

## Die Verteilung Miracil D-induzierter achromatischer Läsionen und Chromatidbrüche auf den Chromosomen menschlicher Leukozyten

GÜNTER OBE

Institut für Genetik der Freien Universität Berlin

(Z. Naturforsch. 25 b, 115–116 [1970]; eingeg. am 17. November 1969)

Das Thioxanthon-Derivat 1-Diäthylamino-äthylamino-4-methyl-thioxanthonhydrochlorid (Miracil D)<sup>1</sup> ist bei *Drosophila* nur schwach mutagen<sup>2</sup>. Auch an menschlichen Leukozytenchromosomen in vitro erwies sich diese Substanz als nur wenig wirksam. Während Chromatidtranslokationen (RB') sehr selten induziert wurden, waren nach 24stdg. Einwirkungsdauer der beiden höchsten Testkonzentrationen die Häufigkeiten der achromatischen Läsionen (AL) deutlich gegenüber den Kontrollwerten erhöht (19,25% und 44,33%); für die Chromatidbrüche (B') traf das zumindest für die höhere der beiden Konzentrationen zu (9,75% und 24,67%)<sup>3</sup>. Hier soll geprüft werden, wie die Läsionen und Brüche, getrennt nach den beiden Konzentrationsbereichen, auf den Chromatiden aller langen und kurzen Arme des menschlichen Karyotyps verteilt sind.

Das Material stammt aus der vorhergehenden Untersuchung von OBE<sup>3</sup>. Die nach 24stdg. Einwirkungsdauer von  $0,5 \cdot 10^{-5}$  und  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol aufgetretenen Metaphasen mit achromatischen Läsionen (AL) und Chromatidbrüchen (B') wurden fotografiert und an stark vergrößerten Positiven (4000–5000-fach) ihre Lagen auf allen langen und kurzen Armen, nach den beiden Konzentrationen getrennt, ausgemessen. Die Meßwerte wurden einer Skala mit 10 jeweils um 0,1 fortschreitenden gleichen Abschnitten zugeordnet, wobei 0,0 die distalen Enden der Chromosomen und 1,0 die Centromeren bezeichnet<sup>4</sup>. Dabei ergaben sich bei  $0,5 \cdot 10^{-5}$  Mol Meßwerte für 87 AL und 35 B' in den langen Armen und für 23 AL und 7 B' in den kurzen Armen; bei  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol konnten entsprechend 213 AL und 60 B' in den langen, sowie 58 AL und 22 B' in den kurzen Armen ausgemessen werden.

Die Verteilung der nach 24stdg. Einwirkungsdauer auf allen langen und allen kurzen Armen menschlicher Leukozytenchromosomen induzierten AL und B' ist für beide Konzentrationen nicht zufallsgemäß. Tab. 1 zeigt die auf der Skala von 0–1 verteilten Anzahlen von AL und B' jeweils für die Gesamtheit der langen und kurzen Arme. Im Bereich der distalen Enden (gegen Null tendierende Werte) und der Centromerregionen (gegen Eins tendierende Werte) finden sich wenige oder keine Aberrationen, sie sind dagegen häufig in den mittleren Regionen der Chromatiden. Innerhalb jedes Konzentrationsbereiches stimmen die Verteilungen der AL auf den langen Armen mit denjenigen auf den kurzen Armen überein ( $P_{0,5 \cdot 10^{-5}} = 0,955$ ;  $P_{1 \cdot 10^{-5}} = 0,77$ ); gleiches gilt für die B' bei  $1 \cdot 10^{-5}$

