Zeitschrift: Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche

Herausgeber: Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften

Band: 1 (1944-1945)

Heft: 4

Artikel: Die Wirkung von Nikotin auf Gewebekulturen

Autor: Bucher, Otto

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-306739

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 05.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

D. K. 611.018.9:612.014.46

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Zürich[1])

Die Wirkung von Nikotin auf Gewebekulturen

Von **Otto Bucher**

(Mit 8 Abbildungen)

1. *Einleitung*

Das *Nikotin* spielt als der wichtigste Bestandteil des Tabakes im täglichen Leben eine sehr große Rolle. Für die schädliche Wirkung des *Rauchens* ist in allererster Linie das Nikotin verantwortlich; so bewirkt – auch beim Nichtraucher – entnikotinisierter Tabakrauch z. B. keine Kreislaufstörungen.

Der Mensch kann gegen das Nikotin eine gewisse Toleranz erwerben. Während die tödliche Nikotindosis für den ungewohnten Raucher etwa 40 mg beträgt, resorbiert ein starker Raucher mit Inhalieren aus 40 Zigaretten täglich mehr als das Fünffache dieser Dosis (nach *Bodnár*, *Nagy* und *Dickmann* 1935). Die Versuche, Tiere durch chronische Verabreichung von Nikotin an dieses Gift zu gewöhnen, haben – so geht aus der Literatur hervor – sehr voneinander abweichende Resultate ergeben. So mag es nun von einem gewissen Interesse sein, einmal der Frage nachzugehen, wie denn die tierische (oder menschliche) *Zelle* selbst auf die Darreichung verschiedener Konzentrationen von Nikotin reagiert. Ich habe deshalb im Verlauf der letzten vier Jahre eine Reihe von Untersuchungen an Gewebekulturen in vitro, die sich gerade für derartige Forschungen als besonders geeignet erwiesen haben, durchgeführt, und zwar benützten wir Kaninchen-Fibrozyten, die nach der Deckglasmethode in üblicher Weise in Blutplasma und Gewebeextrakt gezüchtet wurden.

Über die Technik der Gewebezüchtung vergleiche man die betreffenden Monographien (*F. Demuth* 1929, *Rh. Erdmann* 2. Aufl. 1930, *A. Fischer* 3. Aufl. 1930). Eine kurze Übersicht über Technik und Bedeutung der Gewebezüchtung findet man auch in Ciba-Ztschr. Nr. 74, 1940 (*O. Bucher:* Gewebezüchtung).

---

[1]) Unterstützt durch Mittel der Jubiläumsspende der Universität Zürich und der Schweizerischen Akademie der medizinischen Wissenschaften.

Neben den gröberen morphologischen Veränderungen, die durch bestimmte Giftkonzentrationen im Zelleib hervorgerufen werden, läßt sich eine der wesentlichsten Lebenserscheinungen der Zelle, ihre Teilung (Mitose), in der Kultur in vitro sehr gut studieren. Für die Beurteilung der Teilungstätigkeit der mit Nikotin behandelten Zellen bin ich nach der Methode vorgegangen, die vor allem durch *W. von Möllendorff* (1937) ausgearbeitet worden ist, und welche sich in der Zwischenzeit bei einer Reihe von derartigen Untersuchungen[1]) bewährt hat. Der Einfluß von Nikotin auf in vitro gezüchtete tierische Zellen ist bisher anscheinend nur von *B. Takeyama* (1931) und *H. Yamada* (1936) untersucht worden, deren japanisch geschriebene Originalarbeiten mir nicht zugänglich sind. Im übrigen ist die zytologische Wirkung des Nikotins m. W. nur an Pflanzenzellen studiert worden (vgl. z. B. *F. Mainx* 1924, *B. Němec* 1929).

2. *Mitosenzählungen in lebenden Kulturen*

Bei einer Versuchsdauer von 8 Stunden wurden in Abständen von 1½ bis 2½ Stunden die in dem vom implantierten Mutterstück ausgewachsenen jungen Bindegewebe (Randschleier) sichtbaren Zellteilungen gezählt. Wir sind uns dabei bewußt, daß bei solchen Zählungen in ungefärbten lebenden Kulturen nur die mittleren Teilungsstadien, wo die Zellen abgerundet sind, mit Sicherheit erfaßt werden können.

Wenn wir bei diesen Mitosenzählungen in einem bestimmten Zeitpunkt eine Zunahme der in den betreffenden Versuchskulturen sichtbaren Mitosen finden, so läßt sich daraus keineswegs ohne weiteres auf eine die Teilungstätigkeit anregende Wirkung des zugesetzten Pharmakons schließen. Viel häufiger ist in solchen Fällen durch die Gifteinwirkung die Teilungsdauer erhöht, weshalb dann Zellen noch im Stadium der Mitose angetroffen (und gezählt) werden, welche unter normalen Bedingungen – so auch in den Kontrollversuchen – ihre Teilung schon beendet hätten; sehr schön läßt sich das bei der Einwirkung von Colchicin demonstrieren (vgl. *O. Bucher* 1939).

Sinkt aber die Zahl der in den lebenden Kulturen ausgezählten Teilungsstadien, dann dürfen wir mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß weniger Zellen die Teilung begonnen haben: der *mitotische Koeffizient*, d. i. die *Zahl der pro 100 Zellen im Verlauf einer Stunde neu auftretenden Mitosen*, ist gesunken. Es ist in der Regel nicht möglich – in Analogie zu unseren Ausführungen über die Vermehrung der Teilungsfiguren – eine nennenswerte Verminderung der sichtbaren Mitosen durch einen entsprechend beschleunigten Teilungsablauf zu erklären. Was die Zellteilungen und das Wachstum anbetrifft, so leben ja die in vitro gezüch-

[1]) Zur Kenntnis der Mitose I–XIII: Z. Zellforsch. **27–32** (1937–1942).

teten Bindegewebszellen bereits unter nahezu optimalen Bedingungen; es wird ihnen meistens kaum mehr möglich sein, eine *durchschnittliche Teilungsdauer* von *40–50 Minuten* (nach vielen im Zürcher Anatomischen Institut aufgenommenen Zeitrafferfilmen) noch wesentlich zu unterbieten.

Die Mitosenzählungen in lebenden Kulturen sind sehr wohl geeignet, uns mancherlei Aufschlüsse über die Beeinflussung des Teilungsgeschehens zu geben. Die daraus gezogenen Schlüsse müssen aber immer noch durch die Resultate der anderen Untersuchungsmethoden, insbesondere der Filmanalyse, erhärtet werden.

Bei diesen Zählungsversuchen wurde jeweilen der Hohlschliff des Objektträgers mit der betreffenden Nikotin-Lösung (verdünnt mit Tyrodescher Flüssigkeit), für die Kontrollversuche mit reiner Tyrodescher Flüssigkeit ganz ausgefüllt, sobald in allen Versuchskulturen die Mitosen gezählt waren. Dabei muß jede Abkühlung der Kulturen vermieden werden, da sonst dadurch die Teilungstätigkeit der Zellen beeinflußt wird. Man muß also die Versuchslösungen auf Körpertemperatur vorwärmen und für die Mitosenzählungen ein Mikroskop mit einem geheizten Objekttisch verwenden.

Die Summen der aus jeweilen mindestens 12 Versuchskulturen (mit zusammen 400–1200 Mitosen pro Gruppe) ermittelten Mitosenzahlen sind – in Prozente der vor Zusatz der Versuchslösungen gezählten Mitosenwerte (= 100%) umgerechnet – in Abb. 1 kurvenmäßig dargestellt (sog. Summenkurven oder *Mitosenzahlenkurven*). Allen Kurven gemeinsam, auch denjenigen der Kontrollversuche mit Zusatz von Tyrodescher

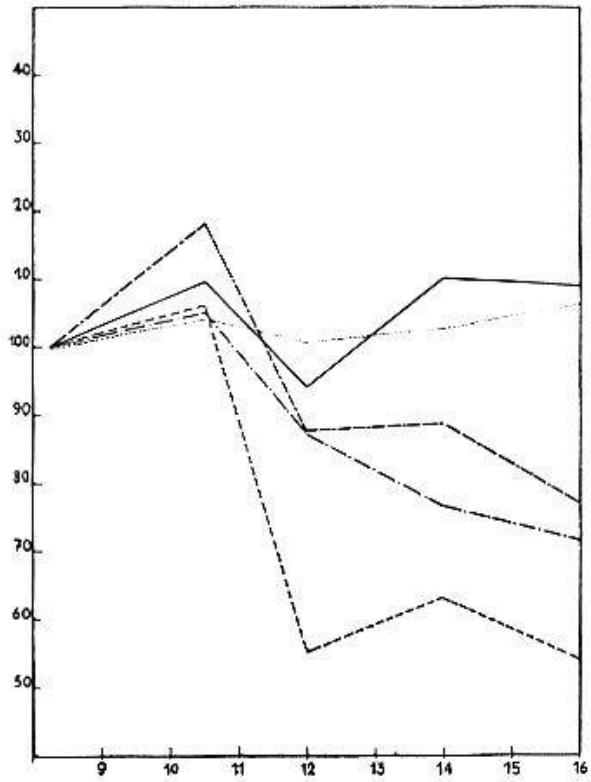

Abb. 1. *Mitosenzahlenkurven.* Ermittelt durch Zählen der sichtbaren Mitosen in Abständen von 1½–2½ Std.; auf Prozente der vor Versuchsbeginn bestimmten Mitosenzahlen umgerechnet. Zusatz von: ——— Tyrodesche Lösung, ... Nikotin 1:30000 und 1:40000 (12 Kulturen), —·—·— Nikotin 1:20000 und 1:25000 (12 Kulturen), –·–·–· Nikotin 1:10000 und 1:12000 und 1:15000 (24 Kulturen), ---- Nikotin 1:6000 und 1:8000 (12 Kulturen).

Flüssigkeit, ist die Vermehrung der Zahl der sichtbaren Mitosen bei der ersten Zählung 2 Stunden nach dem Zusatz, was wir – mit Berücksichtigung der Resultate der Filmanalyse – auf die Verlängerung der Ablaufsdauer zurückführen können, welche z. T. ganz unspezifisch (z. B. durch die Manipulationen beim Zusatz der Versuchslösung) bedingt sein könnte. Die Mitosenzahlen in den Kulturen mit einem Nikotinzusatz in der Konzentration von 1 : 30000 und 1 : 40000 zeigen in ihrem weiteren Verlauf kein von den Kontrollversuchen abweichendes Verhalten, während in den Versuchskulturen mit Nikotin 1 : 6000 bis 1 : 25000 die Mitosen entsprechend der zugesetzten Giftkonzentration mehr oder weniger stark abgenommen haben; die *Grenzkonzentration* liegt somit etwa bei 1:30000.

