Untersuchungen über die Wirkung verdünnter Sublimatlösungen auf Lymphoblasten in vitro

Ferdinand Amons und *Jan Diek van Mansvelt*

Einleitung

Aus den letzten Jahren liegen mehrere Berichte vor über Versuche, die Wirkung stark verdünnter Schwermetallsalzlösungen auf das Pflanzenwachstum nachzuweisen *(Schwenk* 1954, *Pelikan/Unger* 1965, *Basold* 1968, *Bockemühl* 1968 und *Pelikan* 1968). Einige solcher Untersuchungen an tierischen und physikalischen Objekten liegen gleichfalls vor *(Selawry* 1970, *Heintz* 1971). Die Schwermetalle, welche bis jetzt auf derartige Wirkungen untersucht wurden, sind Au, Ag, Cu, Fe, Hg und Pb. Über die Wirkung von Quecksilber auf biologische Objekte fanden wir ausser den frühen Arbeiten von *Kolisko* (1959) keine Berichte.

In üblicheren Konzentrationsbereichen arbeitend, fand *Schöpf* (1967, 1969a, b) eine die Lymphocytentransformation stimulierende Wirkung des meistens nur als giftig betrachteten Sublimats. Um die etwaige Wirkung stark verdünnter Schwermetallsalzlösungen in einem biologischen Experiment zu untersuchen, wählten wir als Agens Sublimat und als Reagens Lymphoblastenkulturen in vitro. Der von uns untersuchte Konzentrationsbereich schliesst sich einerseits an den üblichen toxikologischen Bereich an und läuft dann dezimalstufig an bis $0{,}9 \times 10^{-18}$ M. Diese untere Grenze ergibt sich aus Gründen der verfügbaren Räumlichkeit und lehnt sich an die Experimente von *Pelikan/Unger* (1965) und *Pelikan* (1968) an.

Falls sich eine Wirkung derartig verdünnter Lösungen in unseren Versuchen überhaupt zeigen liesse, würde damit auch der Weg geöffnet sein, weitere Untersuchungen über die Art dieser Effekte anzustellen.

Material

Die Zellkultur entstammte dem Lymphosarkom einer Maus, war vom Typ des Lymphoblasten und wurde 1954 aus einem überimpfbaren Tumor in vitro explantiert *(de Bruyn* 1958). Die runden, 9—40 µ grossen Zellen liessen sich kontinuierlich in stationären Suspensionen bei 36,5°C propagieren. Das verwendete Kulturmedium bestand aus einer Lösung von Salzen, Aminosäuren und Vitaminen in bidestilliertem Wasser (TC 199, *Morgan, Morton* u. *Parker* 1950) mit Zusatz von 10% menschlichem Serum. Zur Vorbeugung bakterieller Infektionen wurde 50 IE Penizillin, 50 γ Streptomycin und 50 γ Kanamycin pro Millimeter Medium hinzugefügt. Die Kulturflüssigkeit wurde mittels Membranultrafiltration sterilisiert; das benötigte sehr gut gereinigtes Glaswerk, durch Hitze sterilisiert.

Die Reihe von Salzlösungen wurde auf folgende Weise zubereitet: 10.00 g Sublimat ($HgCl_2$, Merck, pro analysi) wurde in 100 ml Aqua bidestillata gelöst bei etwa 60°C und sofort sterilisiert durch Ultrafiltration. 50 ml davon wurden vor Abkühlung und Kristallisieren des Salzes 4 Minuten mit der Hand in einem Erlenmeyerkolben von 200 ml Inhalt geschüttelt. Diese Lösung mit einer Konzentration von 10^{-1} g $HgCl_2$ pro ml wurde «Hg 1» genannt; sie diente als Ausgangslösung zur Zubereitung der weiteren Verdünnungen. Zur Herstellung von «Hg 2» wurden 5 ml «Hg 1» in einen neuen Erlenmeyerkolben, der mit 45 ml Aqua bidestillata gefüllt war, pipettiert

und wieder 4 Minuten geschüttelt. Die Zeit, die zwischen dem Schütteln der einen und der anderen Lösung verlief, betrug minimal 1½ Minuten. «Hg 2» besass also eine Konzentration von 10^{-2} g $HgCl_2$ pro ml. Die auf diese Weise 1:10 gestufte Verdünnungsreihe wurde fortgesetzt bis «Hg 18» *(Bild 1)*. «Hg 1», «Hg 2», «Hg 3» und «Hg 4» wurden wegen ihrer sehr grossen Giftigkeit nicht in den Versuch aufgenommen. Die Reihe bestand also aus 14 Flaschen («Hg 5» bis «Hg 18»), worin sich je 45 ml Lösung befand, und überdies aus 2 Kontrollflaschen, die je 45 ml reines Aqua bidestillata enthielten. Jedem Gefäss mit 45 ml $HgCl_2$-Lösung oder Aqua bidestillata wurden 45 ml eines doppelt konzentrierten TC 199-Mediums beigegeben und alle 16 Flaschen wurden im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt. Die zur Herstellung jeder Verdünnungsstufe benötigten Pipetten wurden in jedem Herstellungsgang nur einmal verwendet und «at random» gewählt. Für eine Verdünnungsserie («Hg 1—Hg 18») entnahmen wir Aqua bidestillata jedesmal einem für diesen Zweck gefüllten 2-Liter-Gefäss.

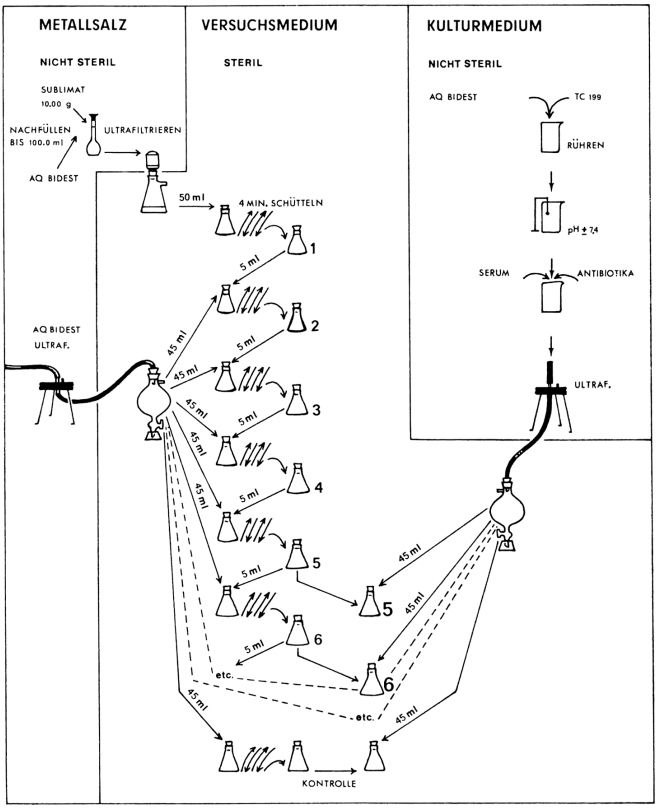

Bild 1: Übersicht der Herstellung der verschiedenen Versuchsmedien und der Kontrolle.