus 0,01%igen Ansätzen keine eindeutigen Veränderungen.

Die mikroskopischen Befunde liessen sich in einem weiteren Versuch gleicher Anordnung reproduzieren. Eine stärkere Vermehrung der Algen trat hier allerdings schon bei Aufzucht in 0,01%igen Ansätzen auf, während bei Zusatz von 0,1% und 1,0% 1,3-Butandiol bzw. Glyzerin eine Abnahme der Zellzahl nachgewiesen wurde, so dass an die Möglichkeit jahreszeitlich bedingter Einflüsse gedacht werden muss.

Fräulein Dr. M. MEFFERT, Kohlenstoffbiologische Forschungsanstalt e.V., Essen, sei für die Überlassung der Kulturen und für Ratschläge zur Aufzucht, Herrn Dozent Dr. E. PERNER, Botanisches Institut der Universität Münster, für die Durchsicht der Präparate und Herrn Dozent Dr. N. SCHÜMMELFEDER, Pathologisches Institut der Universität Münster, für seine Bemühungen bei den Mikroaufnahmen gedankt.

LINDE GROSSKINSKI, E. STÜRMER
und A. LOESER

Pharmakologisches Institut der Universität Münster i. W., den 8. Mai 1953.

Summary

Green algae cultured for 24 days in a medium with addition of 1·3 butandiol or glycerol, showed reproducible changes of their fine structure, and an influencing of the cell number.