In den Versuchen mit Nikotin 1 : 30000–40000 und Nikotin 1 : 20000 bis 25000 dürfte die initiale Verlängerung der Ablaufszeit bis zur zweiten Zählung nach dem Giftzusatz wieder auf die Norm zurückgegangen sein. Während nun aber bei den Versuchen mit den beiden schwächeren Konzentrationen (1 : 30000–40000) der mitotische Koeffizient nicht mehr beeinflußt wird, beginnen bei den Versuchen mit den beiden höheren Konzentrationen (1 : 20000–25000) bestimmt weniger neue Zellteilungen, als normalerweise zu erwarten wäre. Diese *Herabsetzung der Teilungsrate* ist dann bei den beiden Kurven der Mitosenzahlen aus den Versuchen mit Nikotin 1 : 10000–15000 und Nikotin 1 : 6000–8000 so stark, daß sie auch durch die mit zunehmender Schädigung verlängerte Teilungsdauer längst nicht mehr ausgeglichen werden kann, so daß hier die Zahl der sichtbaren Zellteilungsfiguren in der 2. Hälfte des Versuches auffällig vermindert ist.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der lebenden Nikotin-Versuchskulturen fällt nun auch eine zunehmende *Vakuolisierung des Zytoplasmas* – sowohl der Arbeitszellen (= «Ruhezellen»), wie auch der sich teilenden Zellen – auf. Während diese Vakuolenbildung nach einem Nikotinzusatz von 1 : 15000 nach etwa 3 Stunden deutlich zu sehen ist, tritt sie bei stärkeren Giftkonzentrationen schon früher auf und erreicht auch eine stärkere Ausbildung; bei den schwächeren Konzentrationen (1 : 20000–25000) ist sie gewöhnlich gegen das Ende des Versuches zu beobachten.

3. *Mikrokinematographische Untersuchungen*

Technische Angaben. 16 mm Kamera (Siemens) mit Zeitrafferapparatur in Verbindung mit dem Panphot (Leitz); Periplan 6×, Apochromat 12×. Geheizter Objekttisch (38,5°). Pro Minute werden 4 Bilder aufgenommen; Einzelbild mit 6½ Sek. Belichtung (bei 6,5 Ampères und etwas stärkerer Ab-

blendung als bei früheren Filmversuchen mit z.T. kürzerer Belichtungszeit). Verwendung eines möglichst feinkörnigen Filmes (Rectepan Umkehr-Schmalfilm von Perutz). Filter: Trichromfilter, Blaufilter, Forobonglas.

Den technischen Angaben ist beim Vergleich der Resultate verschiedener Filmuntersuchungen die nötige Aufmerksamkeit zu schenken; insbesondere die Belichtungsverhältnisse sind für die durchschnittliche Teilungsdauer nicht belanglos (vgl. dazu *O. Bucher*, 1940 a, S. 446).

Die *quantitative Auswertung* der gefilmten Mitosen geschieht bei der Projektion, wobei mit Hilfe eines Umdrehungszählers die Bildzahl bestimmt und dann aus Zeitraffung und Bildzahl (= identisch mit der mittels des Tachometers bestimmten Umdrehungszahl) Beginn und Ablauf der verschiedenen Teilungsphasen ermittelt werden können.

Bei der *graphischen Darstellung* der Befunde muß die lokale Zelldichtigkeit im gefilmten Gesichtsfeld miteingerechnet werden, da die Mitosenerwartung der Gesamtzellenzahl proportional ist.

Bei der Filmauswertung werden folgende *Teilungsstadien* gemessen:

1. $a+b_1$, d.h. die Zeit der Abrundung der Zelle und der Chromosomenbildung (a = *Prophase*) und die Zeit der ungeordneten Chromosomenbewegungen (b_1 = *frühe Metaphase*) bis zum Auftreten der Aequatorialplatte.
2. b_2+c+d_1, d.h. die Dauer der Aequatorialplatte (b_2 = *späte Metaphase*), der *Anaphase* (c) und der Durchschnürung des Zelleibes (d_1 = *frühe Telophase*).
3. d_2, d.h. die Zeit von der vollendeten Durchschnürung bis zum Beginn der Wiederausbreitung der Zelle (*späte Telophase*);
4. e, d.h. die *Rekonstruktionsphase*.

Nähere Angaben über die verschiedenen Teilungsphasen bei *W. von Möllendorff*, Arch. exper. Zellforsch. **21**, 17–20, 1937 oder Lehrbuch der Histologie (1943) S. 32–38.

Film Nr. 307. *Fibrozytenkultur mit Zusatz von Nikotin 1 : 15000* (in Tyrodescher Flüssigkeit); Kultur in 31. Passage, 2. Tag. Gesamtzellenzahl zu Beginn des Versuches etwa 230. Zusatz der Nikotinlösung ¼ Stunde vor Beginn der Filmaufnahmen, die sich über etwas mehr als 8 Std. erstreckten. In dieser Zeit wurden im Gesichtsfeld 36 *Zellteilungen*

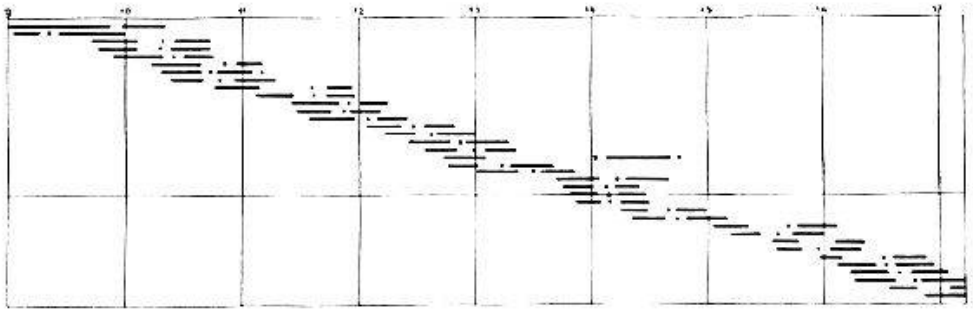

Abb. 2. *Mitosenkurve des Filmes Nr. 307.* Fibrozytenkultur. Zusatz von Nikotin 1:15000. Über die bei der Auswertung gemessenen Teilungsphasen vgl. oben im Text; es bedeuten: ——— (am Anfang) Zeit vom Teilungsbeginn bis zum ersten Auftreten der Aequatorialplatte, • den Moment der vollendeten Durchschnürung der Zelleibes, ——— (am Ende) Dauer der Rekonstruktionsphase.

beobachtet, deren *graphische Darstellung* (Abb. 2) ein wenig charakteristisches Bild ergibt. Die Zellteilungen sind – abgesehen von einer leichten Zunahme in der 4. Stunde und einer Abnahme in der 6. Stunde – etwa gleichmäßig über die ganze Versuchsdauer verteilt.

Der *mitotische Koeffizient* (vgl. S. 253) ist bei diesem Nikotin-Versuchsfilm mindestens auf die Hälfte herabgesetzt (Abb. 4). Dementsprechend ist auch der Zuwachs neuer Zellen bescheiden, wie aus der *Zuwachskurve* (Abb. 3) im Vergleich mit früheren Kontrollversuchen ohne Giftzusatz (Film Nr. 133 und 195/196) schön hervorgeht.

Die Mitosenkurve des Filmes Nr. 133 ist publiziert bei *v. Möllendorff* und *Laqueur*, III, 1938 S. 314, diejenige des Filmes Nr. 195/196 bei *v. Möllendorff* und *Ostrouch*, VII, 1939, S. 327. Beide Darstellungen zeigen das Teilungsgeschehen in einer normalen Bindegewebskultur, welcher nur Tyrodesche Flüssigkeit zugesetzt worden ist.

Damit die Ergebnisse der verschiedenen Filmversuche – der erwähnten beiden Kontrollversuche und meines Nikotin-Versuches – miteinander verglichen werden können, muß selbstverständlich auch hier die Gesamtzellenzahl in dem Sinn mitberücksichtigt werden, daß die Zahl der jede Stunde neu hinzukommenden Zellen, welche ja der Zahl der abgelaufenen Mitosen entspricht, auf die Gesamtzellenzahl von 100 umgerechnet worden ist (= mitotischer Koeffizient).

Der Filmversuch beweist uns einwandfrei, daß das Nikotin in einer Konzentration von 1 : 15000 zu einer *Verminderung der Teilungsrate* führt, wie wir ja auch schon aus den Mitosenzählversuchen an lebenden Kulturen schließen zu können glaubten (S. 255). Der Zeitrafferfilmversuch gibt uns nun aber auch Aufschluß über die *mittlere Teilungsdauer* der in den 8 Stunden ablaufenden Zellteilungen (Abb. 4). Unter den oben beschriebenen technischen Bedingungen wäre in normalen Bindegewebskulturen (ohne irgendwelche experimentelle Einwirkung) eine mittlere Mitosendauer von 40–50 Min. zu erwarten (vgl. auch *v. Möllendorff* und *Ostrouch* 1939, S. 328, Abb. 2). In unserem Nikotin-Filmversuch ist nun die Teilungsdauer in den beiden ersten Stunden leicht erhöht. Man

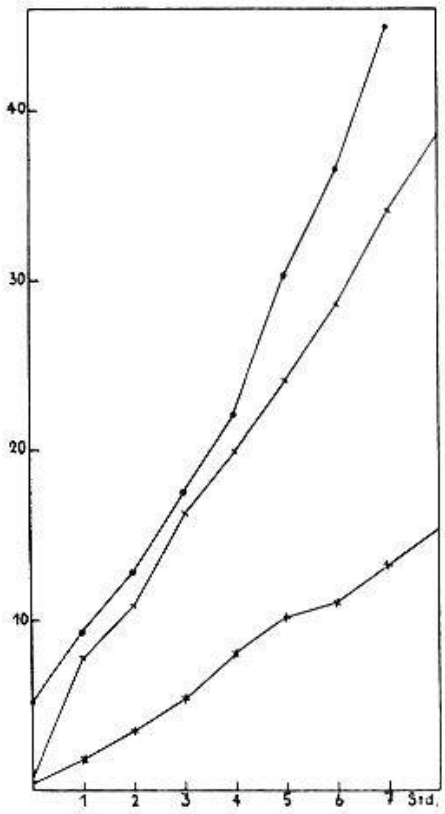

Abb. 3. *Zuwachskurven.* ×—× Film Nr. 307 (Nikotin 1:15000), |——| Film Nr. 195/196 (Tyrode), •——• Film Nr. 133 (Tyrode).

erinnere sich an die damit übereinstimmende Beobachtung beim Zählen der sichtbaren Mitosen in den lebenden Kulturen (Abb. 1): leichte Zunahme der Mitosenzahl bei der etwa 2 Stunden nach Versuchsbeginn vorgenommenen Zählung, für welche nur die verlängerte Ablaufsdauer verantwortlich gemacht werden kann, da ja der mitotische Koeffizient (Abb. 4) keine Zunahme erfährt. In den folgenden 4 Stunden bewegt sich die mittlere Teilungsdauer innerhalb der Norm, um dann erst in der 7. und 8. Stunde wieder eine leichte Zunahme zu erfahren. Die schädigende Wirkung des Nikotins beginnt sich nun auch auf die Mitosendauer auszuwirken, während die Verlängerung der Zellteilungen am Versuchsbeginn möglicherweise mit der Nikotinwirkung gar nichts zu tun hat, sondern durch ganz unspezifische Einwirkungen (wie Zusatz der Versuchslösung, leichte Abkühlung, starke Lichteinwirkung während der Aufnahmen), die dann allmählich wieder überwunden werden, bedingt sein könnte.