Region	$0,5 \cdot 10^{-5}$ Mol				$1 \cdot 10^{-5}$ Mol			
	AL		B'		AL		B'	
	LA	KA	LA	KA	LA	KA	LA	KA
0,0–0,1	3	0	1	0	13,5	2	7	0
0,1–0,2	9	3	2	3	29	7	8,5	2
0,2–0,3	18	2	1	0	31	8	10,5	6,5
0,3–0,4	6	1	6	0	37,5	8,5	12	3,5
0,4–0,5	17	4	6	0	32,5	11	4,5	2
0,5–0,6	18	7	7	1,5	32,5	7,5	6,5	4
0,6–0,7	7	4	9	1,5	24,5	11	8	3
0,7–0,8	9	2	2	1	10,5	3	2	1
0,8–0,9	0	0	1	0	2	0	1	0
0,9–1,0	0	0	0	0	0	0	0	0
	87	23	35	7	213	58	60	22

Tab. 1. Absolute Häufigkeiten der AL und B' auf der Skala von 0–1 für alle langen (LA) und kurzen (KA) Arme der menschlichen Chromosomen nach 24stdg. Einwirkungsdauer von  $0,5 \cdot 10^{-5}$  und  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol Miracil D.

( $P = 0,94$ ). Die kleinere Anzahl der bei  $0,5 \cdot 10^{-5}$  aufgetretenen B' in den kurzen Armen erlaubt keinen statistischen Vergleich. Die für alle Arme gemeinsamen Verteilungen der AL einerseits sowie der B' andererseits sind innerhalb der beiden Konzentrationen jeweils ebenfalls gleichsinnig ( $P_{0,5 \cdot 10^{-5}} = 0,24$ ;  $P_{1 \cdot 10^{-5}} = 0,57$ ). Tab. 2 zeigt die daraufhin zusammengefaßten Werte,

Region	$0,5 \cdot 10^{-5}$ Mol [%]	$1 \cdot 10^{-5}$ Mol [%]
0,0–0,1	2,63	$6,37 \pm 1,30$
0,1–0,2	$11,18 \pm 2,56$	$13,17 \pm 1,80$
0,2–0,3	$13,82 \pm 2,80$	$15,86 \pm 1,94$
0,3–0,4	$8,55 \pm 2,27$	$17,42 \pm 2,02$
0,4–0,5	$17,76 \pm 3,10$	$14,16 \pm 1,86$
0,5–0,6	$22,04 \pm 3,36$	$14,30 \pm 1,86$
0,6–0,7	$14,14 \pm 2,83$	$13,17 \pm 1,80$
0,7–0,8	$9,21 \pm 2,35$	$4,67 \pm 1,12$
0,8–0,9	0,65	0,85
0,9–1,0	0,0	0,0

Tab. 2. Relative Häufigkeiten der für AL und B' zusammengefaßten Verteilungen auf der Skala von 0–1 für alle Arme der menschlichen Chromosomen nach 24stdg. Einwirkungsdauer von  $0,5 \cdot 10^{-5}$  und  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol Miracil D.

nach Konzentrationen getrennt, in relativen Häufigkeiten (%-Werte). Dabei ergibt sich jedoch, daß die Verteilungen innerhalb der beiden Konzentrationsbereiche untereinander, wenn auch nicht mit eindeutiger Signifikanz, verschieden sind ( $P = 0,025$ ).

Die vorliegenden Befunde zur nicht zufallsgemäßen intrachromosomalen Verteilung Miracil D-induzierter achromatischer Läsionen (AL) und Chromatidbrüche (B') bestätigen erneut, daß eine zufallsgemäße Lokalisation chromosomaler Aberrationen auf den von ihnen

<sup>1</sup> W. KIKUTH, R. GÖNNERT u. H. MAUSS, *Naturwissenschaften* **33**, 253 [1946].

<sup>2</sup> H. LÜERS, *Z. Vererbungsl.* **87**, 93 [1955].

<sup>3</sup> G. OBE, *Molec. Gen. Genetics* **103**, 326 [1969].