Weitere Besonderheiten lassen sich auch aus der Dauer der einzelnen Teilungsphasen nicht herauslesen. Der Zeitpunkt der vollzogenen *Durchschnürung des Zelleibes* (horizontaler Strich in unserer Darstellung) liegt zeitlich immer am Anfang der zweiten Teilungshälfte. Auch *dynamisch* zeigen die «Nikotin-Mitosen» keine weiteren Abweichungen (wie z.B. erhöhte Oberflächenaktivität) vom normalen Verhalten.

Morphologisch fallen die zwei in Abb. 2 mit × bezeichneten Mitosen besonders auf, indem hier bei der Durchschnürung 2 ganz ungleiche Teile entstehen. Die eine dieser Teilungen fällt auch durch ihre stark verlängerte Ablaufszeit (117 Min.) aus dem Rahmen; ich habe sie bei der Berechnung der

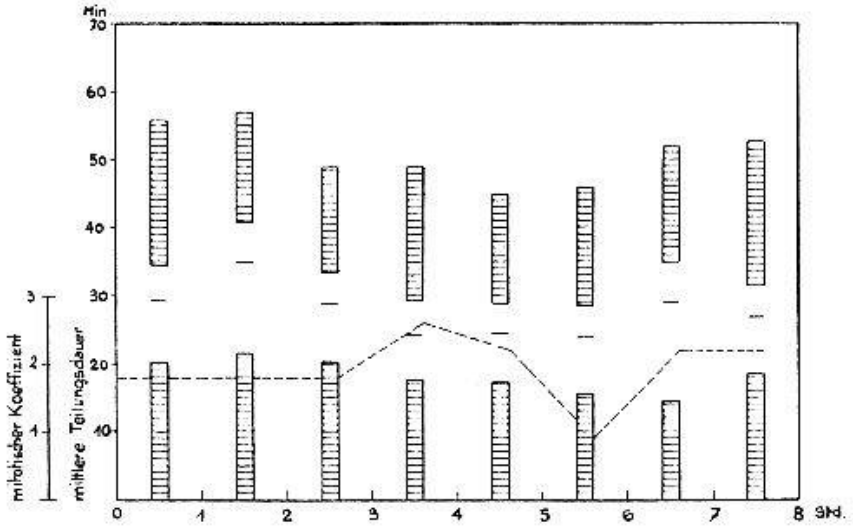

Abb. 4. *Mittlere Teilungsdauer* und *mitotischer Koeffizient*, für jede Stunde ermittelt aus Film Nr. 307 (mit Nikotin 1:15000). Über die verschiedenen Teilungsphasen vgl. im Text S. 256. Es bedeutet: ▤ (unten) = Prophase und frühe Metaphase, ▤ (oben) = Rekonstruktionsphase; der etwas über der Mitte gelegene horizontale Strich bezeichnet den Moment der vollendeten Durchschnürung des Zelleibes. ---- Mitotischer Koeffizient.

durchschnittlichen Teilungsdauer (48,8 Min. in der 4. Stunde) nicht mitberücksichtigt.

Im Film kann man auch die allmähliche *Vakuolisierung des Zytoplasmas* gut beobachten. Die ersten Nikotin-Vakuolen treten etwa 2½ Stunden nach dem Giftzusatz in Erscheinung, sowohl in den Arbeitszellen wie in den Teilungszellen. Die Belichtung hat auf die Vakuolenbildung keinen Einfluß.

4. *Differenzierte Auszählung der verschiedenen Mitosenstadien in fixierten Kulturen*

Zu diesem Zweck wurden die Versuchskulturen, an welchen vorher die Mitosenzahlen in bestimmten Zeitabständen ermittelt worden waren, nach ca. neunstündiger Einwirkung der verschiedenen Nikotin-Verdünnungen in Carnoyscher Flüssigkeit fixiert und nach Kardos-Pappenheim gefärbt.

Die einzelnen Teilungsphasen sind S. 256 kurz charakterisiert worden. Die Häufigkeit der verschiedenen Phasen, wie sie aus 83 Präparaten mit zusammen 2676 Mitosen ermittelt wurde, ist in Abb. 5 dargestellt, wobei – wie schon bei den Summenkurven – die Versuche mit Nikotin 1:20000 und 25000, 1:10000, 12000 und 15000 und 1:6000 und 8000 je in eine Gruppe zusammengefaßt wurden, um das Bild zu vereinfachen. Noch bei einer Giftkonzentration von 1:10000, bei welcher die Zellen nach 9 Stunden eine beträchtliche Vakuolisierung aufweisen (Abb. 8), sind die Phasenprozente gegenüber der Norm (Kontrollkulturen mit Tyrodescher Flüssigkeit) nicht auffällig beeinträchtigt, abgesehen von einer leichten Zunahme der Endphasen (vgl. auch S. 261), woraus eine

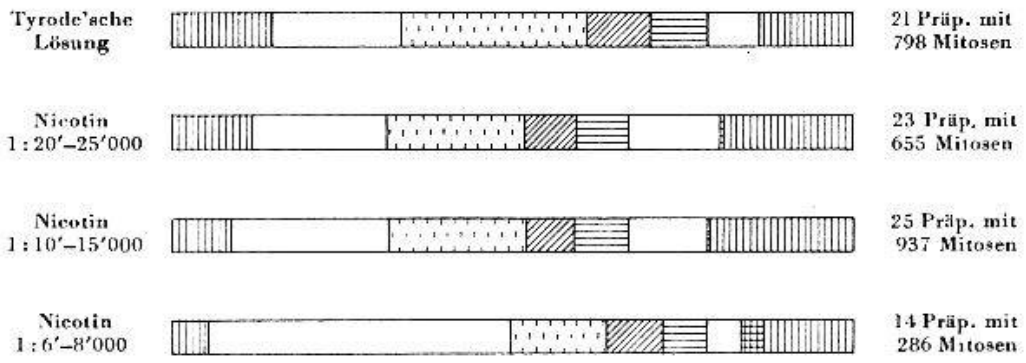

Abb. 5. Ergebnis der *differenzierten Mitosenauszählung* fixierter Gewebekulturen, die etwa 9 Stunden unter dem Einfluß verschiedener Konzentrationen von Nikotin gestanden haben. Es bedeuten:

- (am Anfang) = Prophase,
- (am Anfang) = frühe Metaphase,
- = späte Metaphase (Aequatorialplatte),
- = Anaphase,
- = frühe Telophase,
- (gegen Ende) = späte Telophase,
- = Doppelrundzellen mit rekonstruierten Kernen,
- (am Ende) = Rekonstruktionsphase.

gewisse *Linksverschiebung* der Anaphase resultiert. Die Nikotinwirkung ist also in dieser Hinsicht recht bescheiden und nicht charakteristisch. Erst bei Konzentrationen von 1:6000–8000 findet man dann eine leichte *Rechtsverschiebung* der Anaphase, die normalerweise (zumindest bei kurzdauernden Mitosen) etwa in der Mitte des ganzen Teilungsvorganges gelegen ist; diese Rechtsverschiebung ist vor allem durch eine Vermehrung (d.h. Verlängerung) der frühen Metaphasen verursacht. Ferner findet man bei den stärkeren Nikotinkonzentrationen eine Vermehrung der d_3-Stadien, d.h. von paarweise nebeneinander liegenden, noch abgerundeten Tochterzellen (sog. «*Doppelrundzellen*»), deren Kerne aber schon (fast) rekonstruiert sind. Während diese Zellen nach *H. Krantz* (V, 1938) und *W. von Möllendorff* und *M. Ostrouch* (VII, 1939), welche Autoren im Zusammenhang mit ihrer Fragestellung diesen Doppelrundzellen besondere Beachtung geschenkt haben, auch in den normalen Bindegewebskulturen in 1–2% der Teilungsstadien vorkommen, finde ich sie in 14 mit Nikotin 1:6000–8000 behandelten Präparaten in 3,1% unter 286 Zellteilungen. Diese Vermehrung der Doppelrundzellen ist wohl weniger auf eine Kernstörung – die Kerne beenden ja die Karyokinese – als auf eine Zytoplasmastörung zurückzuführen, welch letztere mit der bei den höheren Nikotinkonzentrationen hochgradigen Vakuolenbildung in Zusammenhang stehen dürfte.

5. *Zur Pathologie der Mitose unter Nikotineinwirkung*

Während die 9 Stunden lang mit Nikotin 1:25000 und schwächeren Konzentrationen behandelten Versuchskulturen noch keine auffälligeren morphologischen Störungen aufweisen, fällt nach der Einwirkung von Nikotin 1:20000 eine leichte Vakuolisierung des Zytoplasmas auf, die besonders auch die Arbeitszellen erfaßt. Die Zellteilungen selbst erscheinen im großen ganzen normal. Bei den Versuchskulturen mit Nikotin 1:15000 und 1:12000 hat die Vakuolisierung der Zellen beträchtlich zugenommen.

Es verhalten sich aber längst nicht alle Kulturen gleich, da besonders bei den schwächeren Giftkonzentrationen die individuell verschiedene Resistenz der verschiedenen Kulturen – vor allem wenn sie verschiedenen Passagen oder gar verschiedenen Stämmen angehören – in Erscheinung tritt. Es zeigt sich auch hier, daß bei Untersuchungen an Gewebekulturen wie bei anderen biologischen Experimenten mit diesem individuellen Faktor immer wieder gerechnet werden muß; dieses individuell unterschiedliche Verhalten kann besonders dann ins Gewicht fallen, wenn die Zahl der für einen bestimmten Versuch verwendeten Kulturen nicht groß genug ist.

Die Teilungszellen sind von der Vakuolisierung in der Regel etwas weniger betroffen, und insbesondere der Teilungsraum (das Mixoplasma)

ist gewöhnlich gar nicht vakuolisiert. Zwischen den verschieden großen Vakuolen liegen vielfach noch Krinomkörnchen im Zytoplasma (vgl. dazu *W. von Möllendorff* 1936 S. 749/750). Die Zellteilungen sind in den mit Nikotin behandelten Bindegewebskulturen weniger häufig als in den unbehandelten Kontrollkulturen (entsprechend den Resultaten der Filmanalyse und der Mitosenzählungen in den lebenden Kulturen). Die ablaufenden Zellteilungen sind aber verhältnismäßig selten (und dann nur geringgradig) gestört. Die *Mitosenstörungen* bestehen in einer nicht ganz typischen Chromosomenanordnung (besonders in den b_1-Stadien); das Chromatin ist etwas klumpiger als normal. Auch abgesprengte Chromosomen kommen gelegentlich – bei schwereren Störungen – vor; sie sind aber für die «Nikotinmitosen» nicht charakteristisch. Man gewinnt ferner aus den fixierten Präparaten den Eindruck, daß die Teilungszellen Mühe haben, sich abzurunden und sich wieder auszubreiten, was zu einer relativen Vermehrung der d_2-, d_3- und e-Phasen führt, wie das z.T. ja auch aus den Ergebnissen der differenzierten Auszählung der verschiedenen Teilungsstadien hervorgeht. Man findet einerseits Fibrozyten, die sich noch nicht fertig abgerundet haben, deren Kern aber bereits dem b_1-Stadium entspricht, und andererseits Zellen, deren Kern sozusagen zum Interphasenkern rekonstruiert ist, deren Zelleib aber mit der Wiederausbreitung noch gar nicht begonnen (d_3-Stadien = «Doppelrundzellen») oder sie zumindest noch nicht vollendet hat.

Nach längerer Einwirkung von Nikotin 1:8000 (oder noch stärkeren Konzentrationen) sind die Zellen stark vakuolisiert, wobei nun auch die Teilungszellen mitbetroffen sind (am wenigsten ergriffen ist immer noch das Mixoplasma). Lage und Form der Zellkerne sind durch die Vakuolen beeinflußt. Die Kerne liegen oft exzentrisch oder sogar wandständig, häufig an einem Zellpol; sie sind nicht selten durch Vakuolen eingebuchtet, gelegentlich sogar in Fragmente aufgeteilt. Die Teilungstätigkeit wird nun fast ganz eingestellt. Kommen noch Teilungsfiguren vor, so sind die Chromosomen nicht selten am Umfang einer Vakuole angeordnet, besonders in der Metaphase, und die Chromosomen sind oft pyknotisch. Die relative Vermehrung der d_3-Stadien ist bei den stärksten Nikotineinwirkungen am ausgeprägtesten.

6. *Planimetrische Bestimmung der Wachstumsareale*

Ich habe auch eine Versuchsreihe über die Beeinflussung der Wachstumsareale durch Nikotin durchgeführt, da diese Methode – wie auch frühere eigene Untersuchungen mit anderen Pharmaka gezeigt haben (vgl. z.B. *O. Bucher*, 1940 a) – in vielen Fällen die durch die übrigen Auswertungsmethoden erhalte-

nen Befunde wertvoll ergänzen kann. Über die angewandte Technik und über die Kritik der Resultate ist in meiner oben zitierten Arbeit S. 452/453 nachzulesen. Es hat sich nun aber gezeigt, daß mit Nikotin (in einer Konzentration von 1:12000, 1:15000 und 1:20000) auch bei einer bis 7 Tage dauernden Einwirkung nur wenig charakteristische Ergebnisse erhalten werden, so daß bei einer vorsichtigen Auswertung der erhaltenen Befunde und der beträchtlichen Fehlermöglichkeit durch das Ineinandergreifen von Proliferations- und Emigrationsvorgängen keine sicheren Schlüsse gezogen werden können. Ich habe deshalb diese Versuche nicht weiter geführt und verzichte bei der geringen Zahl (16) der mir zur Verfügung stehenden Präparate auch auf eine graphische oder tabellarische Darstellung der Befunde (vgl. auch die Bemerkungen S. 260 über das individuell verschiedene Verhalten einzelner Kulturen).

7. *Die Wirkung von Nikotin auf die amöboiden Bewegungen von Granulozyten*

Auch diese (Film-)Versuche, bei welchen mich Herr Dr. *P. Schaerer* freundlich unterstützt hat, sind nur als Ergänzung der übrigen Befunde gedacht.

Gewinnung der Granulozyten (vgl. auch *H. J. Hamburger*, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. IV, Teil 4, S. 964ff.). Die Granulozyten werden so gewonnen, daß man einem ausgewachsenen Kaninchen 200 ccm Ringersche Flüssigkeit steril intraperitonaeal injiziert und nach ca. 5 Stunden an der gleichen Stelle wieder Flüssigkeit aspiriert. Nach Zusatz von 3,55%igem Natrium citricum ($^1/_{10}$ der Menge des Punktates) wird 15 Minuten zentrifugiert und darauf die überstehende Flüssigkeit bis auf ca. 1 ccm Satz, in welchem sich dann massenhaft Leukozyten befinden, abgegossen. Die Granulozyten können bei einer Temperatur von 4–5° im Kühlschrank steril 1–2 Tage aufbewahrt und innert dieser Zeit zu Versuchen verwendet werden.

Für die *Versuche* werden die Granulozyten nach der gleichen Methode wie die Fibrozyten auf ein Deckgläschen explantiert (1 Tropfen Zentrifugat +1 Tropfen Blutplasma +1 Tropfen Gewebeextrakt). Die Versuche selbst wurden etwa 5 Stunden später – das Explantat blieb inzwischen bei Körpertemperatur im Thermostat – durchgeführt, indem neben Tyrodescher Flüssigkeit (für die Kontrollversuche) verschiedene Konzentrationen von Nikotin zugesetzt wurden[1]). 30 Minuten später wurde mit Zeitraffung – 24 Bilder pro Minute – gefilmt (vgl. auch S. 255). Belichtung 1½ Sek., 6 Ampères; Periplan 6× und Apochromat 4 mm. Szenen von ca. 20 Min. Aufnahmedauer pro Giftkonzentration (= 4 Szenen pro 15 m Film).

Die *Auswertung der Befunde* geschah auch hier bei der Projektion: der Projektionsschirm wurde mit einem Blatt Papier überspannt und darauf mit einem Bleistift dem von den Granulozyten zurückgelegten Weg nachgefahren. Diese Wegstrecken konnten nachher ausgemessen und daraus der von den Granulozyten pro Minute zurückgelegte Weg aus Zeitraffung (Bildzahl pro Minute) und Vergrößerung bestimmt werden. Indem bei Versuchsbeginn immer ein Objektmikrometer mitphotographiert wurde, konnte auch bei der Projektion der Vergrößerung sofort abgelesen werden.

---

[1]) Die für die Filmaufnahmen interessanten Nikotinkonzentrationen sind in Vorversuchen mit direkter mikroskopischer Beobachtung ermittelt worden.

Die Filmversuche mit Granulozyten geben uns Auskunft über die Art der amöboiden Bewegungen und ihre eventuelle qualitative Beeinflussung durch die zugesetzten Pharmaka, ferner über den bei der Wanderung zurückgelegten Weg, der quantitativ bestimmt werden kann. Dazu ist aber gleich beizufügen, daß gerade bei diesen Messungsversuchen – wiederum wie bei vielen anderen biologischen Versuchen – sich doch nicht alles zahlenmäßig erfassen läßt und zudem auch unter «normalen» Verhältnissen (Kontrollversuche ohne Giftzusatz) eine recht beträchtliche Variationsbreite bestehen kann!

Die Resultate der Nikotinversuche mit Granulozyten sind in der Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1

Zusatz	Granulozytenzahl (ausgewertet)	Kriechbewegungen in μ pro Min.	abgerundete Granulozyten in %
Tyrode	18	3,1	
(aus 2 Versuchen)	(11 + 7)	(2,9 — 3,5)	15—20
Nikotin 1 : 10000	10	3,5	25
Nikotin 1 : 5000	10	3,5	25
Nikotin 1 : 2000	4	2,5	66
Nikotin 1 : 1000	7	2,7	66

Auch in den Kontrollversuchen mit Zusatz von reiner Tyrodescher Flüssigkeit sind immer etwa 15–20% der Granulozyten abgerundet, welche im Film keine Bewegungserscheinungen mehr zeigen. Die Resultate der Versuche mit Nikotin 1:5000 und 1:10000 liegen innerhalb der Fehlergrenze. Dagegen schädigt Nikotin in einer Konzentration von 1:1000 und 1:2000 die Granulozyten eindeutig. Es zeigt sich das im Filmversuch in einer Verminderung des Wanderweges, kommt aber auch noch dadurch zum Ausdruck, daß am Schluß des Versuches (50 bis 60 Minuten nach dem Giftzusatz) $^2/_3$ der Zellen abgerundet und bewegungslos sind. An den nicht abgerundeten Granulozyten können in den fixierten und gefärbten Präparaten, die mit verschieden starken Nikotinlösungen behandelt worden sind, keine zytologischen Unterschiede festgestellt werden.

8. *Lassen sich in vitro gezüchtete Fibrozyten an die chronische Einwirkung von Nikotin gewöhnen?*

Zum Studium dieser Frage sind in 5 Versuchsreihen mit zusammen 90 Bindegewebskulturen Experimente durchgeführt worden.

Bei diesen Dauerzüchtungsversuchen wurde dem Kulturmedium beim Umpflanzen jeweilen *1 Tropfen* der im Text angeführten *Nikotinlösung zugesetzt*;

das Medium bestand somit aus etwa gleich großen Tropfen von Plasma, Extrakt und Nikotin (in Tyrodescher Flüssigkeit): die *effektiv wirkende Nikotinkonzentration* im Medium betrug somit etwa $^1/_3$ der angegebenen Werte, die deshalb auf den ersten Blick – und im Vergleich mit den früher beschriebenen Versuchen – sehr hoch erscheinen.

Die Kulturen wurden in der Regel wie üblich jeden 3. Tag umgepflanzt. Alle 5 Dauerzüchtungsversuchsreihen erstrecken sich zusammen über 448 Tage oder 126 Passagen.

In der 1. Versuchsreihe war im Wachstum und im Aussehen der verschieden behandelten Kulturen kaum ein Unterschied festzustellen. Eine akzidentelle Infektion der Kulturen führte nach 6 Wochen zum Abbruch der Experimente.

In der 2. Versuchsreihe wurde anfänglich ein Tropfen einer 0,2$^0/_{00}$igen und einer 0,1$^0/_{00}$igen Nikotinlösung und von der 18. Passage nach Versuchsbeginn an eine 0,25 bzw. 0,125$^0/_{00}$ige Lösung zugesetzt. Die Kulturen wuchsen nicht immer gleich gut während der viermonatigen Versuchsdauer; diese Schwankungen waren aber unabhängig von der Nikotinverabreichung. In Präparaten, welche 10, 12, 14, 18, 20 und 28 Passagen nach Versuchsbeginn fixiert und gefärbt worden waren, sehe ich auch bei der feineren zytologischen Untersuchung der 3 Kategorien (Kontrollversuche und 2 verschiedene Nikotinkonzentrationen) keine wesentlichen Unterschiede. Vorübergehend (14. Passage seit Versuchsbeginn) schienen – wohl zufällig – die mit Nikotin 1:5000 behandelten Kulturen am besten auszuwachsen. Vom 24. Dezember 1942 bis zum 3. Januar 1943 wurden die Kulturen statt im Thermostat bei kühler Zimmertemperatur gehalten (damit sie über die Festtage nicht umgepflanzt werden mußten); von jenem Moment an sind dann alle Kulturen, auch die Kontrollkulturen ohne Giftzusatz, schlechter gewachsen. Die Kulturen mit Nikotin 1:8000 und diejenigen mit Tyrodescher Lösung sind schließlich nach 28 Passagen infolge einer Infektion eingegangen. Die Kulturen mit Nikotin 1:4000 konnten noch weitere 7 Passagen gezüchtet werden.