<sup>4</sup> G. OBE, *Chromosoma* [Berlin] **26**, 475 [1969].

betroffenen Chromosomen nur in Ausnahmefällen zu erwarten ist<sup>5</sup>. Die hier erhaltenen Ergebnisse stimmen prinzipiell mit der intrachromosomalen Verteilung der gleichen Aberrationstypen (AL und B') nach Einwirkung des bifunktionellen Äthylenimins Chinon I auf menschliche Chromosomen überein<sup>4</sup>. Hier wie dort sind AL und B' gleich verteilt und können gemeinsam betrachtet werden. Die Ergebnisse mit Chinon I hatten auch gezeigt, daß die Verteilungen auf den daraufhin geprüften verschiedenen Chromosomengruppen und Einzelchromosomen untereinander übereinstimmen. Sie entsprachen dort P o i s s o n - Verteilungen, deren Mittelwerte für AL wie B' im Bereich 0,3–0,4 lagen, die Aberrationshäufigkeiten wiesen also in der distalen Hälfte der Chromatiden stets ein Maximum auf. Die hier gefundenen Verteilungen lassen sich dagegen nicht mit P o i s s o n - Verteilungen beschreiben. Zwar ergibt sich auch hier für  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol ein Maximum der Verteilungen im Abschnitt 0,3–0,4, es ist aber von den Werten im Bereich von 0,1 bis 0,7 statistisch nicht unterscheidbar ( $P=0,65$ ). So entsteht über dem Abschnitt 0,1–0,7 ein Plateau der Aberrations-Häufigkeiten (Durchschnittswert 14,68%), dem die deutlich niedrigeren Werte bei 0,0–0,1 (6,37%) und 0,7–1,0 (4,67%; 0,85%; 0,0%) gegenüberstehen. Nach Einwirkung von  $0,5 \cdot 10^{-5}$  Mol hat die für alle Arme gemeinsame Verteilung der AL und B' ebenfalls im distalen und proximalen Bereich, aber im Gegensatz zu  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol auch bei 0,3–0,4, Minimalwerte. Sie zeigt damit im Bereich von 0,1 bis 0,7 kein Plateau. Das Verteilungsmuster

nach  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol ist also von demjenigen nach  $0,5 \cdot 10^{-5}$  Mol verschieden. Eine solche Änderung der Aberrations-Lokalisation mit der Konzentration ergab sich bei *Vicia faba* nach Einwirkung von Maleinsäurehydrazid<sup>6</sup> und von Triäthylenmelamin<sup>7</sup>. Bei *Vicia* zeigt sich das Phänomen eines konzentrationsabhängigen Verteilungsmusters noch unter einem anderen Gesichtspunkt. Mit wenigen Ausnahmen finden sich nach Behandlung mit chemischen Mutagenen (aber auch nach Applikation von Röntgen- und Gammastrahlen) in den kleinen S-Chromosomen mehr Aberrationen als in den großen M-Chromosomen, wobei als Erwartungswert das Verhältnis der relativen Längen der M- zu den S-Chromosomen mit 1 : 2,2 zugrunde gelegt wird. Dieser Überschuß an Aberrationen in den S-Chromosomen verschiebt sich mit steigender Konzentration der Testsubstanzen weiter zugunsten dieser Elemente<sup>5</sup>. Eine Deutung dieser konzentrationsabhängigen Lokalisations-Änderung kann bisher kaum gegeben werden. Die Verteilungen der AL und B' nach Einwirkung von Chinon I auf menschliche Chromosomen wurden mit der Wirkung von Restitutionskräften entlang der Chromosomenachse gedeutet, die vom Centromerbereich und von den Bereichen der distalen Enden ausgehend eine zunächst als zufallsgemäß angenommene Verteilung der Aberrationen (oder ihrer Vorstufen) im Sinne der gefundenen nicht zufallsgemäßen Verteilung abändern könnten<sup>4</sup>. Eine solche Hypothese wäre zumindest auch auf die hier gefundene Verteilung der AL und B' bei  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol Miracil D anwendbar.

<sup>5</sup> R. RIEGER u. A. MICHAELIS, Chromosomenmutationen, Verlag Fischer, Jena 1967.

<sup>6</sup> J. McLEISH, Heredity 6, Suppl., 125 [1953].

<sup>7</sup> A. LOVELESS, Genetic and Allied Effects of Alkylating Agents, Verlag Butterworths, London 1966.