Auch im Verlauf der 3. Versuchsreihe zeigten die Kontrollkulturen und die mit Nikotin 1:5000 behandelten Kulturen kein unterschiedliches Verhalten. Nach zweimonatiger Vorbehandlung wurde dann ein Tagesversuch mit Nikotin 1:15000 vorgenommen, worauf ich unten noch zurückkommen werde. Die beiden letzen Versuchsreihen wurden je mit einer 0,5 und 0,33$^0/_{00}$igen Nikotinbehandlung durchgeführt. In der 4. Versuchsreihe wuchsen auch die Nikotinkulturen etwa 25 Passagen lang ausgezeichnet; allmählich aber verschlechterte sich ihr Zustand. Besonders die Nikotinkulturen bekamen Löcher und zeigten die Tendenz, das Plasmamedium zu verflüssigen. Sie blieben auch im Wachstum

zurück, so daß sie beim Umpflanzen nicht mehr geteilt werden konnten und der Bestand allmählich einging (auch die normalen Kontrollkulturen). In der 5. Versuchsreihe zeigten die verschieden behandelten Kulturen ebenfalls keine wesentlichen Unterschiede, weder in ihrer Wachstumstendenz, noch bei ihrer zytologischen Untersuchung. Nach vierteljähriger Vorbehandlung wurde schließlich auch hier ein Tagesversuch mit Nikotin 1:15000 durchgeführt. Bei allen Versuchsreihen wurden die Nikotinkulturen zwischenhinein gelegentlich ein- bis mehrmals ohne Giftzusatz nur mit reiner Tyrodescher Flüssigkeit umgepflanzt. Eine *Abstinenzerscheinung* infolge des plötzlichen Nikotinentzuges, die sich in einer Herabsetzung der Vitalität der Kulturen gezeigt haben müßte, wurde dabei nie beobachtet.

Der *Tagesversuch* mit Nikotin 1:15000, der an die Dauerzüchtungsversuche der Versuchsreihe 3 und 5 angeschlossen wurde, sollte zeigen, ob sich die 2–3 Monate lang mit Nikotin vorbehandelten Kulturen anders verhalten als nicht vorbehandelte Kulturen.

Für diese 8–9 Stunden dauernden Versuche wurde jeweilen der *Hohlschliff* der Objektträger *mit der Versuchslösung ganz ausgefüllt.*

Die Auswertung geschah – wie in den früher beschriebenen ähnlichen Versuchen – durch Ermittlung der Mitosenzahlen in bestimmten Zeitabständen aus den lebenden Kulturen und durch die differenzierte Auszählung der verschiedenen Teilungsphasen in den fixierten und nach Kardos-Pappenheim gefärbten Kulturen.

Es wurden folgende Versuche angesetzt: 1. nicht vorbehandelte Kulturen mit Zusatz von Tyrodescher Flüssigkeit als Kontrollversuche, 2. nicht vorbehandelte Kulturen mit Zusatz von Nikotin 1:15000, 3. *vorbehandelte* «Nikotinkulturen» mit Zusatz von Nikotin 1:15000.

Die Abb. 6 zeigt die aus diesen Versuchen gewonnenen *Summenkurven.* Die Mitosenzahlen der 16 Kontrollkulturen schwanken zwischen 98,5 und 120% (Mitosenzahl unmittelbar vor Versuchsbeginn = 100%). Die Kurve der Mitosenzahlen aus 9 nicht vorbehandelten Kulturen, bei welchen aber der Hohlschliff mit Nikotin 1:15000 ausgefüllt worden war, verhält sich etwas atypisch (vgl. dazu die entsprechende Kurve in Abb. 1).

Das atypische Verhalten dieser Kurve beruht weniger darauf, daß sie bis auf 124% ansteigt, als darauf, daß es recht lange dauert, bis der mitotische Koeffizient so stark gesunken ist, daß die Zahl der sichtbaren Mitosen durch eine gewisse Verlängerung der Mitosendauer nicht mehr ausgeglichen werden kann.

Ich habe ja schon oben (S. 260) darauf hingewiesen, daß bei verschiedenen Kulturen und insbesondere bei Kulturen verschiedener Passagen oder verschiedener Stämme die Widerstandskraft gegen experimentelle Einflüsse verschieden groß sein kann und bei der Bewertung der Befunde vorsichtig miteinkalkuliert werden muß.

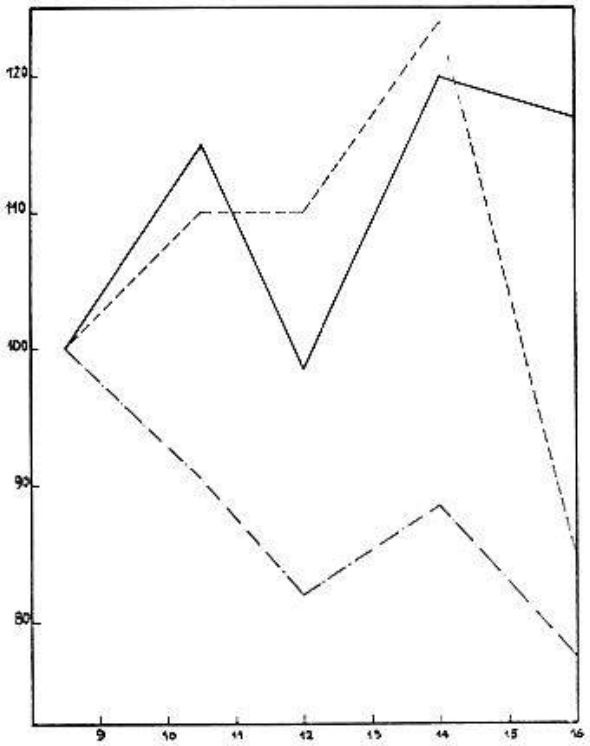

Abb. 6. *Mitosenzahlenkurven.* ——— nicht vorbehandelte Kulturen mit Zusatz von *Tyrodescher Flüssigkeit*, – – – – – – *nicht* vorbehandelte Kulturen mit Zusatz von *Nikotin 1 : 15000*, –·–·–·– *vorbehandelte* Kulturen mit Zusatz von *Nikotin 1 : 15000.*

Die Kurve der Mitosenzahlen aus 11 vorbehandelten Kulturen fällt im Verlauf des Tagesversuches auf 77,5% ab, die Kurve der aus 9 *nicht* vorbehandelten Kulturen gezählten Zellteilungen auf 85%. Diese beiden Endwerte von 77,5% und 85% liegen absolut innerhalb der biologischen Variationsbreite, so daß man daraus keine Schlüsse ziehen darf. Aber der *Verlauf* der beiden Kurven ist verschieden, und da sie aus Versuchskulturen des *gleichen Fibrozytenstammes* und der *gleichen Passage* gewonnen sind, dürfte dafür die *verschiedene Vorbehandlung* (mit Nikotin bzw. nur mit Tyrodescher Flüssigkeit) verantwortlich gemacht werden.

Die Mitosenkurve der 2–3 Monate mit Nikotin vorbehandelten Kulturen verhält sich auch anders als die früher ermittelten Summenkurven (Abb. 1 S. 254). Vor allem fällt hier die anfängliche Zunahme der Mitosen weg. Wir haben nun seinerzeit die bei der ersten Zählung nach dem Nikotinzusatz festgestellte Zunahme der Mitosenzahl auf eine Verlängerung der Ablaufsdauer zurückgeführt (vgl. dazu auch Abb. 4). Wenn nun beim Tagesversuch mit den vorbehandelten Kulturen die Summenkurve gleich abfällt – die 1. Zählung 2 Stunden nach Versuchsbeginn ergibt einen Wert von 90,5% – so kommen zwei verschiedene Erklärungsversuche in Betracht. Man könnte vermuten, daß die Mitosendauer bei diesen Zellen durch den verstärkten Nikotinzusatz nicht verlängert wird, weil sie sich durch die langdauernde Verabreichung kleiner Nikotindosen in dieser Hinsicht eine gewisse Resistenz erworben hätten. In diesem Falle würde ich dann allerdings erwarten, daß auch das Auftreten neuer Zellteilungen weniger gehemmt würde, d.h. daß von dieser erworbenen Nikotinresistenz auch der mitotische Koeffizient profitiert hätte. Man kann aber ebenso gut annehmen, daß der mitotische Koeffizient in den vorbehandelten Kulturen *sofort* nach Zusatz einer stärkeren Giftdosis recht stark abfällt, da die *Zellen durch die chronische*

Giftwirkung bereits *in ihrer Vitalität beeinträchtigt* sind. Aus den Ergebnissen des vorliegenden Zählungsversuches kann diese Frage nicht sicher entschieden werden; bei Berücksichtigung *aller* Tatsachen und der verschiedenen anderen Versuchsergebnisse halte ich aber die zweite Version für wahrscheinlicher.

In diesem Sinne glaube ich auch die Resultate der *differenzierten Auszählung der verschiedenen Teilungsstadien* (Abb. 7) deuten zu dürfen. Die Phasenprozentzahlen der Kontrollversuche (nur mit Zusatz von Tyrodescher Flüssigkeit) und der nicht vorbehandelten Kulturen, auf welche aber 9 Stunden lang Nikotin 1:15000 eingewirkt hatte, weisen keine grundsätzlichen Unterschiede auf, wie wir das ja auch früher gesehen haben (vgl. Abb. 5). Ähnliche Verhältnisse zeigen auch die 6 nach dreimonatiger Behandlung noch übriggebliebenen Kulturen der 5. Versuchsreihe. Andererseits zeigen aber die 2 Monate vorbehandelten Kulturen der 3. Versuchsreihe eine gewisse Rechtsverschiebung der Anaphase, was uns beweist, daß diese Zellen Mühe haben, die Teilung über die Metaphase hinaus weiter zu führen. Auch hier müssen wir uns jedoch hüten, aus den Versuchsergebnissen mehr herauslesen zu wollen, als die biologischen Reaktionsunterschiede der verschiedenen Kulturen uns gestatten.

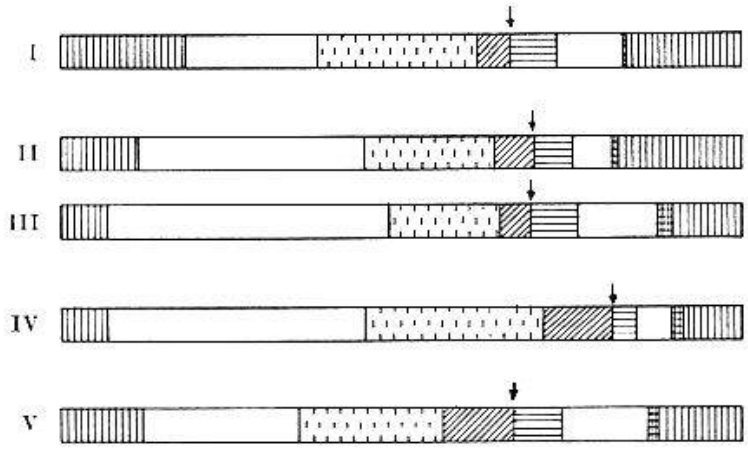

Abb. 7. Ergebnis der *differenzierten Mitosenauszählung* fixierter Gewebekulturen, die *z. T. mit Nikotin vorbehandelt* waren und zuletzt etwa 9 Stunden unter dem Einfluß von Nikotin 1 : 15000 gestanden haben. Bezeichnungen wie bei Abb. 5.

I. Kontrollkulturen mit Zusatz *Tyrodescher Lösung* (7 Präp. mit 196 Mitosen). II. Kulturen einer anderen Passage mit Zusatz von *Nikotin 1 : 15000* (6 Präp. mit 105 Mitosen). III. *Nicht* vorbehandelte Kulturen (gleiche Passage wie I, IV und V) mit Zusatz von *Nikotin 1 : 15000* (6 Präp. mit 87 Mitosen). IV. 2 Monate mit Nikotin *vorbehandelte* Kulturen der Versuchsserie 3 mit Zusatz von *Nikotin 1 : 15000* (6 Präp. mit 58 Mitosen). V. 3 Monate mit Nikotin *vorbehandelte* Kulturen der Versuchsserie 5 mit Zusatz von *Nikotin 1 : 15000* (6 Präp. mit 57 Mitosen).

Die *Vakuolisation*, die unter der Wirkung von Nikotin 1:15000 nach einigen Stunden auftritt, ist in vorbehandelten und nicht vorbehandelten Kulturen gleich stark ausgeprägt; auch in der Häufigkeit oder der Art von *Mitosenstörungen* sind keine Unterschiede zu ermitteln.

9. *Besprechung der Ergebnisse*

Die auffälligste morphologische Erscheinung, die nach Einwirkung von Nikotin auf in vitro gezüchtete Bindegewebszellen zu beobachten ist, ist die *Vakuolisation des Zellplasmas* (Abb. 8) worauf ich schon in einer früheren Arbeit kurz hingewiesen habe (*O. Bucher* 1940c).

Ähnlich wie gewisse Alkaloide werden auch basische Farbstoffe (z. B. Neutralrot) in Vakuolen aufgespeichert, und ferner lassen sich Vakuolen u. a. auch durch isotonische Lösungen von quellenden Salzen wie Rhodankalium, Kaliumjodid, Kaliumbromid, Kaliumchlorid usw., sowie durch Rohrzucker erzeugen (*von Möllendorff* 1936, 1937 b). «Die Vakuolenbildung ist eines der Mittel, die der Zelle zur Abwehr unerwünschter Einflüsse auf das Zellenleben zur Verfügung stehen», wie *von Möllendorff* (1937 a) schreibt, wobei er vermutet, «daß es sich hier um eine chemische Umstellung handelt, die vom Arbeitsplasma ausgehend den paraplastischen Raum beeinflußt».

F. Mainx (1924) hat schon nach kurzer Einwirkungszeit von Nikotin (0,05 Mol.) außer der Vakuolisation der Zelleibes in den Zellkernen (der Staubfadenhaare von Tradescantia) zahlreiche runde Körperchen, die sich färberisch wie Nukleolen verhielten, auftreten sehen. In den Bindegewebskulturen aber sind mir derartige Gebilde nicht aufgefallen.

Gewöhnlich geht mit der Vakuolenbildung auch eine *Störung des Teilungsgeschehens* einher, welche sich aber keineswegs rein physikalisch – als Folge der Vakuolisierung des Zytoplasmas – deuten läßt; es ist wohl eher so, wie auch *von Möllendorff* (1936) andeutet, «daß die Vakuolen an sich keine Teilungshemmung bedeuten, sondern die Schädigung, die zur Vakuolenbildung Veranlassung gibt». Unter der Einwirkung von Nikotin haben die Bindegewebszellen Mühe, eine Teilung zu beginnen. So findet man in den

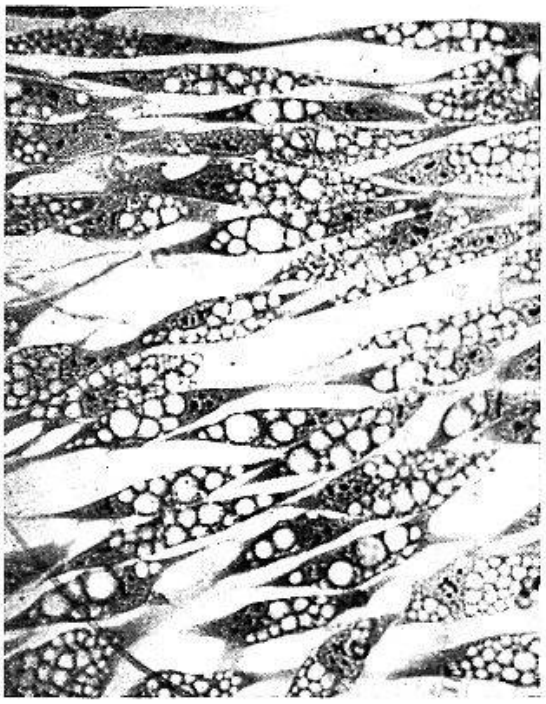

Abb. 8. Ausschnitt aus einer Fibrozytenkultur in vitro; nach 9stündiger Einwirkung von Nikotin 1:10000. Stark vakuolisiertes Zytoplasma. Fix.: Carnoy, Färbung: Kardos-Pappenheim. (Photographiert mit Ok. 6× und Obj. 46×; Grünfilter Lifa 200.)

Präparaten, die mit Nikotin 1:6000 bis 8000 behandelt wurden, nur noch recht wenige Teilungsfiguren, und schon unter dem Einfluß von Nikotin 1:15000 ist der *mitotische Koeffizient* im Vergleich mit der Norm auf weniger als die Hälfte *herabgesetzt* (Abb. 3 und 4). Diese Verminderung der Teilungsrate setzt schon lange vor der Vakuolenbildung ein. Ist eine Zelle aber kräftig genug, die Nikotinschädigung zu überwinden und in die Mitose einzutreten, dann wird sie sie auch – wenigstens bei den von mir untersuchten Nikotinkonzentrationen – zu Ende führen können, wobei allerdings die Ablaufsdauer evtl. eine gewisse Verlängerung erfährt.

Wie die Beeinflussung der gesamten Teilungsdauer, so hält sich die *Beeinflussung der Phasenprozente* (Abb. 5) in bescheidenen Grenzen. Eine schwache Nikotinisierung (1:10000–15000 und geringere Konzentrationen) beeinflußt vor allem die Endphasen der Teilung: man findet dann bei der Auszählung der verschiedenen Teilungsstadien in den fixierten Präparaten verhältnismäßig viele Rekonstruktions- und späte Telophasen und bei der graphischen Darstellung somit eine gewisse *Linksverschiebung der Anaphase.* Die Tochterzellen haben bei der «Nikotinmitose» offenbar Mühe, die Viskositätsunterschiede zwischen dem sog. Teilungsraum und dem übrigen Zytoplasma auszugleichen und sich wieder auszubreiten, während die Rekonstruktion des Teilungskernes zum Arbeitskern anscheinend auf weniger Schwierigkeiten stößt. Daraus erklärt sich die Zunahme der sog. *Doppelrundzellen* (d_3-Stadien, vgl. S. 260) nach Einwirkung stärkerer Nikotinkonzentrationen. Zwischen der Häufigkeit der Doppelrundzellen und der Stärke der Vakuolisation sehe ich bei meinen Versuchen keine regelmäßigen Beziehungen, während *von Möllendorff* (1937c) bei seinen Rohrzuckerversuchen in stärker vakuolisierten Kulturen auch mehr d_3-Phasen gefunden hat.

Im übrigen beobachtet man ein vermehrtes Auftreten von Doppelrundzellen besonders nach Einwirkung von oberflächenaktiven Substanzen wie z.B. Urethan und Butylalkohol (*v. Möllendorff* 1937c), Aethylalkohol (*H. Krantz* 1938, *v. Möllendorff* 1939), Azeton (*v. Möllendorff* 1939), oder auch von Trypanblau (*v. Möllendorff* und *Ostrouch* 1939).

In der Darstellung der Phasenprozente, welche aus den mit Nikotin 1:6000–8000 behandelten Kulturen ermittelt wurden, ist die Anaphase nach rechts verschoben. Diese *Rechtsverschiebung der Anaphase* ist nicht etwa dadurch zu erklären, daß die Endphasen jetzt plötzlich wieder rascher ablaufen könnten – ihre absolute Ablaufsdauer hat im Gegenteil sicher noch weiter zugenommen – sondern dadurch, daß die starken Nikotinkonzentrationen nun entscheidend in die Metaphase eingreifen. Besonders die frühe Metaphase wird dadurch stark behindert und ihre

Ablaufsdauer wesentlich verlängert, so daß ihre Häufigkeit in den fixierten Präparaten auf Kosten der übrigen Teilungsstadien relativ stark zugenommen hat.

Vielleicht ist auch bei der «Nikotinmitose» eine Erschwerung der Spindelbildung als Ursache für dieses Verhalten anzusprechen. Damit würden auch die Beobachtungen übereinstimmen, die *F. Mainx* (1924) und *B. Němec* (1939) an pflanzlichen Objekten (Staubfadenhaaren von Tradescantia pilosa bzw. Wurzelspitzen von Pisum sativum) gemacht haben, welche beide bei schon gebildeten Teilungsspindeln unter Nikotineinwirkung sogar ein Schwinden der Spindelfasern gesehen haben.

Über die *Beziehungen zwischen dem Grad der Vakuolisation des Zytoplasmas und dem prozentualen Anteil der verschiedenen Teilungsphasen* orientiert uns die Tabelle 2.

Dazu habe ich meine mit Nikotin 1:12000, 15000 und 20000 behandelten Bindegewebskulturen *nach dem Grade ihrer Vakuolisation* am Schluß des Tagesversuches in zwei Gruppen *eingeteilt* und ihre Phasenprozente berechnet. Die Einteilung geschah *unabhängig von der angewandten Giftkonzentration*, da aus Abb. 5 (S. 259) ja hervorging, daß die Phasenprozente der mit Nikotin 1:10000 bis 1:25000 behandelten Kulturen nicht wesentlich voneinander abweichen.

Tabelle 2

Gruppe	Zahl d. Kulturen	Mitosen pro Kultur	Zusatz	Vakuolisg.	Teilungsphasen								
					a-c	d_1-e	a	b_1	b_2	c	d_1	d_2	e
1	21	38	Tyrode	(±)	70,3	29,7	14,7	19,1	27,3	9,2	8,4	7,6	13,7
2	15	27	Nikotin	+	61,2	**38,8**	9,8	21,4	22,4	7,6	7,4	9,8	**21,6**
3	10	20,5	Nikotin	++	**72,2**	27,8	12,7	**25,4**	26,3	7,8	5,4	7,8	14,6

Aus der Tabelle 2 ergibt sich nun das interessante Resultat, daß die Prozentzahlen der verschiedenen Teilungsstadien in den verschieden stark vakuolisierten Gruppen 2 und 3 beträchtlich voneinander abweichen können. Obschon die Kulturen der Gruppen 2 und 3 der gleichen Gifteinwirkung unterlagen, unterscheiden sie sich zunächst einmal durch ihre *mittlere Mitosenzahl.* In jeder Kontrollkultur (der Gruppe 1) zählt man durchschnittlich 38, in jeder schwach (2) bzw. stark (3) vakuolisierten Nikotinkultur 27 bzw. 20,5 Zellteilungsfiguren. Der Unterschied der Gruppen 2 und 3 gegenüber den Kontrollkulturen, welchen nur reine Tyrodesche Flüssigkeit zugesetzt worden ist, ist in erster Linie eine Folge der Nikotinwirkung; die Abweichungen zwischen der Gruppe 2 und der Gruppe 3 ist aber eine Folge der verschiedenen Vitalität der betreffenden Kulturen, und daraus erklärt sich nun auch ihre *verschiedene Resistenz*

– oder ihre verschiedene primäre Toleranz, wie wir auch sagen könnten – gegen die schädigende Einwirkung des Nikotins. Am auffälligsten tritt diese unterschiedliche Resistenz morphologisch in der verschieden starken *Vakuolisierung* des Zytoplasmas in Erscheinung.

Aber auch in den *Phasenprozenten* erkennen wir beträchtliche Unterschiede. Die Mitosenschädigungen sind somit nicht nur abhängig von der Konzentration des einwirkenden Giftes, sondern besonders auch vom Verhältnis zwischen dem schädigenden Agens und der Widerstandskraft der Zelle (vgl. auch S. 260). Ist nun die Resistenz der Zellen gut, dann vermag die angewendete Giftkonzentration nur die Endphasen wesentlich zu verlängern (Tabelle 2, Gruppe 2); es resultiert eine Linksverschiebung der Anaphase, wie wir sie als leichte Störung im Teilungsablauf der «Nikotinmitosen» kennen gelernt haben. Handelt es sich aber um weniger kräftige Kulturen, dann greift die gleiche Nikotinkonzentration schon in die frühe Metaphase ein (Gruppe 3), und wir erhalten – als schwerere Schädigung – eine Rechtsverschiebung der Anaphase.

Die Störungen der Karyokinese und die Vakuolisierung des Zytoplasmas stehen insofern miteinander in Zusammenhang, als beide, wie schon oben angedeutet wurde, Folgen der gleichen schädigenden Einwirkung sind. Natürlich könnte man sich vorstellen, daß die Wiederausbreitung des Zelleibes durch eine starke Vakuolisierung (vgl. z. B. Abb. 8) gehemmt würde; trotzdem möchte ich die Verlängerung der Rekonstruktionsdauer nicht rein physikalisch erklären – um so mehr, als die Ausbreitung der Tochterzellen auch noch durch viele andere Agentien, welche nicht vakuolisierend wirken, verlangsamt wird. Maßgebend wäre somit weniger die Materialstörung als die Regulatorschädigung (vgl. *W. von Möllendorff* 1938, IV, S. 544/545).

Von Möllendorff (1937 b und c) findet im großen ganzen eine Linksverschiebung der Anaphase durch entquellende Salze (Natriumsulfat, Kaliumsulfat) und oberflächenaktive Substanzen (Urethan, Alkohole), eine Rechtsverschiebung durch Rohrzucker und quellende Salze (wie Kaliumchlorid, Kaliumazetat, Rhodankalium u. a.), wobei er glauben möchte, daß die auch hier auftretende «Vakuolenbildung ein Mittel ist, um den Einfluß quellender Ionen zu paralysieren» (1937 a). Eine gewisse Links- resp. Rechtsverschiebung der Anaphase läßt sich auch – diesmal innerhalb gewisser Grenzen rein physikalisch deutbar – durch Zusatz von hyper- bzw. hypotonischen Lösungen erzielen (*v. Möllendorff* 1938).

Die extreme Rechtsverschiebung der Anaphase, wie sie durch die sowohl dynamisch wie morphologisch eindrucksvolle Beeinträchtigung der frühen Metaphase durch verhältnismäßig schwache Konzentrationen des Herbstzeitlosenalkaloides Colchicin (*O. Bucher* 1939) oder auch von Arsenik (*O. Bucher* 1940 a) zustande kommt, wird hingegen durch eine Schädigung des Regulationsmechanismus zu erklären versucht.

F. Mainx und *B. Němec* haben durch Nikotinisierung von Pflanzenzellen häufig zweikernige Zellen erhalten; hier betrifft also die Plasmastörung nicht nur die Rekonstruktionsphase, sondern verhindert sogar die Teilung des Zelleibes (frühe Telophase). Für die Bindegewebszellen ist ein derartiges Verhalten nicht typisch. Die eigentlichen *morphologischen Karyokinesestörungen*, die durch Nikotin hervorgerufen werden, sind wenig charakteristisch (vgl. S. 260/261). Von grundsätzlicher Bedeutung ist die Tatsache, daß abgesprengte Chromosomen, wie wir sie als typische Störungen durch Einwirkung von kanzerogenen Kohlenwasserstoffen und Geschlechtshormonen (*von Möllendorff* VIII 1939, XII 1941) oder von Arsenik (*O. Bucher* IX 1940a) erzwingen konnten, bei den «Nikotinmitosen» nicht häufig sind und nur nach Anwendung starker Giftdosen als schwere unspezifische Schädigung bei gleichzeitig stark verminderter Teilungstätigkeit auftreten.

Die Wirkung des Nikotins auf den Zellkern ist somit viel weniger eindrücklich als seine Wirkung auf das Zytoplasma (Vakuolisierung). Trotzdem spricht der Kern im Stadium der Mitose schon auf schwächere Nikotindosen an als das Zellplasma oder auch der Zellstoffwechsel, wie z. B. die Versuche an befruchteten Eiern von *H. Haas* (1941) bzw. von *Brock*, *Druckrey* und *Herken* (1939) ergeben haben.

H. Yamada (1935) fand das *Wachstum* seiner Bindegewebskulturen (Fibroblasten aus Hühnerembryonen) bei Einwirkung einer Nikotinkonzentration von 1:20600 ($= 3 . 10^{-4}$ Mol.) schwach gehemmt, was mit meinen Resultaten (vgl. Abb. 1) gut übereinstimmt. Dagegen ist es mir nicht gelungen, die von ihm angegebene Wachstumsförderung durch schwache Konzentrationen zu erhalten. Auch an den in vitro explantierten Granulozyten habe ich unter dem Einfluß von Nikotin nur eine hemmende oder dann gar keine (sichere) Wirkung gesehen (vgl. Tabelle 1 S. 263). Mit einer Nikotinkonzentration von 1:6060 (= 165 γ pro ccm) konnten *Brock*, *Druckrey* und *Herken* die Zellteilungen der befruchteten Seeigeleier eben noch vollständig hemmen, während die Fibrozytenmitosen nach meinen Experimenten bei dieser Giftkonzentration noch ablaufen können.

Es wurde oben erwähnt, daß ich durch die Applikation kleiner Nikotindosen keine Wachstumsstimulierung erreichen konnte; dagegen war es in früheren Versuchen (*O. Bucher* 1940a) möglich, eine Wachstumsanregung durch Darreichung kleiner Dosen von Arsenik zu erzielen. Ein analoges Verhalten zeigen nun auch die Versuche mit Infusorien: Während ihre Vermehrung durch Arsenik in einem Konzentrationsbereich von 1:10 Mill. bis 40 Mill. eine Anregung erfährt (*R. Sand* 1901, *H. Neuhaus* 1910, *W. Heubner* 1923), war die Wirkung von Nikotin auf Paramäzien immer wachstumshemmend (*A. H. Estabrook* 1910).

Die Körperzellen haben gegenüber dem Nikotin eine gewisse Toleranz, d.h. sie ertragen von vornherein eine bestimmte Konzentration des

Alkaloids, ohne daß ihre Lebensvorgänge dadurch gestört werden, das geht auch aus den Experimenten mit Gewebekulturen hervor. Diese *primäre Toleranz* ist – auch bei den einzelnen Bindegewebskulturen – individuell sehr verschieden (vgl. auch S. 260 und Tabelle 2). Die Frage, ob sich die Körperzellen bei chronischer Einwirkung von Nikotin bis zu einem gewissen Grad an das Gift gewöhnen können, ist von ganz besonderem Interesse, denn «die Frage der Gewöhnung des Menschen an das Nikotin gehört mit zu den ungeklärtesten Gebieten des gesamten Tabakproblems» (*F. Lickint* 1939). Eine durch Gewöhnung erworbene verminderte Nikotinempfindlichkeit könnte man als *sekundäre Toleranz* bezeichnen (*R. Hofstätter* 1934).

Die Erfahrungen des täglichen Lebens scheinen zu zeigen, daß *beim Menschen* gegen das Rauchen, dessen schädliche Wirkung ja in allererster Linie dem Nikotin zugeschrieben wird, gewöhnlich eine gewisse Toleranzsteigerung auftritt. Worauf diese Toleranzsteigerung gegenüber dem Nikotin beruht – auf verminderter Resorption, erhöhter Zerstörung (z. B. durch die Leber), beschleunigter Ausscheidung durch die Nieren, Änderung der Reaktionsbereitschaft des vegetativen Nervensystems? –, darüber kann hier nicht weiter diskutiert werden. Auch beim Menschen spielt neben dieser im großen ganzen doch eher geringen Toleranzerhöhung die individuell verschiedene angeborene Empfindlichkeit (primäre Toleranz) eine wesentliche Rolle (*F. Hildebrandt* 1929); eine völlige Unempfindlichkeit gegen Nikotin wird nie erreicht.

Es ist versucht worden, *bei Tieren* durch chronische Applikation von Nikotin eine Toleranzsteigerung hervorzubringen (vgl. bei *W. E. Dixon*, *F. Hildebrandt* und *F. Lickint*). Diese Tierversuche haben aber sich in vielen Fällen widersprechende Ergebnisse gezeitigt, und *Dixon* (1924) kommt zur Ansicht, «daß, welches auch immer der Zustand der Tiere in bezug auf Toleranz ist, wenn Nikotin nur das Gewebe erreichen kann, auf welches es wirkt, es seine normale Wirkung ausübt». Die Zellen selbst können sich anscheinend also nicht an Nikotin gewöhnen. Im Gegensatz dazu wollen *Hahn* und *Langer* bei Kaninchen eine «zelluläre» Gewöhnung nachgewiesen haben.

Ob nun die einzelnen Körperzellen, auf welche über längere Zeit Nikotin einwirkt, selbst in der Lage sind, eine erhöhte Widerstandsfähigkeit (sekundäre Toleranz) zu erwerben, das kann durch *Versuche an in vitro gezüchteten Zellen* eindeutig festgestellt werden. Unsere Dauerzüchtungsexperimente mit chronischer Nikotineinwirkung, die sich in 5 Versuchsreihen über fast zwei Jahre erstreckten, haben nun *ergeben, daß sich die Bindegewebszellen an das dem Kulturmedium zugesetzte Alkaloid auch bei drei- bis viermonatiger Versuchsdauer nicht gewöhnen.* Nachdem die Kulturen wochenlang gut gewachsen waren, pflegte ihre Lebenskraft allmählich abzunehmen. Diese Beobachtung kann, wie auch

schon *L. Lewin* (1924) ausgeführt hat, so gedeutet werden, daß die gesunde Zelle eine Zeit lang imstande ist, einen ihr zugeführten nicht assimilierbaren und mit chemischer Energie versehenen Stoff irgendwie in seinen Wirkungsfolgen zu überwinden. Wirkt das Gift aber fortwährend auf die Zelle ein, so wird diese «in immer erneuter Inanspruchnahme nicht nur nicht zur Ruhe kommen können, sondern es wird auch ihre Leistungsfähigkeit in dem Vollzuge ihrer üblichen funktionellen Aufgabe und der Überwindung des ihr wesensfremden, auf sie feindlich, reizend und lähmend wirkenden Stoffes sich allmählich mindern». Die bei unseren Dauerzüchtungsversuchen angewendeten Nikotinkonzentrationen sind zunächst unterschwellig. Die Nikotinkulturen wachsen – bei vorsichtiger Dosierung – ebenso gut wie die Kontrollkulturen, und ebenso sind morphologisch an den Zellen keine Veränderungen nachzuweisen. Aber auch wenn dann ihre Wachstumsintensität nachläßt, wird das Zytoplasma nie auffällig vakuolisiert und die Mitosen zeigen keine gröberen morphologischen Störungen. Trotzdem haben die Zellen keineswegs die chronisch schädigenden Einflüsse besser abzuwehren gelernt; ihre Lebenskraft hat sich im Gegenteil in der fortwährenden Abwehr der kleinen Giftdosen erschöpft. Wir erhalten damit das gleiche Resultat, wie ich es nach lange dauernder Einwirkung von Arsenik auf Fibrozytenkulturen früher beschrieben habe (*O. Bucher* 1941). Eine Übereinstimmung mit jenen Versuchen liegt auch darin, daß beim plötzlichen Weglassen des Giftstoffes keine weitere Schädigung auftritt, d.h. es sind bei den Nikotin-Versuchen – wie es beim Ausbleiben einer Gewöhnung zu erwarten ist – *keine Abstinenzerscheinungen* zu beobachten. Die Nikotingewöhnung des Menschen ist, wie die Arsengewöhnung, kein zelluläres Phänomen.

Daß es prinzipiell möglich ist, auch bei in vitro gezüchteten Zellen eine Toleranzerhöhung zu erhalten, zeigen die von *T. Kubo* (1939) mit Opiumalkaloiden durchgeführten Versuche. *Kubo* fand nach einer anfänglichen Gewebsschädigung eine im Verlauf des Versuches zunehmende Resistenzerhöhung seiner Irisepithelkulturen gegenüber den betreffenden Alkaloiden (Morphin, Codein u. a.). Eine plötzliche Unterbrechung der Giftzufuhr führte bei jenen Versuchen zu einer Gewebsschädigung und ist als zelluläre Abstinenzreaktion zu erklären. Die in vitro gezüchteten Zellen verhalten sich also gegenüber Opiumalkaloiden grundsätzlich gleich wie der menschliche Gesamtorganismus.

Es war meine Absicht, durch Untersuchungen an Gewebekulturen einen Beitrag zur Frage der Nikotingewöhnung zu leisten. Je mehr ich mich aber mit diesem Problem befaßte, um so mehr ergab sich die Notwendigkeit, vorerst auch die zelluläre Wirkung des Nikotins, die noch sehr wenig untersucht war, etwas eingehender zu studieren.

Bodnar, *Nagy* und *Dickmann:* Biochem. Z. **276**, 317–322 (1935). – *Brock*, *Druckrey* und *Herken:* Arch. exper. Pathol. **193**, 679–687 (1939). – *Bucher*, *O.:* Z. Zellforsch. **29**, 283–322 (1939); **30**, 438–462 (1940a); Ciba-Ztschr. **74**, 2529–2568 (1940b); Schweiz. med. Wschr. **1940** (c), 910; Arch. exper. Zellforsch. **24**, 288–294 (1941). – *Dixon*, *W. E.:* Nikotin. Handbuch d. exper. Pharmakologie II/2, 658–701 (1924). – *Estabrook*, *A. H.:* Journ. exper. Zoology **8**, 489–534 (1910). – *Haas*, *H.:* Arch. exper. Pathol. **197**, 284–291 (1941). – *Hahn* und *Langer*, zit. nach Lickint. – *Hamburger*, *H. J.:* Handbuch d. biologischen Arbeitsmethoden, Abt. IV, Teil 4, S. 964ff. – *Heubner*, *W.:* zit. nach Bucher (1940a). – *Hildebrandt*, *F.:* Gewöhnung an Gifte. Handbuch d. normalen und patholog. Physiologie **13**, 833–879 (1929). – *Hofstätter*, *R.:* Münch. med. Wschr. **1934 I**, 439–443. – *Krantz*, *H.:* Z. Zellforsch. **28**, 709–733 (1938). – *Kubo*, *T.:* Arch. exper. Zellforsch. **23**, 253–268 (1939). – *Lewin*, *L.:* Phantastica. Die betäubenden und erregenden Genußmittel. Berlin 1927 (2. Aufl.). – *Lickint*, *F.:* Tabak und Organismus. Handbuch d. ges. Tabakkunde. Stuttgart 1939. – *Mainx*, *F.:* Zool. Jb., Abt. f. allg. Zool. **41**, 553–580 (1924). – *v. Möllendorff*, *W.:* Z. Zellforsch. **23**, 746–760 (1936); Arch. exper. Zellforsch. **19**, 263–272 (1937a); **21**, 1–66 (1937b); Z. Zellforsch. **27**, 301–325 (1937c); **28**, 512–546 (1938); **29**, 706–749 (1939); **32**, 35–82 (1942). – *v. Möllendorff* und *Laqueur:* Z. Zellforsch. **28**, 310–340 (1938). – *v. Möllendorff* und *Ostrouch:* Z. Zellforsch. **29**, 323–355 (1939). – *Němec*, *B.:* Protoplasma **7**, 99–105 (1929). – *Heuhaus*, *H.:* Zit. nach *Bucher* (1940a). – *Sand*, *R.:* Zit. nach *Bucher* (1940a). – *Takeyama*, *B.:* Sei-I-Kwai med. Journ. **50** (1931). – *Yamada*, *H.:* Fol. pharmacol. jap. **20**, 311–324 (1935); referiert in Ber. ges. Physiol. **90**, 424 (1936).

Zusammenfassung

1. Es wurde die Wirkung von Nikotin in Konzentrationen von 1:6000 bis 1:40000 auf Gewebekulturen in vitro untersucht.

2. Eine besonders auffällige Wirkung des Nikotins ist die Vakuolisierung des Zytoplasmas. Die Zellteilungen zeigen morphologisch wenig charakteristische Störungen. Dagegen ist der mitotische Koeffizient und damit die Wachstumsintensität der Kulturen – z. B. bei einer Konzentration von 1:15000 – wesentlich herabgesetzt. Schwächere Nikotinlösungen erschweren nur den Ablauf der Endstadien der Mitose; stärkere Lösungen bewirken auch Störungen der frühen Metaphase und ein vermehrtes Auftreten von sog. Doppelrundzellen.

3. Dauerzüchtungsversuche zeigen, daß die Zellen sich an die chronische Einwirkung von Nikotin nicht gewöhnen können; dementsprechend führt der plötzliche Nikotinentzug auch zu keinen Abstinenzerscheinungen.

4. Ergänzende Versuche wurden an ebenfalls in vitro gehaltenen Granulozyten durchgeführt und der Einfluß von Nikotin auf ihre Wanderungsfähigkeit im Zeitrafferfilm studiert.

Résumé

1⁰ On a étudié in vitro l'action d'une solution de nicotine, aux concentrations de 1 : 6000 jusqu'à 1 : 40000, sur des cultures de tissus.

2⁰ La nicotine exerce une action particulière, car elle produit une vacuolisation du cytoplasma. Les divisions cellulaires ne présentent cependant que de légères modifications morphologiques. Par contre le coefficient mitotique, et par là l'index de croissance des cultures, est notablement diminué, si la concentration de la nicotine est de 1 : 15000 par exemple. Des solutions plus diluées ne font que freiner les phases terminales de la mitose; des solutions plus concentrées provoquent des désordres de la métaphase primaire et l'apparition, en plus grand nombre, de soi-disant «cellules rondes doubles» (Doppelrundzellen).

3⁰ Les cultures prolongées montrent que les cellules ne peuvent pas s'habituer à l'action continue de la nicotine; aussi son retrait brusque ne produit-il aucun phénomène de sevrage.

4⁰ On a procédé de même à des essais complémentaires sur des granulocytes in vitro; la cinématographie accélérée a permis d'étudier l'influence de la nicotine sur leur migration.

Riassunto

1. Venne esaminata l'azione della nicotina in concentrazioni di 1 : 6000 fino ad 1 : 40000 su colture di tessuti in vitro.

2. Un'azione particolarmente evidente della nicotina è la vacuolizzazione del citoplasma. Le mitosi ostentano dei disturbi morfologicamente poco caratteristici. Il coefficiente mitotico invece e per conseguenza l'intensità di crescita delle colture – per es. ad una concentrazione di 1 : 15000 – viene sensibilmente diminuito. Soluzioni più deboli di nicotina rendono soltanto più difficile il decorso degli stadi finali della mitosi; soluzioni più concentrate cagionano anche dei disturbi della metafase precoce ed un aumentato manifestarsi delle cosidette cellule rotonde doppie.

3. Esperimenti di coltura permanente dimostrano che le cellule non possono assuefarsi all'influenza cronica della nicotina; per conseguenza la carenza subitanea di nicotina non cagiona sintomi di astinenza.

4. Ricerche complementari vennero eseguite su granulociti coltivati anche in vitro e l'influenza della nicotina sulla loro capacità di migrazione venne studiata su pellicole a passo accelerato.

Summary

1. The action of nicotine, in concentrations of 1 : 6000 to 1 : 40000, on tissue cultures has been examined in vitro.

2. An especially remarkable action of nicotine is the vacuolation of the cytoplasm. The splitting of cells shows but little characteristic change morphologically. On the other hand, the mitotic coefficient and thus intensity of growth of the cultures – e. g. at a concentration of 1 : 15 000 – is considerably reduced. Weaker solutions of nicotine only render the course of the end-stage of mitosis difficult; stronger solutions provoke also disturbances of early metaphase and an increased occurrence of so-called «double round cells» (Doppelrundzellen).

3. Long-lasting cultures show that the cells cannot get used to the chronic effect of nicotine; therefore the sudden suppression of nicotine does not lead to any abstinence symptoms.

4. Supplementary experiments were also carried out on granulocytes in vitro and the influence of nicotine on their motility was studied by means of speeded-up cinematography.